



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PALERMO

Dottorato di Ricerca in Medicina Molecolare e Biotecnologie

Curriculum: Biofisica Molecolare e Bioimaging

Biomedicina, Neuroscienze e Diagnostica avanzata

Settore Scientifico Disciplinare SSD: FIS/07

Sviluppo di Metodologie e di Analisi per Tecniche Avanzate di Risonanza Magnetica

IL DOTTORE
GIORGIO COLLURA

IL COORDINATORE
PROF. MASSIMO MIDIRI

IL TUTOR
PROF. MAURIZIO MARRALE

CICLO XXXII
ANNO CONSEGUIMENTO TITOLO 2020

Introduzione		1
1 Risonanza Magnetica Nucleare, NMR		6
1.1 Trattazione Quantistica		6
1.1.1 Momento Magnetico Nucleare		6
1.1.2 Effetto Zeeman		7
1.2 Trattazione Classica		10
1.2.1 Precessione		10
1.2.2 Campo Magnetico Rotante		11
1.2.3 Risonanza		13
1.2.4 Rilassamento e Rivelazione del Segnale		14
1.2.5 Rilassamento T_1		15
1.2.6 Rilassamento T_2		15
1.2.7 Free Induction Decay		17
1.2.8 Sequenza Spin Eco		17
1.3 Imaging di Risonanza Magnetica, MRI		19
1.3.1 Localizzazione Spaziale		19
1.3.2 Codifica del Segnale		20
1.3.3 Segnale NMR		22
1.3.4 K-spazio		24
1.3.5 Campionamento del K-spazio		24
1.3.6 Echo Planar Imaging, EPI		27
2 Applicazioni Avanzate RM		28
2.1 Risonanza magnetica funzionale		28
2.1.1 Effetto BOLD		28

2.1.2	Risoluzione spaziale	35
2.1.3	Risoluzione temporale	35
2.1.4	Design sperimentale	36
2.1.5	fMRI nei disturbi neuropsichiatrici	38
2.2	DTI-Diffusion Tensor Imaging	39
2.2.1	Diffusione	39
2.2.2	Rivelazione dei Processi Diffusivi in Risonanza Magnetica Nucleare	42
2.2.3	La tecnica DTI	50
2.2.4	Applicazioni Mediche della DTI	57
2.3	Connettività	59
2.3.1	La connettività funzionale	59
2.3.2	La connettività anatomica-strutturale	63
3	Connettività funzionale in <i>resting state</i> nel Gambling Disorder	70
3.1	Definizione e diagnosi di Gambling Disorder	70
3.2	Fisiopatologia e fenotipi	72
3.3	fMRI nel Disturbo da gioco d'azzardo	74
3.4	Analisi Statistica dei dati	78
3.4.1	Seed-based correlation analysis	78
3.4.2	Independent Component Analysis	78
3.4.3	Dual Regression	85
3.5	Materiali e metodi	87
3.5.1	Strumentazione	87
3.5.2	Acquisizione dei dati	87
3.5.3	Soggetti	89
3.5.4	Pre-processing	89
3.6	RISULTATI	100
3.6.1	Independent component analysis	100
3.6.2	Dual regression	100
3.7	DISCUSSIONE	103
4	Chirurgia ad Ultrasuoni Focalizzati guidati da Imaging di Risonanza Magnetica Nucleare per il trattamento dei tremori essenziali	105
4.1	Chirurgia tramite tcMRgFUS	106
4.2	Tremori essenziali	108

4.3	Materiali e metodi	109
4.3.1	Acquisizioni MRI	113
4.3.2	Software utilizzati per l'analisi dati	114
4.4	Implementazione della parcellizzazione talamica	118
4.5	Studio retrospettivo per la verifica della posizione del target	125
4.5.1	Analisi delle dimensioni delle lesioni indotte durante il trattamento	128
4.5.2	Analisi delle correlazioni dei risultati delle analisi precedenti con gli <i>outcome</i> clinici	131
4.5.3	<i>Independent Component Analysis</i> preliminare sui dati fMRI in resting state	134
4.6	DISCUSSIONE	138
5	Conclusioni e Prospettive Future	139
	Bibliografia	144
	<i>Ringraziamenti</i>	161

Sin dalla sua nascita, agli inizi degli anni '70, l'Imaging di Risonanza Magnetica Nucleare (MRI) ha suscitato un enorme interesse per le applicazioni in ambito biomedico poiché permette, in maniera assolutamente non invasiva, la discriminazione tra i tessuti sulla base della loro composizione biochimica e la realizzazione di immagini tomografiche di sezioni corporee. Gli elevati livelli di risoluzione spaziale e temporale ottenibili e l'assenza di radiazioni ionizzanti costituiscono alcuni dei punti di forza delle tecniche avanzate di RM. In particolare, in ambito neurologico la tecnica è utilizzata per caratterizzare *in vivo* il cervello umano fornendone sia dettagli sulla struttura anatomica che dettagli sui processi metabolici e funzionali.

L'importanza dell'MRI in ambito diagnostico è stata riconosciuta scientificamente nel 2003 dall'attribuzione del Premio Nobel per la Medicina a Paul Lauterbur dell'Università dell'Illinois e a Sir Peter Mansfield dell'Università di Nottingham.

Alla base della formazione delle immagini MRI vi è il segnale di Risonanza Magnetica Nucleare (*Nuclear Magnetic Resonance*, NMR) proveniente dai nuclei degli atomi di idrogeno (1H) presenti nelle molecole d'acqua e, in generale, nei composti organici.

Svariate sono le tecniche di imaging MR che forniscono informazioni strutturali anatomiche (quali Angiografia MR, Diffusione MR, MRI intervenstico, etc.) e funzionali (quali spettroscopia MR, MRI funzionale, *molecular MRI*, etc). Tra queste tecniche di imaging di Risonanza Magnetica, di grande interesse scientifico è la Risonanza Magnetica funzionale (in inglese *functional Magnetic Resonance Imaging*, fMRI), introdotta nel 1992 [1-3], che è in grado di localizzare l'attività neuronale del cervello, con una buona accuratezza sia temporale (pochi secondi) che spaziale (qualche millimetro), individuando le

aree cerebrali coinvolte in determinate funzioni come quelle motorie, sensoriali, o le funzioni cerebrali superiori quali la memoria e il linguaggio. Sebbene la fMRI non possa competere con le tecniche magnetolettrofisiologiche in termini di risoluzione temporale, da questo punto di vista essa supera di gran lunga la medicina nucleare.

Negli ultimi anni si è posta maggiore attenzione alla tecnica di risonanza magnetica funzionale in *resting state* (rs-fMRI) in cui ai soggetti analizzati viene semplicemente chiesto di rimanere fermi all'interno dello scanner RM, e di non pensare a nulla in particolare [4]. Questa tecnica permette di individuare aree del cervello funzionalmente connesse senza che i soggetti debbano svolgere alcun compito, permettendo anche lo studio di soggetti con patologie neurologiche o neurodegenerative [5-10].

Infatti, come dimostrato negli studi di Fox et al. [9] e Zhang et al. [11] il cervello è sempre attivo, anche in assenza di esecuzione di un compito specifico. Il cervello risulta essere impegnato in un'attività neuronale intrinseca causata dal segnale BOLD (*Blood Oxygenation Level Dependent*) spontaneo ($\sim 0.01 - 0.1$ Hz) analizzato nella tecnica di *Resting State* fMRI [12]. Infatti, l'encefalo rappresenta solo il 2% della massa totale del corpo umano ma consuma il 20% dell'energia totale per alimentare la continua attività dei neuroni. Gli aumenti nel metabolismo neuronale in presenza di compiti funzionali sono solitamente molto inferiori ($< 5\%$) rispetto al consumo energetico in assenza di essi (*resting state*).

La correlazione temporale tra eventi neurofisiologici che avvengono in regioni cerebrali spazialmente distanti, nota come Connettività Funzionale, permette di individuare la presenza di reti neuronali dette *resting state networks* (RSNs). Le RSNs sono sempre presenti nel cervello umano, sia nello stato di veglia, che durante il sonno o sotto anestesia, sottolineando il fatto che l'attività neuronale spontanea del cervello svolge un ruolo fondamentale nelle funzioni cerebrali [13-17]. Queste RSNs variano da un soggetto all'altro e, in particolare, risultano diverse in base all'età del paziente. Sono infatti state riscontrate alterazioni in pazienti anziani [18] e, soprattutto, in pazienti affetti da malattie neurovascolari o neurologiche [10, 19, 20].

D'altro canto, la tecnica di RM basata sulla misura del Tensore di Diffusione (**Diffusion Tensor Imaging, DTI**) offre la possibilità di indagare direttamente *in vivo* e a livello microscopico i fenomeni più influenzati dai processi patologici, primo tra tutti la "diffusione", ossia il moto caotico e disordinato delle molecole di un mezzo biologico dovuto all'agitazione termica.

La DTI consente di individuare il carattere anisotropo dei processi diffusivi dell'acqua nei tessuti biologici con elevato numero di fibre, come i muscoli o la sostanza bianca nel sistema nervoso centrale, tramite il tracciamento di mappe del tensore di Diffusione.

Poiché la diffusione si manifesta come processo tridimensionale, la mobilità molecolare nei tessuti non è la stessa in ogni direzione: questa proprietà di anisotropia ha la sua origine nella presenza di ostacoli che limitano i moti molecolari in alcune direzioni. Il tensore di Diffusione, ad esempio, diventa quindi un indicatore dell'organizzazione funzionale cognitiva, permettendo l'individuazione delle mutue connessioni tra i diversi centri funzionali ed evidenziando, laddove presenti, eventuali alterazioni riconducibili a situazioni patologiche. L'acqua costituisce il 65 – 90% in volume dei tessuti biologici e svolge la funzione di mezzo di trasporto dei composti biochimici, divenendo così l'elemento fondamentale di molte reazioni chimiche del corpo umano: da ciò s'intuisce come studi della sua diffusione permettano una valutazione dell'integrità e della funzionalità cellulare, sia in condizioni normali sia patologiche.

Le immagini del tensore di Diffusione sono ottenute da acquisizioni **DWI (Diffusion Weighted Imaging)**, cioè dataset d'immagini di RM "pesate in diffusione" lungo diverse direzioni tramite l'applicazione di una speciale sequenza EPI (Echo Planar Imaging), a cui viene fatta seguire in successione una serie di gradienti con orientazioni variabili; sulla base di queste immagini, poi, tramite operazioni matematiche, viene effettuata una stima, punto per punto nei tessuti, del tensore di Diffusione e di numerosi indici scalari, in grado di fornire informazioni quantitative e clinicamente valide sui meccanismi indagati.

La presente Tesi riporta due applicazioni di queste tecniche avanzate di Risonanza Magnetica.

La prima applicazione ha riguardato lo studio dei correlati neurofisiologici di pazienti affetti da gioco d'azzardo patologico, tramite l'*Independent Component Analysis* (ICA) di dati fMRI in *resting state*.

La tecnica ICA è una tecnica *model-free* che permette di determinare le distribuzioni spaziali dei differenti *networks* funzionalmente connessi e i corrispondenti andamenti temporali, sfruttando l'indipendenza statistica delle sorgenti [21, 22]. In particolare, è stata effettuata l'analisi TC-GICA (Temporal Concatenation Group ICA) concatenando temporalmente i dati relativi ai soggetti considerati ed effettuando una successiva analisi *Probabilistic-ICA*.

La seconda applicazione ha riguardato lo sviluppo di un protocollo di analisi di immagini di risonanza magnetica nucleare (MRI) finalizzato all'ottimizzazione dei trattamenti *trans-cranial Magnetic Resonance-guided Focused Ultrasound Surgery (tcMRgFUS)*. La *tcMRgFUS* fa uso di ultrasuoni focalizzati per la cura di disturbi del movimento quali il tremore essenziale e permette, in maniera non invasiva, di trattare con precisione millimetrica bersagli anche nelle zone più profonde del cervello, come il talamo.

Il dispositivo utilizzato per il trattamento ad ultrasuoni focalizzati coinvolge 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 ablare.

Il target da ablare è un'area all'interno del talamo chiamata *nucleo ventrale intermedio* (in inglese *Ventral-InterMediate nucleus*, VIM) connessa alla corteccia motoria e al nucleo dentato del cervelletto attraverso le connessioni extrapiramidali [23]. La possibilità di svolgere questi trattamenti all'interno di uno scanner MRI fornisce la garanzia di conoscere in diretta la regione investita dagli ultrasuoni e permette di monitorare *online* il surriscaldamento zonale dei tessuti; il *feedback* termico in tempo reale consente al medico di controllare e regolare il trattamento, assicurando che il *target* sia completamente ablato senza ulteriori danneggiamenti superflui.

Attualmente, la procedura risulta essere piuttosto lunga poiché inizialmente la regione del VIM da colpire viene individuata attraverso atlanti anatomici cerebrali standard [24]. Il punto preciso viene invece trovato basandosi sul *feedback* dato dal paziente. Vengono inizialmente utilizzate sonicazioni a bassa potenza inducendo un riscaldamento locale fino a 40° C. A queste temperature si producono effetti reversibili e non permanenti. Se la regione è quella corretta allora il tremore cessa, altrimenti, si focalizza il fascio in una zona adiacente riscaldando questa nuova regione alla stessa temperatura. Questa procedura viene ripetuta più volte finché non si trova correttamente il VIM e il tremore si interrompe. Una volta individuato il target, la potenza del fascio viene aumentata fino ad indurre una temperatura zonale di circa 56°C che determina la necrosi coagulativa del bersaglio [25].

Il nostro obiettivo è stato lo sviluppo e l'implementazione di un protocollo di individuazione predittiva del target al fine di ridurre il tempo di ricerca del target per ottenere una minore durata del trattamento. Si è cercato di soddisfare quell'esigenza di medicina personalizzata cioè adattata alle caratteristiche e alle peculiarità fisiche e di salute del paziente. Sono quindi state

realizzate analisi di trattografia probabilistica per mezzo delle quali sono stati ricostruiti i fasci di fibre che arrivano al nucleo ventrale intermedio del talamo. Tale processo prende il nome di *parcellizzazione talamica*.

Infine, è stata condotta un'analisi retrospettiva sui dati dei pazienti con tremore essenziale già sottoposti al trattamento tcMRgFUS presso l'Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico di Palermo. E' stata stimata l'intersezione tra il target individuato tramite la *parcellizzazione talamica* e la sede della lesione post-trattamento al fine di valutare il grado di correlazione con un indice clinico che misura la bontà del trattamento.

Il presente lavoro di tesi è suddiviso in 5 capitoli.

Nel *primo capitolo* vengono descritti i principi della risonanza magnetica nucleare, i processi di formazione delle immagini MRI, i diversi tipi di contrasto con cui si possono ottenere le immagini MR e le sequenze di impulsi a radiofrequenze impiegate per l'ottenimento delle immagini.

Nel *secondo capitolo* vengono descritte le tecniche avanzate di Risonanza Magnetica: fMRI e DTI che conducono alle analisi di connettività cerebrale.

Nel *terzo capitolo* riporta le metodologie di analisi condotte i principali risultati ottenuti per lo studio sul "*Gambling Disorder*".

Nel *quarto capitolo* viene descritta la tecnica tcMRgFUS e la procedura di analisi dati sviluppata al fine di realizzare la parcellizzazione talamica. Vengono riportati i risultati ottenuti e la correlazione con gli esiti clinici dei trattamenti.

Nel *quinto capitolo* sono riassunte le conclusioni tratte dall'analisi dei risultati sperimentali e le prospettive future per questa attività di ricerca.

CAPITOLO 1

RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE, NMR

Il fenomeno della Risonanza Magnetica Nucleare è dovuto all'effetto dell'interazione tra gli spin nucleari e i campi magnetici. Nel 1946, Bloch e Purcell [26] descrissero indipendentemente questo fenomeno e dimostrarono che è possibile studiare il moto di precessione degli spin nucleari in un campo magnetico non solo per atomi liberi ma anche per fluidi e liquidi. In questo capitolo verranno introdotti i principi fisici e le caratteristiche del fenomeno di NMR, prima attraverso una trattazione quantistica e successivamente da un punto di vista classico.

1.1 Trattazione Quantistica

1.1.1 Momento Magnetico Nucleare

L'analisi quantistica della fisica nucleare prevede l'esistenza di una proprietà fondamentale, ovvero lo *spin*, identificato dal corrispondente numero quantico di spin, I .

Ad esso sono associati un momento angolare intrinseco di spin, \mathbf{S} , ed un momento di dipolo magnetico, $\boldsymbol{\mu}$:

$$|\mathbf{S}|^2 = \hbar^2 I(I + 1) \quad (1.1)$$

$$\boldsymbol{\mu} = \gamma \mathbf{I} \quad (1.2)$$

dove il rapporto giromagnetico, γ , è dato da:

$$\gamma = g_n \frac{|e|}{2m_p} \quad (1.3)$$

in cui e e m_p sono rispettivamente la carica e la massa del protone e g_n è il fattore nucleare di Landè.

Fissata una direzione di osservazione, z , i possibili valori della proiezione μ_z di $\boldsymbol{\mu}$ lungo z sono:

$$\mu_z = \gamma I_z = \gamma \hbar m_s \quad (1.4)$$

dove \hbar è la costante di Planck e I_z rappresenta la proiezione lungo z del momento angolare, \mathbf{S} ; questa può assumere $2I+1$ valori discreti ($-I \leq m_s \leq +I$). Il massimo valore di μ_z (ottenuto per $m_s = +I$) prende il nome di momento magnetico:

$$\mu = (\mu_z)_{max} = \gamma \hbar I = g_n \frac{|e|}{2m_p} \hbar I = g_n \mu_N I \quad (1.5)$$

dove la costante $\mu_N = |e| \hbar / 2m_p$, chiamata magnetone nucleare, è pari a $5,051 \cdot 10^{27} JT^{-1}$.

1.1.2 Effetto Zeeman

In presenza di un campo magnetico esterno, \mathbf{B}_0 , l'Hamiltoniana di interazione tra un momento magnetico, $\boldsymbol{\mu}$, e il campo \mathbf{B}_0 è data da:

$$H = -\boldsymbol{\mu} \cdot \mathbf{B}_0 \quad (1.6)$$

Assumendo che il campo \mathbf{B}_0 sia lungo l'asse z del sistema di riferimento, l'Hamiltoniana può essere riscritta sotto la forma:

$$H = -\mu_z B = -\gamma B_0 I \quad (1.7)$$

Quest'ultima relazione dimostra che gli autostati degli operatori energia, H , e proiezione su z del momento angolare, I_z , sono gli stessi, a meno di una costante, $-\gamma B_0$. In particolare, gli autovalori dell'Hamiltoniana, corrispondenti ai valori di energia associati ai diversi autostati, sono dati da:

$$E = -\gamma \hbar m_s B_0 \quad (1.8)$$

Dal momento che m_s può assumere $2I + 1$ valori discreti, l'applicazione di un campo magnetico esterno determina una suddivisione di ciascun livello di energia in $2I + 1$ differenti sottolivelli, separati tra loro da una differenza di energia pari a:

$$\Delta E = \gamma \hbar B_0 \quad (1.9)$$

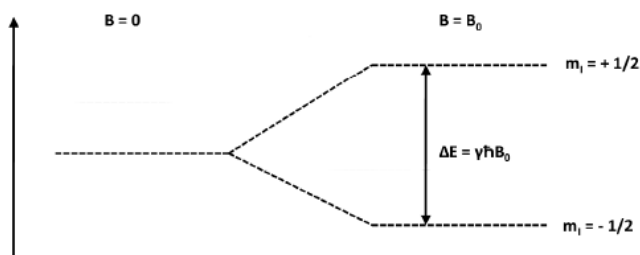


Figura 1.1: livelli Zeeman

Questo effetto è conosciuto come “effetto Zeeman”, H è chiamata Hamiltoniana Zeeman e i sottolivelli determinati prendono il nome di livelli di Zeeman. Per un nucleo con spin $I = 1/2$, come il nucleo dell'idrogeno, 1H , l'effetto Zeeman determina due livelli di energia, corrispondenti ai due possibili valori di $I_z(\pm\hbar/2)$: l'autostato spin-up $|\uparrow\rangle$ per $m_s = +1/2$, allineato in direzione parallela al campo \mathbf{B}_0 , e l'autostato spin-down $|\downarrow\rangle$ per $m_s = -1/2$, allineato in direzione antiparallela al campo \mathbf{B}_0 .

La (8) fornisce i valori di energia dei due autostati:

$$\begin{aligned} E_{|\uparrow\rangle} &= -\frac{1}{2}\gamma\hbar B_0 \\ E_{|\downarrow\rangle} &= +\frac{1}{2}\gamma\hbar B_0 \end{aligned} \quad (1.10)$$

L'assorbimento o l'emissione di una quantità di energia pari alla differenza in energia tra i due autostati induce transizioni tra i due livelli energetici, dando luogo al fenomeno di risonanza. Questo scambio di energia può avvenire tramite l'interazione con una radiazione elettromagnetica di energia $h\nu_0$. Dalla (9), tale radiazione dovrà avere frequenza pari a:

$$\nu_0 = \frac{\gamma}{2\pi} B_0 \quad (1.11)$$

o, in termini di pulsazione angolare ($\omega = 2\pi\nu$), la (11) diventa:

$$\omega_0 = \gamma B_0 \quad (1.12)$$

dove ω_0 è nota come “frequenza di Larmor”. Per un dato tipo di nucleo, la frequenza di Larmor dipende esclusivamente dal campo magnetico applicato. La (12) determina, pertanto, la condizione di risonanza, ovvero la relazione che deve intercorrere tra la frequenza della radiazione elettromagnetica, ω_0 , e l'intensità del campo magnetico, B_0 , affinché si abbia il fenomeno RMN.

In un campione di atomi di idrogeno, 1H , ciascuno dei nuclei occupa uno dei due livelli energetici. All'equilibrio, la popolazione, n , di ciascun livello di energia segue la distribuzione di Boltzmann:

$$n_i = \frac{N}{\sum_i \exp \frac{-E_i}{kT}} \exp \left(\frac{-E_i}{kT} \right) \quad (1.13)$$

dove N rappresenta il numero di nuclei di idrogeno presenti nel campione, E_i l'energia dell' i -esimo livello energetico, k la costante di Boltzmann, e T la temperatura.

Il rapporto tra le popolazioni dei due livelli energetici risulta:

$$\frac{n_{|\uparrow\rangle}}{n_{|\downarrow\rangle}} = \exp \left(\frac{\Delta E}{kT} \right) \quad (1.14)$$

A temperatura ambiente, $kT \approx 10^{-2}$ eV, per campi magnetici di qualche Tesla, ΔE è dell'ordine di 10^{-8} eV, quindi la quantità $\frac{\Delta E}{kT} \sim 10^{-6}$. Pertanto, sviluppando l'esponenziale nella (14) attorno allo zero e tenendo conto del fatto che $n_{|\uparrow\rangle} + n_{|\downarrow\rangle} = N$, per le popolazioni dei due stati si può effettuare l'approssimazione:

$$\begin{aligned} n_{|\uparrow\rangle} &\simeq \frac{N}{2} \left[1 + \frac{\Delta E}{kT} \right] \\ n_{|\downarrow\rangle} &\simeq \frac{N}{2} \left[1 - \frac{\Delta E}{kT} \right] \end{aligned} \quad (1.15)$$

La differenza tra le popolazioni dei due livelli energetici vale:

$$n_{|\uparrow\rangle} - n_{|\downarrow\rangle} \approx N \frac{\Delta E}{kT} \approx 10^{-6} N \quad (1.16)$$

Questa espressione mostra il principale punto debole della tecnica NMR: la differenza relativamente piccola tra le popolazioni dei due livelli energetici determina una bassa sensibilità della tecnica stessa. Tuttavia, per un tessuto biologico, in un tipico volume di acquisizione di un'immagine di risonanza magnetica il numero, N , di atomi di idrogeno è dell'ordine di 10^{21} .

La differenza di popolazione, Δn , tra i due livelli energetici mostra una maggior

presenza di nuclei nello stato ad energia inferiore (spin-up).

Questo genera una magnetizzazione macroscopica netta nel campione:

$$\mathbf{M} = \sum_i^N \boldsymbol{\mu}_i \quad (1.17)$$

la cui intensità risulta proporzionale alla differenza di popolazione, Δn .

Dalle (5) e (16) si ottiene, infatti:

$$M = (n_{|\uparrow\rangle} - n_{|\downarrow\rangle})\mu \approx N \frac{\Delta E}{kT} \frac{\gamma \hbar}{2} \approx 10^{-14} N \frac{eV}{T} \quad (1.18)$$

Da quest'ultima relazione risulta evidente come la magnetizzazione, \mathbf{M} , generata dalla tecnica NMR sia proporzionale al numero di spin presenti nel campione indagato. In altre parole, la magnetizzazione per unità di volume è proporzionale alla densità protonica di spin del campione.

1.2 Trattazione Classica

Fatte le dovute semplificazioni e considerazioni, la descrizione della tecnica NMR può essere espressa tramite la meccanica classica. L'analisi da un punto di vista classico risulta molto utile alla descrizione e alla comprensione del metodo di acquisizione del segnale NMR nella tecnica MRI.

1.2.1 Precessione

Il vettore magnetizzazione \mathbf{M} , definito nella (17), posto in un campo magnetico esterno, \mathbf{B}_0 , è soggetto ad un momento torcente $\boldsymbol{\tau} = \mathbf{M} \times \mathbf{B}_0$. Il comportamento della magnetizzazione in un campo magnetico esterno è descritto da un set di equazioni differenziali che prendono il nome di equazioni fenomenologiche di Bloch:

$$\frac{d\mathbf{M}}{dt} = \gamma \mathbf{M} \wedge \mathbf{B}_0 \quad (1.19)$$

Per un campo magnetico statico, \mathbf{B}_0 , ovvero indipendente dal tempo, applicato lungo l'asse z del sistema di riferimento, l'equazione differenziale vettoriale in (19) si traduce nel set di equazioni differenziali scalari:

$$\begin{aligned}\frac{dM_x}{dt} &= \gamma M_y B_0 \\ \frac{dM_y}{dt} &= -\gamma M_x B_0 \\ \frac{dM_z}{dt} &= 0\end{aligned}\tag{1.20}$$

che ammette il set di soluzioni:

$$\begin{aligned}M_x(t) &= M_x(0) \cos(\omega_0 t) + M_y(0) \sin(\omega_0 t) \\ M_y(t) &= M_x(0) \sin(\omega_0 t) + M_y(0) \cos(\omega_0 t) \\ M_z(t) &= M_z(0)\end{aligned}\tag{1.21}$$

dove

$$\omega_0 = \gamma B_0\tag{1.22}$$

Queste equazioni descrivono il moto di precessione del vettore di magnetizzazione attorno all'asse z con frequenza di precessione data dalla (22). Questa risulta identica alla frequenza di Larmor nella (12) derivata nella trattazione quantistica.

1.2.2 Campo Magnetico Rotante

All'equilibrio, ciascun momento magnetico nucleare, $\boldsymbol{\mu}_i$, compie un moto di precessione attorno all'asse z alla propria frequenza di Larmor, ω_0 . A causa dell'orientamento casuale degli spin al momento dell'applicazione del campo magnetico esterno, \mathbf{B}_0 , ad ogni istante la magnetizzazione, \mathbf{M} , risulta allineata al campo \mathbf{B}_0 . Di conseguenza, la componente della magnetizzazione, M_z , lungo l'asse z (componente longitudinale) risulta massima, mentre la componente trasversale, M_{xy} , risulta nulla.

Per osservare il fenomeno di risonanza magnetica è necessario alterare l'orientamento del vettore di magnetizzazione. Nella tecnica NMR questo è realizzato tramite l'applicazione di una radiazione elettromagnetica, con direzione di propagazione lungo l'asse z (polarizzata sul piano xy) e con frequenza data dalle (12) e (22).

Una tale radiazione, infatti, che ponga il sistema in condizione di risonanza, è generata da un campo magnetico, \mathbf{B}_1 , oscillante alla frequenza di Larmor, ω_0 , in direzione ortogonale al campo statico, \mathbf{B}_0 .

E' conveniente riferire il moto della magnetizzazione rispetto ad un sistema di

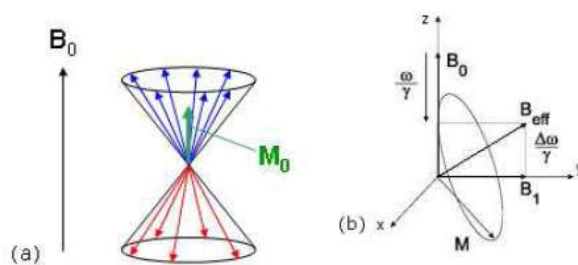


Figura 1.2: a) Magnetizzazione, M_0 di un campione di spin immersi in un campo magnetico \mathbf{B}_0 all'equilibrio termico; b) schematizzazione del moto di precessione della magnetizzazione attorno al campo magnetico effettivo, \mathbf{B}_{eff} , nel sistema di riferimento ruotante.

riferimento in rotazione attorno al campo statico, \mathbf{B}_0 , alla frequenza generica ω , anziché rispetto al sistema di coordinate del laboratorio.

Nel sistema di riferimento rotante, la derivata totale della magnetizzazione è data da:

$$\left(\frac{d\mathbf{M}}{dt}\right)_{\text{rot}} = \gamma\mathbf{M} \wedge \mathbf{B}_0 - \boldsymbol{\omega} \wedge \mathbf{M} = \gamma\mathbf{M} \wedge \left(\mathbf{B}_0 + \frac{\boldsymbol{\omega}}{\gamma}\right) \quad (1.23)$$

Il termine $\boldsymbol{\omega}/\gamma$ ha le dimensioni di un campo magnetico e può essere considerato come un campo fittizio dovuto all'effetto non inerziale della rotazione. La (23) può allora essere riscritta in termini di un campo magnetico effettivo, \mathbf{B}_{eff} , come segue:

$$\left(\frac{d\mathbf{M}}{dt}\right)_{\text{rot}} = \gamma\mathbf{M} \wedge \mathbf{B}_{\text{eff}} \quad (1.24)$$

dove:

$$\mathbf{B}_{\text{eff}} = \mathbf{B}_0 + \frac{\boldsymbol{\omega}}{\gamma} \quad (1.25)$$

La (24) mostra che le equazioni del moto applicabili nel sistema del laboratorio sono altrettanto valide nel sistema rotante, posto che si consideri un campo magnetico effettivo, \mathbf{B}_{eff} , dato dalla relazione in (25), al posto di quello statico, \mathbf{B}_0 . Pertanto, nel sistema rotante la magnetizzazione, \mathbf{M} , compie un moto di precessione attorno al campo magnetico effettivo, \mathbf{B}_{eff} .

Lo stesso risultato si raggiunge risolvendo nel sistema di laboratorio l'equazione di Bloch in (19), considerando l'applicazione di un campo magnetico, \mathbf{B} , che tenga conto sia del campo statico, \mathbf{B}_0 , che del campo rotante, \mathbf{B}_1 :

$$\mathbf{B} = B_1 \cos(\omega t)\hat{i} + B_1 \sin(\omega t)\hat{j} + B_0\hat{k} \quad (1.26)$$

Il comportamento della magnetizzazione nel sistema di laboratorio sarà dato dal set di equazioni differenziali:

$$\begin{aligned}\frac{dM_x}{dt} &= \gamma[M_y B_0 + M_z B_1 \sin(\omega t)] \\ \frac{dM_y}{dt} &= \gamma[M_z B_1 \cos(\omega t) + M_x B_0] \\ \frac{dM_z}{dt} &= \gamma[M_x B_1 \sin(\omega t) + M_y B_1 \cos(\omega t)]\end{aligned}\tag{1.27}$$

1.2.3 Risonanza

In presenza del solo campo magnetico statico, \mathbf{B}_0 , la (26) si riduce a $\mathbf{B} = \mathbf{B}_0$. Scegliendo la velocità angolare del sistema rotante esattamente pari a $\boldsymbol{\omega}_0 = -\gamma\mathbf{B}_0$, la (25) si riduce a $\mathbf{B}_{eff} = \mathbf{0}$ e la (24) indica un vettore magnetizzazione, \mathbf{M} , invariante rispetto al tempo nel sistema rotante.

Se, in aggiunta al campo magnetico statico, \mathbf{B}_0 , viene applicato un campo magnetico rotante, \mathbf{B}_1 , alla frequenza generica ω , la (26) per il campo effettivo in un sistema rotante solidale con \mathbf{B}_1 sarà:

$$\mathbf{B}_{eff} = \mathbf{B}_0 + \frac{\boldsymbol{\omega}}{\gamma} + \mathbf{B}_1 = (B_0 - \frac{\omega}{\gamma})\hat{k} + B_1\hat{i}\tag{1.28}$$

Nel caso in cui la frequenza del campo rotante, \mathbf{B}_1 , eguagli, in modulo, la frequenza di Larmor del sistema, $\omega_0 = \gamma B_0$, la componente longitudinale del campo effettivo si annulla e la (28) restituisce $\mathbf{B}_{eff} = \mathbf{B}_1$. In questa particolare condizione, nota come condizione di risonanza, nel sistema rotante il vettore magnetizzazione, \mathbf{M} , comincia un moto di precessione attorno al campo rotante, \mathbf{B}_1 , alla velocità angolare:

$$\boldsymbol{\omega}_1 = \gamma\mathbf{B}_1\tag{1.29}$$

Applicando il campo rotante per un intervallo di tempo τ , la magnetizzazione si discosterà dall'asse z di un angolo α pari a:

$$\alpha = \gamma|\mathbf{B}_1|\tau\tag{1.30}$$

L'angolo α prende il nome di "flip angle". Variando l'intensità del campo \mathbf{B}_1 o la sua durata τ è possibile perturbare la magnetizzazione alla sua posizione di equilibrio di un angolo arbitrario α dalla direzione del campo statico.

Nella tecnica NMR il campo magnetico rotante, \mathbf{B}_1 viene applicato per brevi periodi di tempo, in maniera tale da far ruotare la magnetizzazione di un dato angolo desiderato. Per questo motivo, l'applicazione del campo \mathbf{B}_1 viene indicata con il termine impulso RF ad α gradi, per indicare il fatto che si tratta

di una radiazione elettromagnetica a radiofrequenza, limitata nel tempo, con l'obiettivo di ruotare la magnetizzazione dell'angolo α indicato.

Gli impulsi maggiormente adoperati nella tecnica NMR corrispondono a 90° (impulso $\pi/2$) e 180° (impulso π), sebbene esistano particolari applicazioni che impiegano impulsi di diversa durata.

1.2.4 Rilassamento e Rivelazione del Segnale

In assenza di qualsiasi impulso RF, i momenti magnetici nucleari effettuano un moto di precessione casuale attorno al campo statico, alla propria frequenza di Larmor. La componente trasversale, M_{xy} , della magnetizzazione risulta nulla e non viene rivelato alcun segnale. L'applicazione di un impulso RF a 90° porta la magnetizzazione sul piano xy .

Al termine dell'impulso RF, gli spin nucleari risentono nuovamente del solo campo statico, \mathbf{B}_0 , e riprendono il moto di precessione attorno ad esso. Tuttavia, la loro precessione non è più casuale poichè l'impulso RF ha generato una componente trasversale, M_{xy} , non nulla. La precessione coerente degli spin nucleari fa sì che questa componente ruoti attorno a \mathbf{B}_0 alla frequenza di Larmor. La variazione di flusso del campo magnetico ad essa associato, genera, per effetto di induzione magnetica, una *f.e.m.* sulla bobina di ricezione. Al termine dell'applicazione dell'impulso RF, il sistema è interessato da una serie di meccanismi di interazione e di scambi di energia che causano il riallineamento della magnetizzazione al campo magnetico statico, \mathbf{B}_0 .

In particolare, il ritorno all'equilibrio della magnetizzazione si deve a due processi distinti, chiamati processi di rilassamento, che determinano l'andamento temporale delle componenti longitudinale e trasversale della magnetizzazione. Tenendo conto di tali meccanismi e della simmetria cilindrica di cui gode il sistema, il comportamento delle componenti della magnetizzazione è descritto dalle equazioni di Bloch:

$$\begin{aligned}\frac{dM_x}{dt} &= \gamma M_y B_0 - \frac{M_x}{T_2} \\ \frac{dM_y}{dt} &= -\gamma M_x B_0 - \frac{M_y}{T_2} \\ \frac{dM_z}{dt} &= -\left(\frac{M_z - M_0}{T_1}\right)\end{aligned}\tag{1.31}$$

dove T_1 e T_2 hanno le dimensioni di un tempo e prendono il nome, rispettivamente, di tempo di rilassamento longitudinale e tempo di rilassamento

trasversale.

A causa delle reciproche interazioni tra gli spin nucleari, i momenti magnetici effettuano un moto di precessione attorno al campo \mathbf{B}_0 con frequenze di Larmor leggermente differenti tra loro, determinando un decadimento esponenziale di M_{xy} con costante di tempo T_2 .

A causa di scambi energetici con l'ambiente circostante, d'altra parte, M_z tende esponenzialmente a tornare al suo valore di equilibrio, con costante di tempo T_1 .

Il processo di rilassamento trasversale avviene in tempi molto più rapidi rispetto ai meccanismi di scambio energetico che determinano il rilassamento longitudinale. Poiché la rivelazione del segnale dipende dalla componente trasversale della magnetizzazione, la costante di tempo T_2 determina la scala dei tempi per i metodi di acquisizione del segnale NMR. Il sistema di rivelazione del segnale NMR prevede l'impiego di una bobina di ricezione sulla quale la precessione della componente trasversale, M_{xy} , e del campo magnetico ad essa associato genera una forza elettromotrice indotta che, una volta amplificata, fornisce in uscita il segnale NMR.

1.2.5 Rilassamento T_1

Il ripristino della componente M_z al suo valore di equilibrio, M_0 , è dovuto al rilascio dell'energia, assorbita dal campione di spin nucleari durante la fase di risonanza, al reticolo molecolare in cui è immerso il sistema di spin. Per questo motivo tale processo prende anche il nome di rilassamento spin- reticolo. La soluzione della (31) per la componente longitudinale descrive il comportamento della componente M_z al variare del tempo:

$$M_z(t) = M_0 \left(1 - e^{-\frac{t}{T_1}} \right) \quad (1.32)$$

Tale comportamento mostra che il ripristino dell'equilibrio termico tra il sistema di spin e il reticolo segue un andamento esponenziale.

La costante di tempo T_1 esprime, quindi, il tempo necessario affinché la magnetizzazione longitudinale torni al 63% del suo valore originario, M_0 .

1.2.6 Rilassamento T_2

Il campo magnetico percepito a livello locale dal campione di spin, seppur determinato in gran parte dal campo magnetico esterno, riceve un contributo, di natura casuale, dai campi magnetici associati agli spin nucleari. Questa

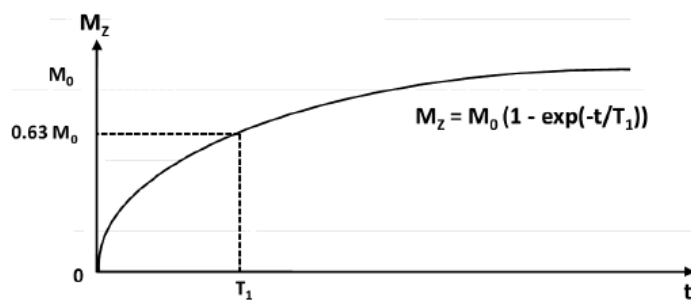


Figura 1.3: Andamento della magnetizzazione longitudinale con costante di tempo T_1

interazione tra gli spin determina un campo magnetico locale non omogeneo. Pertanto, al termine dell'impulso RF, ciascuno spin risentirà di un campo magnetico locale variabile ed inizierà un moto di precessione attorno ad esso con una propria frequenza di precessione.

Poichè la natura di questa interazione è di tipo casuale, la distribuzione di tali frequenze sarà di tipo gaussiano, centrata sulla frequenza di Larmor dovuta al solo campo magnetico esterno, \mathbf{B} . Questo comportamento determina una conseguente perdita di coerenza di fase tra gli spin, e del decadimento della componente trasversale della magnetizzazione.

La soluzione della (31) per la componente M_{xy} descrive il decadimento esponenziale al variare del tempo:

$$M_{xy}(t) = M_{xy}(0)e^{-\frac{t}{T_2}} \quad (1.33)$$

La costante di tempo T_2 , analogamente a quanto accade per il rilassamento spin-reticolo, indica il tempo impiegato dalla magnetizzazione trasversale per ridursi del 63% rispetto al suo valore iniziale.

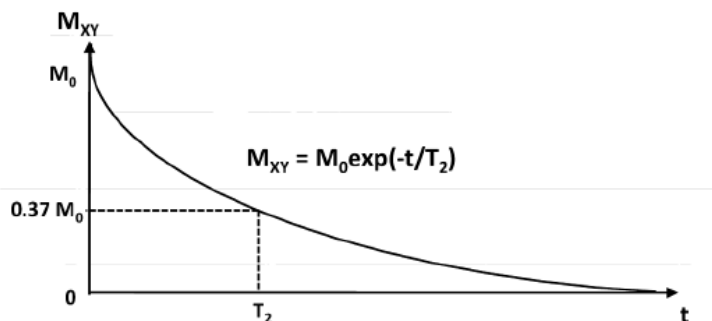


Figura 1.4: Andamento della magnetizzazione trasversale con costante di tempo T_2

In realtà, la principale causa della perdita di coerenza di fase è rappre-

sentata dall'inomogeneità del campo magnetico esterno. Queste, infatti, contribuiscono sensibilmente al decadimento esponenziale della magnetizzazione trasversale, che avverrà in tempi molto più rapidi. Il tempo di decadimento che tiene conto di questo ulteriore contributo viene detto tempo di rilassamento effettivo, T_2^* , ed è dato dalla relazione:

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_2'} \quad (1.34)$$

dove T_2 indica il tempo di decadimento relativo alle interazioni tra spin, e T_2' il tempo di decadimento dovuto alle inomogeneità del campo magnetico esterno.

Tuttavia, a differenza delle inomogeneità causate dalle interazioni fra spin (intrinseca), l'inomogeneità del campo magnetico esterno (estrinseca) non è di natura casuale. Proprio grazie alla sua diversa natura, il contributo al rilassamento trasversale può essere facilmente eliminato tramite l'adozione di una particolare tecnica di acquisizione denominata spin-echo.

Poiché le costanti T_1 e T_2 , insieme alla densità protonica, ρ , sono strettamente legate alla natura del corpo esaminato, l'Imaging tramite Risonanza Magnetica mira a sfruttarne le differenze tra vari tessuti per ottenere un forte contrasto nelle immagini diagnostiche.

1.2.7 Free Induction Decay

Come anticipato, la tecnica NMR prevede l'impiego di una bobina di ricezione sulla quale, per effetto di induzione magnetica, la variazione di flusso del campo magnetico associato alla componente trasversale della magnetizzazione, M_{xy} , generi una forza elettromotrice indotta. Questa viene successivamente amplificata ed elaborata, fornendo in uscita il segnale NMR. Il modulo della componente M_{xy} determina l'intensità del segnale osservato. A causa del rilassamento trasversale, la componente M_{xy} tende ad annullarsi ed il segnale NMR decade. Per questo motivo, il segnale rivelato prende il nome di Free Induction Decay, FID, dal momento che gli spin nucleari sono "liberi" nel loro moto di precessione, in assenza del campo rotante, attorno a \mathbf{B}_0 , mentre le reciproche interazioni tra gli spin determinano il decadimento del segnale.

1.2.8 Sequenza Spin Eco

La sequenza di acquisizione Spin Eco, proposta da Hahn [27], è un valido metodo per misurare il tempo di rilassamento T_2 . La sequenza spin eco prevede

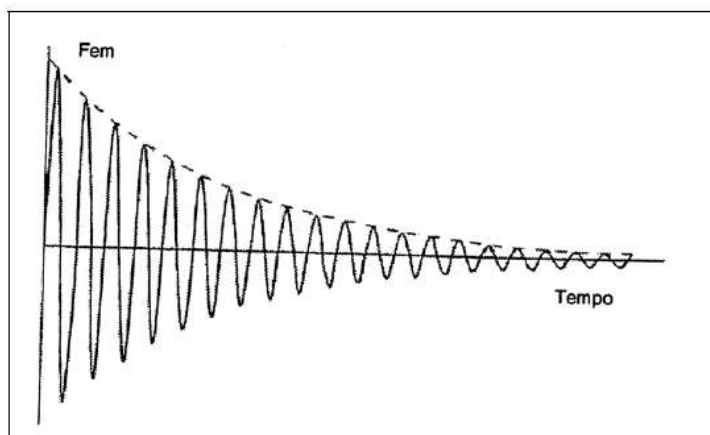


Figura 1.5: Curva caratteristica del segnale FID

l'applicazione di un impulso a 90° che genera una magnetizzazione trasversale, M_{xy} , massima, ponendo tutti gli spin in coerenza di fase (1.6a). Terminato l'impulso RF, la presenza di inhomogeneità nel campo magnetico statico causa una perdita di coerenza di fase del sistema di spin (1.6b) e il segnale FID comincia a decadere con costante di tempo T_2^* .

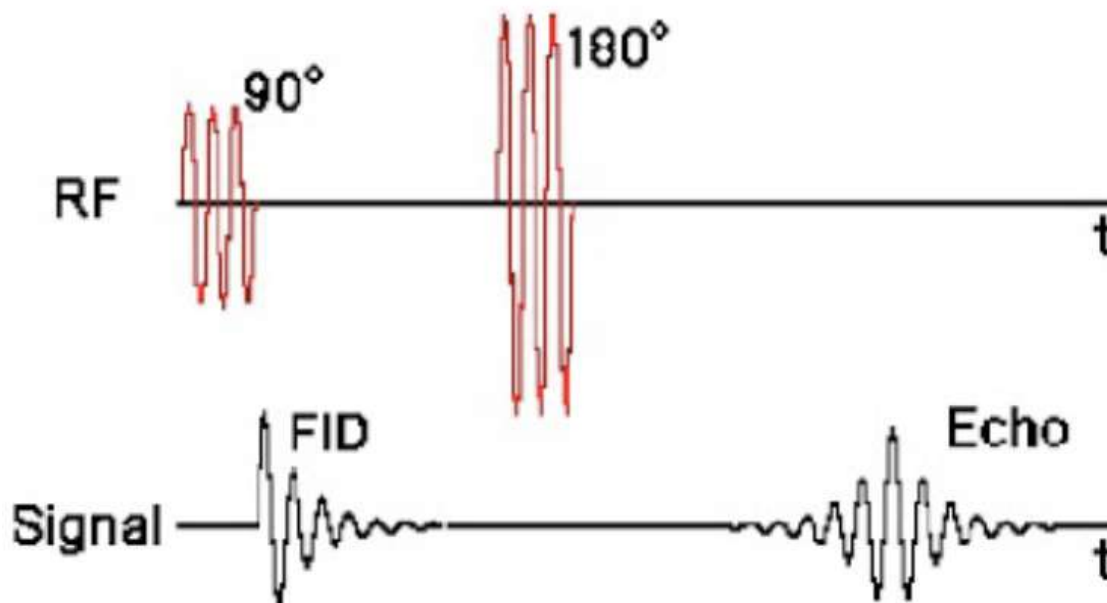


Figura 1.6: Effetto della sequenza spin eco sulla magnetizzazione trasversale e sul segnale FID

Dopo un tempo $TE/2$, dove TE prende il nome di “tempo di eco”, viene applicato un ulteriore impulso a 180° che inverte il sistema di spin (1.6c) e produce, al tempo TE , un “eco” del segnale, dovuto al rifasamento della componente M_{xy} (1.6d).

Ai fini del campionamento del segnale NMR, questa sequenza di impulsi viene applicata ripetutamente ad intervalli di tempo costanti, detti “tempo di ripetizione” (TR) e rappresenta il tempo di campionamento.

L'intensità del segnale, pertanto, dipende dai parametri dell'acquisizione, TE e TR :

$$S \sim \rho \left(1 - e^{-\frac{TR}{T_1}}\right) e^{-\frac{TE}{T_2}} \quad (1.35)$$

Per un dato set di parametri di acquisizione, pertanto, valori differenti di T_1 e T_2 causano una differenza nel segnale acquisito.

Per ottenere una stima della costante T_2 è sufficiente ripetere la sequenza spin eco a diversi valori di TE , ricostruendo la curva di decadimento della componente M_{xy} ed estrapolando il valore di T_2 attraverso un fit esponenziale.

1.3 Imaging di Risonanza Magnetica, MRI

1.3.1 Localizzazione Spaziale

Per produrre un'immagine di un oggetto o di un paziente, è necessario differenziare i segnali provenienti da posizioni spaziali diverse all'interno del corpo in esame. Durante la fase di acquisizione, la porzione di corpo che si intende indagare (*volume*) viene suddiviso in sezioni (*slice*), parallele fra loro, che possono essere posizionate e orientate in maniera arbitraria. Il set di piani tipicamente adottato per acquisizioni MRI corrisponde al set di piani mutuamente ortogonali, mostrati in Fig. 1.7a. In particolare, il piano perpendicolare alla direzione z del sistema di riferimento prende il nome di piano assiale; analogamente, i piani individuati dalle direzioni x e y vengono denominati, rispettivamente, *sagittale* e *coronale*. I segnali provenienti da una particolare slice vengono elaborati ed organizzati in maniera tale da ricomporre l'immagine della sezione in esame.

Le dimensioni della regione individuata da ciascuna slice, denominata *campo di vista* o *Field Of View (FOV)*, determinano le dimensioni spaziali dell'immagine finale.

Poiché l'immagine si riferisce ad una slice di spessore finito, ciascun valore (*pixel*) che compone l'immagine finale (Fig. 1.7b) corrisponde al segnale proveniente da un campione cubico (*voxel*) del corpo indagato (Fig. 1.7c). Le dimensioni del voxel determinano la risoluzione spaziale dell'immagine. L'altezza del

voxel, infatti, corrisponde allo spessore della slice (*slice thickness*), mentre le altre due dimensioni determinano le dimensioni del pixel corrispondente.

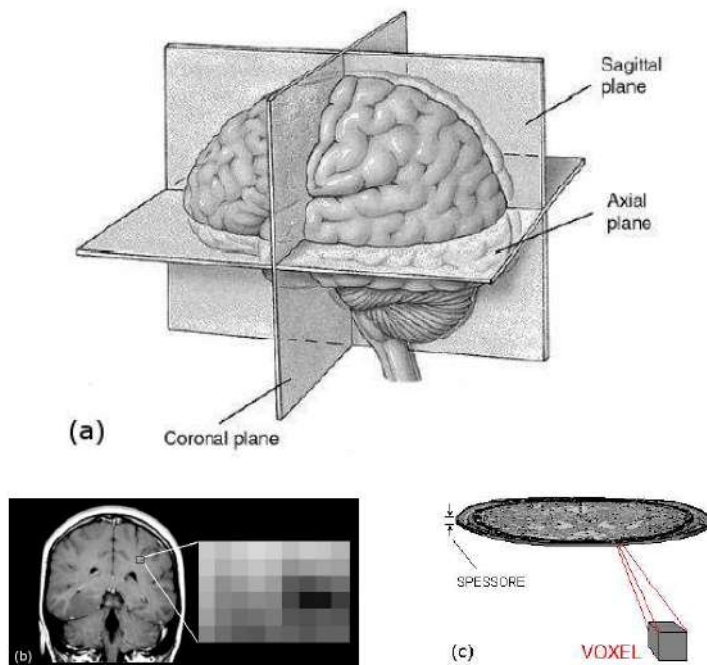


Figura 1.7: Localizzazione spaziale del segnale NMR. a) Set di piani ortogonali tipicamente utilizzato per acquisizioni cliniche e diagnostiche dell'encefalo; b) particolare di un'immagine coronale; c) slice assiale e schematizzazione di un voxel.

1.3.2 Codifica del Segnale

La tecnica MRI prevede due fasi distinte: una prima fase in cui avviene l'eccitazione del corpo in esame e una successiva fase di rivelazione del segnale NMR e ricostruzione dell'immagine. Questa tecnica di imaging si basa sull'applicazione di gradienti di campo magnetico, \mathbf{G} , che modificano le frequenze di Larmor di un campione di spin immersi in un campo magnetico statico. Questi gradienti sono impiegati, inizialmente, per eccitare una determinata slice del corpo (selezione della fetta, o slice) e, successivamente, per codificare l'informazione spaziale dei segnali NMR corrispondenti alla slice selezionata (codifica di fase e codifica in frequenza).

In particolare, per restringere l'eccitazione ad un piano ben determinato, durante l'impulso RF viene applicato un gradiente di campo, G_r , lungo la direzione r . Questo prende il nome di gradiente di selezione della slice e viene applicato, per acquisizioni di immagini assiali, lungo la direzione z del sistema di riferimento. L'intensità del campo magnetico all'interno del volume

dipende, quindi, dalla posizione lungo la direzione del gradiente applicato: $B(z) = B_0 + G_z z$. L'eccitazione causata dall'applicazione di un impulso RF ad una data frequenza, pertanto, interessa esclusivamente una particolare slice del volume. Per realizzare ciò, l'intensità dell'impulso RF deve essere modulata da una funzione *sinc* (fig. 1.8).

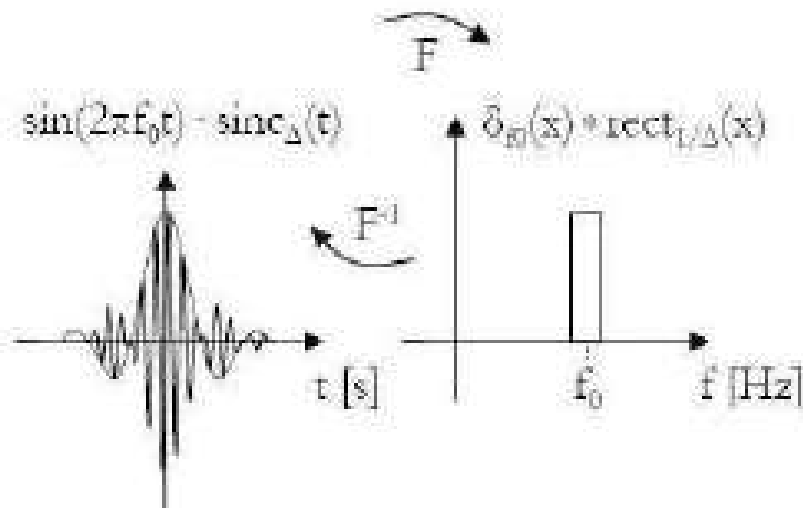


Figura 1.8: Modulazione del gradiente di selezione della slice.

In questa maniera, il contenuto in frequenza dell'impulso RF corrisponde ad un ben determinato intervallo di frequenze (bandwidth, $BW = \Delta\omega_{RF}$), che pone in condizione di risonanza solamente gli spin con frequenza corrispondente.

Ciò determina la selezione di una particolare slice del volume indagato. Lo spessore della slice è determinato, di conseguenza, da due fattori principali: l'intensità del gradiente, G_z , e la larghezza di banda dell'impulso RF, BW :

$$\Delta z = \frac{BW}{\gamma G_z} \quad (1.36)$$

Dopo la selezione della slice, viene applicato un secondo gradiente di campo magnetico, noto come gradiente di codifica di fase, in una direzione perpendicolare a quella di selezione della slice (generalmente la direzione y del sistema di riferimento). In questo modo, le frequenze di precessione degli spin nucleari diventano funzione della loro coordinata y : $\omega(y) = \gamma(B_0 + G_y y)$. Gli spin nucleari, pertanto, inizialmente in coerenza di fase, cominciano ad avere differenti relazioni di fase, funzioni della loro coordinata y .

Infine, un terzo gradiente di campo, G_x , denominato gradiente di codifica in frequenza, viene applicato lungo la terza direzione (*asse x*), durante la fase di registrazione del segnale. Analogamente a quanto accade per gli altri gradienti, G_x modifica le frequenze di precessione degli spin nucleari con differente coordinata x : $\omega(x) = \gamma(B_0 + G_x x)$. La rimozione della frequenza di Larmor dal segnale registrato (processo di demodulazione) restituisce un set di variazioni di frequenze simmetricamente distribuito tra $\pm\omega_{max}$, dove $\omega_{max} = \gamma(B_0 + G_x x_{max})$.

L'applicazione simultanea di più gradienti durante ciascuna delle tre fasi appena descritte permette di determinare arbitrariamente l'orientamento del set di slice. Questa caratteristica rappresenta uno dei maggiori vantaggi forniti dalla tecnica MRI, potendo ottenere immagini lungo differenti direzioni, senza la necessità di muovere il corpo indagato.

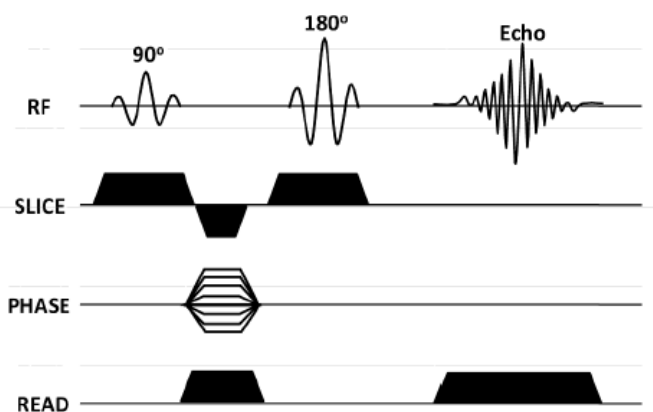


Figura 1.9: Sequenza Spin Eco 2D

1.3.3 Segnale NMR

Per un gradiente di campo magnetico, G_r applicato lungo la direzione r , tenendo conto del rilassamento trasversale, l'equazione di Bloch per la componente M_{xy} della magnetizzazione relativa ad un voxel ad altezza z^* è data da:

$$\left(\frac{dM_{xy}}{dt} \right)_{z^*} = \left[i\Omega_0 - \frac{1}{T_2} - i\gamma(G_x(t)x + G_y(t)y) \right] M_{xy} \quad (1.37)$$

dove $\Omega_0 = \omega_0 + \gamma G_z z^*$.

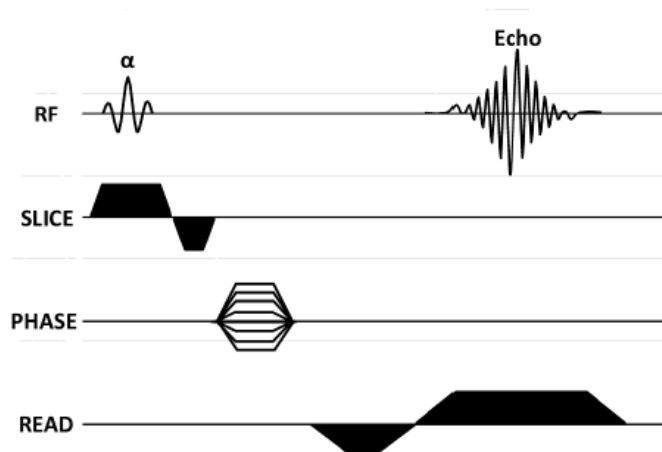


Figura 1.10: Sequenza Gradient Eco 2D

La (37) ha soluzione:

$$M_{x,y,t,z^*} \propto \rho(x, y, z^*) e^{i\Omega_0 t} \exp \left[-i\gamma(x\hat{i} + y\hat{j}) \int_0^t (G_x(t')\hat{i} + G_y(t')\hat{j}) dt' \right] \quad (1.38)$$

dove $\rho(x, y, z^*)$ rappresenta la densità spaziale di spin sul piano z^* .

Il segnale NMR acquisito per una data applicazione dei gradienti è proporzionale all'integrale della componente M_{xy} sull'intero volume. Nel caso di imaging bidimensionale di slice ad altezza z^* si ha:

$$S(t) \propto \iint \rho(x, y, z^*) \exp \left[-i\gamma(x\hat{i} + y\hat{j}) \int_0^t (G_x(t')\hat{i} + G_y(t')\hat{j}) dt' \right] dx dy \quad (1.39)$$

Per quanto detto in precedenza, l'applicazione dei gradienti G_y e G_x dopo il gradiente di selezione della slice causa delle relazioni di fase tra gli spin in funzione della loro posizione (x, y) :

$$\begin{aligned} \Phi_x &= x \left[\gamma \int_0^{\tau_x} G_x(t') dt' \right] = x k_x \\ \Phi_y &= y \left[\gamma \int_0^{\tau_y} G_y(t') dt' \right] = y k_y \end{aligned} \quad (1.40)$$

dove k_x e k_y sono proporzionali all'integrale nel tempo dei corrispondenti gradienti di campo.

L'equazione [1.39](#) può essere riscritta come:

$$\bar{S}(k_x, k_y) \propto \iint \rho(x, y, z^*) e^{-i(k_x x + k_y y)} dx dy \quad (1.41)$$

dove $\bar{S}(k_x, k_y)$ rappresenta la versione discretizzata di $S(t)$.

La grandezza \mathbf{k} , la cui dimensione è l'inverso di una distanza, rappresenta una frequenza spaziale e definisce il cosiddetto "spazio reciproco".

Secondo l'equazione [1.41](#), il segnale FID registrato è la trasformata di Fourier della funzione densità di spin, $\rho(x, y, z^*)$. L'anti-trasformata di Fourier del segnale, pertanto, restituisce la funzione densità di spin:

$$\rho(x, y, z^*) \propto \iint \bar{S}(k_x, k_y) e^{i(k_x x + k_y y)} dk_x dk_y \quad (1.42)$$

L'analisi svolta nel caso bidimensionale può essere estesa al caso tridimensionale, trattando la terza coordinata al pari delle altre due. In questo caso, le equazioni [1.41](#) e [1.42](#) diventano:

$$\bar{S}(\mathbf{k}) \propto \int \rho(\mathbf{r}) e^{-i(\mathbf{k} \cdot \mathbf{r})} d^3 \mathbf{r} \quad (1.43)$$

$$\rho(\mathbf{r}) \propto \int \bar{S}(\mathbf{k}) e^{i(\mathbf{k} \cdot \mathbf{r})} d^3 \mathbf{k} \quad (1.44)$$

1.3.4 K-spazio

Il "K-spazio", o spazio reciproco, consiste in una matrice bidimensionale i cui elementi complessi rappresentano valori di frequenze spaziali, negativi e positivi. La matrice è composta da quattro quadranti ed è centrata sul valore di frequenza spaziale nulla.

Gli elementi della matrice vengono memorizzati lungo la direzione k_y dal gradiente di codifica di fase, e lungo la direzione k_x dal gradiente di codifica in frequenza.

Il valore corrispondente alla frequenza spaziale nulla non dà alcuna informazione sull'immagine, se non il valore costante del segnale su tutta l'immagine. I valori in frequenza vicini all'origine, corrispondenti a frequenze spaziali basse, ricostruiscono una mappa del segnale a bassa risoluzione; invece, i valori vicino ai bordi del K-spazio, corrispondenti a frequenze spaziali più elevate, danno informazioni sui dettagli dell'immagine.

1.3.5 Campionamento del K-spazio

Tutti i metodi di ricostruzione di un'immagine MRI, basati sull'applicazione di gradienti di campo per la codifica del segnale, si differenziano tra loro per il modo in cui effettuano l'acquisizione del segnale FID. Le diverse modalità in

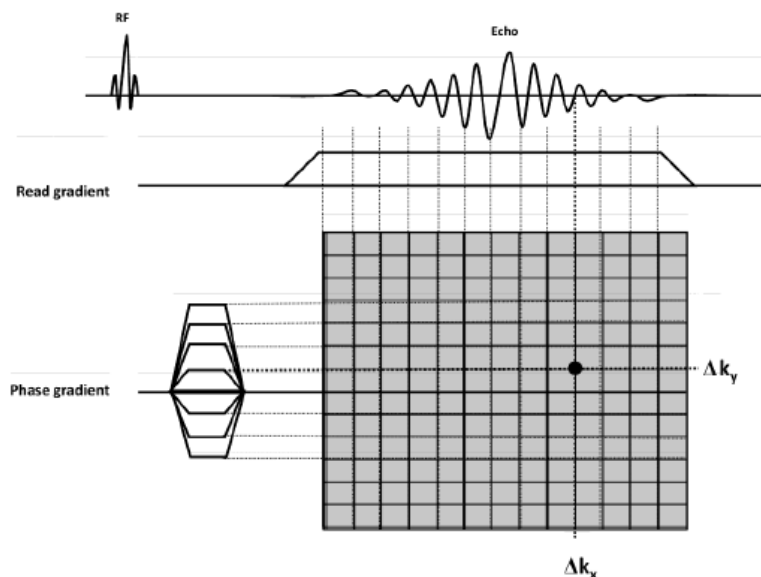


Figura 1.11: Matrice di acquisizione del K-spazio. Quando tutti i punti vengono coperti, viene effettuata la trasformata di Fourier 2D per ricostruire l'immagine

cui possono essere applicati i gradienti, infatti, determinano diverse traiettorie di campionamento del K-spazio. L'applicazione dei gradienti di codifica prima del campionamento fa sì che il segnale sia una funzione di una specifica combinazione lineare delle quantità k_x e k_y , corrispondendo, quindi, ad un punto del K-spazio. Per riempire tutto il K-spazio, i valori di k_x e k_y devono essere variati di volta in volta. Se l'immagine richiede l'acquisizione di una matrice $n_x \times n_y$, la fase di eccitazione e registrazione, della durata di tempo TR , dovrà essere ripetuta $n_x \times n_y$ volte. Poiché ciascuna sequenza di acquisizione avrà una durata di tempo TR , il tempo totale per il campionamento dell'intero K-spazio sarà $(n_x \times n_y)TR$.

Lasciando attivo il gradiente di codifica in frequenza durante la fase di campionamento (per questo motivo chiamato anche gradiente di lettura), la quantità k_x varierà linearmente nel tempo secondo la relazione:

$$k_x = \gamma G_x(t - TE) \quad (1.45)$$

In questa maniera è possibile ridurre il tempo di campionamento del K-spazio di un fattore n_x . In particolare, l'iniziale applicazione dei gradienti di codifica posiziona l'inizio del campionamento a partire dal punto del K-spazio individuato dal vettore $k_x \hat{i} + k_y \hat{j}$. Da questa posizione, l'applicazione del gradiente di lettura fa sì che il campionamento proceda lungo la direzione

k_x , riempiendo un'intera linea del K-spazio. In questa maniera, per riempire l'intero K-spazio, la sequenza di eccitazione, della durata di tempo TR , dovrà essere ripetuta n_y volte, portando ad una sensibile riduzione del tempo di acquisizione per una singola immagine a $n_y TR$.

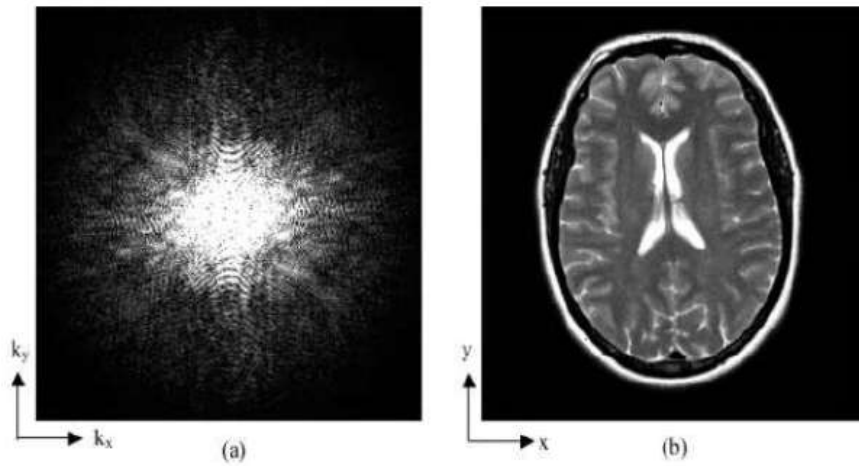


Figura 1.12: Corrispondenza tra array k-spazio (a) e dominio immagine (b)

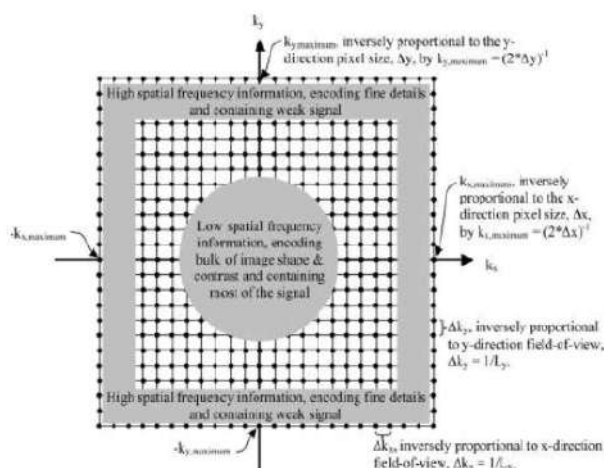


Figura 1.13: Caratteristiche generali del k-spazio

1.3.6 Echo Planar Imaging, EPI

Alla fine degli anni '70, Mansfield [28] sviluppò una nuova sequenza di campionamento, denominata Echo Planar Imaging, EPI, in grado di campionare l'intero K-spazio facendo uso di un singolo impulso di eccitazione. La tecnica EPI, infatti, prevede un'oscillazione nell'applicazione dei gradienti di codifica, in maniera tale da campionare il K-spazio seguendo una traiettoria a "zig-zag". Questo stratagemma evita il posizionamento all'inizio del campionamento di ogni riga. L'intero K-spazio viene, pertanto, riempito in un tempo pari a TR, portando ad un'ulteriore riduzione nei tempi totali di acquisizione.

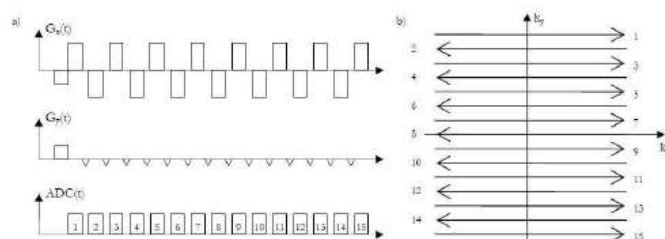


Figura 1.14: Sequenza EPI per il campionamento del K-spazio.

Le principali difficoltà presentate dalla tecnica EPI sono rappresentate dalle limitazioni nell'apparato hardware. Infatti, per realizzare questo tipo di campionamento sono necessari gradienti di campo molto intensi e che presentino slew rate molto brevi, così da non introdurre errori sistematici nel campionamento [29].

2.1 Risonanza magnetica funzionale

La risonanza magnetica funzionale (fMRI) è una tecnica di imaging non invasiva che permette di localizzare l'attività cerebrale con una buona accuratezza temporale (pochi secondi) ma, soprattutto, con una risoluzione spaziale millimetrica. L'fMRI misura la variazione dell'ossigenazione sanguigna nel tempo (segnale BOLD, Blood Oxygenation Level Dependent), legata all'attività neuronale che viene generata in uno specifico contesto. In particolare, come scoperto da Ogawa e Lee [30], il livello di ossigenazione del sangue agisce come contrasto endogeno nelle immagini di risonanza magnetica funzionale.

2.1.1 Effetto BOLD

Esistono essenzialmente due metodiche per ottenere delle immagini relative all'attività cerebrale: la prima consiste nel misurare le conseguenze dirette dell'attività neuronale, come le variazioni dei potenziali elettrici o dei gradienti chimici; la seconda prevede, invece, di esaminare le variazioni metaboliche correlate all'attività neuronale, che non rappresentano in modo diretto l'attività stessa. La risonanza magnetica funzionale appartiene a quest'ultima tipologia, in quanto misura il livello di ossigenazione sanguigna, che varia a seconda della richiesta metabolica dei neuroni attivi. Questa grandezza è definita segnale *BOLD* (*Blood Oxygenation Level Dependent*).

Durante l'esecuzione di una certa funzione, sia essa motoria, cognitiva o sensoriale, in prossimità delle regioni cerebrali interessate da tale attività

neuronale, si verifica un aumento sia del flusso sanguigno (*Cerebral Blood Flow*, *CBF*) che del volume sanguigno (*Cerebral Blood Volume*, *CBV*). L'aumento dell'attività elettrica comporta una maggiore richiesta da parte dei neuroni di energia e, quindi, un aumento del metabolismo dell'ossigeno e del glucosio. Il *rate* metabolico cerebrale del glucosio (CMR_{glu}) e il *rate* metabolico cerebrale dell'ossigeno ($CMRO_2$) sono direttamente legati al *CBF*; quindi, il segnale di risonanza magnetica funzionale nasce dalle variazioni nel *CBF*, *CBV*, CMR_{glu} e $CMRO_2$ in seguito all'attività neuronale derivante da uno stimolo o da un task.

Data la bassa solubilità dell'ossigeno in ambiente acquoso, esso viene trasportato nel sangue legato all'emoglobina (Hb), una proteina globulare tetramerica la cui struttura quaternaria consta di quattro subunità, ognuna delle quali contiene un gruppo Eme, una molecola di protoporfirina che coordina uno ione ferroso Fe^{2+} (Fig. 2.1). Quando un atomo di ossigeno si lega al ferro si produce l'ossi-emoglobina (HbO_2), mentre quando l'atomo di ossigeno viene rilasciato si produce la deossi-emoglobina (deoxyHb).

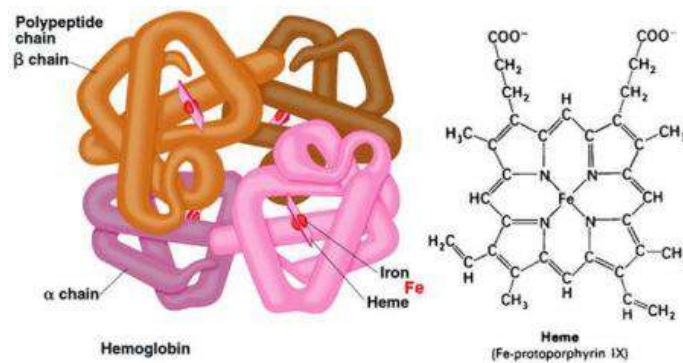


Figura 2.1: Struttura quaternaria dell'emoglobina. È una proteina globulare formata da quattro subunità ognuna delle quali contiene un gruppo Eme al cui centro vi è un atomo di ferro che si trova nello stato ferroso Fe^{2+} .

Il fenomeno che sta alla base della realizzazione delle immagini di risonanza magnetica funzionale è la diversa natura magnetica dell'emoglobina nei suoi due stati e la variazione del rapporto $deoxyHb/HbO_2$ all'interno del flusso sanguigno cerebrale (*CBF*). L'emoglobina ossigenata (HbO_2) presenta caratteristiche diamagnetiche, ovvero, non presenta elettroni spaiati ed ha momento magnetico nullo, pertanto non influisce sul comportamento di un campo magnetico esterno. Al contrario, l'emoglobina deossigenata (*deoxyHb*) è paramagnetica e possiede, quindi, elettroni spaiati e momento magnetico diverso da zero. Il sangue completamente deossigenato è caratterizzato da una suscettività magnetica χ_m , cioè da un'intensità della magnetizzazione del materiale,

maggiore del 20% rispetto a quella del sangue completamente ossigenato. La presenza di deoxyHb influenza il campo magnetico statico \mathbf{B}_0 , provocandone una distorsione $\Delta\mathbf{B}_0$ e facendo sì che i nuclei investiti dal campo, perdano la magnetizzazione acquisita più velocemente attraverso il processo di rilassamento caratterizzato dalla costante T_2^* . Infatti, gli spin in un campo magnetico non uniforme precessano a frequenze diverse da quella di risonanza, causando una maggior dispersione di fase e quindi un decadimento trasversale più rapido del segnale RM. Quando si trovano in uno stato inattivo, i neuroni per poter svolgere il loro metabolismo basale prelevano una certa quantità di ossigeno dall' HbO_2 , che, quindi, si trasforma in deoxyHb. Ciò vuol dire che la presenza di deoxyHb determina una diminuzione del segnale nelle immagini pesate T_2^* .

Un esempio di come l'ossigenazione sanguigna influisca sulle costanti di rilassamento T_1 e T_2 è riportato nel grafico in Figura 2.2 [31].

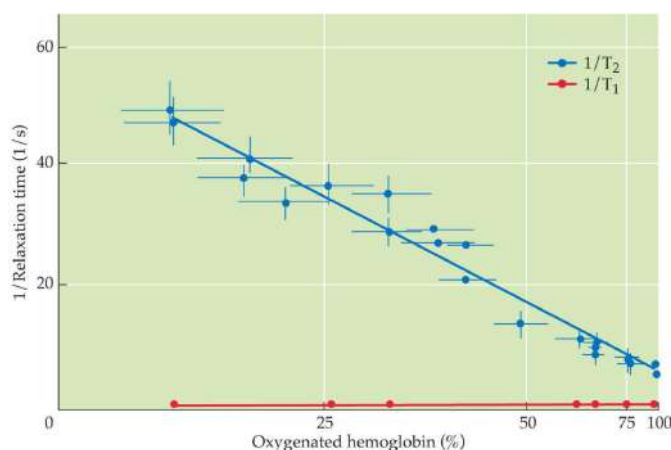


Figura 2.2: Effetto dell'emoglobina deossigenata sui tempi di rilassamento in risonanza magnetica. In blu è mostrato l'effetto della deoxyHb sul tempo di rilassamento trasversale espresso da $1/T_2$. In rosso è mostrato l'effetto della deoxyHb sul tempo di rilassamento longitudinale espresso da $1/T_1$.

Il tempo di rilassamento trasversale aumenta all'aumentare dell'ossigenazione sanguigna, mentre diminuisce in presenza di una maggiore concentrazione di emoglobina deossigenata in quanto questo porta ad un maggiore defasamento dovuto sia all'interazione spin-spin che alle inomogeneità locali di campo. Il tempo di rilassamento longitudinale invece non viene influenzato dall'ossigenazione del sangue. L'effetto sul tempo di rilassamento trasversale aumenta con il quadrato dell'intensità di campo magnetico statico. Infatti, in presenza di campo magnetico minore di 0.5 T, la differenza tra il T_2^* del sangue deossigenato e il T_2^* del sangue ossigenato è quasi nulla, invece questa differenza risulta evidente se il campo magnetico statico è maggiore o uguale a 1.5T. Per

tale motivo se si vogliono acquisire immagini che dipendono dalla concentrazione di emoglobina deossigenata è necessario un campo magnetico maggiore o uguale di 1.5T e le immagini che si ottengono sono pesate T_2^* . Quando i neuroni passano ad uno stato attivo, la loro richiesta di ossigeno aumenta e, quindi, il flusso ematico non solo aumenta ma, trasporta una quantità di HbO_2 maggiore rispetto allo stato basale. Il consumo effettivo di O_2 da parte dei neuroni però, è nettamente inferiore dell'apporto nell'area interessata; ciò significa che, nelle aree cerebrali attive, il flusso sanguigno porta una quantità di sangue ossigenato in eccesso ed elimina deoxyHb, per cui il rapporto tra le due forme di emoglobina è diverso tra lo stato attivo e inattivo. Quindi, nelle aree corticali attive, ci sarà un netto aumento della concentrazione di HbO_2 (Fig. 2.3) con conseguente diminuzione del rapporto deoxyHb/ HbO_2 che si traduce in un minor sfasamento degli spin dovuto a disomogeneità magnetiche causate da deoxyHb e, quindi, in un aumento del segnale NMR (pesato in T_2^*).

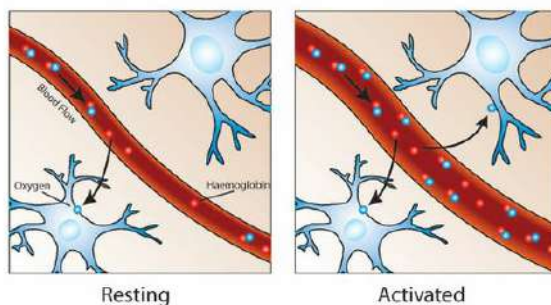


Figura 2.3: Aumento locale del flusso sanguigno dovuto ad un corrispondente aumento dell'attività neuronale, con conseguente aumento locale dell'ossiemoglobina.

Il segnale rilevato a seguito di un'attività neurale non è una conseguenza dell'aumento di ossiemoglobina ma è dovuto al fatto che durante lo stato attivo questa sostituisce l'emoglobina deossigenata nella zona di interesse; la diminuzione di deoxyHb causa un aumento del segnale RM. Per tale motivo, sequenze di impulsi RM sensibili a T_2^* manifestano un segnale RM più intenso nei distretti cerebrali in cui il flusso sanguigno è maggiormente ossigenato come si vede in Figura 2.4 (e, quindi, caratterizzati da un piccolo rapporto Hbr/HbO_2).

Durante l'attività cerebrale, quindi, l'aumento di ossiemoglobina con conseguente diminuzione dell'emoglobina deossigenata determina un aumento del segnale BOLD, cosicché le regioni attivate appariranno come regioni più intense sull'immagine RM funzionale (Figura 2.5). Ciò che permette di misurare

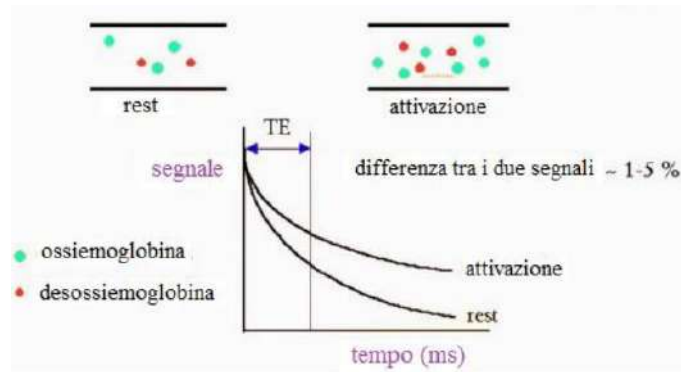


Figura 2.4: In figura è mostrato l'effetto, sul segnale MR pesato in T_2^* , della diminuzione locale di emoglobina deossigenata nelle aree attivate, rispetto a quelle in condizioni di rest. Questa variazione della concentrazione di desossiemoglobina comporta un aumento del segnale misurato nelle regioni caratterizzate da attività cerebrale.

l'attività cerebrale con la RM è dunque un eccesso di ossiemoglobina durante l'attività nervosa.

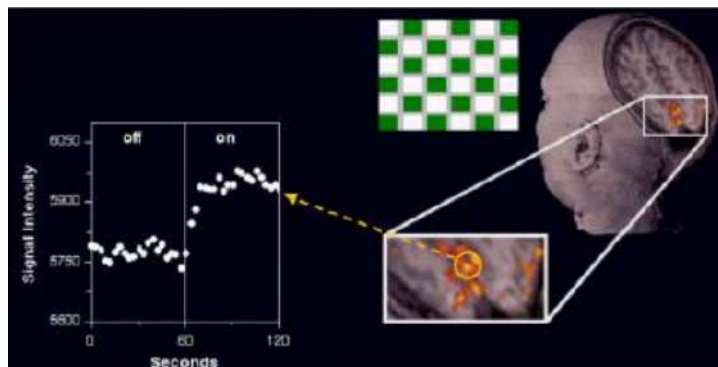


Figura 2.5: Le aree cerebrali attive possono essere localizzate con precisione analizzando il segnale fMRI proveniente da ogni area del cervello.

La variazione di segnale RM causata da modifiche dell'attività neurale viene definita come risposta emodinamica (o HDR). Allora, nell'ipotesi di generare un'immagine la cui intensità è basata sul parametro T_2^* è possibile ricavare una mappa spaziale relativa al livello di ossigenazione del sangue (da cui deriva il termine di segnale BOLD) e, quindi, indirettamente, relativa all'attivazione delle aree cerebrali. Sfruttando dunque la risposta emodinamica prodotta dall'attività neuronale, l'fMRI è in grado di identificare quali sono le aree del cervello attivate in seguito ad un particolare stimolo. Questa tecnica di neuroimaging permette di mappare l'attività cerebrale senza l'utilizzo di mezzi di contrasto esogeni come il Gadolinio.

L'andamento del segnale BOLD in seguito ad uno stimolo è mostrato in Figura 2.6 insieme al corrispondente andamento nel tempo del CBF e del CBV. Successivamente all'attivazione neuronale, si ha un aumento del $CMRO_2$

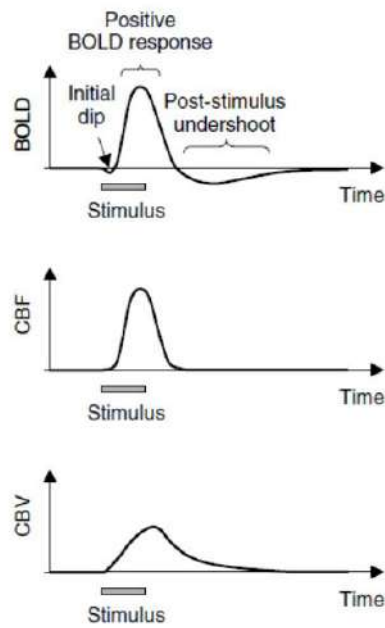


Figura 2.6: Andamento della risposta BOLD ad uno stimolo. Si evidenziano, in particolare, l'*initial dip*, il successivo aumento del segnale e l'*undershoot* finale.

e questo consumo di ossigeno porta ad una maggiore concentrazione di deossiemoglobina, che comporta una riduzione del segnale RM e quindi si ha l'*initial dip*. Subito dopo sia il CBF che il CBV aumentano, come si vede schematicamente dai grafici in figura, con effetti opposti: a causa dell'aumento del CBF, si ha il trasporto dell'ossigeno verso l'area di attivazione, portando ad una diminuzione nella concentrazione di deossiemoglobina e, quindi, ad un segnale più alto; al contrario un aumento nel CBV porta allo stesso tempo ad una maggiore concentrazione di deossiemoglobina, abbassando il segnale. Tuttavia l'aumento del flusso sanguigno è circa 2-4 volte maggiore rispetto all'aumento del $CMRO_2$ e del CBV, dando origine ad un segnale BOLD positivo che raggiunge un picco tra i 4 e i 6 secondi successivi allo stimolo. Dopo circa 10 s, sia il $CMRO_2$ che il CBF ritornano al loro livello basale, mentre il ritorno allo stato di equilibrio del CBV è più lento. Questo è causa dell'*undershoot* finale dovuto ad un'alta concentrazione di deossiemoglobina visto l'alto valore del volume ematico. Dopo aver raggiunto il minimo (*undershoot*), il segnale riprende ad aumentare fino a stabilizzarsi sul livello basale, precedente all'attivazione.

Si sottolinea che il segnale BOLD relativo ad un voxel, rappresenta la quantità totale di emoglobina deossigenata presente ma, può essere influenzato da una varietà di fattori, tra cui malattie, sedativi, ansia, farmaci vasodilatatori, attenzione (neuro-modulazione). Spesso il rumore raggiunge ampiezze prossime a quelle del segnale e questo è uno dei principali problemi nell'analisi

dei segnali BOLD fMRI. Inoltre, l'ampiezza del segnale BOLD non riflette necessariamente le prestazioni: un task cognitivo complesso può inizialmente portare ad un segnale intenso associato a buone prestazioni ma, a mano a mano che il soggetto si abitua, l'ampiezza, a parità di prestazioni, può diminuire. Questo rappresenta molto probabilmente il modo in cui il cervello ottimizza le risorse energetiche e l'impiego dei neuroni stessi per svolgere un determinato compito, minimizzando gli sprechi. I risultati sperimentali indicano che il segnale BOLD può essere stimato dai vasi più piccoli, quindi più vicini ai neuroni attivi, usando campi magnetici più intensi.

La risposta emodinamica (HDR), inoltre, non ha una forma costante, ma varia in funzione dello stimolo dal quale viene generata. Solitamente, un incremento della frequenza di stimolazione e, quindi, dell'attività nervosa aumenta l'ampiezza della HDR. Nel caso in cui i neuroni siano attivati in maniera continua, per esempio in conseguenza ad uno stimolo prolungato nel tempo, al picco di segnale fa seguito un plateau (Figura 2.7) [31].

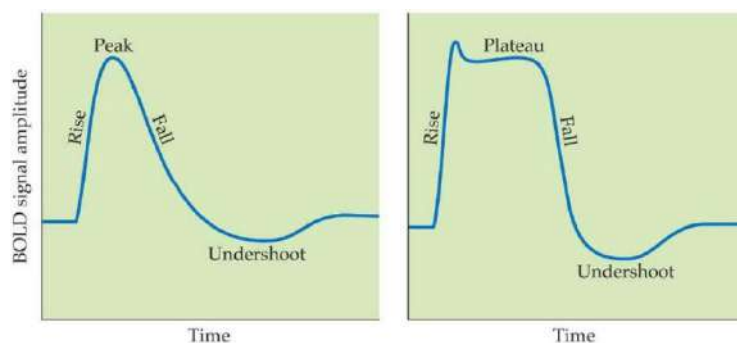


Figura 2.7: Rappresentazione schematica della forma della risposta emodinamica. La HDR varia in funzione dello stimolo. Nell'immagine di sinistra è rappresentata la HDR per uno stimolo impulsivo, mentre nell'immagine di destra è riportata la HDR per uno stimolo di durata maggiore.

Nel 1990, Seiji Ogawa dimostrò che con campi magnetici statici $B_0 \geq 1.5\text{ T}$ e immagini pesate T_2^* , è possibile misurare un segnale dipendente dal livello di emoglobina deossigenata, presente nelle diverse regioni cerebrali [30]. Nello specifico, le sostanze diamagnetiche riducono la disomogeneità del campo magnetico, infatti provocano un sfasamento minore generando un segnale RM pesato in T_2^* più intenso, mentre quelle paramagnetiche tendono ad aumentarla riducendo il segnale RM pesato in T_2^* [32].

2.1.2 Risoluzione spaziale

In un'immagine fMRI la risoluzione spaziale, cioè la capacità di distinguere il segnale proveniente da due voxel adiacenti, dipende da vari fattori. Innanzitutto è influenzata dalle dimensioni del voxel (volumetric pixel o più precisamente volumetric picture element) le cui dimensioni vengono determinate variando 3 parametri dello scanner: il campo di vista (FOV), la dimensione della matrice e lo spessore della fetta. Il FOV (Field Of View) o campo di vista è "l'estensione del volume registrato all'interno della fetta" ed è generalmente espresso in cm. La dimensione della matrice determina quanti voxel vengono acquisiti in ciascuna dimensione all'interno della fetta. Per facilitare la ricostruzione dell'immagine tramite la trasformata di Fourier, generalmente le dimensioni delle matrici vengono scelte come potenze di 2, ad esempio 64x64 o 256x256. Quindi, per esempio, se si considera un campo di vista di 24cm, ed una matrice di dimensioni 64x64, la dimensione del voxel risultante, nel piano, è 3.75 mm. Lo **spessore della fetta** determina la terza dimensione e generalmente è uguale o maggiore della dimensione del voxel nel piano (es. 5 mm). Quando lo spessore ha la stessa dimensione della risoluzione nel piano, allora il voxel è di forma cubica e la risoluzione viene detta isotropica. La risoluzione spaziale negli studi di risonanza magnetica funzionale, viene scelta cercando un buon compromesso tra rapporto segnale-rumore e tempi di acquisizione.

Poiché la variazione del segnale BOLD è dovuta alle variazioni sulla quantità totale di emoglobina deossigenata all'interno di ciascun voxel, riducendo il volume del voxel acquisito, per esempio di un fattore due, si ha il dimezzamento del segnale BOLD e, quindi, un basso rapporto segnale-rumore. Inoltre, al diminuire della dimensione del voxel aumenta il tempo necessario per l'acquisizione di un dato volume del cervello. Tuttavia l'utilizzo di voxel troppo grandi comporta una riduzione del potere di rilevamento, quindi, è necessario trovare un buon compromesso in base al tipo di informazione che si vuole ottenere.

2.1.3 Risoluzione temporale

La risonanza magnetica funzionale permette di distinguere tra due eventi che avvengono a distanza di pochi secondi l'uno dall'altro. Se nel caso della risoluzione spaziale l'unità base del campionamento è il voxel, nel caso della risoluzione temporale è il tempo di ripetizione (TR) che, a seconda del tipo di esperimento, può essere molto breve (500 ms) o molto lungo (3000 ms).

Al diminuire del tempo di ripetizione è possibile risolvere meglio l'andamento della risposta emodinamica come si vede dall'esempio in Figura 2.8.

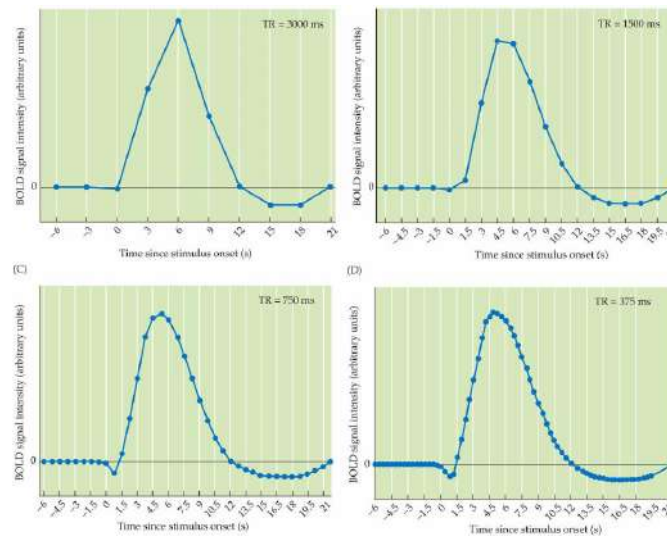


Figura 2.8: Effetto del tempo di campionamento TR sulla forma della risposta emodinamica.

2.1.4 Design sperimentale

Il tipico esperimento fMRI consiste nella presentazione di una serie di stimoli/eventi durante la registrazione del segnale BOLD. La registrazione riguarda una serie di immagini tridimensionali che comprendono tutto il cervello, acquisite a un ritmo di un'immagine ogni 2÷3 s. Nel corso dell'esperimento lo stesso stimolo viene presentato decine di volte e vengono acquisite centinaia di immagini BOLD. L'analisi statistica dei dati è finalizzata a stabilire se e dove nel cervello si verificano variazioni sistematiche del segnale BOLD in corrispondenza della presentazione degli stimoli. Le misurazioni ottenute per fMRI dell'attività legata al compito svolto dal soggetto in sede sperimentale possono essere rapportate direttamente alle immagini anatomiche tridimensionali del soggetto. Il disegno sperimentale rappresenta l'organizzazione della sessione di acquisizione: in base alle caratteristiche dello specifico stimolo è possibile indurre delle precise variazioni nel segnale BOLD, le quali sottendono alle ipotesi testate. Esistono principalmente tre tipologie di disegno sperimentale: blocked design, event-related design e mixed design (Figura refdesignsperimentale).

Nel disegno sperimentale **blocked design** vengono alternati nel tempo degli intervalli di task e degli intervalli di rest. Il blocco di task è composto da una serie di stimoli uguali e successivi, che possono essere motori, sensitivi o cognitivi, mentre durante il blocco di rest il soggetto rimane in condizioni di

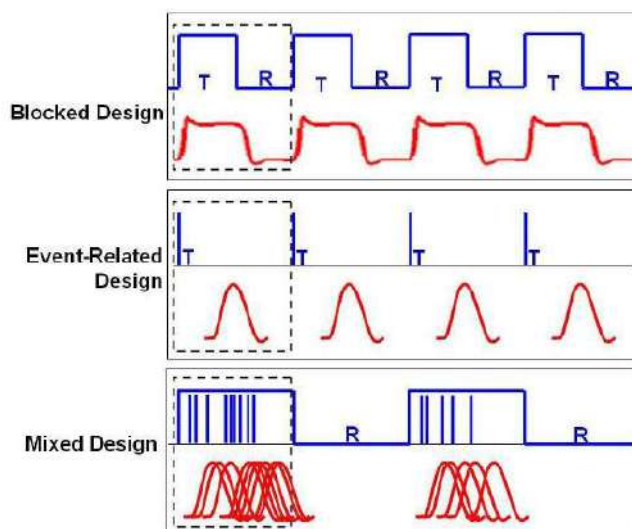


Figura 2.9: Schematizzazione dei tre disegni sperimentali utilizzati in fMRI. In blu viene rappresentato l'alternarsi di condizioni di task e di rest, mentre in rosso si riproduce la risposta emodinamica attesa. Nella finestra in alto si trova il blocked design, in quella centrale l'event related design e in quella in basso il mixed design.

riposo. Queste due condizioni sono necessarie per poter ottenere delle informazioni sulle aree che si attivano, confrontando il BOLD acquisito tra la fase di attivazione con quello basale. Il disegno sperimentale a blocchi, grazie al fatto che le risposte ai singoli stimoli ripetuti numerosamente si sommano fra loro in modo lineare, permette di avere un elevato rapporto segnale-rumore (SNR) e, quindi, un alto potere di discriminazione dei voxel. Tuttavia, è un metodo poco sensibile alla forma della HDR ed il suo utilizzo è limitato solamente ad alcune tipologie di task. Inoltre, vista la durata dell'intervallo di stimolazione, si rilevano frequentemente dei movimenti indesiderati del soggetto, che inficiano la qualità del segnale acquisito. Il disegno sperimentale **event-related**, a differenza del blocked design, presenta gli stimoli singolarmente e in modo random. Il task ha, quindi, una durata limitata e si presenta in maniera casuale, sia nel tempo che nell'ordine di esecuzione (nel caso in cui stimoli diversi siano presenti nella stessa sessione). L'intervallo temporale che separa due eventi successivi è detto interstimulus interval (ISI) e, assume tipicamente, valori nel range 2-20 s. Il segnale BOLD che si acquisisce in questo caso è notevolmente più debole rispetto a quello relativo ad un blocco ed è maggiormente corrotto da rumore, dal momento che rappresenta la risposta ad un singolo evento. Per migliorare l'SNR è necessario acquisire più scansioni cerebrali complete. Il fatto di presentare lo stimolo in maniera random, permette di evitare fenomeni di abitudine o di apprendimento da parte del soggetto, il che potrebbe dar luogo a

strategie neurali compensatorie, che andrebbero ad inficiare la determinazione delle aree di attivazione dello specifico stimolo. L'event-related design permette di stimare efficacemente l'andamento temporale della risposta emodinamica, in quanto, tra uno stimolo e l'altro, il segnale BOLD ha il tempo di tornare al livello basale. Due eventi successivi devono, pertanto, essere separati da un intervallo di tempo minimo: se questa condizione non viene rispettata, la HDR misurata non è corretta. Il valore dell'ISI è dunque cruciale ma, spesso non è possibile stabilire a priori il suo valore ottimale. Il terzo tipo di disegno sperimentale è il **mixed design**, nel quale gli stimoli vengono presentati in modo casuale all'interno di blocchi temporali. Potenzialmente, questo metodo permette una maggior potenza sperimentale, ma il grosso limite alla sua applicabilità è costituito dalla complessa fase di analisi richiesta. In conclusione, non esiste un disegno sperimentale ottimale ma, la scelta dello stesso dipende dallo scopo del singolo esperimento fMRI.

2.1.5 fMRI nei disturbi neuropsichiatrici

La fMRI ha determinato negli anni un impatto veramente importante nelle scoperte biomediche. Sebbene si siano proposti nuovi validi protocolli di pianificazione preoperatoria neurochirurgica e di valutazione clinica neurologica mediati dalla fMRI, il campo in cui questa è maggiormente impiegata è quello delle neuroscienze cognitive. Dal 1990 in poi, la fMRI è stata la tecnologia più usata negli studi pubblicati su *The Journal of Cognitive Neuroscience*, rappresentando addirittura il 52% degli articoli nel 2010. Diversi sono i domini cerebrali così studiati, con una lista che include quelli associati alla memoria, ai circuiti della ricompensa, e il Default Mode Network tra i più interessanti. L'avvento della fMRI ha provocato una tale "rivoluzione" delle neuroscienze cognitive da generare, oltre ad un generale rigoglio di pubblicazioni in differenti riviste del settore, la fondazione di giornali totalmente nuovi come *Social Neuroscience* e *Social Cognitive and Affective Neuroscience*. Fra le diverse funzioni superiori studiate tramite neuroimaging funzionale, alcune delle più interessanti risultano essere il libero arbitrio ed il decision-making. Anche in questo campo, da sempre prerogativa di studio da parte della psicologia e della filosofia, le neuroscienze hanno introdotto nuove evidenze relative alla meccanicità dei processi: Soon et al. nel 2008 hanno scoperto che il cervello raggiunge una decisione finale relativamente ad una azione 10 secondi prima che questa diventi consciamente visualizzata, probabilmente per preparare un intero sistema di controlli superiori relativi alla messa in atto [33].

2.2 DTI-Diffusion Tensor Imaging

La tecnica di Risonanza Magnetica basata sulla misura del Tensore di Diffusione (*Diffusion Tensor Magnetic Resonance Imaging, DT-MRI*, o semplicemente *Diffusion Tensor Imaging, DTI*) permette di sensibilizzare l'intensità del segnale NMR al processo di diffusione delle molecole di acqua all'interno dei tessuti. Tale tecnica fornisce gli strumenti per quantificare il grado di anisotropia delle diverse regioni del tessuto indagato e, tramite la stima della principale direzione di diffusione delle molecole di acqua all'interno di ciascun voxel, permette di inferire le caratteristiche spaziali delle principali strutture eventualmente presenti. La tecnica DTI trova la sua principale applicazione in campo neurologico.

2.2.1 Diffusione

All'interno di un campione di un fluido qualsiasi le molecole sono soggette ad un continuo moto casuale di origine termica. Questo fenomeno prende il nome di moto Browniano, dal nome del botanico scozzese Robert Brown (1773-1858) che per primo lo osservò e ne descrisse le caratteristiche [34]. Il moto di ciascuna molecola all'interno del fluido risulta indipendente dal comportamento delle altre molecole. Tuttavia, le collisioni tra le molecole provocano reciproci spostamenti, di natura casuale e senza una direzione preferenziale, che dà luogo al fenomeno della diffusione. Il cammino delle molecole, pertanto, risulta in un percorso casuale denominato *random walk*.

Sebbene il fenomeno della diffusione sia il risultato di processi casuali, esso è governato da un meccanismo guida che presenta caratteristiche dipendenti dalla natura del campione e dalla sua temperatura.

Nel caso di liquidi di diversa natura la diffusione dell'uno all'interno dell'altro è descritta in termini del gradiente di concentrazione della sostanza che diffonde. Tale processo è stato descritto da Fick nel 1855 [35] con la prima legge di diffusione secondo la quale il flusso, F , di una sostanza in fase di diffusione lungo una particolare direzione, x , risulta proporzionale al gradiente della concentrazione, C , della stessa sostanza in quella direzione:

$$F = -D \frac{\partial C}{\partial x} \quad (2.1)$$

il segno negativo tiene conto del fatto che la diffusione avviene in direzione opposta a quella del gradiente di concentrazione.

La quantità D rappresenta il termine di proporzionalità tra le due grandezze e prende il nome di coefficiente di diffusione.

Facendo uso della legge di conservazione della massa, secondo cui il rate di crescita della concentrazione eguaglia il gradiente del flusso: $(\partial C/\partial t = -\frac{\partial F}{\partial x})$, si deriva la seconda legge di diffusione di Fick, che descrive il meccanismo della diffusione unidimensionale esclusivamente in termini delle derivate spaziali e temporali della concentrazione, C :

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \quad (2.2)$$

Nel caso in cui il processo di diffusione presenti le stesse caratteristiche lungo qualsiasi direzione dello spazio, il comportamento globale viene descritto dall'estensione della [2.2](#) alle tre direzioni del sistema di riferimento:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \left(\frac{\partial^2 C}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} \right) = D \nabla^2 C \quad (2.3)$$

La probabilità che una molecola abbia subito uno spostamento pari ad X nell'intervallo di tempo t presenta una distribuzione normale (gaussiana):

$$P(X, t) = \frac{1}{\sqrt{4Dt}} e^{-\frac{X^2}{4Dt}} \quad (2.4)$$

Nei tessuti biologici, invece, il fenomeno di diffusione al quale si è interessati e che viene sfruttato per l'imaging in ambito clinico è rappresentato dal comportamento delle molecole dell'acqua in acqua [\[36\]](#). In questa particolare circostanza il processo di diffusione al quale sono soggette le molecole del fluido prende il nome di auto-diffusione. Il fenomeno dell'auto-diffusione descrive il comportamento di una molecola all'interno di un fluido omogeneo ed è provocato dall'agitazione termica delle molecole piuttosto che da gradienti di concentrazione. L'analisi precedentemente svolta per il processo di diffusione può essere estesa al processo di auto-diffusione. In particolare, anziché descrivere il processo in termini di concentrazione, si fa uso di una funzione che descrive la probabilità, $P(\mathbf{r}'' - \mathbf{r}', t)$, che la particella abbia effettuato uno spostamento dalla posizione \mathbf{r}' alla posizione \mathbf{r}'' nell'intervallo di tempo t . In assenza di ostacoli al libero movimento delle molecole e in mezzi in cui le caratteristiche di anisotropia non dipendono dalla particolare posizione all'interno del campione tale probabilità è indipendente dalla posizione iniziale della molecola e può essere facilmente applicata a tutte le molecole del campione sotto forma di $P(\mathbf{R}, t)$, dove $\mathbf{R} = \mathbf{r}'' - \mathbf{r}'$ rappresenta il vettore di spostamento rela-

tivo.

La [2.3](#) può essere espressa come:

$$\frac{\partial P}{\partial t} = D\nabla^2 P \quad (2.5)$$

dove, in questo caso, il termine D assume il significato di coefficiente di autodiffusione. Estendendo l'analisi allo spazio tridimensionale, se l'autodiffusione presenta le stesse caratteristiche in qualsiasi direzione dello spazio la soluzione della [2.5](#) prende la forma di una distribuzione normale:

$$P(\mathbf{R}, t) = \frac{1}{\sqrt{4D\pi t}} e^{-\frac{\mathbf{R}^2}{4Dt}} \quad (2.6)$$

che risulta l'equivalente tridimensionale della [2.4](#).

Il cammino quadratico medio, ovvero il valore medio del quadrato degli spostamenti effettuati dalle molecole del campione nell'intervallo di tempo t , può essere calcolato tramite la formula:

$$\langle \mathbf{R}^2 \rangle = \int_{-\infty}^{+\infty} r^2 P(\mathbf{R}, t) d\mathbf{R} = 6Dt \quad (2.7)$$

Questa relazione, nota anche come equazione di Einstein [37](#), mostra come il cammino quadratico medio della particella dipenda dal coefficiente di autodiffusione, D .

Diffusione Isotropa e Diffusione Anisotropa

La diffusione di una particella all'interno di un fluido dipende dalle caratteristiche del mezzo in cui diffonde. L'eventuale presenza di ostacoli e di barriere, infatti, influenza il processo di diffusione della particella, determinando diverse tipologie di diffusione all'interno di un mezzo.

In generale, si parla di diffusione isotropa quando il mezzo in cui avviene il processo di diffusione non presenta alcuna direzione privilegiata per il processo stesso. In questi casi il mezzo viene detto isotropo. In un fluido puro, ovvero in assenza di corpi estranei, la diffusione di una particella viene definita *diffusione libera*.

All'interno dei tessuti organici le membrane cellulari, le macromolecole, le catene proteiche e i fasci di fibre muscolari e cerebrali rappresentano ostacoli e barriere al processo di diffusione delle molecole di acqua. La particolare struttura del tessuto e l'eventuale organizzazione degli ostacoli determina ca-

ratteristiche diverse per il processo di diffusione.

In presenza di ostacoli e barriere con una particolare organizzazione strutturale la diffusione delle particelle differisce a seconda delle direzioni nello spazio. In questi casi si parla di *diffusione anisotropa*.

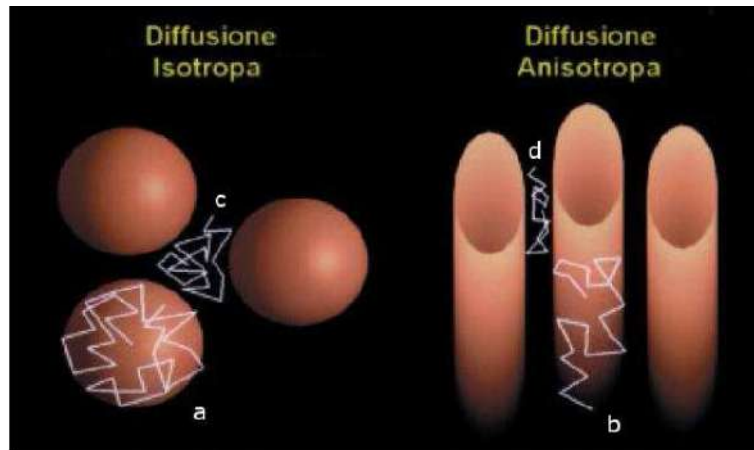


Figura 2.10: Diversi tipi di diffusione.

In Fig. 2.10 sono riportati diversi tipi di diffusione isotropa e anisotropa in presenza di ostacoli e barriere [38]. Le membrane cellulari del fascio di fibre determinano una minore diffusione delle particelle sul piano perpendicolare alla direzione di elongazione delle fibre. Poichè la presenza di ostacoli e barriere influenza il cammino libero medio di una particella, il coefficiente di diffusione, D , appare sensibilmente ridotto rispetto al corrispondente coefficiente nel caso di fluido puro. Per questo motivo, in presenza di ostacoli al processo di diffusione la quantità D prende il nome di *coefficiente di diffusione apparente* (ADC) [39].

In ambito neurologico, la presenza di fasci di fibre compatte rappresentate dagli assoni neuronali della materia bianca rende la diffusione delle molecole di acqua fortemente anisotropa [39]. All'interno della materia bianca, vengono individuati due tipologie principali di diffusione: la diffusione ristretta intra-assonale e la diffusione ostacolata extra-assonale.

2.2.2 Rivelazione dei Processi Diffusivi in Risonanza Magnetica Nucleare

Il fenomeno di diffusione a cui è soggetto un campione di spin per effetto dell'agitazione termica altera il processo di generazione del segnale NMR. Tale influenza venne sperimentata per la prima volta nel 1950 da Hahn [27]. Egli

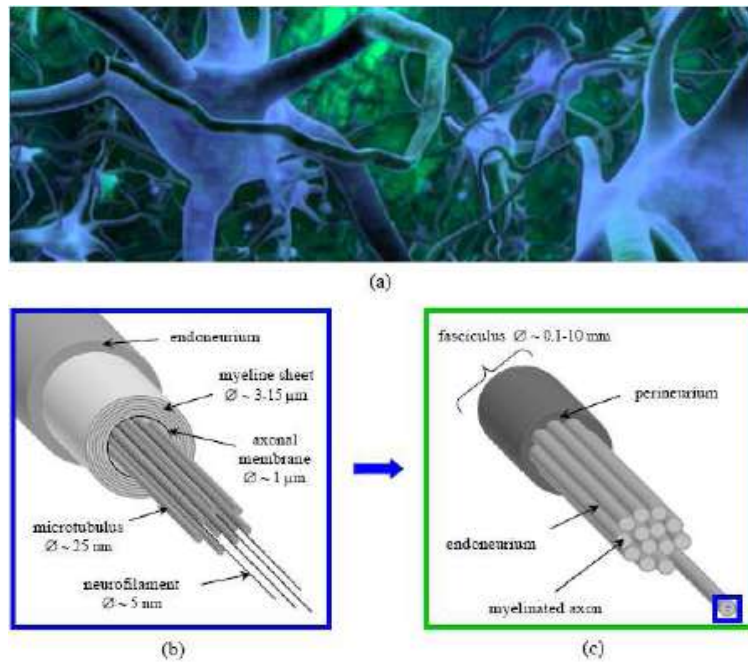


Figura 2.11: Schematizzazione dei fasci di fibre neuronali. a) La materia bianca dell'encefalo è essenzialmente costituita da fibre neuronali, in particolare dagli assoni dei neuroni che connettono diverse aree della corteccia cerebrale tramite un complesso sistema di sinapsi; b) Rappresentazione di un fascio di fibre neuronali.

attribuì una eccessiva riduzione nel segnale NMR di una tipica sequenza spin-eco allo sfasamento degli spin causato dal processo di diffusione all'interno di un campo magnetico inomogeneo.

Sfruttando questo fenomeno, nel 1954 Carr e Purcell [40] proposero particolari sequenze NMR, basate sulla sequenza spin eco proposta da Hahn, al fine di sensibilizzare il segnale NMR al fenomeno di diffusione (*pesatura in diffusione*). La particolarità di tali sequenze risiedeva nell'applicazione di un gradiente di campo magnetico per tutta la durata della sequenza spin eco. In questa maniera, l'effetto delle disomogeneità di campo magnetico osservato da Hahn veniva amplificato dall'applicazione del gradiente di campo.

Nel 1956 Torrey [41] propose l'estensione delle equazioni di Bloch al meccanismo di diffusione al fine di descrivere l'effetto di tale processo sulle componenti della magnetizzazione. Egli introdusse un coefficiente scalare di diffusione che descriveva il fenomeno della diffusione in un mezzo isotropo, ovvero la diffusività di un sistema di spin.

Nel 1965 Stejskal e Tanner [42] proposero una particolare sequenza di acquisizione, denominata *PFGE* (*Pulsed Field Gradient SpinEco*), basata sull'applicazione di particolari gradienti di campo magnetico. Tale tecnica di rivelazione del segnale di diffusione rese possibile la determinazione del coeffi-

ciente di diffusione introdotto da Torrey.

Stejskal e Tanner [42] proposero, inoltre, l'estensione delle equazioni di Bloch ai meccanismi di diffusione in mezzi anisotropi, introducendo il "tensore di diffusione".

Nel 1994 Basser et al. [43] proposero un formalismo più rigoroso per la definizione e la determinazione del tensore di diffusione, rendendo possibile la completa estrazione e caratterizzazione degli effetti della diffusione in mezzi anisotropi [44].

La pesatura in diffusione di un segnale NMR proposta da Stejskal e Tanner [42] si basa sugli effetti dell'applicazione di un set di gradienti di campo magnetico su un sistema di spin.

La Fig. 2.12 mostra l'effetto dell'applicazione di due gradienti bipolari (con verso opposto), sul moto di precessione di una coppia di spin [45, 46].

Questi ultimi sono rappresentati da due dischi di diverso colore, mentre la

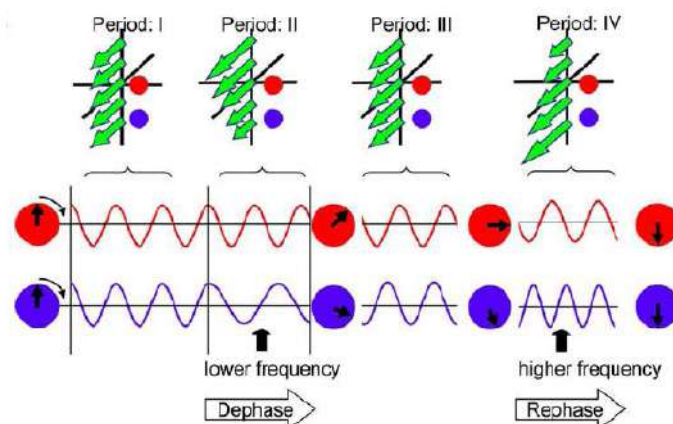


Figura 2.12: Effetto di una coppia di gradienti di diffusione bipolari sul moto di precessione di due spin. In assenza di un gradiente di campo magnetico, entrambi gli spin compiono un moto di precessione alla frequenza di Larmor (periodo I); l'applicazione di un gradiente lungo la direzione verticale comporta uno sfasamento nel moto di precessione degli spin (periodo II); al termine dell'applicazione del primo gradiente gli spin riprendono il moto di precessione alla frequenza ω_0 (periodo III), conservando la differenza di fase accumulata nella fase precedente; l'applicazione di un secondo gradiente di pari intensità e per un intervallo di tempo pari al primo gradiente comporta il completo rifasamento degli spin.

frecce all'interno di ciascuno di essi indica il corrispondente momento magnetico nucleare. La parte superiore della figura mostra l'azione dei gradienti sull'intensità del campo magnetico totale percepito dagli spin, mentre nella parte inferiore viene schematizzato l'andamento della componente trasversale del momento magnetico. Nel primo periodo, entrambi gli spin sono soggetti allo stesso campo magnetico statico, \mathbf{B}_0 , lungo l'asse z e, pertanto, effettua-

no un moto di precessione attorno ad esso alla frequenza di Larmor, pari a $\omega_0 = \gamma B_0$. Nel secondo periodo, l'applicazione del primo gradiente, \mathbf{G} , lungo il verso positivo dell'asse y altera in maniera lineare l'intensità del campo totale, \mathbf{B} , percepito dagli spin, che risulta, pertanto, funzione della corrispondente posizione, y , lungo la direzione di applicazione del gradiente: $B(y) = B_0 + G_y y$. Di conseguenza, gli spin compiono un moto di precessione con frequenze di Larmor differenti, $\omega_y = \gamma B(y)$, generando uno sfasamento reciproco nel loro moto di precessione. Al termine dell'applicazione del gradiente gli spin riprenderanno il moto di precessione alla frequenza di Larmor, ω_0 , ma presenteranno la differenza di fase accumulata durante il periodo precedente. L'applicazione di un secondo gradiente con polarità opposta, ovvero lungo il verso negativo dell'asse y , agisce sulla coppia di spin in maniera opposta al primo, comportando una riduzione dello sfasamento reciproco tra gli spin. L'applicazione di gradienti di pari intensità, G , per lo stesso intervallo di tempo δ , determina un completo rifasamento degli spin. Per il ruolo che svolgono nel processo di pesatura in diffusione, i gradienti applicati prendono il nome di gradienti di diffusione.

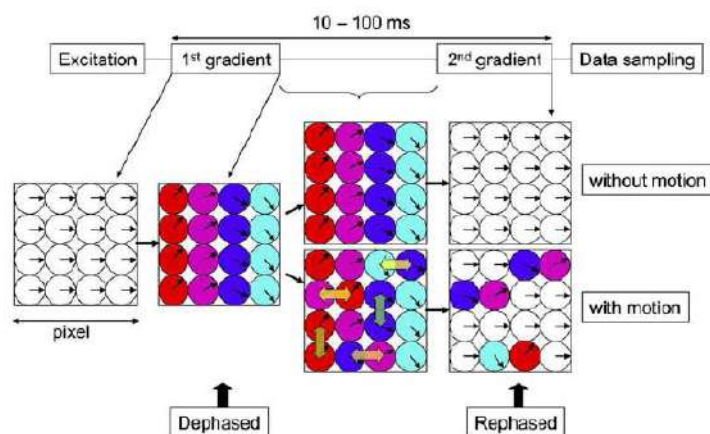


Figura 2.13: Effetto di una coppia di gradienti di diffusione bipolari su un campione spin. Lo sfasamento indotto dall'applicazione del primo gradiente di campo dipende dalla posizione di ciascuno spin all'interno del campione; se nell'intervallo di tempo tra l'applicazione dei due gradienti (tempo di diffusione, Δ) alcuni spin cambiano posizione all'interno del campione, l'applicazione del secondo gradiente non è in grado di determinare il completo rifasamento della magnetizzazione, risultante in una diminuzione del segnale NMR rispetto al caso privo di moto degli spin.

In Fig. 2.13 viene schematizzato l'effetto di una coppia di gradienti bipolari su un campione di spin [47]. Il perfetto rifasamento degli spin ad opera del secondo gradiente di diffusione applicato avviene solamente sotto l'ipotesi che gli spin non subiscano spostamenti tra l'applicazione di un gradiente e il

successivo. Questa condizione garantisce che la differenza di fase creata dal primo gradiente possa essere completamente annullata dal secondo gradiente. In presenza di un processo di diffusione l'azione del secondo gradiente non garantisce il completo rifasamento degli spin. L'applicazione di un set di gradienti bipolari su un sistema di spin, la cui magnetizzazione è stata preventivamente spostata sul piano xy da un impulso a 90° , genera un segnale FID che decade relativamente velocemente con tempo caratteristico T_2^* . Un set di gradienti bipolari, dunque, limita le potenzialità della pesatura in diffusione, riducendo i tempi di acquisizione del segnale.

Stejskal e Tanner [42] proposero una pesatura in diffusione del sistema di spin tramite l'applicazione di un set di gradienti unipolari, ovvero applicati nello stesso verso, durante una sequenza spin eco standard. La sequenza spin-eco prevede l'applicazione successiva di due impulsi, a 90° e a 180° rispettivamente, separati da un intervallo di tempo pari a $TE/2$ (dove TE è il tempo di eco).

Ai fini del campionamento del segnale, la sequenza spin-eco viene applicata ripetutamente, ad intervalli di tempo TR (tempo di ripetizione).

Nella tecnica proposta da Stejskal e Tanner, l'inversione del sistema di spin causato dall'impulso a 180° della sequenza spin eco richiede l'applicazione di un secondo gradiente nella stessa direzione affinché lo sfasamento introdotto dal primo gradiente possa essere annullato. Questa sequenza, denominata *PFGE* (*Pulsed Field Gradient Spin Eco*), essendo basata sulla sequenza spin eco standard, genera un segnale FID la cui intensità, campionata ad istanti di tempo multipli del tempo di eco (TE), decade con una costante di tempo, T_2 sensibilmente più lunga del tempo T_2^* . L'adozione di un set di gradienti unipolari, pertanto, permette di disporre di un tempo di acquisizione del segnale sensibilmente più lungo rispetto ad una pesatura in diffusione con un set di gradienti bipolari. In Fig. 2.14 viene riportato il diagramma temporale della sequenza PFGSE. I due gradienti, applicati rispettivamente dopo gli impulsi a 90° e a 180° della sequenza spin eco, presentano le stesse caratteristiche: ciascuno dei gradienti ha intensità pari a G e viene applicato per un intervallo di tempo δ . L'applicazione dei due gradienti è separata da un intervallo di tempo Δ .

L'Equazione di Bloch-Torrey

Nel 1956 Torrey [41] propose l'estensione delle equazioni di Bloch al meccanismo di diffusione, per descriverne l'effetto sulle componenti della magnetiz-

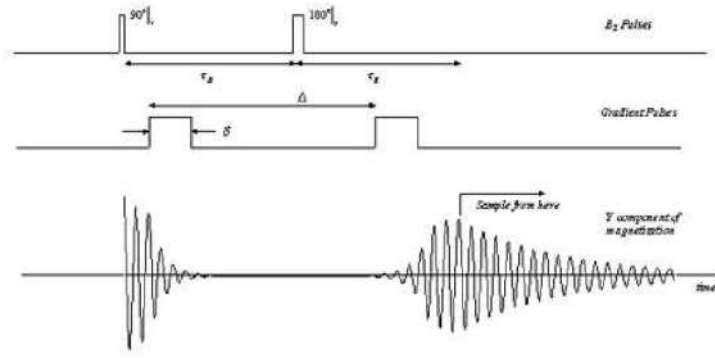


Figura 2.14: Schema temporale della sequenza di acquisizione PFGSE.

zazione. La soluzione per la componente trasversale delle equazioni di Bloch risulta:

$$M_{xy}(t) = M_{xy}(0)e^{-\frac{t}{T_2} - j\mathbf{k}(t)\mathbf{r}} \quad (2.8)$$

Scegliendo una particolare applicazione di gradienti per cui $\mathbf{k}(TE) = 0$, la [2.8](#) al tempo di eco, TE , vale:

$$M_{xy}(TE) = M_{xy}(0)e^{-\frac{TE}{T_2}} \quad (2.9)$$

Pertanto, se l'applicazione di un gradiente di campo magnetico, \mathbf{G} , verifica la condizione $\mathbf{k}(TE) = 0$, l'effetto totale sul sistema di spin nucleari è nullo e il segnale registrato in una tipica sequenza spin eco mostrerà unicamente il decadimento dovuto al rilassamento trasversale.

La [2.9](#) rappresenta un riscontro a quanto detto precedentemente riguardo la pesatura in diffusione. Infatti, un set di gradienti bipolari di pari durata ed intensità verifica la condizione $\mathbf{k}(TE) = 0$.

Per il set di gradienti unipolari impiegati nella sequenza PFGSE la condizione rimane verificata, tenendo conto dell'inversione degli spin causata dall'impulso a 180° della sequenza spin eco.

Il processo di diffusione degli spin durante la fase di rilassamento determina, come visto in precedenza, un ulteriore decadimento della componente trasversale, M_{xy} , dovuto allo sfasamento tra i loro moti di precessione.

L'estensione dell'equazione di Bloch per la componente di magnetizzazione trasversale proposta da Torrey presenta un termine diffusivo:

$$\frac{dM_{xy}}{dt} = -j\gamma(\mathbf{G} \cdot \mathbf{r})M_{xy} - \frac{1}{T_2}M_{xy} + D\nabla^2 M_{xy} \quad (2.10)$$

Il coefficiente scalare D della [2.10](#) corrisponde al coefficiente di proporzionalità della [2.1](#) e prende il nome di coefficiente di diffusione.

La [2.10](#), nota come equazione di Bloch-Torrey, ha come soluzione:

$$M_{xy}(t) = M_{xy}(0)e^{-\frac{t}{T_2} - j\mathbf{k}(t)\cdot\mathbf{r}} \exp\left(-D \int_0^t |\mathbf{k}(\tau)|^2 d\tau\right) \quad (2.11)$$

Analogamente a quanto visto prima, se i gradienti di campo verificano la condizione $\mathbf{k}(TE) = 0$, la [2.11](#) vale:

$$M_{xy}(TE) = M_{xy}(0)e^{-\frac{TE}{T_2}} \exp\left(-D \int_0^{TE} |\mathbf{k}(\tau)|^2 d\tau\right) \quad (2.12)$$

Definendo il valore di sensibilità in diffusione, noto come b - *value*:

$$b = \int_0^{TE} |\mathbf{k}(\tau)|^2 d\tau' = \gamma^2 \int_0^{TE} \left(\int_0^{\tau'} G(\tau) d\tau \right)^2 d\tau' \quad (2.13)$$

la [2.12](#) può essere riscritta nella forma:

$$M_{xy}(TE) = M_{xy}(0)e^{-\frac{TE}{T_2}} e^{-bD} \quad (2.14)$$

L'intensità del segnale rivelato dal sistema di ricezione, pertanto, dipende dal valore di sensibilità in diffusione, b - *value* :

$$S(b) = S(0)e^{-bD} \quad (2.15)$$

dove $S_0 = S(0)$, ovvero il segnale registrato senza l'applicazione del gradiente di campo magnetico. Servendosi della dipendenza in [2.15](#), Stejskal e Tanner effettuarono una stima del coefficiente di diffusione di un campione di spin tramite la conduzione di due acquisizioni a differenti b - *value*. Per una coppia di gradienti di diffusione di pari intensità G , durata δ , e i cui istanti di applicazione siano separati da un intervallo di tempo Δ , il b - *value* vale:

$$b = \gamma^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3) G^2 \quad (2.16)$$

Mantenendo costanti i parametri di acquisizione TR e TE , il rapporto tra i segnali acquisiti elimina la dipendenza da S_0 e fornisce un metodo di stima diretto per il coefficiente di diffusione:

$$\frac{S_2}{S_1} = e^{-(b_2 - b_1)D} \implies D = -\frac{1}{(b_2 - b_1)} \ln\left(\frac{S_2}{S_1}\right) \quad (2.17)$$

Effettuando una delle due acquisizioni senza l'applicazione del gradiente di diffusione ($b_1 = 0$), la [2.17](#) si riduce a:

$$\frac{S}{S_0} = e^{-bD} \implies D = -\frac{1}{b} \ln \left(\frac{S}{S_0} \right) \quad (2.18)$$

Pertanto, effettuando un'acquisizione con pesatura in diffusione (sequenza PFGSE) e una acquisizione senza l'applicazione del gradiente di diffusione (spin eco standard), la [2.18](#), denominata formula di Stejskal - Tanner, permette di determinare il coefficiente di diffusione, D , di un sistema di spin lungo la particolare direzione di applicazione del gradiente (Apparent Diffusion Coefficient, ADC).

Poiché, per quanto descritto in precedenza, la pesatura in diffusione si basa sulla diffusività del sistema di spin lungo la direzione di applicazione del gradiente, la stima del coefficiente D tramite l'applicazione della [2.18](#) nel caso di mezzi isotropi risulta indipendente dalla particolare direzione di applicazione del gradiente di diffusione.

In presenza di un mezzo anisotropo, invece, a causa della differente diffusività del sistema di spin lungo direzioni differenti dello spazio, la [2.18](#) porta alla determinazione di differenti valori di D , a seconda della direzione di applicazione del gradiente.

Stejskal e Tanner riscrissero le equazioni di Bloch per tenere conto della natura tridimensionale dei meccanismi di diffusione di un campione di spin. Nella sua trattazione generale, la dipendenza della magnetizzazione trasversale dal processo di diffusione prende la forma:

$$\frac{dM_{xy}}{dt} = -j\gamma(\mathbf{G} \cdot \mathbf{r})M_{xy} - \frac{1}{T_2}M_{xy} + \nabla^T(\mathbf{D}\nabla M_{xy}) \quad (2.19)$$

dove \mathbf{D} è un tensore 3×3 , del 2° ordine, denominato "Tensore di Diffusione". Esprimendo il gradiente di campo magnetico in funzione del versore, \hat{g} , che ne identifica la direzione di applicazione:

$$\mathbf{G}(t) = (G_x(t), G_y(t), G_z(t)) = G(t)(g_x, g_y, g_z)^T = G(t)\hat{g} \quad (2.20)$$

la [2.12](#) può essere riscritta nella forma:

$$M_{xy}(TE) = M_{xy}(0)e^{-\frac{TE}{T_2}}e^{-b\hat{g}^T D \hat{g}} \quad (2.21)$$

In presenza di mezzi anisotropi, pertanto, l'intensità del segnale NMR dipende dal valore di sensibilità in diffusione, b -value, e dalla direzione di applicazione

del gradiente di diffusione, \hat{g} :

$$S(b) = S_0 e^{-b\hat{g}^T D \hat{g}} \quad (2.22)$$

La presenza nei tessuti organici di barriere rappresentate da membrane cellulari, filamenti proteici e fasci di fibre determina una situazione di anisotropia del tessuto. In particolare, un'organizzazione strutturale del tessuto in fasci fibre allineate lungo una determinata direzione condiziona in maniera significativa il processo di diffusione delle molecole di acqua causando una apparente riduzione del coefficiente di diffusione, differente a seconda delle diverse direzioni dello spazio. Pertanto, al fine di caratterizzare il processo di diffusione risulta necessario effettuare misurazioni del segnale lungo diverse direzioni dello spazio. La [2.22](#) fornisce gli strumenti per caratterizzare il processo tramite la determinazione del tensore di Diffusione, \mathbf{D} , alla base della tecnica di ricostruzione denominata DTI.

2.2.3 La tecnica DTI

Tensore di Diffusione

Il tensore di Diffusione, \mathbf{D} , introdotto nella [2.19](#), descrive il meccanismo della diffusione del campione di spin all'interno del mezzo in esame. Il tensore di Diffusione viene rappresentato da una matrice di dimensioni 3×3 , simmetrica e a valori reali:

$$\begin{pmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{yx} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{zx} & D_{zy} & D_{zz} \end{pmatrix} \quad (2.23)$$

Gli elementi della diagonale principale rappresentano i coefficienti di diffusione apparente, ADC, lungo i tre assi del sistema di riferimento del laboratorio. Gli elementi fuori dalla diagonale principale, invece, corrispondono alle correlazioni tra gli spostamenti delle molecole lungo gli stessi assi di riferimento.

L'utilizzo del tensore di Diffusione per la descrizione del processo di diffusione si deve al fatto che esso riflette le proprietà del processo di diffusione del sistema di spin indipendentemente dal particolare orientamento del campione rispetto alle direzioni di applicazione dei gradienti di diffusione.

Calcolo del Tensore di Diffusione

Nel 1994, Basser et al. [43] proposero un formalismo più rigoroso per il tensore di Diffusione, \mathbf{D} , dimostrandone la determinazione a partire da un set minimo di immagini pesate in diffusione. La [2.22] può essere riscritta nella forma:

$$\ln \frac{S(b)}{S_0} = b_{xx}D_{xx} + b_{xy}D_{xy} + b_{xz}D_{xz} + b_{yx}D_{yx} + b_{yy}D_{yy} + b_{yz}D_{yz} + b_{zx}D_{zx} + b_{zy}D_{zy} + b_{zz}D_{zz} = -\mathbf{b} : \mathbf{D} \quad (2.24)$$

La matrice \mathbf{b} , denominata b-matrix [48], è costituita dagli elementi:

$$b_{ij} = \gamma^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3) G_i G_j \quad (i, j = x, y, z) \quad (2.25)$$

dove G_i ($i = x, y, z$) rappresenta la componente i-esima del gradiente di diffusione applicato lungo la direzione generica \hat{g} .

Dal momento che si tratta di una matrice simmetrica, la [2.24] si riduce a:

$$\ln \frac{S(b)}{S_0} = b_{xx}D_{xx} + b_{yy}D_{yy} + b_{zz}D_{zz} + 2b_{xy}D_{xy} + 2b_{xz}D_{xz} + 2b_{yz}D_{yz} \quad (2.26)$$

Dato che il tensore \mathbf{D} è simmetrico, la sua completa determinazione richiede la stima di sei elementi di matrice indipendenti. Poichè la [2.26] fornisce un'equazione nelle sei incognite rappresentate dagli elementi indipendenti del tensore, la determinazione di \mathbf{D} richiede la risoluzione di un sistema di almeno sei equazioni. Pertanto, saranno necessarie almeno sette acquisizioni (*numero minimo*) del segnale NMR, delle quali sei pesate in diffusione e una senza l'applicazione dei gradienti.

Nella pratica, per una stima più accurata degli elementi del tensore, si usa acquisire un numero di segnali superiore al numero minimo, in maniera da ridurre l'incertezza legata ad ogni singola stima degli elementi del tensore. Affinchè le equazioni che legano gli elementi del tensore siano, in generale, il più possibile indipendenti e caratterizzino il tensore nelle diverse direzioni dello spazio, le direzioni dei gradienti vengono scelte non *co - lineari*, ovvero su direzioni di applicazioni differenti, e in maniera tale da distribuirsi uniformemente nelle diverse direzioni dello spazio.

Se si indica con \mathbf{X} il vettore degli elementi del tipo $\ln(S_i/S_0)$, ciascuno relativo all'i-esima acquisizione ($i = 1, \dots, N$), con \mathbf{B} la matrice con sei colonne (pari al numero degli elementi indipendenti della b-matrix) e con un numero di righe pari al numero delle acquisizioni, N :

$$\mathbf{B} = \begin{pmatrix} b_{xx}(1) & b_{yy}(1) & b_{zz}(1) & 2b_{yx}(1) & 2b_{yy}(1) & 2b_{yz}(1) \\ & & \dots & \dots & \dots & \dots \\ b_{xx}(N) & b_{yy}(N) & b_{zz}(N) & 2b_{yx}(N) & 2b_{yy}(N) & 2b_{yz}(N) \end{pmatrix} \quad (2.27)$$

e con \mathbf{D}' il vettore degli elementi indipendenti del tensore \mathbf{D} :

$$\mathbf{D}' = [D_{xx}, D_{yy}, D_{zz}, D_{xy}, D_{xz}, D_{yz}]^T \quad (2.28)$$

la relazione che intercorre tra il set di segnali NMR delle N acquisizioni e gli elementi del tensore di Diffusione può essere espressa nella forma:

$$\mathbf{X} = \mathbf{B}\mathbf{D}' \quad (2.29)$$

Nel caso di un numero minimo di segnali acquisiti, la matrice \mathbf{B} risulta simmetrica e gli elementi del tensore possono essere ricavati dalla [2.29](#) tramite la matrice inversa di \mathbf{B} :

$$\mathbf{D}' = \mathbf{B}^{-1}\mathbf{X} \quad (2.30)$$

Sebbene l'acquisizione del un numero minimo di segnali NMR garantisca la determinazione del tensore di Diffusione, poiché si hanno a disposizione un numero di equazioni esattamente pari al numero di incognite, l'applicazione della (2.34) corrisponde ad un'interpolazione *esatta* dei dati a disposizione, includendo le perturbazioni dovute al rumore. Nel caso in cui si acquisiscano un numero di segnali superiori al numero minimo, la matrice \mathbf{B} non risulterà più simmetrica (avendo N righe e 6 colonne). In questo caso, la [2.29](#) per la determinazione del tensore può essere risolta tramite la matrice pseudo-inversa di \mathbf{B} :

$$\mathbf{D}' = (\mathbf{B}^T\mathbf{B})^{-1}\mathbf{B}^T\mathbf{X} \quad (2.31)$$

Processo di Diagonalizzazione del Tensore di Diffusione ed Ellissoide di Diffusione

Una volta determinati gli elementi del tensore, per ottenere informazioni sui processi di diffusione, a prescindere dalla particolare applicazione dei gradienti, si procede alla diagonalizzazione del tensore di Diffusione, \mathbf{D} . Ciò permette di descrivere le caratteristiche della diffusione tramite la determinazione di quan-

tità indipendenti dal sistema di riferimento adottato.

Il processo di diagonalizzazione del tensore di Diffusione è descritto dalla trasformazione:

$$\mathbf{D} = \Psi^T \Lambda \Psi \quad (2.32)$$

dove le tre colonne ϵ_1 , ϵ_2 e ϵ_3 della matrice Ψ corrispondono agli autovettori di \mathbf{D} , ortonormali. I tre autovettori individuano altrettante direzioni dello spazio lungo le quali gli spostamenti degli spin, dovuti al fenomeno della diffusione, risultano scorrelati. Λ è una matrice diagonale i cui elementi della diagonale principale λ_1 , λ_2 e λ_3 , sono gli autovalori di \mathbf{D} e corrispondono alla diffusività lungo le direzioni individuate dagli autovettori corrispondenti.

Per convenzione, gli autovalori sono numerati in ordine decrescente ($\lambda_1 > \lambda_2 > \lambda_3$), determinando anche la nomenclatura degli autovettori ad essi associati.

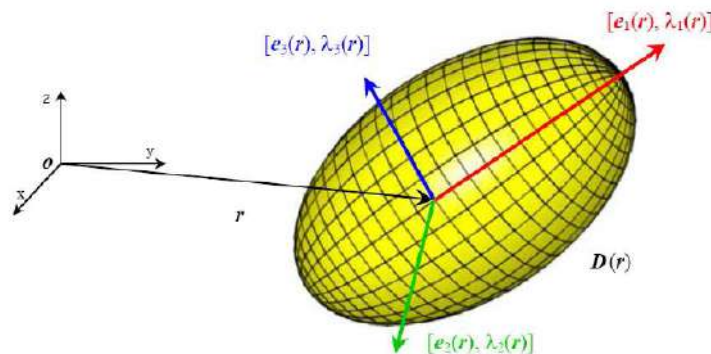


Figura 2.15: Ellissoide di diffusione e direzione di massima diffusione. La tecnica DTI schematizza il processo di diffusione con un modello gaussiano tridimensionale. I risultati dell'analisi tensoriale determinano le caratteristiche di un ellissoide, che rappresenta la diffusione all'interno di un singolo voxel. In particolare, dimensione e direzione degli assi dell'ellissoide sono determinati, rispettivamente, dagli autovalori del tensore di Diffusione e degli autovettori ad essi associati. L'autovettore, ϵ_1 , associato all'autovalore principale, λ_1 , individua la direzione di massima diffusione in corrispondenza del voxel in posizione \mathbf{r} .

Per quanto detto prima, l'autovettore ϵ_1 rappresenta la direzione di massima diffusione. Ciò permette di definire un campo vettoriale discreto di direzione principale, in cui ciascun elemento $\epsilon_1(\mathbf{r})$ corrisponde alla direzione di massima diffusione delle molecole di acqua all'interno del voxel in posizione \mathbf{r} (Fig. 2.15).

Per rappresentare l'anisotropia del mezzo in esame è possibile schematizzare la diffusione all'interno di ogni elemento di volume tramite un ellissoide di diffusione le cui dimensioni sono specificate dal processo di diagonalizzazione del tensore stesso [43, 49].

Pertanto, l'ellissoide di diffusione riflette il modello gaussiano tridimensionale adottato dalla tecnica DTI per il processo di diffusione.

In particolare, gli autovalori di \mathbf{D} e gli autovettori ad essi associati determinano, rispettivamente, le dimensioni e le direzioni degli assi principali dell'ellissoide (Fig. 2.16(a)).

In questa maniera, l'estensione dell'ellissoide rappresenta la diffusività del sistema di spin lungo le diverse direzioni dello spazio.

Pertanto, l'asse principale dell'ellissoide, individuato dall'autovettore associato all'autovalore massimo, individua la direzione di massima diffusione del campione di spin, mentre l'eccentricità, legata ai restanti due autovalori, fornisce indicazioni riguardo al grado di anisotropia del mezzo indagato.

Facendo uso dell'equazione di Einstein nella 2.7 è possibile esprimere il legame tra la lunghezza degli assi principali dell'ellissoide e il cammino quadratico medio compiuto dalle molecole in un dato intervallo di tempo, T_d . L'ellissoide di diffusione, pertanto, espresso in termini degli autovalori e degli autovettori del tensore di Diffusione, è descritto dall'equazione:

$$\frac{x'^2}{2\lambda_1 T_d} + \frac{y'^2}{2\lambda_2 T_d} + \frac{z'^2}{2\lambda_3 T_d} = 1 \quad (2.33)$$

dove x' , y' e z' rappresentano le coordinate espresse rispetto al sistema di riferimento costituito dalle direzioni degli autovettori del tensore.

I diversi valori di diffusività permettono la classificazione della diffusione delle molecole di acqua all'interno di un voxel in tre classi distinte:

- diffusione lineare ($\lambda_1 \gg \lambda_2 \simeq \lambda_3$): la diffusione avviene principalmente lungo la direzione corrispondente all'autovalore massimo, mentre risulta trascurabile lungo le due direzioni perpendicolari (Fig. 2.16a);
- diffusione planare ($\lambda_1 \simeq \lambda_2 \gg \lambda_3$): la diffusione è per lo più confinata al piano individuato dagli autovettori corrispondenti ai due autovalori principali, mentre risulta trascurabile lungo la direzione del terzo autovettore (Fig. 2.16b);
- diffusione sferica ($\lambda_1 \simeq \lambda_2 \simeq \lambda_3$): la diffusione avviene in maniera isotropa, interessando alla stessa maniera le tre direzioni individuate dagli autovettori (Fig. 2.16c).

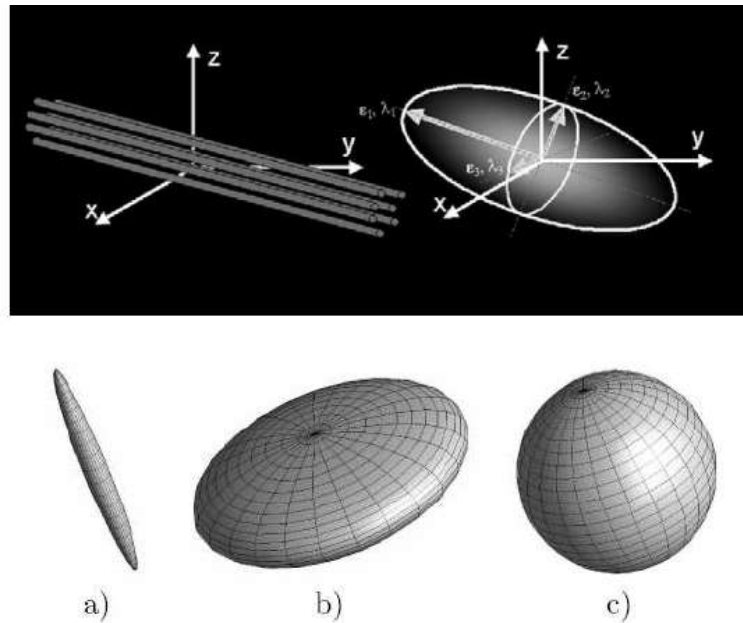


Figura 2.16: Diffusione lineare, planare e sferica. In alto in figura viene schematizzata una struttura di fibre ad alta direzionalità e la corrispondente rappresentazione del processo di diffusione tramite l'ellissoide di diffusione associato. A seconda delle relazioni tra gli autovalori del tensore, la diffusione viene detta: a) lineare, b) planare o c) sferica.

Invarianti Rotazionali del Tensore di Diffusione

Fin dai primi studi sulla diffusione in mezzi anisotropi la comunità scientifica ha cercato di esprimere tutta l'informazione fornita dal tensore di Diffusione attraverso l'adozione di alcuni indici scalari per mezzo dei quali si potesse facilmente individuare e caratterizzare il comportamento del campo tensoriale all'interno del volume esaminato [50].

La principale caratteristica del tensore di Diffusione, ovvero l'indipendenza dal sistema di riferimento, permette di definire dei parametri i cui valori non dipendono dalle direzioni di applicazione dei gradienti. Per tale motivo queste quantità prendono il nome di invarianti rotazionali e possono essere riprodotti in acquisizioni differenti a parità dei parametri di acquisizione senza che la loro determinazione risenta del particolare orientamento del campione di spin all'interno del magnete [44].

Il primo invariante ad esser stato proposto è la *Bulk Mean Diffusivity*, *MD* [44], o *Apparent Diffusion Coefficient*, *ADC* [51], definito tramite la traccia del tensore. Questo indice corrisponde al momento del 1° ordine del tensore di Diffusione, nonchè al valore medio del grado di diffusione lungo le tre direzioni

del sistema di riferimento:

$$MD = ADC = \text{traccia}(D/3) = (D_{xx} + D_{yy} + D_{zz})/3 = (\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3)/3 = \langle \lambda \rangle \quad (2.34)$$

dove $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ sono i tre autovettori del tensore e $\langle \lambda \rangle$ il loro valore medio.

Altri indici rivestono un ruolo fondamentale nel caratterizzare il comportamento anisotropico del tensore di Diffusione. Tali invarianti si basano sul momento del 2° ordine della distribuzione degli autovalori di \mathbf{D} :

$$(\lambda_1 - \langle \lambda \rangle)^2 + (\lambda_2 - \langle \lambda \rangle)^2 + (\lambda_3 - \langle \lambda \rangle)^2 \quad (2.35)$$

Tra questi indici il più largamente utilizzato è l'*anisotropia frazionaria* (o Fractional Anisotropy, FA), proposta per la prima volta da Basser e Pierpaoli [52] e definita come:

$$FA = \frac{\sqrt{3[(\lambda_1 - \langle \lambda \rangle)^2 + (\lambda_2 - \langle \lambda \rangle)^2 + (\lambda_3 - \langle \lambda \rangle)^2]}}{\sqrt{2(\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2)}} \quad (2.36)$$

dove:

$$\langle \lambda \rangle = (\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3)/3 \quad (2.37)$$

Questa quantità risulta essere un indice della porzione del tensore ascrivibile ad una diffusione anisotropa delle molecole. Altri indici basati sul momento del 2° ordine sono: l'*anisotropia relativa* (o *Relative Anisotropy*, RA), e il *rapporto di volume* (o *Volume Ratio*, VR), definiti rispettivamente come:

$$RA = \frac{\sqrt{[(\lambda_1 - \langle \lambda \rangle)^2 + (\lambda_2 - \langle \lambda \rangle)^2 + (\lambda_3 - \langle \lambda \rangle)^2]}}{\sqrt{3\langle \lambda \rangle}} \quad (2.38)$$

$$VR = \frac{\lambda_1 \lambda_2 \lambda_3}{(\langle \lambda \rangle)^3} \quad (2.39)$$

La RA non è altro che una deviazione standard della distribuzione degli autovalori, normalizzata rispetto al loro valore medio, $\langle \lambda \rangle$, mentre, la VR rappresenta il rapporto tra il volume dell'ellissoide di diffusione e il volume di una sfera di raggio pari al valor medio, $\langle \lambda \rangle$.

I valori di FA variano tra 0 e 1, mentre la RA varia tra 0 e $\sqrt{2}$ dove, per entrambi, il valore nullo è indice di diffusione isotropa. I valori di VR , invece, mostrano un comportamento inverso, variando tra 1 e 0, essendo il valore unitario l'indice di diffusione isotropa.

In Fig. 2.17 vengono riportati alcuni esempi delle mappe relative agli inva-

rianti rotazionali fin qui definiti, ottenuti sull'encefalo di un soggetto normale su sezione assiale.

Facendo uso di mappe di colore *codificate in direzione* (Directional-Encoded

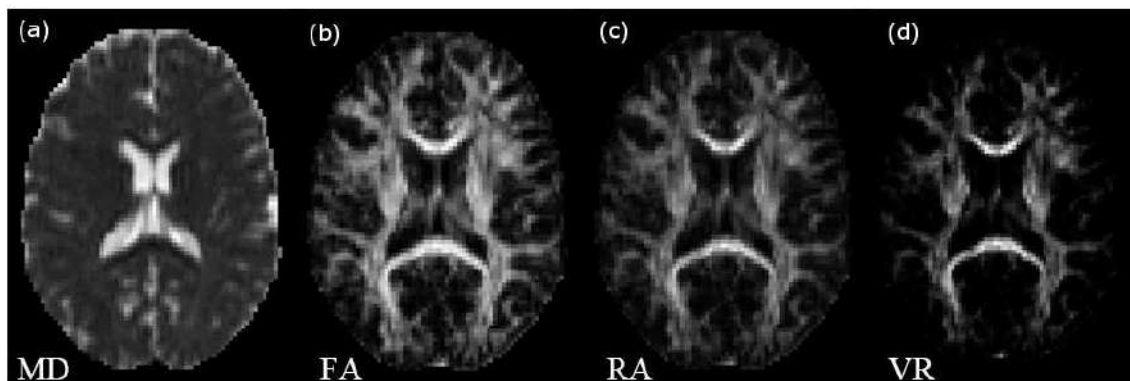


Figura 2.17: Mappe dei principali invarianti rotazionali. a) Mean Diffusivity, MD; b) Fractional Anisotropy, FA; c) Relative Anisotropy, RA; d) Volume Ratio, VR.

Color map, DEC map) è possibile riportate su un'unica mappa le informazioni degli invarianti rotazionali (tipicamente l'indice FA) e le informazioni sulle principali direzioni di diffusione. Questo viene realizzato identificando i coefficienti della codifica di colore RGB (Red-Green-Blue) con le componenti dell'autovettore associato all'autovalore massimo. Ciò permette di identificare i fasci di fibre con orientamento *destra – sinistra*, *anteriore – posteriore* e *inferiore – superiore* con i colori *rosso*, *verde* e *blu*, rispettivamente.

La Fig. 2.18 riporta un esempio di Color map sull'indice di anisotropia FA . È possibile riconoscere i principali fasci di fibre neuronali: il tratto corticospinale (in blu), il corpo calloso (in rosso) e le radiazioni ottiche (in verde).

I valori tipici delle dimensioni dei voxel ottenuti tramite DTI sono dell'ordine del millimetro; le dimensioni degli assoni che costituiscono le fibre nervose sono invece dell'ordine di qualche micron, per cui all'interno di ogni voxel è presente un numero enorme di fibre nervose, che in certi punti possono incrociarsi o cambiare repentinamente direzione come mostrato in figura 2.19.

2.2.4 Applicazioni Mediche della DTI

La DTI è un potente strumento non invasivo 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 [53-56], tumori [57], varie malattie come la demenza, la sclerosi multipla, la sclerosi laterale amiotrofica e la malattia di Alzheimer [58] e i disturbi psichiatrici come schizofrenia [59]. Inoltre, la DTI è

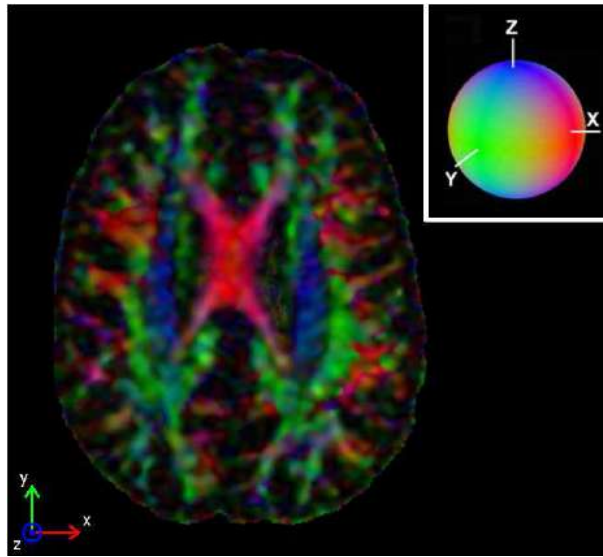


Figura 2.18: Esempio di Color map sull'encefalo di un soggetto sano. È possibile riconoscere i principali fasci di fibre neuronali: il tratto cortico-spinale (in blu), il corpo calloso (in rosso) e le radiazioni ottiche (in verde).

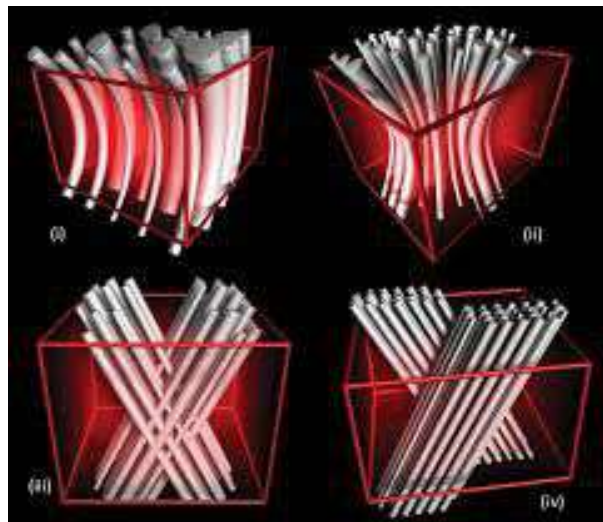


Figura 2.19: Direzioni particolare (in alto) e incroci tra fibre (in basso) che non possono essere identificati all'interno di un voxel.

stata utilizzata ampiamente per studiare lo sviluppo del cervello [60] e l'invecchiamento [61,62]. Recensioni recenti che descrivono diverse applicazioni nella ricerca sul cervello sono date da Dong et al. [63] e Assaf e Pasternak [64].

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 [65], il muscolo scheletrico [66] e per alcuni tessuti vegetali [67].

2.3 Connettività

È possibile distinguere essenzialmente tre tipi di connettività: connettività funzionale, connettività strutturale e connettività effettiva [68].

La *connettività funzionale*, stimata tramite *fMRI*, indica una dipendenza statistica tra eventi neurofisiologici, in particolare è definita come la correlazione temporale tra eventi neurofisiologici spazialmente distanti [14]. La connettività funzionale non implica però necessariamente una relazione causale: se due neuroni A e B sono temporalmente correlati questo non significa necessariamente che l'attivazione del neurone A è richiesta perché il neurone B si attivi o che stimolando il neurone A si attivi di conseguenza il neurone B. Per esempio, la correlazione può essere mediata dall'instaurarsi di oscillazioni a frequenze specifiche che inducano correlazioni anche su distanze non compatibili con la propagazione del segnale all'interno della rete.

La *connettività anatomica-strutturale* fa riferimento alla presenza di connessioni assoniche e la distribuzione dei fasci di fibre viene stimata mediante la *Diffusion Tensor Imaging* (DTI).

La *connettività effettiva* rappresenta l'influenza che un sistema neuronale, in maniera sia diretta che indiretta, esercita su un altro sistema neuronale [69].

2.3.1 La connettività funzionale

Le variazioni emodinamiche nelle strutture cerebrali sono strettamente legate all'attività neuronale. Studi recenti effettuati con *fMRI* e *PET*, su soggetti umani, hanno mostrato che la maggior parte del consumo energetico cerebrale è usato per un'attività metabolica intrinseca non correlata a stimolazioni sensoriali o motorie o ad alcuno stato comportamentale, alla base della quale stanno le cosiddette *Resting State Networks* (RSNs). Queste evidenze portano a pensare che il cervello sia principalmente guidato da una sua attività intrinseca e che le stimolazioni esterne possano modulare piuttosto che determinare la sua attività. È quindi interessante chiedersi quale sia la natura di questa attività intrinseca presente anche a riposo (quando il soggetto è sdraiato con gli occhi chiusi), che utilizza una notevole quantità di energia. L'encefalo rappresenta solo il 2% della massa totale del corpo e consuma il 20% dell'energia, la cui maggior parte è usata per alimentare la continua attività dei neuroni [9]. Il cervello è sempre attivo, anche in assenza dell'esecuzione di un compito specifico. Gli aumenti nel metabolismo neuronale in presenza di compiti funzionali sono solitamente molto inferiori (< 5%) rispetto al consumo energetico

in assenza di essi (rest). È stato ipotizzato che questo consumo energetico rifletta un'attività in corso durante il riposo, che diminuisce soltanto quando le risorse metaboliche vengono temporaneamente ridistribuite per l'esecuzione di compiti cognitivi.

La fMRI offre la possibilità di registrare delle correlazioni temporali di regioni cerebrali spazialmente distinte, evidenziando così reti neurali note come *Resting State Networks* (RSNs). Le RSNs sono sempre presenti nel cervello umano, sia nello stato di veglia, che durante il sonno o sotto anestesia, evidenziando il fatto che l'attività neuronale spontanea del cervello svolge un ruolo fondamentale nelle funzioni cerebrali. Tramite l'utilizzo della fMRI, viene valutata la Connettività Funzionale (FC) definita come la correlazione temporale dei voxel attivati tra regioni cerebrali spazialmente distinte [17, 70]. Lo studio della connettività funzionale rende possibile evidenziare le regioni che variano simultaneamente la loro attivazione, con l'assunto che la variazione simultanea di attivazione rifletta lo stesso coinvolgimento nello svolgere una certa funzione. Regioni che modulano simultaneamente la loro attivazione si dicono perciò *funzionalmente connesse*.

Poiché l'attività cerebrale è presente anche in assenza di un compito richiesto dall'esterno, ogni regione del cervello avrà quelle che vengono chiamate *fluttuazioni spontanee* nel segnale fMRI. In un recente studio di fMRI, è stato osservato che, l'attività cerebrale non correlata a compiti, non è rumore casuale ma riflette un'organizzazione funzionale del cervello e che le reti funzionali costituenti sono organizzate in modo molto coerente. In particolare, il rumore casuale (anche chiamato rumore bianco) può essere caratterizzato da una funzione di densità spettrale di potenza piatta, cioè tutte le frequenze sono presenti in uguale misura. Al contrario, le fluttuazioni spontanee seguono una distribuzione di $1/\nu$ [71]. Una questione importante è che le frequenze in questa distribuzione $1/\nu$ sono responsabili dei pattern di correlazione spaziale osservati nel segnale BOLD spontaneo ($\sim 0.01 - 0.1$ Hz). Uno studio si è concentrato su tale questione e ha dimostrato che i segnali BOLD spontanei osservati, sono principalmente dominati da frequenze inferiori a 1 Hz con le frequenze più veloci relative ai fattori cardiaci o respiratori (0.75-1.5 Hz e 0.1-0.5 Hz, rispettivamente) come mostrato in Figura 2.20.

Molti gruppi hanno confrontato i pattern di attività BOLD durante il riposo con quelli ottenuti durante l'esecuzione di un compito o durante la presentazione di uno stimolo. L'opinione generale di questi studi è che la correlazione tra due regioni che vengono ugualmente attivate tramite l'esecuzione di un ta-

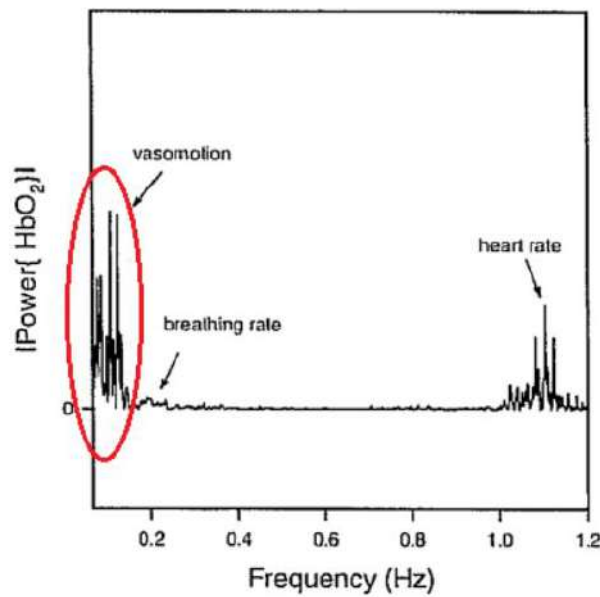


Figura 2.20: Spettro di potenza del segnale HbO_2 . Si nota un picco delle oscillazioni per frequenze comprese tra 0.01 e 0.1Hz, distinte da frequenze maggiori relative alla respirazione e alla frequenza cardiaca.

sk o la presentazione di uno stimolo, aumenta durante le condizioni di attività, mentre la correlazione tra le altre regioni diminuisce. Ci sono due possibili spiegazioni per le variazioni delle correlazioni tra regioni cerebrali osservate durante l'esecuzione delle attività [9]. La prima potrebbe essere una riorganizzazione che coinvolge l'attività delle sinapsi che porta a cambiamenti nelle correlazioni tra aree cerebrali presenti nell'attività spontanea. Un'altra possibilità è che la correlazione tra le strutture cerebrali rimanga costante durante la fase di *rest* e di *task* e che i cambiamenti osservati nelle correlazioni siano dovuti ad una semplice sovrapposizione dell'attività spontanea e task-correlata.

L'analisi di connettività funzionale si riferisce solamente alle dipendenze statistiche tra i dati misurati e non include conoscenze o assunzioni a riguardo della struttura e dei meccanismi del sistema neurale d'interesse. In questo senso lo studio della connettività funzionale è *model-free*. Questo tipo di indagine è appropriato se il sistema d'interesse è per gran parte sconosciuto; infatti, i risultati dell'analisi di connettività funzionale possono essere utilizzati per generare delle ipotesi sul sistema stesso. È da sottolineare che, generalmente, non è di grande interesse la valutazione della connettività funzionale punto per punto, mentre informazioni importanti si possono dedurre dai *patterns* di attività correlate, sottese dall'insieme di valori indicanti le relazioni tra coppie di voxels [72].

Le prove più significative dell'esistenza delle RSNs risiedono nella ripro-

ducibilità delle reti nel singolo soggetto, nella consistenza delle reti tra soggetti diversi e nella corrispondenza delle aree corticali individuate con diverse metodiche di studio.

Tra i metodi più utilizzati per lo studio della connettività funzionale si hanno: la *Seed-based Correlation Analysis* e l'*Independent Component Analysis* (ICA). Utilizzando quest'ultimo metodo sono stati individuati chiaramente delle *Resting State Networks* [5], come mostrato in figura 2.21.

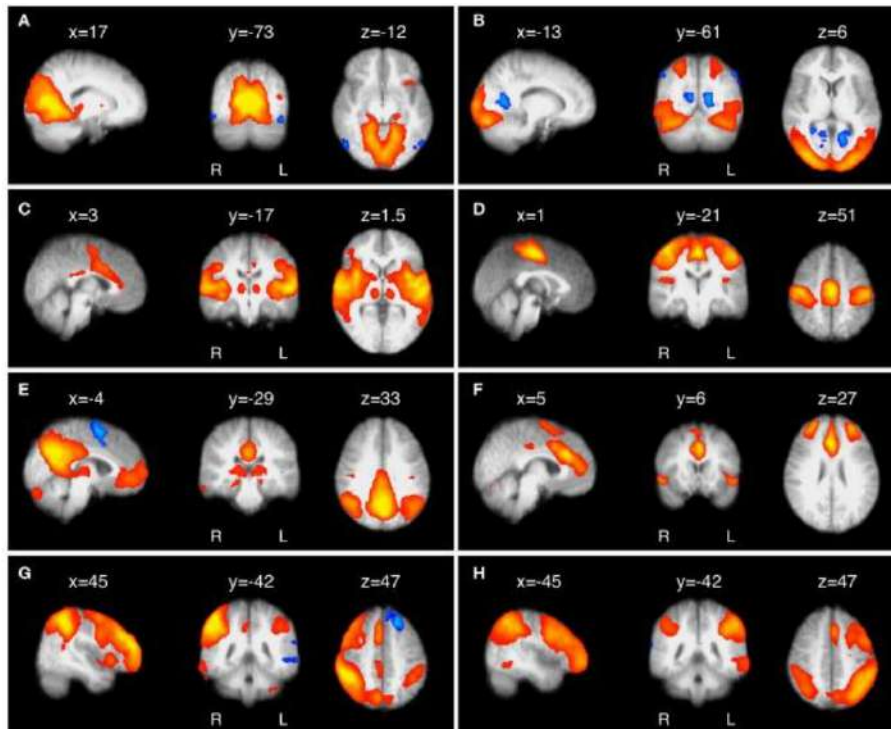


Figura 2.21: Otto dei più comuni e consistenti RSNs individuati attraverso un'analisi ICA. Sono mostrate, da sinistra a destra, le sezioni sagittale, coronale e assiale delle differenti mappe spaziali ottenute da un'analisi di rs-fmri su un gruppo di 10 soggetti. Tutte le immagini sono state coregistrate sullo standard MNI. Le coordinate si riferiscono alla distanza in mm dalla commistura anteriore e sono mostrate nella convenzione radiologica. (A) corteccia visiva primaria; (B) corteccia visiva extrastriata; (C) corteccia uditiva; (D) corteccia somatosensoriale; (E) *default mode network* (DMN) coinvolto nella memoria episodica e nelle attività introspettive; (F) *network* implicato nel controllo esecutivo; (G-H) *network* fronto-parietale destro e sinistro, coinvolto nella *working memory* e nell'attenzione.

Una delle più interessanti applicazioni degli studi in *resting state* è proprio il confronto di tali RSNs tra gruppi. Dato che non ci sono task, gli studi possono essere condotti in soggetti incapaci di sottoporsi a particolari paradigmi sperimentali e non soffrono del problema della sensibilità dei risultati all'impostazione dell'esperimento e/o alla sua esecuzione. Molti lavori in questo settore si sono focalizzati nel confrontare soggetti sani con pazienti affetti da malattie neurologiche o disordini psichici. Alterazioni di *Resting State Networks* sono

state individuate in molte malattie come l'Alzheimer, la sclerosi multipla, la schizofrenia, l'autismo, l'epilessia e la sindrome da deficit di attenzione e iperattività [5,10,73]. L'entità della variazione di questi "patterns" di correlazione spaziale risulta legata al grado di severità della malattia o al recupero da deficit funzionali. Ciò suggerisce che lo studio della connettività intrinseca mediante fMRI in *resting-state* può fornire importanti informazioni diagnostiche in pazienti con malattie neurologiche o disordini psichici. In aggiunta, tale tecnica consente la valutazione dell'attività cerebrale durante il sonno, l'anestesia o gli stati vegetativi e data la modalità con cui si svolge un singolo data-set può essere utilizzato per più analisi.

2.3.2 La connettività anatomica-strutturale

La tecnica della Trattografia, anche nota come *Fiber Tracking*, consiste in una ricostruzione virtuale tridimensionale della struttura dei fasci di fibre che costituiscono un tessuto. Questa tecnica è basata sulle informazioni relative alla diffusione delle molecole di acqua all'interno dei tessuti, fornite dall'elaborazione delle acquisizioni pesate in diffusione. La grande innovazione della trattografia sta nel fatto che è un metodo non invasivo per identificare i fasci componenti la materia bianca cerebrale in vivo. In ambito neurologico, questa tecnica fornisce un valido contributo alla diagnosi di patologie derivanti da lesioni e traumi cerebrali che causano alterazioni del normale corso dei fasci di fibre neuronali [74] [75], permette infatti di valutare qualitativamente l'impatto del danno cerebrale sull'andamento delle stesse. L'importanza della trattografia risiede nella possibilità di individuare il comportamento dei principali fasci di fibre neuronali ed evidenziarne le anomalie dovute a situazioni patologiche. Si basa sull'assunzione che le direzioni di massima diffusione determinate dalla 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. E' possibile fare una distinzione tra le due principali modalità con cui si ottengono le tracciature delle fibre: la *trattografia deterministica* e la *trattografia probabilistica*.

Trattografia deterministica

L'approccio deterministico si serve dei dati ottenuti dalle acquisizioni senza tenere conto del rumore sovrapposto e degli effetti di volume parziale. Il set di misure pesate in diffusione può essere visto come un campionamento di un campo tensoriale di diffusione $D(r)$, ovvero l'associazione a ciascun voxel in posizione r di un tensore di diffusione che modella il processo di diffusione con una distribuzione normale tridimensionale. I metodi deterministici di *fiber tracking* ricostruiscono iterativamente la fibra seguendo la direzione principale di diffusione. Di seguito un algoritmo di ricostruzione della fibra:

$$P_i = P_{i-1} + \delta d_{i-1}^{\vec{}} \quad (2.40)$$

$$\text{con } d_{i-1}^{\vec{}} = e_{i-1}^{\vec{}}(D(P_{i-1})) \quad (2.41)$$

Si seleziona un voxel (o anche un'area composta da più voxel) come *seed* (punto di partenza) P_0 e si procede spostandosi di una certa distanza δ lungo la direzione \vec{d}_i ; l'iesimo punto si ottiene dunque a partire dal punto precedente seguendo il vettore di propagazione $e_{i-1}^{\vec{}}(D(P_{i-1}))$ che dipende dal coefficiente di diffusione D nel punto P_{i-1} .

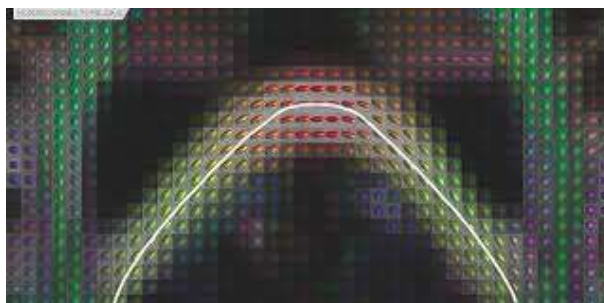


Figura 2.22: Il percorso di una fibra ricostruito con la trattografia deterministica sovrapposto a un'immagine con rappresentazione ad ellissoidi di diffusione.

Per evitare di tracciare traiettorie in cui la direzione preferenziale non è ben determinata o delineare fibre che tornano su se stesse vengono fissati dei valori limite, *stopping criteria*, per la *Fractional Anisotropy* e per l'angolo che si forma tra le direzioni di due voxel successivi; queste soglie aiutano a prevenire falsi positivi, ovvero impediscono di visualizzare fibre laddove queste sia improbabile che esistano. Alcune delle problematiche della trattografia deterministica possono essere risolte con modelli deterministici più complessi come la trattografia *HARDI* (*High Angular Resolution Diffusion Imaging*) [76].

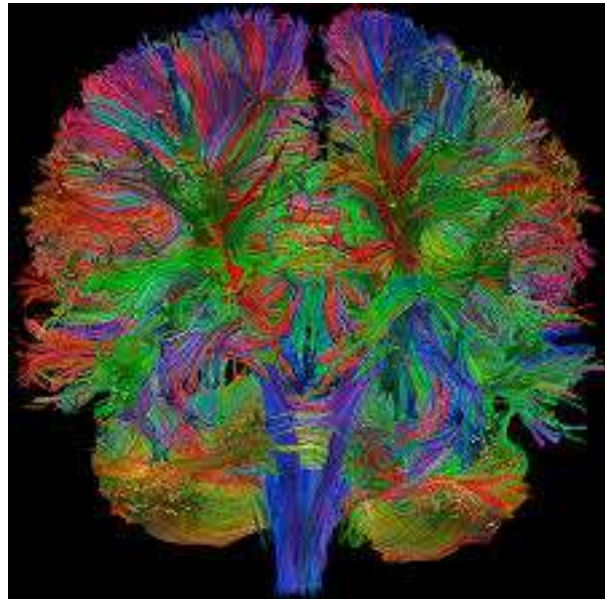


Figura 2.23: Suggestiva trattografia dell'intero cervello ottenuta con l'approccio deterministico.

Trattografia probabilistica

La trattografia probabilistica si basa su metodi bayesiani per la ricostruzione delle densità di probabilità della distribuzione delle fibre nervose nelle aree di interesse all'interno del cervello.

Il modello utilizzato è quello a "sfere" e "bastoncini"; esso si basa sulla modellizzazione a sfere e bastoncini del tensore di diffusione anziché come ellissoide, come mostrato in figura [2.24](#).

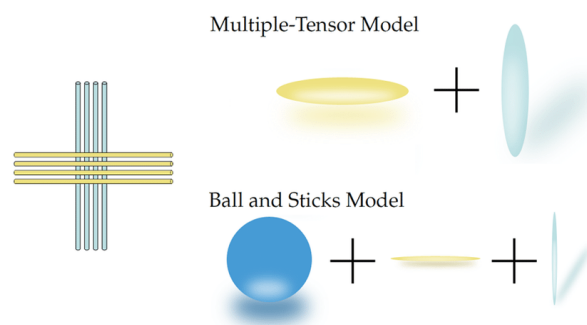


Figura 2.24: In alto il modello ad ellissoidi mostrato nella sezione precedente, in basso la rappresentazione a sfere e bastoncini.

In tale modello i bastoncini rappresentano la direzione di diffusione mentre le sfere rappresentano la predizione della forma del segnale misurato. In figura [2.25](#) sono mostrate le rappresentazioni delle sfere e bastoncini coi relativi predetti e misurati a una, due e tre orientazioni.

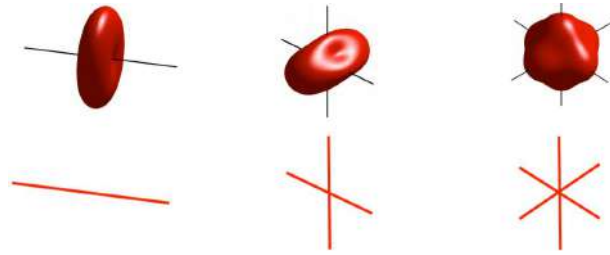


Figura 2.25: Segnale misurato (in alto) e direzione stimata (in basso) per una due e tre direzioni (da sinistra verso destra).

L'espressione analitica del segnale misurato per il j -esimo gradiente di diffusione è la seguente [77]:

$$s_j = s_0[(1 - \sum f_n)exp(-b_j d)] + \sum f_n exp(-b_j d(x_j^T \nu_n)^2) \quad (2.42)$$

Nell'equazione 2.42 s_0 rappresenta il segnale in assenza di gradiente, f_n le componenti anisotropiche del volume, b_j il b -factor per il j -esimo gradiente, d la diffusività, x_j il vettore unitario lungo la direzione del gradiente j -esimo, mentre ν l'orientazione delle fibre; le n che appaiono a pedice di alcuni fattori rappresentano il numero massimo di bastoncini che possono essere presenti nel modello in uso, questo parametro può essere modificato dall'operatore.

E' opportuno far notare che un b -factor più alto permette di ottenere una risoluzione angolare migliore (figura 2.25). Questo porterebbe alla logica scelta di utilizzare b -factor più grandi possibili, tuttavia si noti che dall'espressione 2.42 (ma anche da 2.26) un b -factor alto comporta un segnale misurato basso, di conseguenza il rapporto segnale rumore si abbassa considerevolmente. In figura 2.26 sono mostrate le immagini acquisite a diversi b -factor.

Giunti a questo punto si ha a disposizione il segnale a diversi gradienti di diffusione e si ha una distribuzione di possibili orientazioni di diffusione all'interno di ogni voxel; lo *step* successivo è riuscire a trovare il percorso più probabile delle fibre nervose attraverso i vari voxel, rinunciando alla conoscenza specifica della forma della singola fibra nervosa. Questo viene fatto utilizzando dei metodi computazionali basati sulle catene di Markov Monte Carlo; si ottiene così la cosiddetta *inferenza bayesiana* [78].

Il fulcro di queste analisi consiste nell'inferenza di una distribuzione di fibre con diverse orientazioni all'interno di un singolo voxel. Per fare ciò si utilizza un metodo sviluppato in ambito di *Neural Networking* chiamato *Automatic Relevance Determination (ARD)* [77]. Questa tecnica, a differenza di altre, non si basa sul confronto tra diversi modelli trovando poi quello che meglio fitta i dati presenti; esso si basa sulla stima di un modello Bayesiano che viene

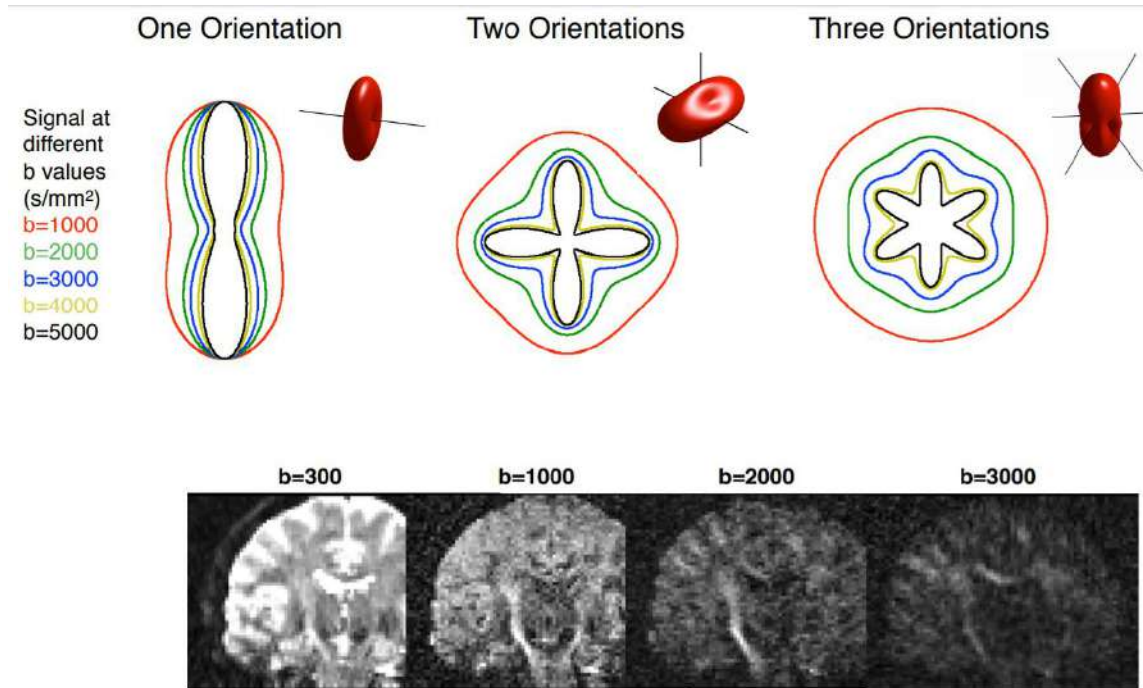


Figura 2.26: Modello a bastoncini a diversi b -factor (in alto) per una due e tre direzioni (da sinistra verso destra); immagini ottenute a b -factor via via crescenti, si noti come il rapporto segnale rumore decada considerevolmente con valori di b superiori a 1000 (in basso) .

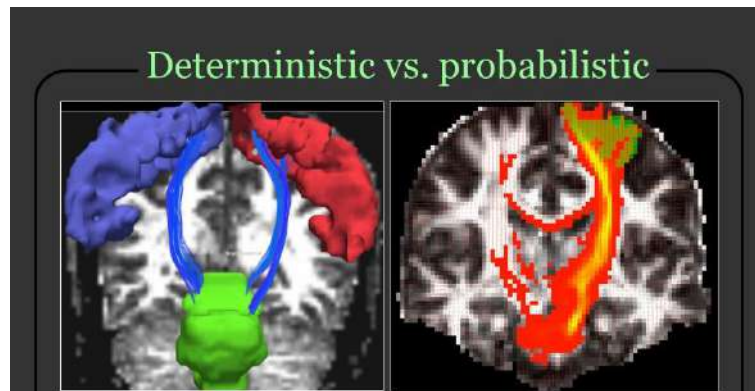


Figura 2.27: Confronto tra trattografia probabilistica e deterministica.

dato *a priori* e si cerca di fare tendere a zero i parametri che non supportano i dati. In questo modo il modello originario viene modificato finchè 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*) [79], le immagini ottenute sono come quelle in figura 2.28.

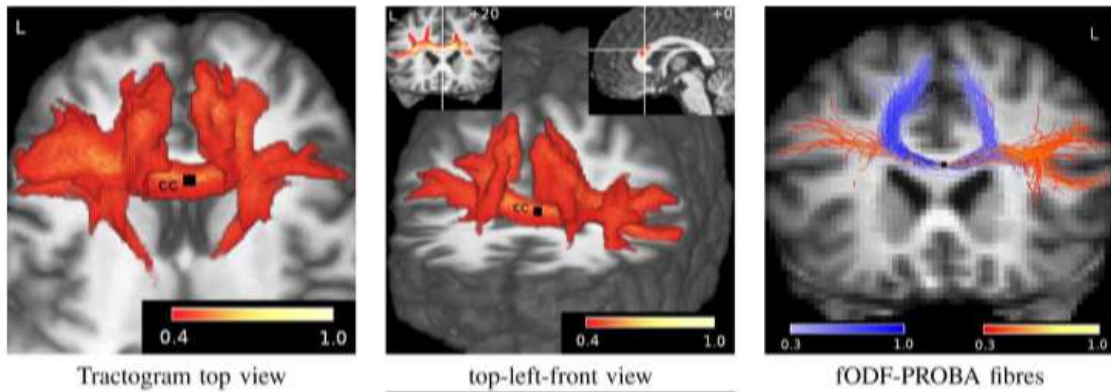


Figura 2.28: Passaggi per ottenere la densità di orientazione delle fibre.

E' comunque opportuno far notare che nonostante gli ottimi risultati che si ottengono da questo tipo di approccio, esso presenta comunque delle limitazioni; 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 può risultare non del tutto veritiera. Detto questo comunque i trattogrammi che si ottengono con questa tecnica sono delle maschere in cui ogni voxel ha intensità diversa, voxel con intensità maggiori indicano una probabilità maggiore di avere delle fibre passanti per quei punti del cervello (figura 2.29, basterà quindi eliminare il segnale al di sotto di una certa soglia per eliminare tutte quelle fibre con probabilità più bassa.

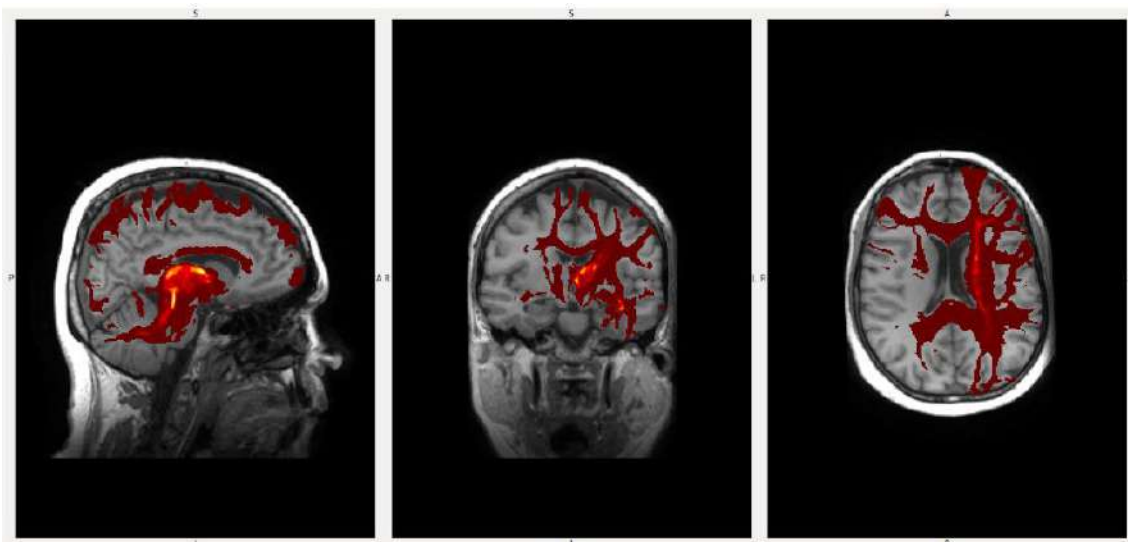


Figura 2.29: Trattografia probabilistica per le connessioni tra la corteccia e il talamo di uno dei pazienti analizzati in questo lavoro di tesi. La scala di colore è stata scelta in modo che voxel con intensità maggiori (probabilità più alte) abbiano colori tendenti al giallo

CAPITOLO 3

CONNETTIVITÀ FUNZIONALE IN *RESTING STATE* NEL GAMBLING DISORDER

Gli studi di neuroimaging hanno dimostrato che una eccessiva esperienza in un certo comportamento può alterare l'attivazione cerebrale. Il gioco d'azzardo eccessivo può condurre a processi di neuroadattamento, come appunto l'aumento della connettività funzionale: questo può riflettere un processamento *bottom-up* facilitato delle informazioni e determinato da un allenamento costante alla trasmissione di questi impulsi d'azione tra regione ventrostriatale e corteccia prefrontale, zone coinvolte nella pianificazione e nella motivazione del comportamento d'azzardo [80]. Gran parte della letteratura attuale risulta essersi concentrata sullo studio fMRI di specifiche regioni cerebrali coinvolte nei processi decisionali, durante lo svolgimento di test appositamente progettati per la evocazione di comportamenti misurabili nei soggetti che li svolgono. Le analisi fMRI in *resting state* che usano il modello delle componenti indipendenti nei giocatori d'azzardo patologici risulta ad oggi ancora scarno. Lo scopo della prima parte della tesi è quindi quello di studiare i correlati neurofisiologici dei fenotipi clinici dei pazienti affetti da gioco d'azzardo patologico tramite l'analisi ICA di dati fMRI.

3.1 Definizione e diagnosi di Gambling Disorder

Il disturbo da gioco d'azzardo può essere definito dalla presenza di caratteristici criteri diagnostici quali:

- Comportamento problematico persistente o ricorrente legato al gioco d'azzardo che porta a disagio o compromissione clinicamente significativi, come indicato dall'individuo che presenta quattro (o più) delle seguenti condizioni entro un periodo di 12 mesi:
 - Ha bisogno, per giocare d'azzardo, di quantità crescenti di denaro per ottenere l'eccitazione desiderata.
 - È irrequieto/a o irritabile se tenta di ridurre o di smettere di giocare d'azzardo.
 - Ha fatto ripetuti sforzi infruttuosi per controllare, ridurre o smettere di giocare d'azzardo.
 - È spesso preoccupato/a dal gioco d'azzardo (per es., ha pensieri persistenti che gli/le fanno rivivere passate esperienze di gioco d'azzardo, analizzare gli ostacoli e pianificare la prossima avventura, pensare ai modi di ottenere denaro con cui giocare d'azzardo).
 - Spesso gioca d'azzardo quando si sente a disagio (per es., indifeso/a, colpevole, ansioso/a, depresso/a).
 - Dopo aver perduto denaro al gioco d'azzardo, spesso torna un'altra volta per ritentare ("rincorrere" le proprie perdite).
 - Mente per occultare l'entità del coinvolgimento nel gioco d'azzardo.
 - Ha messo in pericolo o perduto una relazione significativa, il lavoro, opportunità di studio e di carriera a causa del gioco d'azzardo.
- Il comportamento legato al gioco d'azzardo non è meglio spiegato da un episodio maniacale

Il gioco d'azzardo comporta il rischiare qualcosa di valore nella speranza di ottenere qualcosa di valore maggiore. In molte culture, gli individui scommettono su giochi ed eventi e, la maggior parte lo fa senza avere problemi. Tuttavia, alcuni individui sviluppano una sostanziale compromissione correlata ai loro comportamenti legati al gioco d'azzardo. La caratteristica essenziale del disturbo da gioco d'azzardo è un comportamento disadattivo legato al gioco d'azzardo, persistente o ricorrente, che sconvolge attività familiare, personali e/o professionali. Si può sviluppare un pattern di "rincorsa delle proprie perdite", con un bisogno urgente di giocare (spesso piazzando scommesse più alte o assumendosi rischi sempre più grandi) per annullare una perdita o una

serie di perdite. Gli individui possono anche impegnarsi in comportamenti di “salvataggio”, rivolgendosi alla famiglia o ad altri per ricevere aiuto in una situazione finanziaria disperata che è stata causata dal gioco d’azzardo. Negli individui con disturbo da gioco d’azzardo può essere presente una distorsione del pensiero (per es. negazione, superstizioni, un senso di potere e di controllo sugli esiti degli eventi casuali, eccessiva sicurezza). Molti individui con disturbo da gioco d’azzardo credono che il denaro sia la causa e, anche la soluzione dei loro problemi. Alcuni individui con disturbo da gioco d’azzardo sono impulsivi, competitivi, energici, irrequieti e facilmente annoiati; possono essere eccessivamente preoccupati di ottenere l’approvazione degli altri e possono essere generosi fino all’eccesso quando vincono. Altri individui con disturbo da gioco d’azzardo sono depressi e solitari e possono giocare d’azzardo quando si sentono indifesi, colpevoli o depressi. La metà degli individui in trattamento per disturbo da gioco d’azzardo ha ideazione suicidaria e circa il 17% ha tentato il suicidio [81].

3.2 Fisiopatologia e fenotipi

Da un punto di vista cognitivo, un tratto cardine del disturbo da gioco d’azzardo è l’impulsività: comportamenti impulsivi che sottostanno al disturbo possono già iniziare durante la tarda adolescenza o giovane età adulta, accompagnandosi ad alterazioni difettive nella sfera della inibizione, della memoria di lavoro, della pianificazione, della flessibilità cognitiva, della gestione/stima; se alcuni di questi predispongono al disturbo da gioco d’azzardo (come la compromissione del normale *decision-making*), altri invece ne sono conseguenza. L’impulsività non è però l’unico aspetto del disturbo da gioco d’azzardo che merita attenzione, spesso infatti questo è associato a caratteristiche di compulsione: è possibile che vi sia un passaggio da un comportamento impulsivo iniziale mirato alla ricerca di ricompensa ad uno compulsivo successivo che persiste nell’evitare conseguenze negative reiterando un *habitus* comportamentale disfunzionale. La neurobiologia è il campo nel quale si è principalmente svolta la ricerca fisiopatologica del disturbo nei decenni passati, e la presenza di diversi polimorfismi genetici coinvolti nei sistemi neurochimici cerebrali ha rappresentato un importante tassello nel definirne il quadro, tanto per quanto riguarda il sistema dopaminergico quanto per quello glutamnergico, serotoninergico e noradrenergico. La dopamina è coinvolta nell’apprendimento, nella motivazione, nella salienza degli stimoli, incluse le ricompense, nei confronti

delle quali si può instaurare una continua ricerca con l'obiettivo del rilascio del neurotrasmettitore con produzione di sensazioni di piacere. Da un punto di vista genetico molecolare, nei giocatori d'azzardo patologici si è riscontrata una frequenza aumentata nella espressione dell'allele D2A1 del gene per il recettore D2 della dopamina (DRD2). Una omeostasi del glutammato sbilanciata può invece indurre cambiamenti neuroplastici nella comunicazione tra corteccia prefrontale e *nucleus accumbens*, anche qui risultante in comportamenti di ricerca compulsiva di ricompense. Anche la serotonina è conosciuta come un modulatore della neuroplasticità, e un polimorfismo del gene per il relativo trasportatore è stato associato a soggetti di sesso maschile con disturbo da gioco d'azzardo. La norepinefrina è coinvolta invece nel *decision-making*, e una inibizione selettiva del suo *reuptake* porta ad una risposta prematura ridotta (soprattutto in condizioni di alta richiesta funzionale). Nei giocatori d'azzardo patologici possono ritrovarsi alti livelli di 3-metossi-4-idrossi-fenilglicole, il principale metabolita del sistema noradrenergico, nel fluido cerebrospinale, ed in generale durante le sessioni di gioco risulta aumentata la funzionalità noradrenergica. Il sistema degli oppioidi endogeni, fondamentale nel processamento dell'aspetto edonico della ricompensa grazie alla ampia distribuzione dei relativi recettori nelle strutture mesolimbiche, risulta ulteriormente interessato negli affetti da disturbo da gioco d'azzardo, nei quali sono stati riscontrati alti livelli plasmatici di β -endorfine. L'aspetto psicologico del disturbo da gioco d'azzardo gode di uguale (se non maggiore) dignità rispetto agli altri, soprattutto in virtù della correlazione con tratti della personalità disfunzionali che possono sfociare in veri e propri disturbi. L'impulsività, della quale è stata confermata la centralità nello stabilire il fenotipo del giocatore d'azzardo problematico/patologico, non è il solo tratto che viene considerato nella valutazione del disturbo; infatti, grazie a dei questionari misuranti i livelli di quest'ultima, i livelli di depressione e di ansia, si è giunti ad una identificazione di tre sottotipi di giocatori d'azzardo patologici:

- i giocatori con condizionamento comportamentale che sviluppano il disturbo attraverso una continua esposizione al gioco d'azzardo, con maturazione di un fenotipo clinico meno grave rispetto agli altri;
- i giocatori con vulnerabilità emozionale che hanno scarse abilità di gestione e regolazione delle emozioni, tamponate tramite il gioco d'azzardo;
- i giocatori con impulsività antisociale che giocano per regolare l'affettività, in quadri di grave alterazione psicopatologica.

Un'ulteriore classificazione divide i giocatori d'azzardo patologici in 4 cluster secondo parametri di impulsività, alterazione psicopatologica, abuso di alcol o sostanze, precocità di insorgenza, dipendenza dal gioco, il tutto in ordine discendente di gravità [82].

3.3 fMRI nel Disturbo da gioco d'azzardo

La letteratura relativa alla ricerca delle alterazioni cerebrali che stanno alla base del disturbo da gioco d'azzardo ad oggi non può considerarsi fitta come quella riscontrabile per altri disturbi psichiatrici e questo può essere in parte addebitabile al relativamente recente interesse che si è investito nello scoprire i meccanismi che sottostanno all'insorgenza delle dipendenze, in parte alla mancata disponibilità di strumenti di ricerca validi come la fMRI fino a prima degli anni 90. Attualmente, si propongono 3 cluster sintomatologici del disturbo da gioco d'azzardo come oggetto di analisi, in quanto possono essere correlati ai paradigmi sperimentali comunemente utilizzati nello studio neupsicologico, neurofisiologico e di neuroimaging in ambito di dipendenze comportamentali e da sostanze: il cluster della perdita di controllo, il cluster del *craving*/astinenza, e quello della perdita di interesse in altri aspetti della vita [83].

Studi utilizzando strumenti psicologici di analisi riportano principalmente cambiamenti nel processamento delle ricompense e nella funzione esecutiva prefrontale. Relativamente al cluster della perdita di controllo nella moderazione del gioco d'azzardo, studi della componente caratteriale denotano una ridotta funzionalità esecutiva con riduzione della inibizione e della flessibilità cognitiva [84], come anche alterazione del *decision-making*, misurate tramite l'*Iowa gambling task* (IGT) e il *Card playing task* (CPT) [85-88]. Riscontri tramite fMRI di una alterata attivazione nelle regioni prefrontali, associata alla perdita di controllo da parte del soggetto, si sono avuti durante lo svolgimento dello *Stroop task* [89,90], durante il "*Go/no go task*" [89,91,92], durante lo stesso IGT [93] e durante l'*Alternation learning task* [94]; studi utilizzando task decisionali simili hanno, inoltre, avvalorato il modello del circuito impulsivo amigdalostriatale, riscontrando una correlazione positiva tra queste due regioni [95]. Un altro aspetto del disturbo da gioco d'azzardo studiato tramite fMRI è quello della reattività ai segnali rimandanti al gioco, rientrante nel quadro sintomatologico del *craving* e dell'astinenza. Si è infatti riscontrata una risposta cerebrale relativa al controllo degli impulsi, evocata tramite la esposizione

di immagini rimandanti al gioco d'azzardo, diminuita a livello orbitofrontale, talamico e dei gangli della base [96], mentre successivi studi hanno osservato un aumento di attività prefrontale e limbica durante lo stesso tipo di stimolazione visiva [97,98]. Ulteriore interesse ha investito la maniera in cui i giocatori d'azzardo patologici rappresentano il valore soggettivo della ricompensa: andando ad analizzare l'attività delle regioni ventro-striatali ed orbitofrontali, si riscontra una modulazione della rappresentazione della ricompensa basata sulla condizione specifica, così che i giocatori mostrino un aumentato deprezzamento delle ricompense posticipate ma anche un diminuito deprezzamento delle ricompense probabilistiche; inoltre, analizzando la regione ventrostriatale, prefrontale ventromediale, la *substantia nigra* e l'area tegmentale ventrale, nei soggetti con severità minore del disturbo si associano segnali di valutazione positiva nei confronti delle ricompense posticipate [99,100]. Per quanto riguarda il cluster sintomatologico del disinteresse nei confronti di altri aspetti della vita, si ritiene che questo possa essere ugualmente correlato ad alterazioni del sistema cerebrale della ricompensa determinanti ipervalutazione delle vincite a breve termine con svalutazione di quelle a lungo termine. Riscontri fMRI di questo quadro sintomatologico sono contrastanti: solamente alcuni studi hanno osservato attivazioni mutevoli in relazione alla vincita o perdita pecuniaria a livello prefrontale mediale e ventrale, o livello dello striato ventrale [101-105]. Gli studi fino ad ora esposti vengono definiti *task-related*, in quanto condotti durante l'esecuzione di una specifica attività da parte dei soggetti esaminati, con l'obiettivo di riscontrare una attivazione nella regione cerebrale relativa come risposta evocata.

Anche l'fMRI in resting state è stata applicata nelle indagini sul disturbo da gioco d'azzardo, con un numero di studi comunque nettamente minore rispetto a quelli coinvolgenti altre patologie di pertinenza psichiatrica, utilizzando principalmente un approccio analitico *seed-based*. Si trovano evidenze di una connettività funzionale diminuita tra la corteccia cingolata posteriore e il *Default Mode Network*, la circonvoluzione frontale superiore, la circonvoluzione temporale media e il precuneo. L'ipoconnettività con il DMN suggerisce un controllo cognitivo diminuito relativamente all'attenzione e all'autocontrollo, mentre le alterazioni a livello della circonvoluzione frontale superiore potrebbero correlare con un impoverimento delle attività mentali di introspezione e riflessione interna. La diminuita connettività temporale media invece è probabilmente associata alla incapacità dei soggetti giocatori nel far fronte a situazioni di incertezza, mentre le alterazioni del precuneo inducono a minori

possibilità di predizione e calcolo delle ricompense [106].

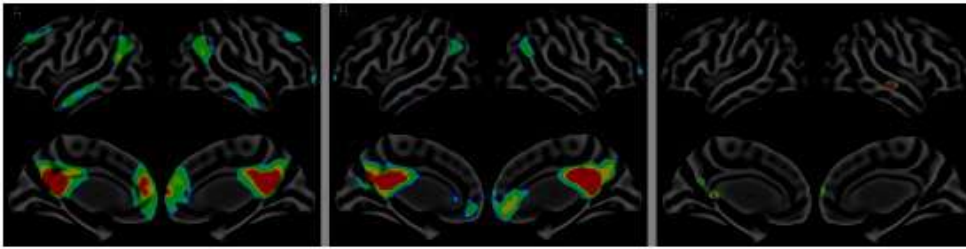


Figura 3.1: Aree di correlazione positiva con la corteccia cingolata posteriore, DMN, per (A) controlli sani e (B) giocatori d'azzardo patologici. (C) Aree in cui i giocatori d'azzardo patologici hanno dimostrato una minore connettività del DMN rispetto ai controlli [106].

Si è anche dimostrata una aumentata connettività tra la regione prefrontale anteriore destra e la ventrostriatale omolaterale (positivamente correlata con i profili psicologici misuranti nel soggetto la incapacità di pianificare, la gravità del vizio del fumo e delle manifestazioni di craving) [107].

Uno studio ha riscontrato un ridotto coefficiente di *clustering* (la misura in cui i nodi di un grafo tendono ad essere collegati tra loro) e una ridotta efficienza locale (misura della capacità di scambiare informazione tra nodi) a livello della area motoria supplementare (implicata nei processi di riconoscimento degli errori e nella aspettativa di ricompensa) e della corteccia paracingolata (importante nella rincorsa delle proprie perdite, e nel processo di allontanamento dal gioco d'azzardo); inoltre, in entrambe le regioni si registra un aumento del numero dei cammini minimi (i percorsi che collegano due nodi minimizzando i costi associati al trasferimento di dati fra loro). Se le aree implicate nei circuiti della ricompensa sembrano possedere una ridotta segregazione associata ad una aumentata integrazione tra loro, al contrario aree deputate a funzioni esecutive come la corteccia frontale laterale (seppur con una significatività minore rispetto alle precedenti) risultano meno integrate, inducendo un indebolimento dell'autoregolazione e della *working memory* dei soggetti. Riportando le misurazioni dello stesso studio, indipendentemente dall'approccio dei grafi, è inoltre risaltata una aumentata connettività funzionale tra il caudato sinistro e la corteccia cingolata anteriore destra, diminuita invece tra la amigdala sinistra e la corteccia sottocallosa sinistra [108].

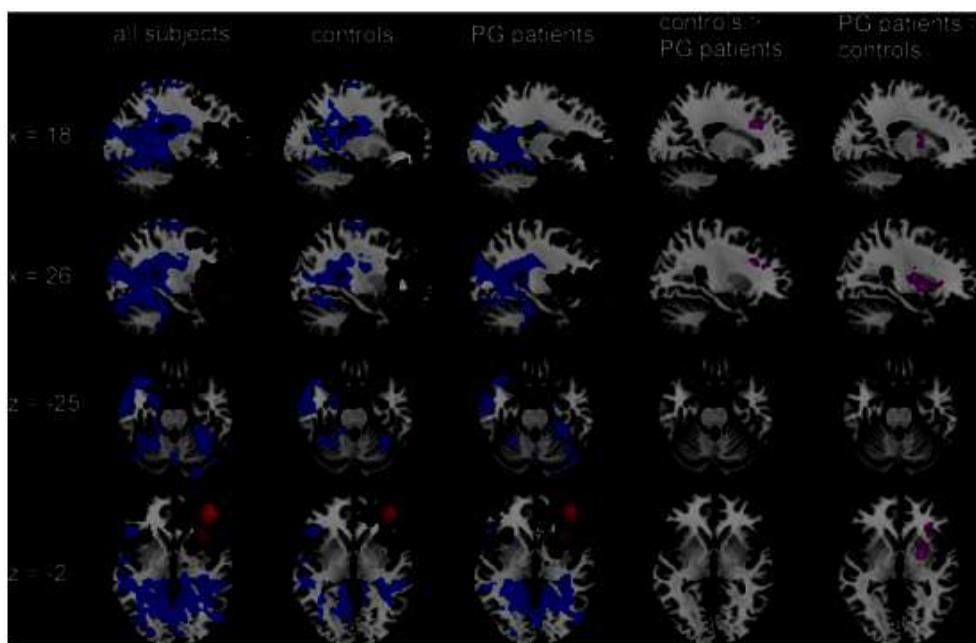


Figura 3.2: Rappresentazione grafica delle correlazioni positive (spettro rosso) e negative (spettro blu) con la circonvoluzione frontale media. Nell'ultima colonna a destra si può osservare una maggiore associazione con lo striato ventrale nei giocatori d'azzardo rispetto ai controlli sani [108].

3.4 Analisi Statistica dei dati

I metodi utilizzati per lo studio delle fluttuazioni spontanee nel segnale BOLD, mirano ad identificare le aree cerebrali funzionalmente connesse durante lo stato di riposo dei soggetti. I principali metodi riportati in letteratura, per lo studio dei dati fMRI in resting state, sono la *Seed-based Correlation Analysis* (SCA) e l'*Independent Component Analysis* (ICA).

3.4.1 Seed-based correlation analysis

La *Seed-based functional connectivity analysis* consiste nel calcolare il coefficiente di correlazione tra la media delle serie temporali (*time courses*) prelevate da una regione cerebrale di riferimento, chiamata *seed* o *ROI* (acronimo di *Region Of Interest*), e le serie temporali estratte da tutte le altre aree cerebrali. Una serie temporale corrisponde ai valori di intensità di uno stesso voxel in tutti i volumi cerebrali.

La correlazione temporale tra il *seed* e le aree cerebrali di interesse, viene stimata calcolando il coefficiente di correlazione di Pearson, espresso nell'equazione 3.1.

$$r = \frac{\int_0^T (x(t) - \bar{x})(y(t) - \bar{y})dt}{[\int_0^T (x(t) - \bar{x})^2 dt \int_0^T (y(t) - \bar{y})^2 dt]^{\frac{1}{2}}} \quad (3.1)$$

dove $x(t)$ e $y(t)$ rappresentano le serie temporali di due regioni e \bar{x} e \bar{y} sono i corrispondenti valori medi.

3.4.2 Independent Component Analysis

L'*Independent Component Analysis* è una tecnica di analisi statistica che partendo dal segnale registrato, permette di estrarre le sorgenti originali, spaziali e temporali (*time-course*), sfruttando la condizione di indipendenza statistica di queste ultime [109,110]. Questo problema in letteratura va sotto il nome di *Blind Source Separation* (BSS), dove il termine inglese *blind*, indica che le sorgenti sono quasi del tutto ignote. Il risultato è un insieme di Componenti Indipendenti (*Independent Components*, ICs) alcune delle quali chiaramente relative all'attivazione neuronale, mentre altre collegate a processi fisiologici o artefatti.

Si può descrivere l'analisi ICA ricorrendo all'esempio del *cocktail party*. Supponiamo di voler registrare la conversazione di un certo numero di persone tramite dei microfoni. Il segnale registrato da ciascun microfono riflette l'insieme dei segnali provenienti dai vari interlocutori (pesati in base alla distanza

dal microfono, la direzione della testa, ecc). L'obiettivo è quello di distinguere il contributo al segnale dei diversi interlocutori, a partire dal segnale registrato dal microfono considerato. Si assume che i microfoni e i soggetti non si muovano durante la registrazione così che il processo possa essere considerato stazionario.

Per poter risolvere il problema della separazione delle sorgenti con l'analisi ICA, vengono fatte le seguenti assunzioni:

- le sorgenti sono assunte statisticamente indipendenti;
- le sorgenti non possono avere una distribuzione gaussiana.

Formalmente consideriamo di avere N segnali (componenti) statisticamente indipendenti, $\mathbf{s} = [s_1, s_2, \dots, s_N]^T$ e di registrarli attraverso M rivelatori ottenendo così un vettore $\mathbf{x} = [x_1, x_2, \dots, x_M]^T$, con $M \geq N$, di segnali registrati [111]. I sensori devono essere spazialmente separati in modo che ognuno di essi registri una diversa combinazione dei segnali provenienti dalle sorgenti. Con questa assunzione il modello ICA in forma matriciale è espresso dalla seguente equazione:

$$\mathbf{x} = \mathbf{A}\mathbf{s} \quad (3.2)$$

dove $\mathbf{A}_{[M \times N]}$, detta matrice di *mixing*, rappresenta il peso di ciascuna componente nel segnale finale.

L'obiettivo è quello di ricostruire i segnali originali \mathbf{s} a partire dal set di segnali registrati \mathbf{x} . Per ottenere una stima di ciò si ricava prima la matrice di *unmixing* $\mathbf{W}_{[N \times M]}$ la quale permette di ottenere una stima delle sorgenti indipendenti secondo la seguente equazione:

$$\hat{\mathbf{s}} = \mathbf{W}\mathbf{x} \quad (3.3)$$

L'ultima assunzione è valida se la matrice di *mixing* è invertibile. Poiché sia \mathbf{A} che \mathbf{s} sono ignote, per ottenere un'unica soluzione al problema si assume che le sorgenti siano statisticamente indipendenti. Due variabili casuali s_1 e s_2 sono statisticamente indipendenti quando la probabilità congiunta è uguale al prodotto delle singole probabilità:

$$P(s_1, s_2) = P(s_1)P(s_2) \quad (3.4)$$

Se sono indipendenti, conoscere il valore dell'una non dà informazioni sul valore dell'altra. Quando le componenti sono generate da processi indipendenti

come nel caso dei processi neuronali nell’fMRI, la tecnica ICA permette di identificare correttamente le sorgenti del segnale purché sia valida l’ipotesi di non Gaussianità. Tale ipotesi è necessaria vista l’impossibilità di separare due sorgenti con distribuzione di probabilità gaussiana con il metodo ICA: la somma di due o più variabili distribuite gaussianamente è essa stessa una variabile gaussiana [112].

Uno degli algoritmi utilizzati per la determinazione delle ICA è l’algoritmo FastICA (implementato anche nel tool di FSL) che massimizza la non-Gaussianità sfruttando la *Negentropy* [113]. La *Negentropy* rappresenta la variazione di entropia che deve risultare essere nulla nel caso in cui venga applicata ad una variabile distribuita gaussianamente e non negativa in caso contrario. In generale, l’entropia di una variabile casuale può essere interpretata come la quantità di informazione necessaria per descrivere la variabile: maggiore è la casualità, minore è l’informazione che possediamo sulla variabile e maggiore è l’entropia. Per una variabile aleatoria continua y con una funzione di densità di probabilità $P(y)$, si definisce l’entropia differenziale come:

$$H(y) = - \int_{-\infty}^{+\infty} P(y) \ln P(y) dy \quad (3.5)$$

Una variabile gaussiana ha entropia maggiore tra tutte le variabili casuali di uguale varianza. Quindi, l’entropia può essere usata come misura di non-gaussianità. Si definisce la *negentropy* J di una variabile aleatoria y come segue:

$$J(y) = H(y_{gauss}) - H(y) \quad (3.6)$$

dove y_{gauss} è una variabile aleatoria gaussiana con la stessa matrice di covarianza di y . Essendo nulla per variabili gaussiane, per massimizzare la misura di non gaussianità la *negentropy* va massimizzata.

Nell’analisi ICA in fMRI si assume che i dati possano essere modellati identificando set di voxel la cui attività varia nel tempo in modo simile e in modo distinguibilmente differente da quella degli altri set. L’ICA quindi determina delle componenti spazialmente indipendenti, ciascuna caratterizzata da un andamento temporale caratteristico. Ci si riferisce a questo approccio con il termine *spatial-ICA*. I volumi funzionali vengono considerati come una realizzazione di t variabili casuali (*time points*) ognuna misurata su n voxel: cioè i dati provenienti da n voxel misurati in t distinti istanti temporali sono

rappresentati da una matrice \mathbf{X} tale che:

$$\mathbf{X}_{[t \times n]} = \mathbf{A}_{[t \times t]} \mathbf{S}_{[t \times n]} \quad (3.7)$$

La matrice \mathbf{S} conterrà sulle sue righe mappe spaziali statisticamente indipendenti, ovvero aree spaziali del cervello, ognuna delle quali caratterizzata dalla particolare serie temporale contenuta nella colonna associata della matrice quadrata di mixing \mathbf{A} . Graficamente, la Spatial-ICA è mostrato nella Figura 3.3.

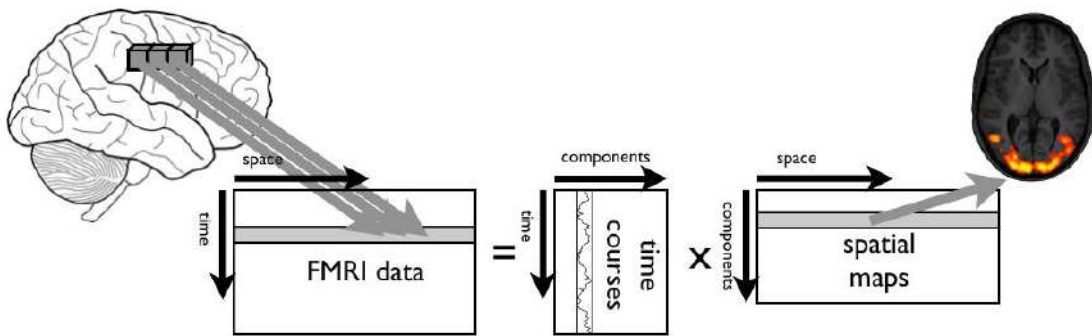


Figura 3.3: La tecnica spatial-ICA decompone le immagini funzionali in un set di mappe spaziali indipendenti e di corrispondenti serie temporali.

I dati complessivi sono quindi decomposti in un insieme di mappe spaziali indipendenti e in un insieme di serie temporali associate. Le sorgenti sono stimate ottimizzando iterativamente una matrice di *unmixing* \mathbf{W} tale che:

$$\mathbf{W} = \mathbf{A}^{-1} \quad (3.8)$$

dove la matrice di *mixing* \mathbf{A} è supposta quadrata. In questo modo la matrice delle sorgenti scritta nella forma:

$$\mathbf{S} = \mathbf{W}\mathbf{X} \quad (3.9)$$

contiene righe mutualmente indipendenti.

Nella tecnica ICA non è incluso un modello di rumore. Questo comporta che le minime differenze nella funzione di risposta emodinamica (HDR) misurate in diversi voxel sono necessariamente trattate come "effetti reali". Tali differenze potrebbero rappresentare sia valide variazioni spaziali (ad esempio risposte temporali leggermente diverse tra emisfero destro e sinistro) che variazioni del livello di rumore di fondo; questo può causare che *clusters* di voxel

che si attivano per uno stesso stimolo esterno vengano frammentati in diverse mappe spaziali. Inoltre, questo modello non permette l'applicazione di test di significatività statistica. Si può pensare di trasformare le mappe spaziali in *Z-scores* e decidere un opportuno valore di soglia, bisogna però tenere presente che le mappe spaziali derivano dalla decomposizione ICA nella quale la stima ottimizza la non-gaussianità della distribuzione delle intensità spaziali. L'istogramma delle intensità spaziali di una singola componente non è gaussiano ed una trasformazione in *Z-scores* voxel-wise e successiva sogliatura non ha alcun significato statistico, rappresenta solamente quanto le intensità dei voxel differiscono dall'intensità media [109].

Al fine di affrontare queste problematiche è stato sviluppato il modello ICA probabilistico (PICA) per dati fMRI, il quale consente un processo di *mixing* non quadrato e assume che i dati siano corrotti da rumore additivo Gaussiano [5]. Attraverso tale modello probabilistico, implementato dal software MELODIC di FSL [114], è stata condotta l'analisi statistica sui dati fMRI in questo lavoro di Tesi.

Probabilistic ICA

Il modello PICA è stato formulato per risolvere i due problemi principali esistenti nella metodologia ICA classica applicata a dati di fMRI, ovvero trascurare il rumore può causare una stima imprecisa della dimensione vera delle sorgenti indipendenti portando al problema dell'*overfitting*. Infatti, dover fittare con un modello generativo *noise-free* acquisizioni rumorose, può portare alla generazione di troppe componenti in uscita. Ciò porta alla frammentazione del segnale in mappe spaziali multiple riducendo così la possibilità di identificare il segnale di interesse [115]. Un altro problema è quello di non poter associare significatività statistica ai singoli voxel all'interno delle mappe spaziali.

Queste difficoltà vengono superate con il modello *Probabilistic Independent Component Analysis* (PICA) che introduce nel modello ICA classico una matrice di *mixing* non quadrata e un termine di rumore additivo e Gaussiano, formalmente espresso dalla seguente equazione:

$$\mathbf{X}_{[t \times n]} = \mathbf{A}_{[t \times q]} \times \mathbf{s}_{[q \times n]} + \boldsymbol{\eta}_{[t \times n]} \quad (3.10)$$

dove t rappresentano i *time points*, n il numero di voxel e q il numero di componenti staticamente indipendenti (IC) [5]. Il rumore fisiologico appare

nei dati come rumore non-Gaussiano, e come tale viene stimato alla pari degli altri processi sorgente. Riscrivendo l'equazione 3.10 per un singolo voxel i si ha:

$$x_i = A s_i + \mu + \eta_i \quad (3.11)$$

dove x_i denota il vettore colonna t -dimensionale di singole misurazioni al voxel alla posizione i , s_i è il vettore colonna q -dimensionale di sorgenti non-Gaussiane ed infine η_i rappresenta il rumore Gaussiano $\eta_i \sim \mathcal{N}(0, \sigma^2 \mathbf{I})$. Si assume che $q < t$, ovvero che vi siano meno processi sorgente rispetto alle osservazioni temporali. Il vettore μ definisce la media delle osservazioni x_i e la matrice di *mixing* A , di dimensione $[t \times q]$, che mette in relazione il vettore \mathbf{t} delle osservazioni (\mathbf{X}) con il corrispondente vettore \mathbf{q} delle variabili latenti (\mathbf{s}) è ipotizzata di rango q .

Per risolvere il problema di separazione delle sorgenti occorre trovare una matrice \mathbf{W} , di dimensioni $[q \times t]$, tale che la stima:

$$\hat{\mathbf{s}} = \mathbf{W} \cdot \mathbf{x} \quad (3.12)$$

sia una buona approssimazione delle sorgenti \mathbf{s} .

Prima di procedere alla stima delle sorgenti tramite Fast-ICA, si devono eseguire delle operazioni preliminari sui dati:

- *Centering*: i dati vengono resi a media nulla;
- *Pre-Whitening* spaziale dei dati: dopo aver reso i dati osservati \mathbf{x} a media nulla, si trasforma (mediante decomposizione a valori singolari SVD della matrice di covarianza) l'insieme di variabili casuali aventi Σ come matrice di covarianza in una serie di nuove variabili casuali la cui matrice di covarianza è la matrice identità \mathbf{I} , in modo da ottenere segnali scorrelati e con varianza unitaria ($\sigma^2=1$);
- Un *Pre-whitening* della covarianza del rumore: *whitening* dei dati relativamente alla covarianza del rumore, rendendolo in questo modo isotropo in ogni voxel ($\sigma^2\mathbf{I}$).
- Come ultimo step del pre-processing viene eseguita un'analisi *Probabilistic Principal Component Analysis* (PPCA) che consente di ridurre la dimensionalità dei dati.

Mixture model

Ai fini di eseguire un'inferenza statistica e quindi valutare se l'attivazione dei voxel è significativamente maggiore di un segnale complessivo di fondo, l'algoritmo PICA si avvale del modello probabilistico *mixture modelling* [116] applicato alla densità di probabilità delle mappe spaziali *Z-scores*. Poichè il termine di rumore nel modello PICA rimane additivo e Gaussiano anche dopo la trasformazione dei valori di intensità in *Z-scores*, si può modellare la distribuzione dei valori di intensità spaziali di ciascuna mappa IC attraverso *K mixing* di distribuzioni Gaussiane monodimensionali. In particolare, nell'algoritmo PICA viene utilizzato il *Gaussian/Gamma Mixture Model* (GGM). Tale approccio permette di modellare i pixel non attivi (rumore di fondo Gaussiano) con una distribuzione Gaussiana e l'istogramma delle mappe Z delle sorgenti non Gaussiane con una o più distribuzioni Gamma (Figura 3.4).

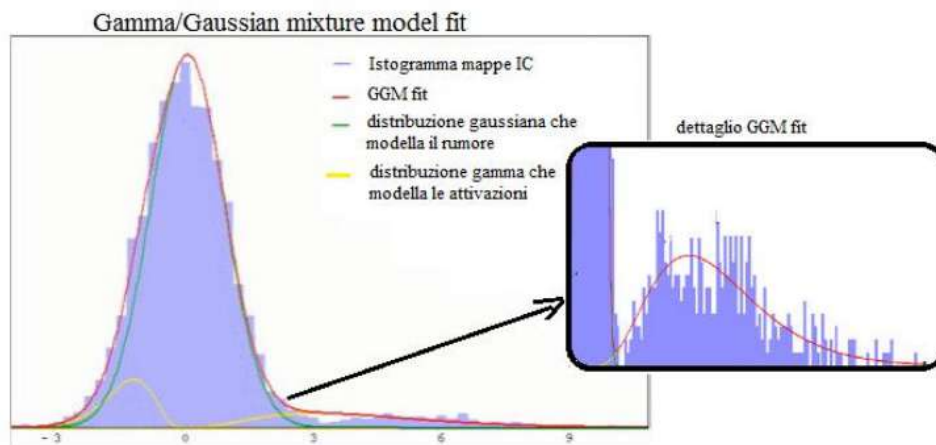


Figura 3.4: *Gamma/Gaussian mixture model* utilizzato per fittare l'istogramma delle mappe *Z*-statistiche: la gaussiana di colore verde modella il rumore di fondo gaussiano, la distribuzione gamma in giallo modella gli effetti BOLD. Il processo di fitting GGM è rappresentato in rosso.

In questo modo, si può calcolare la probabilità *a posteriori* di "attivazione" come il rapporto tra la probabilità del valore di intensità corretto da rumore gaussiano rispetto alla somma delle probabilità dei valori di "attivazione" rappresentate da una o più distribuzioni Gamma.

Applicazione dell'analisi ICA ai dati fMRI di più soggetti

Per l'analisi dati fMRI in *resting-state*, relativa ad un gruppo di soggetti, viene utilizzata l'analisi ICA di gruppo (GICA) e in particolare la concatenazione temporale (Fig. 3.5) dei dati relativi a più soggetti (TC-GICA *Temporal Con-*

catenation Group ICA), che si basa sempre sull'assunzione di indipendenza statistica delle mappe delle componenti che verranno estratte [5,117]. Alla ba-

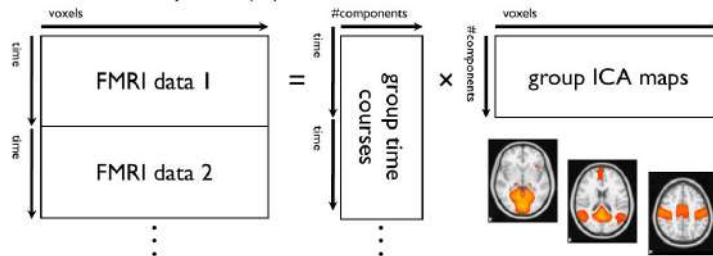


Figura 3.5: Rappresentazione grafica dell'analisi TC-GICA (Temporal Concatenation Group ICA). Dalla concatenazione temporale dei dati acquisiti di soggetti, si ottengono le mappe spaziali di gruppo e le relative serie temporali.

se di questa scelta vi è l'ipotesi che i *pattern* spaziali siano comuni all'interno della popolazione, al contrario della risposta temporale che non può invece essere assunta consistente tra i soggetti. Ciò equivale a ritenere che le differenze maggiori si riscontrino nelle serie temporali associate a ciascuna componente indipendente più che nelle mappe spaziali [118]. Tale approccio consente di ottenere per ciascuna componente stimata una mappa spaziale e una serie temporale ad essa associata da cui è possibile risalire alle componenti individuali di ogni soggetto. Ciò rende possibile il confronto tra gruppi diversi di soggetti e tra soggetti all'interno dello stesso gruppo.

3.4.3 Dual Regression

Le mappe spaziali e i relativi *time course* ottenuti con la TC-GICA riflettono le caratteristiche comuni tra tutti i soggetti considerati. Per ricostruire le mappe e le serie temporali del singolo soggetto, a partire dalle mappe risultanti da TC-GICA, si utilizza il metodo della *dual regression* implementato su FSL (Beckmann,2009). L'analisi *dual regression* consiste in tre step essenziali:

1. si ricavano le serie temporali relative alle componenti indipendenti, dell'*i*-esimo paziente (TCs in ogni riga della matrice, relativa al soggetto *i*) a partire dall'*i*-esima matrice dei dati fMRI acquisiti, e utilizzando le mappe spaziali ottenute dalla procedura GICA, come regressori in un'analisi GLM (Fig. 3.6).

In forma matriciale questo è espresso dalla seguente equazione:

$$\mathbf{X}_{i[p \times n]} = \mathbf{S}_{gruppo[n \times \nu]} \times \mathbf{A}_{i[\nu \times p]} + \boldsymbol{\eta}_{i[p \times n]} \quad (3.13)$$

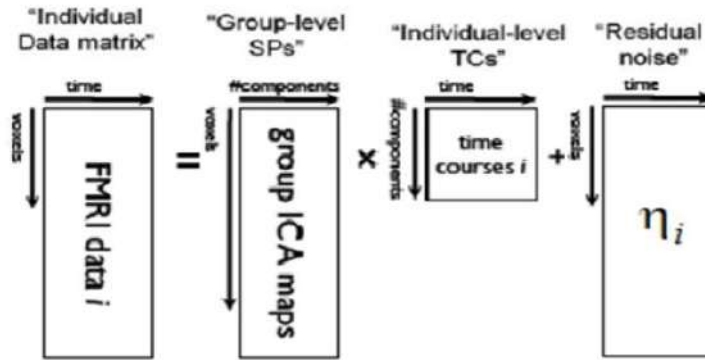


Figura 3.6: Rappresentazione grafica del primo step dell'analisi *dual regression*: a partire dall'*i*-esima osservazione (fMRI data *i*) e dalle mappe spaziali di gruppo ottenute da TC-GICA, si ottengono, mediante un'analisi GLM, i *time course* relativi alle componenti indipendenti dell'*i*-esimo soggetto.

dove p è l'indice che scorre sui *time points*, n scorre sul numero di voxel, ν rappresenta il numero delle componenti principali di ogni soggetto.

2. Si normalizzano i *time course* ottenuti in modo che i dati abbiano media zero e varianza unitaria.
3. Si ottengono le mappe spaziali statisticamente indipendenti dell'*i*-esimo soggetto a partire dall'*i*-esima matrice dei dati fMRI acquisiti e utilizzando la serie temporale corrispondente, ottenuta al passo 1, come regressori temporali in un'analisi GLM.

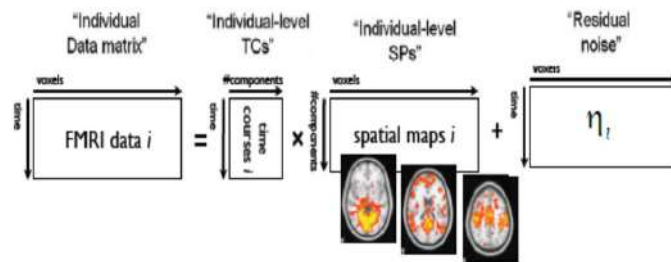


Figura 3.7: Rappresentazione grafica dell'ultimo step dell'analisi *dual regression*: a partire dall'*i*-esima osservazione (fMRI data *i*) e dai *time course* del soggetto in questione, ottenuti al passo 1, si ottengono, mediante un'analisi GLM, le mappe spaziali indipendenti dell'*i*-esimo soggetto.

Formalmente si esprime come segue:

$$\mathbf{X}_{i[p \times n]} = \hat{\mathbf{A}}_{i[\nu \times p]} \times \mathbf{S}_{[n \times \nu]} + \boldsymbol{\eta}_{i[p \times n]} \quad (3.14)$$

3.5 Materiali e metodi

3.5.1 Strumentazione

Tutte le immagini di Risonanza Magnetica, sia quelle strutturali che quelle funzionali, sono state acquisite utilizzando uno scanner *MRI GE Signa HDxt 1.5T*, come quello mostrato in Figura 3.8 presso la sezione di Radiologia del Policlinico Universitario "Paolo Giaccone" di Palermo.



Figura 3.8: Scanner MRI GE Signa HDxt 1.5T.

3.5.2 Acquisizione dei dati

Le immagini anatomiche ad alta risoluzione spaziale T_1 -pesate sono state acquisite utilizzando una sequenza FSPGR-IR (*Fast Spoiled Gradient Recalled Acquisition in Steady State Inversion Recovery*) (Fig. 3.9).

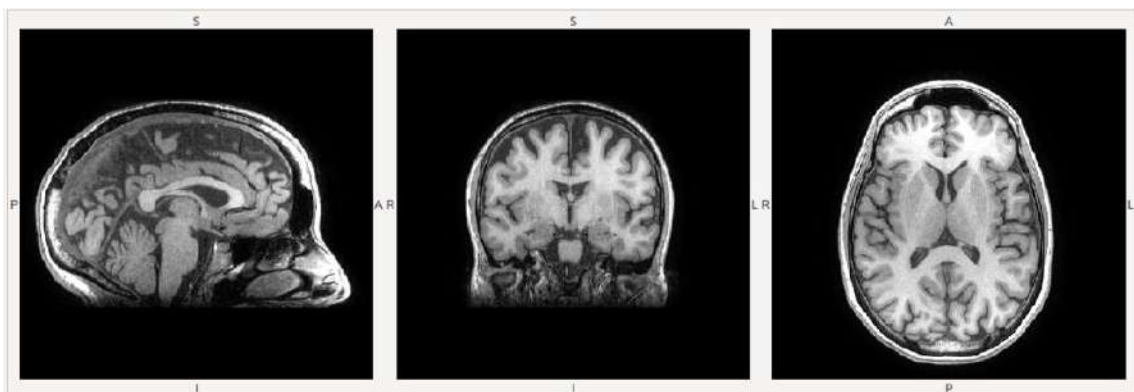


Figura 3.9: Immagine anatomica T_1 -pesata ad alta risoluzione. Da sinistra a destra sono mostrati i piani: sagittale, coronale e assiale.

I valori dei parametri di acquisizione sono stati impostati come segue:

- Tipo di acquisizione: 3D;
- Repetition Time (TR): 1000ms;
- Echo Time (TE): 5ms;
- Flip Angle: 90°;
- Dimensione matrice: 512 × 512;
- Dimensione pixel: 1.2mm × 1.2 mm;
- Spessore di ogni fetta: 1.2 mm;
- Numero di volumi: 1.

Le immagini funzionali in RS-fMRI sono state acquisite utilizzando una sequenza GE-EPI (*Gradient-Echo Echo-Planar Imaging*) (Fig. 3.10).

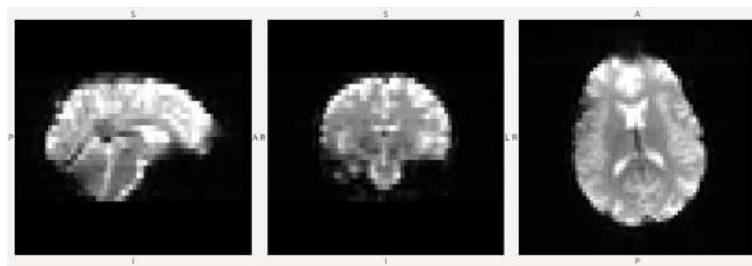


Figura 3.10: Immagine funzionale T_2^* -pesata a bassa risoluzione. Da sinistra a destra sono mostrati i piani: sagittale, coronale e assiale.

Consistono nell'acquisizione di 300 volumi per ogni sessione della durata di 10 minuti. I parametri di acquisizione per le immagini funzionali sono:

- Tipo di acquisizione: 2D
- Repetition Time (TR): 2000ms
- Echo Time (TE): 60ms
- Flip Angle: 90°
- Dimensione matrice: 64 × 64
- Dimensione pixel: 3.75 mm × 3.75 mm
- Spessore di ogni fetta: 6 mm
- Numero di volumi: 300

3.5.3 Soggetti

Per lo svolgimento dello studio sono stati reclutati 14 soggetti sani e 14 giocatori d'azzardo patologici provenienti dal Servizio Centrale per le Dipendenze di Palermo (tutti di sesso maschile, destrimani, età media $36,17 \pm 9,45$). I due gruppi non differivano per età media e scolarità. In questi soggetti la tendenza al gioco d'azzardo problematico/patologico è stata misurata tramite il SOGS (*South Oaks Gambling Screen*) e il GABS (*Gambling Attitudes and Beliefs Survey*). La presenza di sintomi ossessivi compulsivi è stata misurata tramite il *Yale-Brown Obsessive Compulsive Test*. Lo stato d'ansia è stato misurato tramite lo STAI (*State-Trait Anxiety Inventory*). Lo stato depressivo è stato misurato tramite il BDI (*Beck Depression Inventory*). L'impulsività è stata misurata tramite il BIS (*Barratt Impulsiveness Scale*). Lo stress totale è stato misurato tramite la MSP (Misura di Stress Percepito).

3.5.4 Pre-processing

Prima dell'analisi statistica che permette di individuare le aree del cervello funzionalmente connesse, è necessario applicare ai dati delle procedure computazionali necessarie che costituiscono il cosiddetto *preprocessing*. Questi *steps* di *pre-processing* hanno principalmente due scopi. Il primo è quello di rimuovere dai dati la variabilità che non rispecchia direttamente gli effetti sperimentali. Tutti i dati fMRI, infatti, sono soggetti ad artefatti spaziali e temporali di intensità spesso sovrapponibile a quella del segnale HDR (risposta emodinamica) [119]. Tali artefatti possono essere sia fisiologici, ad esempio dovuti al battito cardiaco o alla respirazione, sia dovuti al paziente come il movimento della testa, ma anche strumentali come inomogeneità del campo statico o nella temporizzazione dell'acquisizione delle immagini. Riducendo la variabilità totale del segnale dovuta ad artefatti si aumenta il rapporto segnale-rumore (SNR). Il secondo scopo è quello di rendere i dati utilizzabili per le analisi statistiche, cioè tali da non violare i principi di applicabilità delle analisi statistiche successive.

Il *preprocessing* dei dati è stato effettuato, con due tools di FSL: BET (*Brain Extraction Tool*) [120,121] e MELODIC (*Multivariate Exploratory Linear Optimized Decomposition into Independent Components*).

Nel tool MELODIC vengono richiamati altri software di FSL quali FLIRT (*FMRIB's Linear Image Registration Tool*) e FNIRT (*FMRIB's Non-linear Image Registration Tool*) [122,123]. Gli *steps* eseguiti sono elencati di seguito:

- Conversione del formato dell'immagine;
- Eliminazione dei primi volumi funzionali;
- Correzione per il movimento;
- Slice Timing Correction;
- Spatial Smoothing;
- Normalizzazione dell'intensità;
- Filtraggio temporale;
- Skull-strip delle immagini funzionali e strutturali;
- Coregistrazione funzionale-strutturale;
- Normalizzazione spaziale.

Conversione del formato dell'immagine

Le immagini MRI vengono acquisite dallo scanner nello spazio K e un software al suo interno, sfruttando la trasformata di Fourier, le converte in DICOM (Digital Imaging and Communication in Medicine), il formato standard per le immagini biomediche. Per poterle analizzare con i tools di FSL, sono state convertite, tramite il software "dcm2nii", nel formato *NIfTi*, il quale rispetto al primo contiene il volume cerebrale e l'header in un unico file.

Eliminazione dei primi volumi funzionali

In seguito all'applicazione del campo magnetico statico e dei gradienti, il vettore di magnetizzazione netta impiega qualche secondo a raggiungere la condizione di equilibrio. Questo si ripercuote sui primi volumi delle immagini funzionali acquisite, che presentano un contrasto differente dalle altre immagini (Fig. 3.11). Per tale motivo sono state escluse da ogni data-set funzionale i primi 5 volumi relativi ai primi dieci secondi di acquisizione.

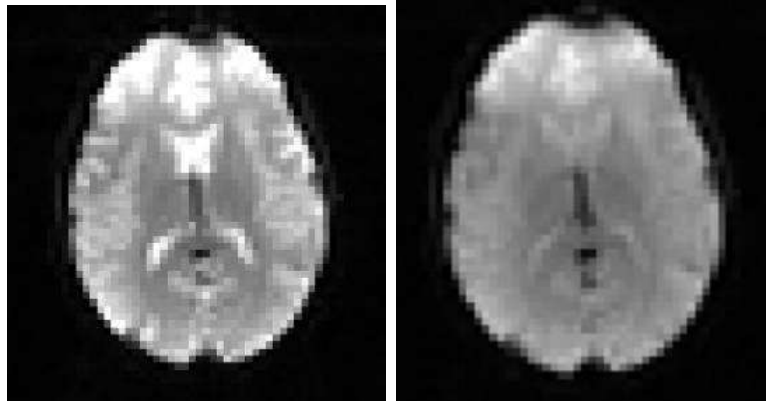


Figura 3.11: Vista assiale: a sinistra il primo volume funzionale, a destra il sesto volume funzionale. Si nota una differenza di contrasto nelle due immagini dovuta al mancato raggiungimento della condizione di equilibrio della magnetizzazione nei primi secondi dell'acquisizione.

Correzione per il movimento

La principale fonte di errore delle acquisizioni funzionali è il movimento della testa, volontario o involontario. Rispetto ad altri problemi, il movimento della testa può essere limitato, ma non eliminato del tutto, usando dei sistemi che immobilizzano la testa (Fig. 3.12). Bisogna osservare che un piccolo movimen-



Figura 3.12: Apparecchi utilizzati per immobilizzare la testa in uno scanner di risonanza magnetica.

to della testa (4-5mm) porta a pesanti errori nell'acquisizione del segnale. Un'acquisizione rs-fMRI necessita di un tempo di acquisizione elevato; ciò determina un affaticamento non indifferente del soggetto il quale, di conseguenza, si muove non riuscendo a soddisfare la richiesta di rimanere immobile. Il movimento della testa può anche essere causato da azioni involontarie quali respiro e pulsazione cardiaca. Gli artefatti da movimento sono frequenti ai confini dei

tessuti, al bordo del cervello o vicino a grandi vasi. Quando il soggetto muove la testa, infatti, i neuroni appartenenti ad un certo voxel si “spostano” dalla posizione di riferimento iniziale e, quindi, la serie temporale relativa a quel voxel non è più rappresentativa di quel particolare gruppo di neuroni. È come se la serie temporale di qualche altro voxel venisse attribuita, dopo il movimento, ad una posizione errata. Lo scanner acquisisce l’immagine considerando una posizione spaziale assoluta e non relativa alla posizione del cervello, quindi il movimento della testa può causare che un dato voxel contiene il segnale proveniente da due tessuti diversi come materia grigia e ventricolo.

Per poter eliminare gli artefatti causati dal movimento si cerca di allineare le immagini in modo che il cervello sia sempre nella stessa posizione. Il processo con cui si riallineano spazialmente i volumi è chiamato **coregistrazione**. Tutti i volumi vengono coregistrati in un volume di riferimento che nelle nostre analisi è il volume acquisito a metà della serie temporale e non quello all’inizio. Questa scelta è suggerita dal fatto che il volume a metà della serie temporale è in media il più vicino ad ogni altra immagine nella serie temporale.

La procedura di correzione del movimento è stata effettuata utilizzando un tool di registrazione affine in FSL chiamato MCFLIRT. L’algoritmo tiene conto del fatto che in ogni istante il cervello presenta sempre la stessa forma e le stesse dimensioni quindi è possibile correggere i movimenti della testa attraverso 6 parametri, 3 di traslazione (x,y,z) e 3 di rotazione (Roll: ϕ , Pitch: θ , Yaw: ψ) atti a caratterizzare il moto dei corpi rigidi nello spazio 3D (Figura 3.13). Questi 6

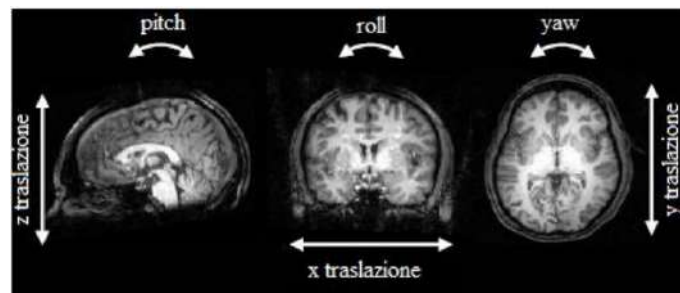


Figura 3.13: Possibili movimenti della testa: traslazione lungo i tre assi e tre possibili rotazioni attorno agli stessi.

parametri vengono stimati facendo riferimento ad una funzione costo cioè una funzione che assume il minimo quando si ha la massima sovrapposizione tra i vari volumi e quello di riferimento. In FSL la funzione costo utilizzata è la *normalized correlation*:

$$C = \frac{\sum_{\nu=1}^n (A_{\nu} B_{\nu})}{\sqrt{\sum_{\nu=1}^n A_{\nu}^2} \sqrt{\sum_{\nu=1}^n B_{\nu}^2}} \quad (3.15)$$

dove A_ν e B_ν rappresentano l'intensità del ν -esimo voxel rispettivamente nell'immagine A e B, n è il numero totale di voxel. Quindi, si deve trovare una trasformazione rigida (rotazione + traslazione) tale che ogni volume funzionale sia allineato al volume di riferimento. Le matrici di trasformazione sono espresse di seguito:

$$T = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & X \\ 0 & 1 & 0 & Y \\ 0 & 0 & 1 & Z \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}$$

$$R_x(\phi) = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \cos \phi & \sin \phi & 0 \\ 0 & -\sin \phi & \cos \phi & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} R_y(\theta) = \begin{bmatrix} \cos \theta & 0 & \sin \theta & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ -\sin \theta & 0 & \cos \theta & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} R_z(\psi) = \begin{bmatrix} \cos \psi & \sin \psi & 0 & 0 \\ -\sin \psi & \cos \psi & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}$$

In Figura [3.14](#) sono mostrati due grafici relativi ai parametri di traslazione e rotazione della testa, stimati per ciascun *time point* (acquisizione ad un particolare istante di tempo), rispetto al *time point* centrale corrispondente al volume di riferimento. Il terzo grafico mostra lo spostamento relativo della posizione della testa, per ciascun *time point*, rispetto alla posizione assunta al *time point* precedente, e lo spostamento assoluto cioè quello relativo all'immagine di riferimento. Una volta stimati i parametri della trasformazione, questi vengono applicati ai volumi iniziali per ottenere le immagini allineate.

Slice timing correction

L'acquisizione dell'intero volume cerebrale avviene utilizzando una sequenza di impulsi GE-EPI che permette di acquisire le varie fette in ordine sequenziale a partire dal collo. Questo tipo di acquisizione (*ascending slice acquisition*) così come quella *interleaved slice acquisition*, (in cui lo scanner raccoglie prima le *slices* pari e poi quelle dispari), comporta una differenza temporale tra le varie slice che causa imprecisioni sulla ricostruzione della risposta emodinamica.

Per correggere questi errori si effettua la *slice timing correction* che consiste in un'interpolazione temporale al fine di riallineare la risposta emodinamica registrata nelle varie *slices*. FSL effettua la *slice timing correction* sfruttando l'approssimazione di Taylor per cui $m(t+a) = m(t) + am'(t)$. Il modello della risposta emodinamica ottenuta dopo la *slice timing correction* risulta essere

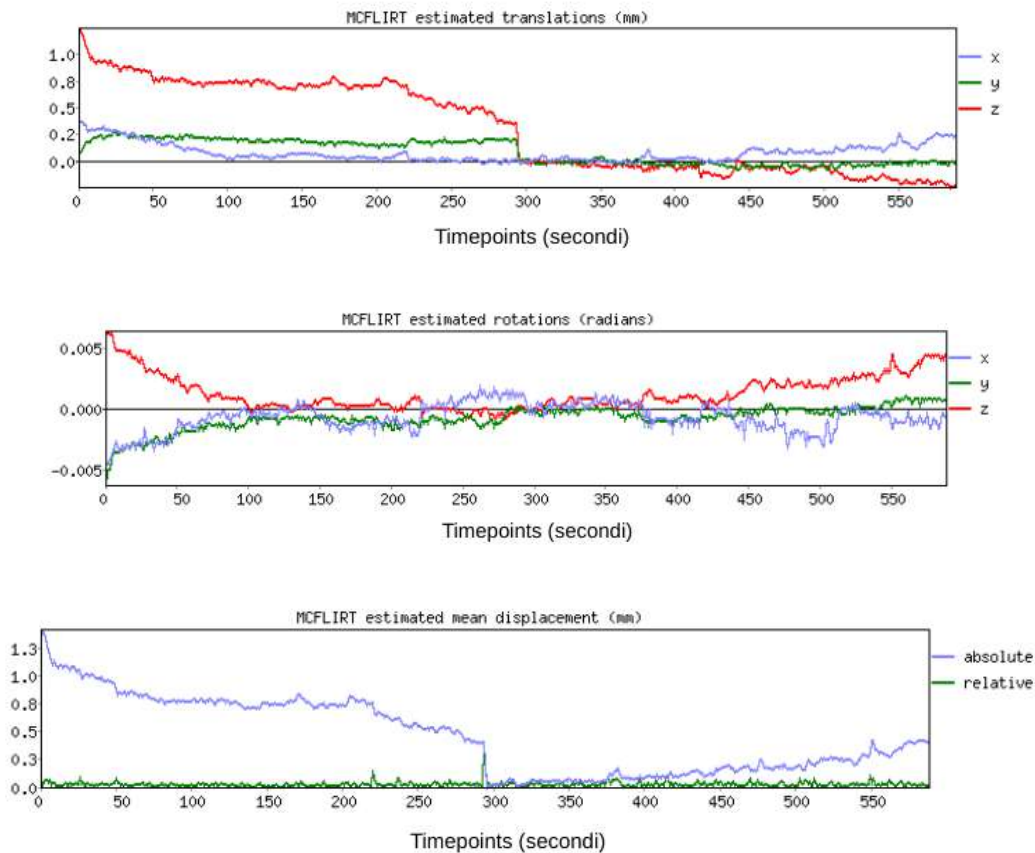


Figura 3.14: Grafici che rappresentano il processo di stima dei 6 parametri per la correzione del movimento. In alto è mostrato il grafico relativo ai parametri di traslazione, al centro quello relativo alla rotazione della testa e in basso lo spostamento relativo e quello assoluto della testa di uno dei pazienti. I parametri sono nulli in corrispondenza del volume di riferimento che ovviamente si sovrappone a se stesso perfettamente.

correttamente traslato come risultato della sottrazione delle derivate temporali al modello originale (Fig. 3.15).

Spatial smoothing

Un altro passo del *preprocessing* è lo *smoothing* spaziale. La procedura di *smoothing* spaziale comporta la valutazione della media dell'intensità di ogni voxel con il valore dei voxel adiacenti (Fig. 3.16). Nell'fMRI si usa lo *smoothing* spaziale perché i dati acquisiti presentano un certo grado di correlazione, che si vuole ridurre per poter effettuare le successive analisi statistiche e per eliminare le alte frequenze spaziali spesso associate a rumore.

Un filtro Gaussiano di *smoothing* è sostanzialmente un filtro passa-basso, il cui effetto è quello di ridurre il rumore alle alte frequenze e di lasciare i volumi cerebrali (e perciò anche le relative immagini 2D) pressoché inalterati

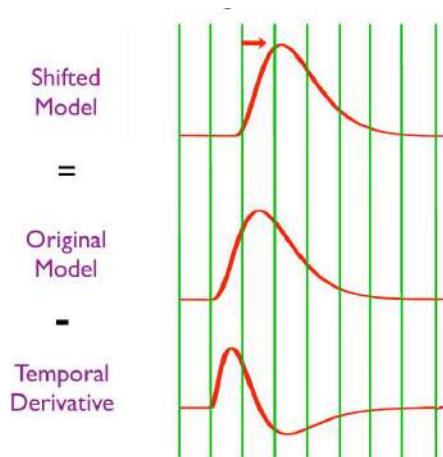


Figura 3.15: Effetto della *slice timing correction* effettuata da FSL.

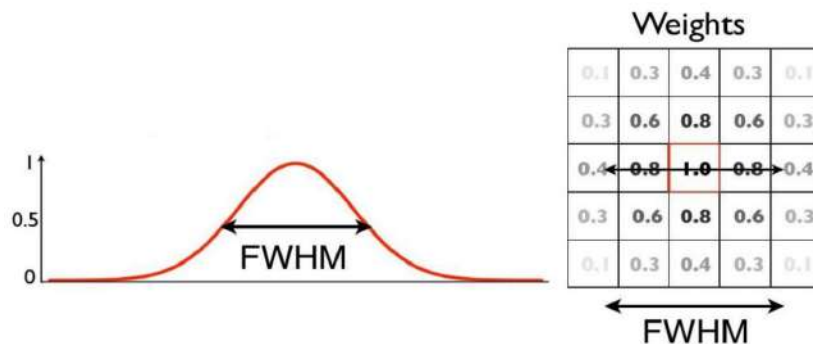


Figura 3.16: Rappresentazione bidimensionale di un filtro gaussiano.

alle basse frequenze. In realtà questo filtraggio spaziale passa-basso produce un annebbiamento (*“blurring”*) delle immagini, con conseguente perdita di risoluzione spaziale; d’altro canto, dopo il filtraggio le immagini appaiono più pulite e le aree di attivazione funzionali più vicine tra loro risultano unite.

Il filtraggio spaziale dei dati è determinato dalla larghezza della distribuzione, che non viene espressa in termini di deviazione standard σ , ma in termini di larghezza a mezza altezza (FWHM) legata alla deviazione standard dall’equazione $FWHM=2\sigma\sqrt{2\ln 2}$. Nelle nostre analisi la FWHM è stata posta pari a 10mm.

Normalizzazione dell’intensità

Il successivo step del *pre-processing* consiste nella normalizzazione dell’intensità con il quale si forza ogni volume ad avere la stessa intensità media, al fine di poter confrontare le immagini ottenute di uno stesso soggetto in diverse sessioni o i dati relativi a diversi soggetti tra loro.

Filtraggio temporale

Un altro step del *pre-processing* consiste nell'utilizzo di filtri temporali, al fine di migliorare la qualità dei dati aumentando il rapporto segnale-rumore. Il filtro temporale è sostanzialmente un filtro passa-alto che rimuove le componenti lente dovute allo scanner. Si è scelto un periodo di cut-off pari a 100 s, scelta legata al fatto di voler preservare le frequenze comprese nel range 0.01-0.1 Hz, cioè le frequenze responsabili dei *pattern* di correlazione del segnale BOLD spontaneo.

Skull-Strip delle immagini

Nelle immagini strutturali T_1 -pesate con alta risoluzione spaziale, oltre al tessuto cerebrale, è visibile anche tessuto non cerebrale come lo scalpo, gli occhi e il collo. Nelle immagini funzionali T_2^* -pesate, a bassa risoluzione spaziale, la parte del tessuto non cerebrale è lievemente visibile. Ciò è dovuto alla natura diversa dei contrasti utilizzati nei due tipi di immagini. Poiché il passo successivo dell'analisi dati consiste nella registrazione dei volumi funzionali sul volume anatomico, per aumentare la robustezza della registrazione, vengono rimosse tutte le parti di tessuto non cerebrale da entrambe le immagini. Il tool di FSL utilizzato per questo scopo è BET e la differenza tra un'immagine strutturale acquisita e la stessa immagine dopo l'estrazione del cervello è mostrata in Figura [3.17](#).

Coregistrazione funzionale-strutturale

Come già detto, le immagini funzionali hanno una bassa risoluzione spaziale rispetto all'immagine strutturale T_1 -pesata. Nella Figura [3.18](#) si nota che nell'immagine funzionale non sono ben definiti i diversi tessuti cerebrali, si distinguono meglio solo i ventricoli e la materia grigia all'esterno; nell'immagine strutturale ad alta risoluzione sono invece chiari i dettagli e la distinzione tra i tessuti.

Al fine di interpretare i risultati e capire a quali regioni cerebrali i voxel funzionalmente connessi fanno parte, è necessario procedere con la fase di coregistrazione, tramite la quale si provvede al riallineamento delle immagini funzionali (T_2^* -pesate) sulla corrispondente immagine anatomica (T_1 -pesata). L'obiettivo è quello di sovrapporre le informazioni contenute nelle immagini funzionali su un'immagine dove è possibile discriminare le regioni anatomiche. Tutto ciò è stato fatto per ogni singolo soggetto, mediante una trasformazione

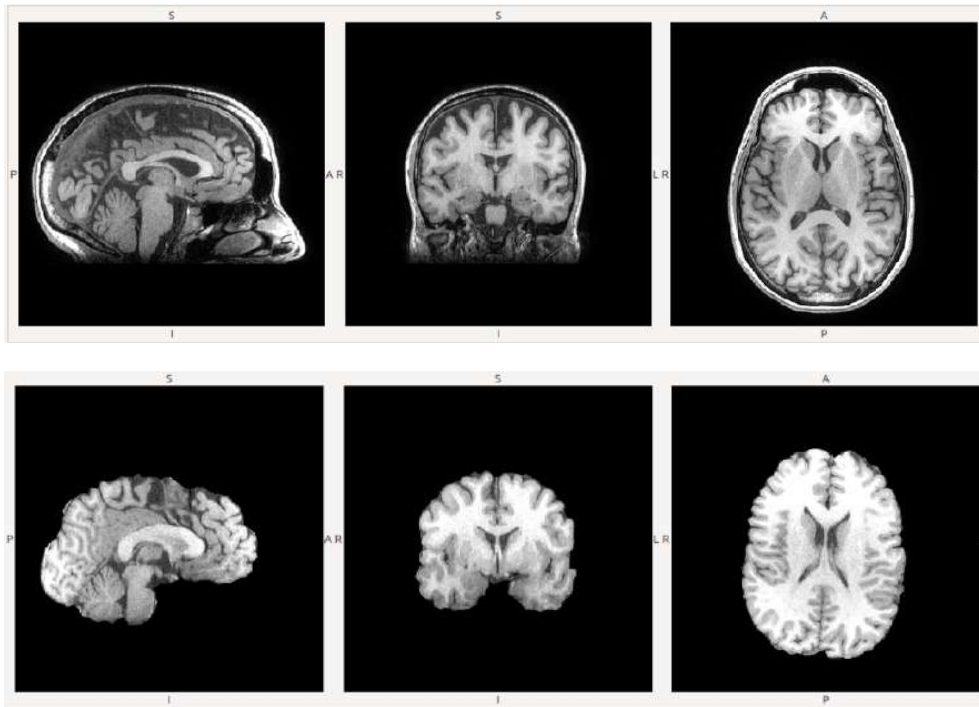


Figura 3.17: Da sinistra a destra sono mostrati i piani sagittale, coronale e assiale. In alto è mostrata l'immagine strutturale T_1 -pesata prima dell'estrazione del cervello. In basso è mostrata la stessa immagine dopo l'esecuzione del BET.

rigida (Normal Search BBR) con FLIRT (FMRIB's Linear Image Registration Tool).

Normalizzazione spaziale

Nel nostro studio di rs-fMRI siamo interessati alla variazione delle funzioni cerebrali non del singolo soggetto, ma di un gruppo di soggetti sottoposti al medesimo protocollo sperimentale. Bisogna tener conto che il cervello umano presenta una certa variabilità sia nella forma che nelle dimensioni. Ha un peso piuttosto variabile che non supera 1.5 kg ed ha un volume compreso tra i 1.100 e i 1.300 cm^3 . La forma esterna e la suddivisione interna sono notevolmente diverse tra i soggetti poiché dipendono da vari fattori come l'età e il sesso.

Per rendere possibile un confronto fra soggetti è necessario che i diversi cervelli abbiano forme e dimensioni confrontabili fra loro, per far sì che una locazione nella scansione di un soggetto corrisponda alla medesima locazione nella scansione di un altro soggetto. Questo rende i risultati più facilmente integrabili e confrontabili. Per tale motivo i cervelli dei diversi soggetti devono essere normalizzati in uno spazio comune. Tale spazio è detto spazio stereotassico e i più utilizzati sono l'atlante di Talairach, creato da Jean Talai-

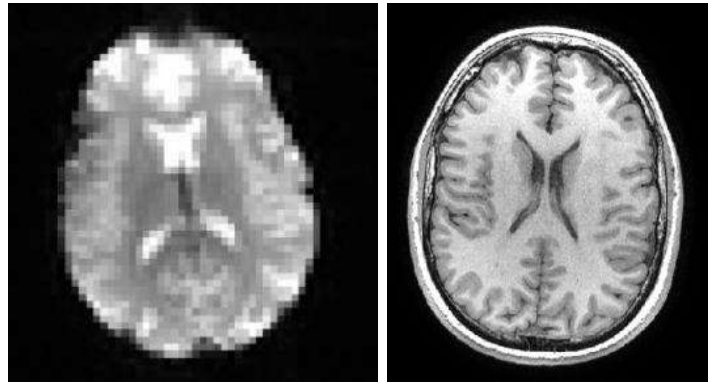


Figura 3.18: Confronto tra l'immagine funzionale (a sinistra) e l'immagine strutturale (a destra). Nell'immagine strutturale ad alta risoluzione sono chiare le differenze tra materia bianca, materia grigia e fluido cerebrospinale. Tali differenze sono invece molto meno definite nell'immagine funzionale.

racch basandosi sul cervello del cadavere di una donna 60enne, e l'atlante del Montreal Neurological Institute (MNI152), leggermente più grande rispetto al primo, creato basandosi sul calcolo di una media non lineare di 152 acquisizioni T_1 -pesate di diversi cervelli di soggetti normali (tutti destrimani) (Fig. 3.19).

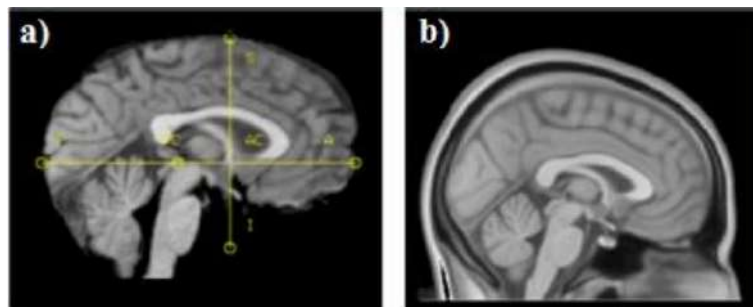


Figura 3.19: Standard space: **a)** *Talairach & Tournoux 1988*, basato sulla dissezione *post mortem* di un cervello. **b)** *MNI152* costruito effettuando una media non lineare di molti cervelli di soggetti normali (tutti destrimani).

Nel nostro caso, l'operazione di normalizzazione è stata fatta sullo Standard MNI152 sia mediante una trasformazione affine a dodici gradi di libertà (*Normal Search 12 DOF*) corrispondente a tre rotazioni, tre traslazioni, tre fattori di scala e tre deformazioni di taglio, sia mediante una trasformazione non lineare (*warp resolution*: 10mm, *Resampling resolution*: 2mm) applicata in seguito alla trasformazione lineare. Lo strumento di FSL che permette la registrazione non lineare è FNIRT (FMRIB's *Non-linear Image Registration Tool*) il quale è direttamente richiamato dall'interfaccia di MELODIC.

È vantaggioso applicare la normalizzazione spaziale, sia perché così è possibile confrontare i soggetti tra di loro, ma è anche possibile specificare le

aree cerebrali attraverso coordinate comuni. È importante controllare il risultato ottenuto dalle operazioni di coregistrazione (sia sulla strutturale che sullo standard), in modo da assicurarsi che le opzioni scelte garantiscano un buon risultato. Questo controllo viene effettuato per ispezione visiva del *report* prodotto dal toolbox MELODIC (esempio in Fig. 3.20) durante la fase di registrazione.

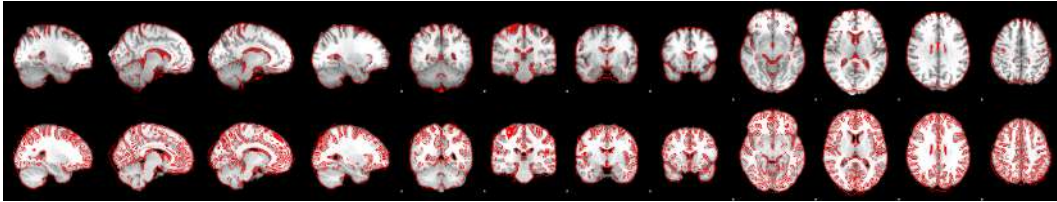


Figura 3.20: Output prodotto dal toolbox MELODIC durante la fase di registrazione dell'immagine strutturale sullo Standard MNI152.

3.6 RISULTATI

3.6.1 Independent component analysis

La Fig. 3.21 riporta i *resting state networks* ottenuti tramite analisi ICA. L'ispezione visiva delle mappe IC ci ha permesso di identificare *resting state networks* già descritti in letteratura [17, 114].

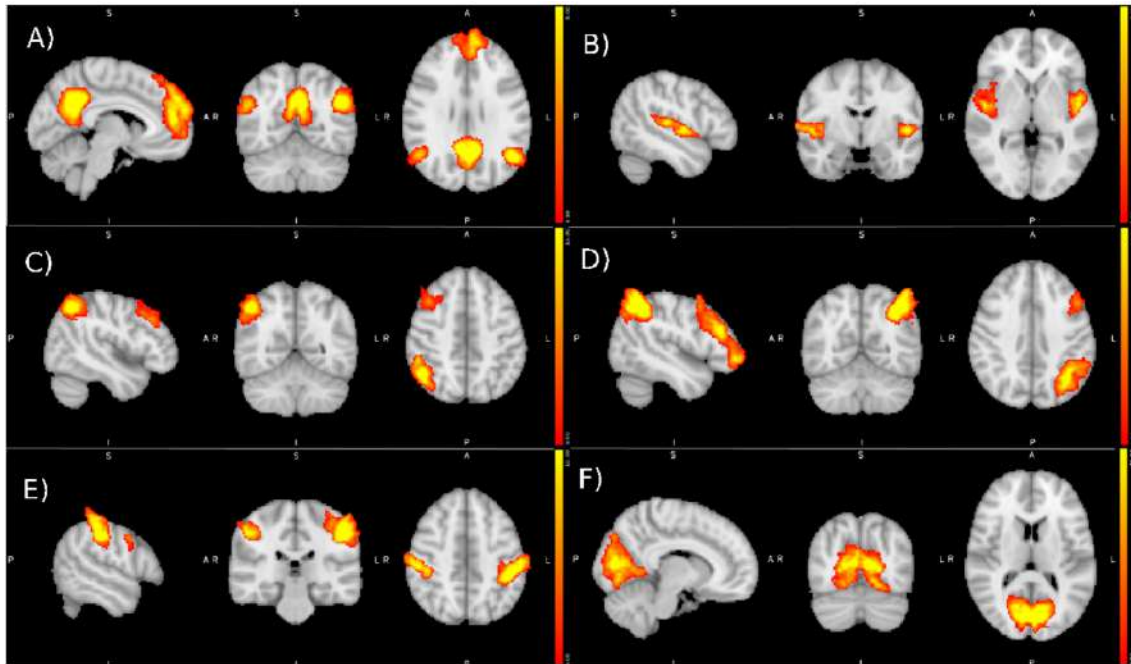


Figura 3.21: Esempi di *resting state networks* identificati dall'analisi ICA: default mode network (A), auditory network (B), right fronto-parietal network (C), left fronto-parietal network (D), sensory-motor network (E) e visual network (F).

3.6.2 Dual regression

La *dual regression analysis* condotto in questo studio ha mostrato un aumento di connettività funzionale in *resting state* nei giocatori d'azzardo patologici in confronto con i controlli nei seguenti *networks*:

- *reward network* (IC 009), specificamente: *left Caudate Nucleus* (CN), *Nucleus Accumbens* (NA) (picco in x, y, z: 51, 74, 33, $p = 0.01$, *cluster size* = 251 voxels; Fig. 3.22), *Subcallosal Cortex* (SC) e *ParaCingulate Cortex* (ParaCC) dell'emisfero sinistro; ParaCC e *Cingulate Gyrus* (CG) dell'emisfero destro (picco in x, y, z: 43, 85, 38, $p = 0.031$, *cluster size* = 20 voxels; Fig. 3.23);

- *cerebellum* (IC 011), specificamente: *right crus II*, *right lobules VIIb e VI* (picco in x, y, z : 37, 29, 18, $p = 0.033$, *cluster size* = 37 voxels; Fig. 3.24); *right lobules V e VI* (picco in x, y, z : 32, 40, 21, $p = 0.036$, *cluster size* = 16 voxels; Fig. 3.25); *left lobules VIIa, VIIb, IX* (picco in x, y, z : 52, 35, 14, $p = 0.038$, *cluster size* = 10 voxels; Fig. 3.26).

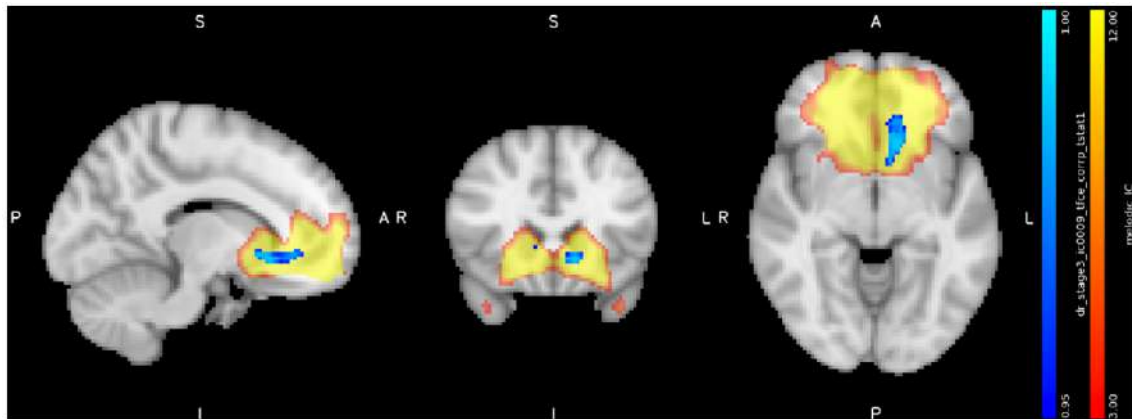


Figura 3.22: Aumento della connettività funzionale in *resting state* nei giocatori d'azzardo patologici in confronto con i controlli nel left CN, NA, SC, ParaCC (picco in x, y, z : 51, 74, 33, $p = 0.01$, *cluster size* = 251 voxels)

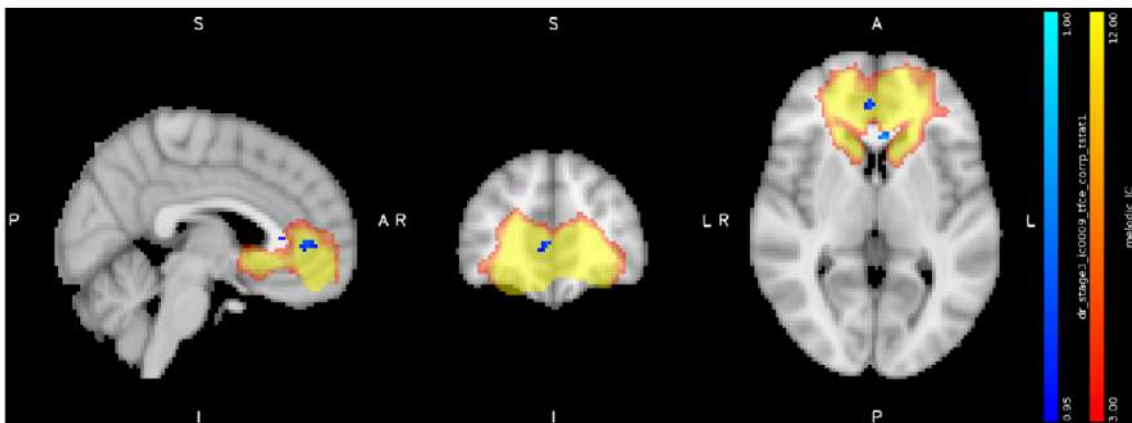


Figura 3.23: Aumento della connettività funzionale in *resting state* nei giocatori d'azzardo patologici in confronto con i controlli nel right ParaCC e nel right CG (picco in x, y, z : 43, 85, 38, $p = 0.031$, *cluster size* = 20 voxels)

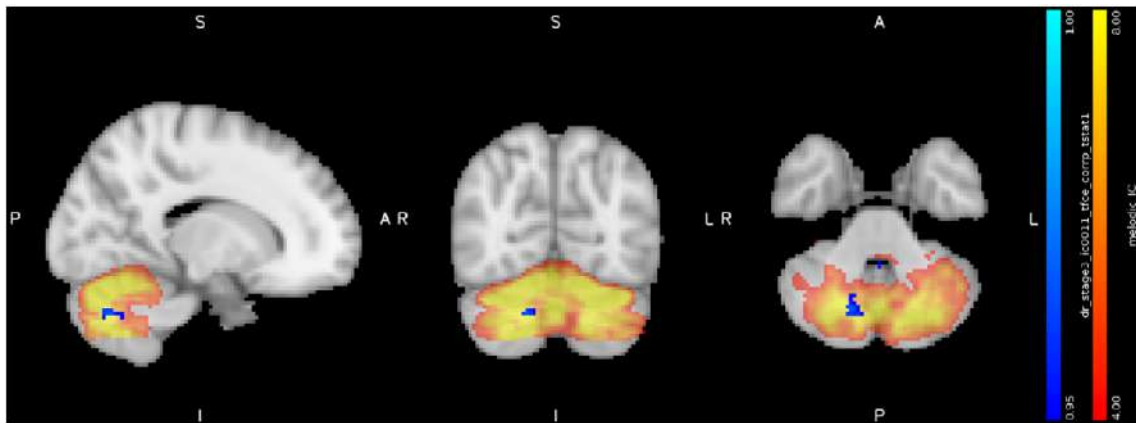


Figura 3.24: Aumento della connettività funzionale in *resting state* nei giocatori d'azzardo patologici in confronto con i controlli nel *right crus II* e nel *right lobules VIIb* e *VI* (picco in x, y, z : 37, 29, 18, $p = 0.033$, *cluster size* = 37 voxels)

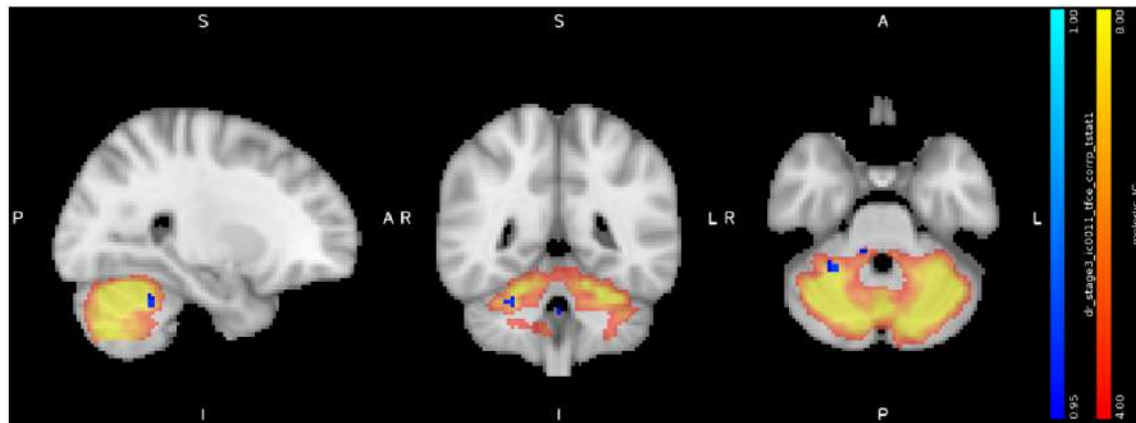


Figura 3.25: Aumento della connettività funzionale in *resting state* nei giocatori d'azzardo patologici in confronto con i controlli nel *right lobules VI* e *V* (picco in x, y, z : 32, 40, 21, $p = 0.036$, *cluster size* = 16 voxels)

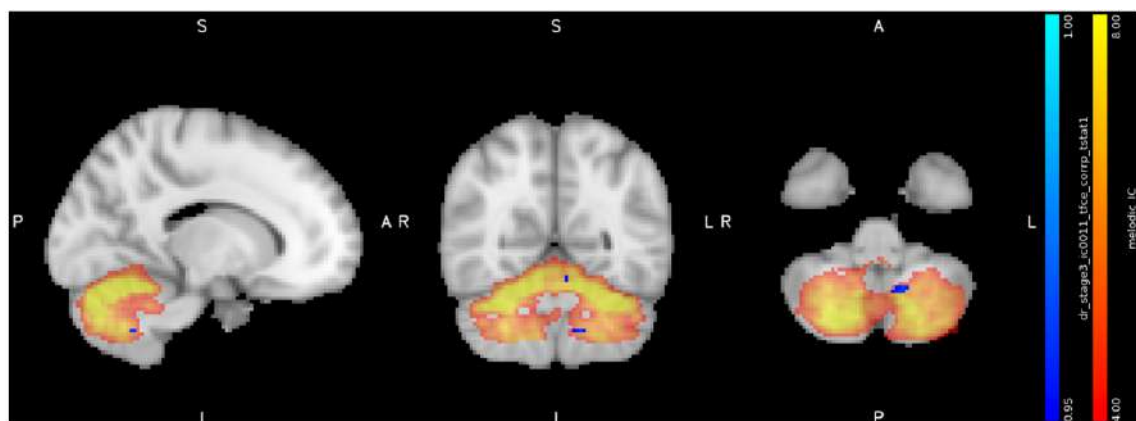


Figura 3.26: Aumento della connettività funzionale in *resting state* nei giocatori d'azzardo patologici in confronto con i controlli nel *left lobules VIIIa*, *VIIIb* e *IX* (picco in x, y, z : 52, 35, 14, $p = 0.038$, *cluster size* = 10 voxels)

3.7 DISCUSSIONE

Dato il recente interesse nell'aspetto neurocircuitale del disturbo da gioco d'azzardo questo studio si propone di ottenere evidenze che testimonino la presenza di alterazioni della connettività funzionale nel disturbo da gioco d'azzardo. Sono state trovate delle differenze significative in circuiti che includono aree cerebrali dove nella maggior parte degli individui è noto un coinvolgimento nei processi cognitivi superiori riguardanti il controllo degli impulsi, il *decision-making*, la capacità di valutare le conseguenze delle proprie azioni. Una delle aree risultate funzionalmente iperconnesse è il network che comprende il *nucleus accumbens*, la testa del nucleo caudato e la corteccia cingolata anteriore, e ciò converge con le osservazioni di diversi studi che hanno utilizzato componenti di questo network come regioni seed: testimonianze dell'aumento della connettività tra *nucleus accumbens* e corteccia cingolata anteriore, come tra *nucleus accumbens* e corteccia orbito-frontale mediale sono state già ottenute in uno studio avente come target soggetti consumatori cronici di eroina [124], mentre una maggiore connettività tra *nucleus accumbens* e corteccia prefrontale ventromediale è stata riscontrata in uno studio dedicato ex consumatori di eroina in astinenza da più di 3 anni [125]. Uno studio fMRI in *resting state* sui fumatori cronici in astinenza ha invece correlato positivamente lo striato ventrale alle regioni insulari, cingolate anteriori e temporali superiori nei fumatori cronici in astinenza, associando, inoltre, l'intensità della connettività con la possibilità di ricadere nel vizio [126]. Ricerche che attestino la funzione alterata del *nucleus accumbens* nell'omeostasi del network della ricompensa esistono anche in ambito di dipendenze comportamentali, infatti, da un campione di giovani adulti con *internet gaming disorder* si è denotato un equilibrio fra network del controllo e quello della ricompensa sbilanciato a favore del secondo (con una aumentata connettività tra regione ventrostriatale, amigdala e corteccia orbitofrontale) [127]. In generale, le regioni iperconnesse del primo network analizzato nel nostro studio sono state già esaminate in passato e il loro ruolo nell'omeostasi del circuito della ricompensa è abbastanza condiviso: il *nucleus accumbens* è una struttura che aumenta la sua attivazione quando il soggetto deve scegliere fra differenti azioni che possono efficientemente procurare ricompense o evitare punizioni, gioca quindi un ruolo fondamentale nell'istigare un approccio nei confronti di uno stimolo motivazionalmente rilevante, e parimenti nel sopprimere azioni irrilevanti o comunque non collegate all'ottenimento diretto di una ricompensa [128]. La corteccia cingolata anteriore ha un ruolo preparatorio alla suggestione esecutiva del *nucleus accumbens*;

questa, infatti, raccoglie informazioni provenienti da altre aree cerebrali relativamente alle dimensioni di identità e di intensità dei segnali provenienti dall'esterno che devono essere sottoposti al controllo cognitivo del soggetto, integrandole in un *expected value*, ovvero un valore stimato [129]. La testa del nucleo caudato risulta possedere una funzione affine e coadiuvante all'interno del network: questa riesce a rappresentare le contingenze azione-risultato in maniera dinamica e adattativa, permettendo il mantenimento fluido di un comportamento finalizzato all'ottenimento di un obiettivo [130-132].

Nel complesso, l' aumentata connettività e integrazione di questo network nei giocatori d'azzardo patologici rispetto ai controlli suggerisce un'alterazione dei sistemi cognitivi capaci di rappresentare gli stimoli esterni al soggetto potenzialmente ricompensanti, con un probabile parzialità discriminatoria a favore di ciò che risulta più rilevante e motivante; questo quadro di alterazione neurofisiopatologica potrebbe di conseguenza tradursi nel riscontro dei punteggi elevati, registrati nei giocatori d'azzardo, durante lo svolgimento del test BIS (misurante l'impulsività dei soggetti) e del Yale-Brown (misurante i sintomi ossessivi compulsivi), concordando così con la letteratura relativa alla responsabilità di queste regioni nel determinare questi tratti comportamentali [133-137].

Le altre regioni in cui nel nostro studio abbiamo evidenziato un'aumentata connettività funzionale sono quelle del verme cerebellare e della corteccia cerebellare destra. Ad oggi esistono evidenze di aumentata connettività funzionale in *resting state* tra cervelletto e striato ventrale nei giocatori d'azzardo patologici (soprattutto se fumatori) [107]. Il cervelletto è da sempre riconosciuto come la struttura nervosa responsabile del mantenimento del tono muscolare, come dell'apprendimento, della pianificazione e della correzione delle sequenze motorie. Le ipotesi relative ad un interessamento di questa struttura nervosa nei circuiti cognitivi alterati, in ambito di dipendenze, sono recenti e frammentate, sebbene supportate dalle sue numerose interconnessioni con strutture corticali (decisive nella conversione di esterocezioni ed interocezioni in azioni), come anche da nuove evidenze sperimentali. Si sono introdotte diverse teorie relative al contributo del cervelletto in specifici processi quali l'apprendimento dei tempi, delle sequenze, e delle relazioni associative tra gli elementi: si pensa che questa struttura sia cruciale nella formazione di modelli interni, applicabili tanto nella attuazione sequenziale motoria che in quella cognitiva; tali modelli sono acquisiti, allenati, e successivamente utilizzati per la predizione di eventi futuri.

CAPITOLO 4

CHIRURGIA AD ULTRASUONI FOCALIZZATI GUIDATI DA IMAGING DI RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE PER IL TRATTAMENTO DEI TREMORI ESSENZIALI

L'obiettivo primario di questo lavoro su trattamenti transcranici con ultrasuoni focalizzati guidati da RM è costituito dallo sviluppo e dall'implementazione di una procedura di analisi delle immagini MR di pazienti con tremore essenziale che permetta di individuare con maggiore accuratezza il target da ablate al fine di realizzare il trattamento tcMRgFUS in tempi più rapidi.

Il raggiungimento di tale obiettivo è stato caratterizzato da due fasi.

La prima fase è relativa allo sviluppo di una metodologia in grado di fornire indicazioni sul target nel talamo da ablate a partire dalle immagini strutturali e dalle immagini pesate in diffusione (acquisite durante le fasi di *screening* dei pazienti). Questa fase viene realizzata tramite la cosiddetta *parcellizzazione talamica*, che permette di individuare nel talamo le regioni attraversate da fasci di fibre nervose provenienti dalle varie regioni della corteccia cerebrale.

Nella seconda fase è stato realizzato uno studio retrospettivo sui dati di pazienti già trattati ed 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 *parcellizzazione talamica*. E' stata valutata la correlazione tra la percentuale di sovrapposizione con alcune regioni del talamo e l'*outcome* clinico in termini di riduzione del tremore a sei mesi dal trattamento.

E' stata inoltre condotta un'Independent Component Analysis preliminare sui dati fMRI in resting state su un gruppo di pazienti trattati.

4.1 Chirurgia tramite tcMRgFUS

Le terapie basate sull'imaging trovano applicazione in diversi ambiti medici, quali la chirurgia, la riabilitazione, i trattamenti estetici e risultano degli importanti alleati per le valutazioni pre e post-operatorie, per il monitoraggio dei trattamenti, ed infine per una valutazione in tempo reale del trattamento. In quest'ottica l'imaging di risonanza magnetica risulta un potente alleato poiché permette di acquisire immagini dettagliate (anche in tempo reale) senza esporre il paziente e il personale medico a radiazioni ionizzanti.

Le terapie basate sugli *HIFU*, acronimo di *High-Intensity Focused Ultrasound* (Ultrasuoni focalizzati ad alta intensità), sono nate negli anni 40' e sono state utilizzate principalmente per l'ablazione termica dei tessuti. Gli ultrasuoni focalizzati sono una tecnica quasi per nulla invasiva: si massimizza l'energia rilasciata nel punto di focalizzazione minimizzando l'energia rilasciata nelle zone limitrofe.

Questa tecnica presenta, però, degli svantaggi: quello più rilevante in ambito neurologico è proprio la focalizzazione degli ultrasuoni all'interno della scatola cranica. Lo scalpo presenta al suo interno diversi strati tra cui tessuti molli e ossa attraverso i quali il suono si propaga a velocità differenti: alcuni tessuti possono infatti rappresentare una barriera per la propagazione degli ultrasuoni; processi di attenuazione, aberrazione e assorbimento possono ridurre in modo sostanziale il rilascio di calore nel punto desiderato. Tutti questi fattori dipendono chiaramente dallo spessore dello scalpo, e di conseguenza, ogni paziente necessita di un trattamento personalizzato.

In tempi recenti gli sviluppi ingegneristici e di algoritmi per la correzione delle problematiche di cui sopra hanno reso più semplice l'utilizzo di questa tecnica anche in ambito neurologico.

La chirurgia ad Ultrasuoni Focalizzati guidati da Imaging di Risonanza Magnetica Nucleare, abbreviata in tcMRgFUS, è una tecnica chirurgica non invasiva che utilizza gli *HIFU*, e permette la guida in tempo reale poiché prevede il monitoraggio del trattamento grazie all'imaging di risonanza magnetica nucleare. L' MRI risulta inoltre utile per il monitoraggio termico della zona colpita, cioè permette di avere un riscontro diretto sulla temperatura raggiunta nella zona ablata. Questa informazione è fondamentale, in quanto

superare anche di pochissimi gradi una certa soglia significherebbe distruggere irreversibilmente le cellule nervose, arrecando quindi danni permanenti al paziente.

L'obiettivo del trattamento è, invece, quello di colpire un determinato punto all'interno del cervello inducendo la denaturazione termica delle proteine di membrana presenti nelle cellule neuronali [138].

La terapia trans-cranica con ultrasuoni focalizzati ad alta intensità sotto guida di RM (tcMRgFUS) è ormai riuscita ad affermarsi nel panorama medico non più come una teorica possibilità ma, come una pratica alternativa per il trattamento di numerose condizioni neurologiche [139].

Ad oggi viene applicata per trattare casi di disordini neurologici del movimento, dolore neuropatico, disturbo ossessivo-compulsivo, nevralgia del trigemino, ictus ischemico ed emorragico, ablazione di tumori cerebrali [140], induzione di una temporanea permeabilità della barriera emato-encefalica per la consegna mirata di farmaci nel trattamento di tumori cerebrali [141].

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:

- fino a 40°C si ha omeostasi cellulare, ovvero l'equilibrio tra le funzioni della cellula, essa 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, cosa 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.

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 [142].

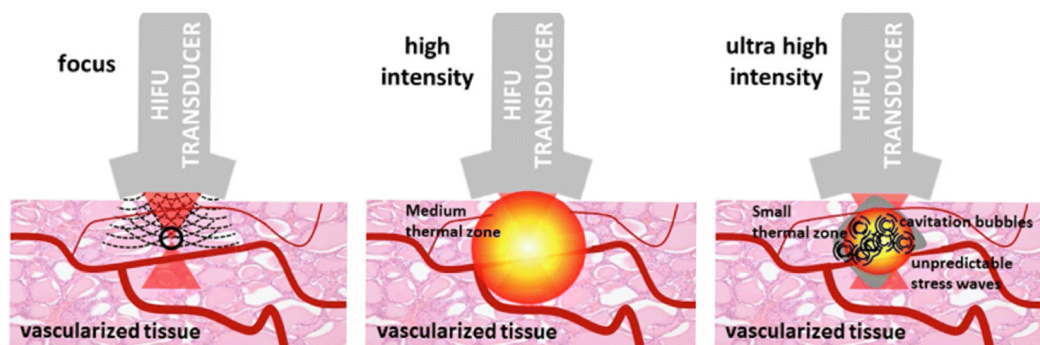


Figura 4.1: Progressivo aumento del danno all'aumentare della temperatura.

Presso la sezione di Radiologia dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico "Paolo Giaccone" di Palermo è presente la prima installazione al mondo di un sistema *tcMRgFUS* modello *ExAblate 4000*, prodotto da *InSightec*, su uno scanner MRI ad 1.5T. Presso questa struttura sono stati eseguiti una sessantina di trattamenti su pazienti affetti dal disordine neurologico del movimento detto "Tremore Essenziale".

4.2 Tremori essenziali

Il tremore è definito in medicina come un movimento involontario ritmico e oscillatorio di una parte del corpo con una frequenza relativamente costante e un'ampiezza variabile. Questo è causato da contrazioni alternate dei muscoli antagonisti. Il tremore è il più comune di tutti i disturbi del movimento. Si presenta solitamente come un tremore posturale bilaterale da 4 a 12Hz delle mani, seguito da una componente cinetica e di riposo [143]. Gli arti superiori sono spesso coinvolti simmetricamente, ma con la progressione della malattia, possono essere coinvolti il capo e la voce. Benchè benigno, per quanto riguarda l'effetto sull'aspettativa di vita, spesso provoca disabilità. I sintomi sono in genere progressivi e potenzialmente invalidanti [144]. Questo tipo di disturbo colpisce circa il 4 % degli adulti e la prevalenza aumenta con l'età [145].

Circa la metà dei casi di tremore essenziale sembra derivare da una mutazione genetica, sebbene non sia stato identificato un gene specifico. Questa forma è indicata come tremore familiare ed è una malattia autosomica dominante. La variabilità dell'età di esordio, la presenza di casi sporadici e la concordanza incompleta del tremore essenziale tra gemelli monozigoti suggeriscono che i fattori ambientali non sono trascurabili.

Alcuni pazienti con tremore essenziale sviluppano un tremore fisiologico aumentato a causa di ansia o altri meccanismi in cui viene stimolata la pro-

duzione di adrenalina, aggravando così il tremore sottostante. Inoltre, alcuni studi suggeriscono che deficit cognitivi molto lievi e prestazioni ridotte su test di memoria e funzione esecutiva frontale possono essere più comuni nei pazienti con tremore essenziale rispetto ai controlli di età corrispondente e che questo disturbo possa essere associato ad un aumento del rischio di demenza e Morbo di Parkinson.

4.3 Materiali e metodi

La tcMRgFUS prevede l'utilizzo di uno scanner MRI e di un "casco" posizionato sulla testa del paziente dopo aver eseguito la completa rasatura del cuoio capelluto. Il casco è quello mostrato in figura 4.2 ed è costituito da un supporto (chiamato *frame stereotassico*) che viene posizionato sulla testa del paziente tramite delle viti e da una calotta contenente dei trasduttori piezoelettrici che generano gli ultrasuoni.

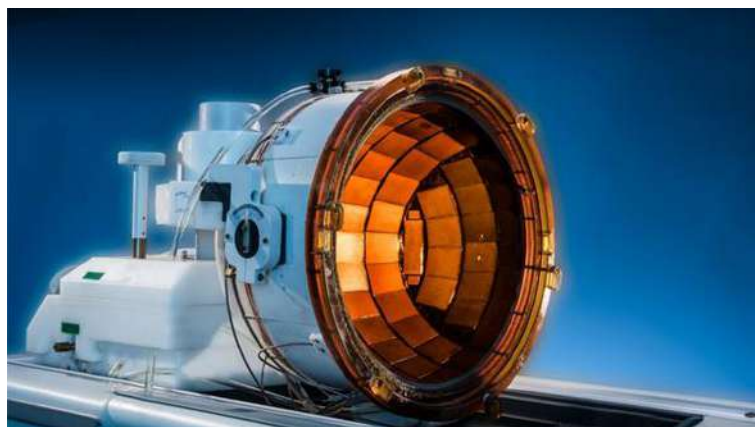


Figura 4.2: Casco utilizzato per la terapia tcMRgFUS

La focalizzazione avviene attraverso un software che, agendo sull'orientazione dei trasduttori ne permette la focalizzazione nel punto desiderato, permettendo inoltre di controllare la quantità di energia rilasciata. La zona tra i trasduttori e la cute è riempita d'acqua, in quanto essa rappresenta un mezzo più efficace per la propagazione degli ultrasuoni [146] [24], ed inoltre, assicura che la testa del paziente non si surriscaldi eccessivamente arrecando danni alla cute o procurando dolori. Un'ulteriore membrana viene posizionata contemporaneamente al posizionamento del casco FUS ed è quella presente in figura 4.3.

Questa membrana presenta due bobine rivestite in silicone che vengono posizionate ai lati della testa del paziente; esse servono ad aumentare il rap-

*CAPITOLO 4. CHIRURGIA AD ULTRASUONI FOCALIZZATI GUIDATI
DA IMAGING DI RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE PER IL
TRATTAMENTO DEI TREMORI ESSENZIALI*

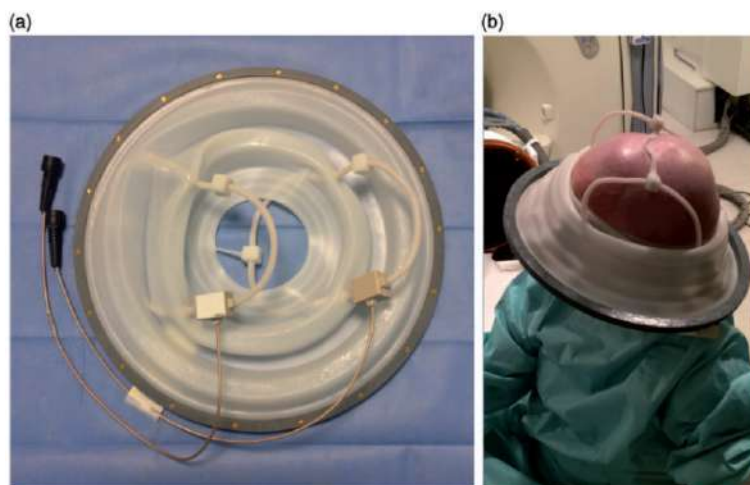


Figura 4.3: a)Bobine FUS a due canali unite ad una membrana elastica usate per una migliore riuscita del trattamento. b) Posizionamento finale della membrana

porto segnale rumore (SNR) per le immagini termiche. Il paziente con il casco inserito viene poi posizionato sul lettino dello scanner MRI nel quale è presente un supporto che viene attaccato meccanicamente al casco in modo da tenere il paziente completamente fermo durante il trattamento. Il lettino viene quindi inserito all'interno del bore come per qualunque procedura MRI e il trattamento può avere inizio. Da terminale è possibile controllare il punto di focalizzazione e l'intensità del fascio di ultrasuoni basandosi sulle immagini MRI acquisite in tempo reale, monitorando quindi il surriscaldamento delle zone di interesse.

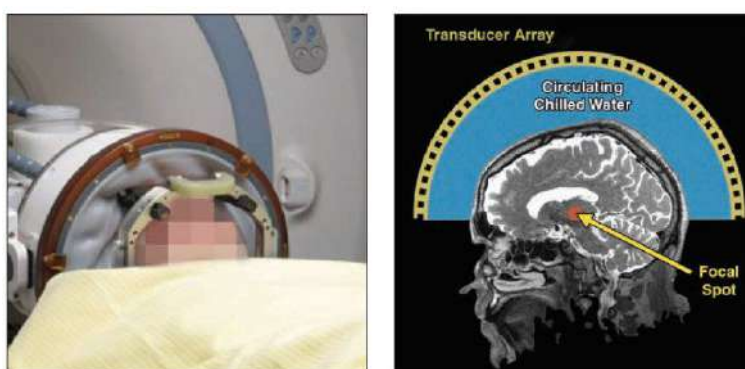


Figura 4.4: a)Posizionamento del paziente con casco inserito. b) Schematizzazione di un casco HIFU durante il trattamento.

Il grosso vantaggio della tecnica è quello di non dover ricorrere ad alcun tipo di anestesia, se non quella locale in fase di posizionamento del frame stereotassico sul capo: i pazienti sono dunque vigili e completamente coscienti durante tutto il trattamento. Questo permette di avere un feedback immediato

sul trattamento e sullo stato di salute fisico e psicologico del paziente. In caso di effetti indesiderati il trattamento può essere istantaneamente arrestato dal soggetto stesso tramite un pulsante lasciategli appositamente tra le mani.

Il sistema *tcMRgFUS* utilizzato nei trattamenti è un *ExAblate 4000*, prodotto da *InSightec*. E' costituito da un casco stereotassico con 1024 trasduttori piezoelettrici. Tale sistema è opportunamente interfacciato allo scanner MRI.

La procedura del trattamento comincia con un'iniziale fase di screening. Le immagini acquisite in questa fase permettono di individuare le zone più sensibili al fascio *HIFU* che vengono marcate come *No Pass Region*. Dopo aver preparato il paziente per l'intervento (rasatura della testa, pulizia di eventuali lesioni, ecc) e avergli somministrato una piccola dose di anestesia locale, viene fissato il *frame* stereotassico alla scatola cranica.



Figura 4.5: Posizionamento del *frame* stereotassico (a sinistra). Posizionamento della membrana con le bobine specifiche per trattamenti HIFU sul *frame* stereotassico (a destra).

Il paziente viene posizionato supino sul lettino della risonanza, la membrana elastica è fissata al trasduttore per ottenere una tenuta stagna e il casco trasduttore è posizionato in modo che, sulla base delle immagini acquisite prima dell'intervento, il focus geometrico sia già pressoché centrato nella zona target.

Attualmente, la procedura risulta essere piuttosto lunga poiché inizialmente la regione da colpire all'interno del talamo viene individuata attraverso atlanti anatomici cerebrali e vengono utilizzati fasci a bassa potenza inducendo un riscaldamento locale fino a 40°C. A queste temperature si producono effetti reversibili e non permanenti. Se la regione è quella corretta allora il tremore cessa, altrimenti si focalizza il fascio in una zona adiacente, si riscalda questa nuova regione e la procedura si ripete fino a quando non si trova il punto del talamo responsabile del tremore.

Una volta individuato il target, la potenza del fascio viene aumentata fino ad indurre una temperatura zonale di circa 56°C che determina la necrosi

CAPITOLO 4. CHIRURGIA AD ULTRASUONI FOCALIZZATI GUIDATI DA IMAGING DI RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE PER IL TRATTAMENTO DEI TREMORI ESSENZIALI

coagulativa nello spot bersaglio e, quindi, una lesione permanente.

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 [147], garantendo precisione al trattamento, minimizzazione dei tempi della procedura e la sicurezza del paziente.

Due giorni dopo il trattamento il paziente viene sottoposto ad uno *screening* di risonanza magnetica per valutare la risposta che hanno avuto le zone trattate e quelle limitrofe.

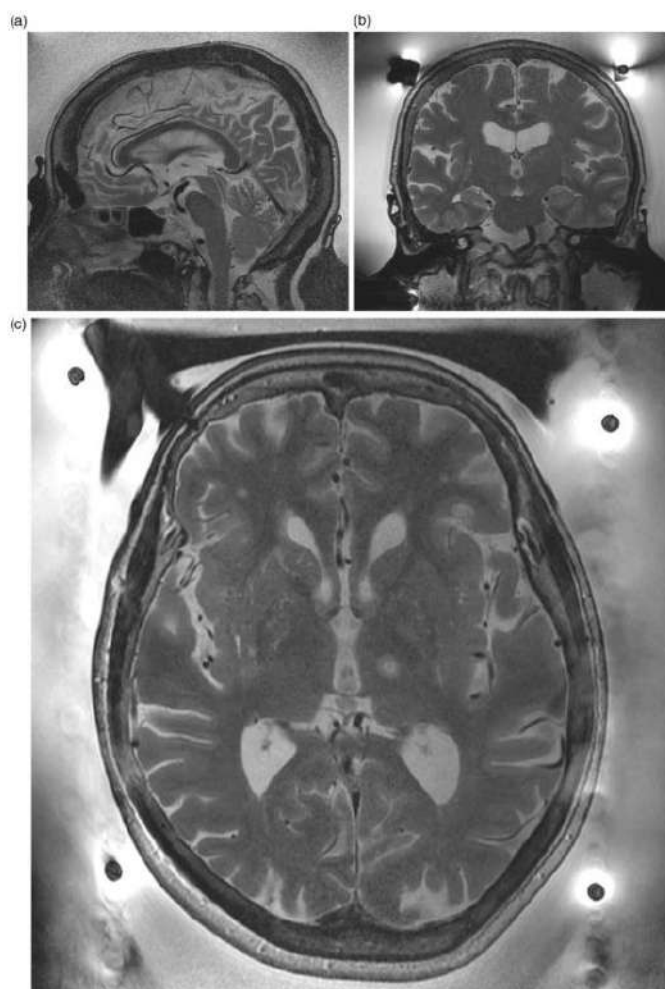


Figura 4.6: Immagine T_2 di un paziente durante il trattamento. Sono ben visibili le distorsioni dell'immagine dovute al *frame* stereotassico montato sul paziente.

Nei mesi successivi, il paziente è soggetto ad diversi *follow-up* per monitorare la lesione creata dal fascio di ultrasuoni e l'evolvere del del tremore.

Una valutazione immediata dello stato del tremore può essere realizzata eseguendo alcuni test, come quelli presenti in figura [4.7](#).

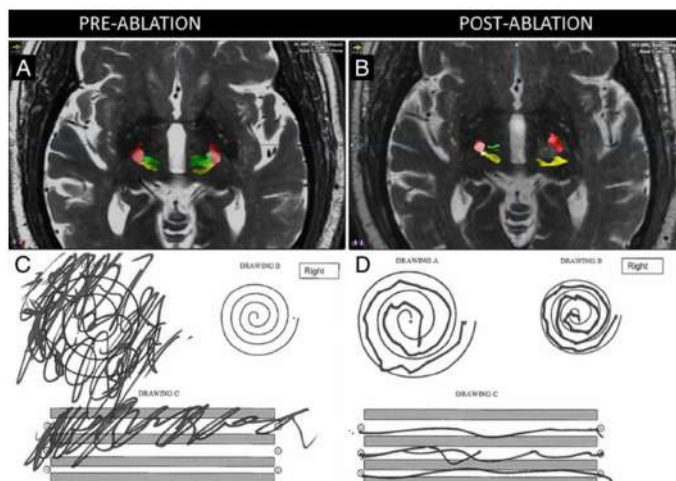


Figura 4.7: Immagine pesata T_2 di un paziente colpito da tremore essenziale prima (A) e dopo il trattamento (B). Nelle figure sottostanti, i tentativi di tracciare spirali e rette entro dei margini prima (C) e dopo (D) la tcMRgFUS.

L'obiettivo dell'analisi è quello di identificare le varie regioni del talamo corrispondenti alle varie aree della corteccia cerebrale. In particolare, si è interessati al nucleo ventrale intermedio (in inglese *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) che è riconosciuta come l'area responsabile del tremore [\[148\]](#). Questa procedura di identificazione delle regioni talamiche prende il nome di *parcellizzazione talamica*.

4.3.1 Acquisizioni MRI

Le acquisizioni delle immagini di risonanza magnetica sono state effettuate per mezzo dello scanner *General Electric Signa HDxt 1.5T* presso la sezione 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, in particolare quelle utilizzate sono:

- nella prima fase di *screening* vengono acquisite immagini sagittali pesate in T_1 con risoluzione $1.016 \times 1.016 \times 0.6001 \text{ mm}^3$ per conoscere l'anatomia cerebrale del paziente e programmare un piano terapeutico *ad hoc*. Inoltre, vengono acquisite immagini pesate in diffusione, con risoluzione $3 \times 3 \times 4 \text{ mm}^3$ e 30 direzioni di gradiente di diffusione, 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 e immagini fMRI in resting state utilizzando una sequenza GE-EPI (*Gradient-Echo Echo-Planar Imaging*). Quest'ultime consistono nell'acquisizione di 300 volumi per ogni sessione della durata di 10 minuti. I parametri di acquisizione per le immagini funzionali sono uguali a quelli riportati nel capitolo precedente

- durante la fase di *follow-up* (cioè di monitoraggio nel tempo dopo il trattamento) oltre alle T_1 e alle immagini pesate in diffusione ed fMRI in resting state vengono acquisite immagini assiali in T_2 con risoluzione $0.4688 \times 0.4688 \times 2 \text{ mm}^3$ attraverso la sequenza *FRFSE* (*Fast Recalled Fast Spin Echo*).

I dataset sono costituiti, per ogni paziente, da una serie di file immagine in formato *DICOM*. Prima di effettuare le analisi i file in formato *DICOM* vengono convertiti in un file compresso in formato *NIFTI*.

4.3.2 Software utilizzati per l'analisi dati

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

Dcm2nii

La conversione dal formato DICOM al formato niftii è effettuabile attraverso il software “dcm2nii”.

Dcm2nii è una versione beta di software che converte le immagini dal formato originale dello scanner al formato niftii utilizzato ad esempio da FSL e da molti altri software di imaging cerebrale.

Dcm2nii è un programma stand-alone ed è disponibile in versione compilata per Windows, Linux e Mac.

Freesurfer

Freesurfer è un software utilizzato nell'ambito delle neuroscienze che comprende un insieme di strumenti per lo studio dell'anatomia corticale e sub-corticale dell'encefalo. *Freesurfer* è in grado di riconoscere, attraverso alcuni algoritmi basati sull'intensità del segnale, le varie regioni di confine tra materia bianca, grigia e piaie. Una volta note queste superfici, è possibile eseguire delle misure anatomiche tra cui: spessore corticale, area superficiale, curvatura e superficie normale in ogni punto della corteccia. *Freesurfer* permette una segmentazione corticale e subcorticale specifica per il soggetto sotto esame.

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 [149]:

- la creazione di modelli del cervello attraverso dati MRI;
- coregistrare immagini strutturali e funzionali così da avere un una migliore precisione delle aree neuronali attivate;
- misurare proprietà morfometriche del cervello, come la grandezza del sistema corticale e i volumi delle singole regioni.

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

FSL

FSL è una libreria completa di strumenti di analisi per i dati di imaging MRI creato dai membri dell'*Analysis Group, FMRI, Oxford, UK* [150]. FSL è costituito principalmente in quattro unità funzionali, ognuna delle quali contenente vari pacchetti:

- *Functional MRI*: consiste in 4 pacchetti per l'analisi e lo studio di immagini MRI funzionali;
- *Structural MRI*: consiste in 7 pacchetti per l'elaborazione di immagini T_1 e T_2 , permette di operare l'estrazione del cervello, la segmentazione, coregistrazioni lineari e non lineari, correzioni di distorsioni geometriche e del rumore, stima di atrofie cerebrali per studi longitudinali.
- *Diffusion MRI*: consiste in 4 pacchetti di l'analisi di immagini pesate in diffusione, la stima dei parametri e la ricostruzione di fasci con tecniche di trattografia [151];
- *Perfusion MRI*: comprende un solo pacchetto di analisi di immagini ASL (*Arterial Spin Labelling*);
- *Statistic*: consta di tre pacchetti di analisi statistica dei dati di risonanza magnetica;
- *Other Tools*: comprende 15 pacchetti ausiliari tra cui, *FSLeves* per la visualizzazione di immagini in formato *analyze* e *NIfTI*.

Tortoise

Le immagini DWI sono affette da una serie di artefatti, come ad esempio gli artefatti da movimento del soggetto e la distorsione da “eddy current”.

Un adeguato pre-processing delle immagini pesate in diffusione e una ricostruzione robusta del tensore di Diffusione sono di vitale importanza per una precisa analisi quantitativa.

TORTOISE(Tolerably Obsessive Registration and Tensor Optimization Indolent Software Ensemble) [152] è uno strumento software completo per la correzione dei dati pesati in diffusione, così come per il calcolo del tensore di Diffusione.

Non è un software commerciale, ed è scaricabile gratuitamente dal sito www.tortoisediti.org.

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

- DIFF PREP che elabora la correzione per il movimento e delle distorsioni da eddy current e da EPI.
- DIFF CALC è un algoritmo per la stima del tensore di Diffusione e delle mappe parametriche relative.

Il software è altamente personalizzabile per le esigenze dei singoli utenti, e offre anche la possibilità di esportare sia le immagini pesate in diffusione(DWI) che le quantità tensoriali verso molti altri software nell’ambito della DTI.

I miglioramenti, rispetto a tutti gli altri software di preprocessing, che offre TORTOISE derivano dalle seguenti peculiarità:

- pipeline singola per la correzione di tutti gli artefatti delle immagini DWI: tutte le operazioni di correzione vengono impostate e combinate insieme per consentire la correzione dell’immagine attraverso una singola operazione di interpolazione. Questo riduce al minimo gli errori di interpolazione dei dati corretti.
- Viene inserito un termine quadratico per la correzione della distorsione da eddy current. Tale correzione di solito negli altri software viene effettuata utilizzando un modello di deformazione che utilizza una trasformazione affine, tuttavia, è noto che per la completa correzione devono essere inclusi termini di ordine superiore [153].

Inoltre TORTOISE calcola un riorientamento appropriato della B-Matrix dopo le correzioni [154].

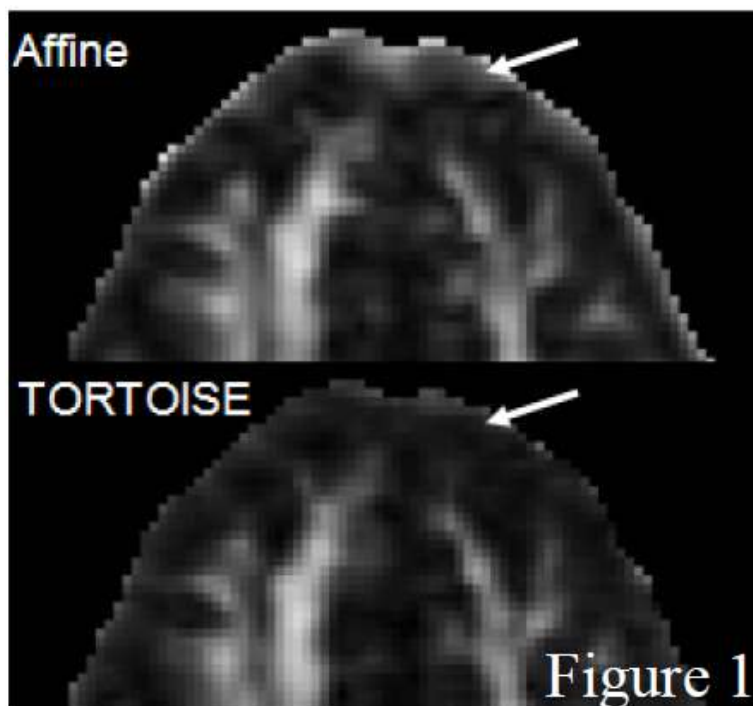


Figura 4.8: Confronto tra una mappa FA di un cervello umano con preprocessing effettuato con una trasformazione affine (parte superiore) e con la correzione effettuata da TORTOISE (parte inferiore).

Python Scripts

Per lo sviluppo di gran parte degli script utili per l'analisi dati è stato utilizzato il linguaggio di programmazione *Python*. Infatti, il linguaggio Python, grazie alla sua versatilità e alla presenza di librerie per il calcolo scientifico (quali *NumPy*, *SciPy*, *Matplotlib*, etc.) così come librerie per l'analisi di immagini MRI (quali *NiBabel*, *DiPy*, *NiTime*), permette di sviluppare efficienti algoritmi di calcolo in maniera agevole.

4.4 Implementazione della parcellizzazione talamica

Per realizzare la parcellizzazione talamica si è implementata una procedura che individua inizialmente le varie regioni della corteccia, ricostruisce i fasci di fibre che da queste regioni raggiungono il talamo e, infine, considera le proiezioni di questi fasci sul talamo stesso.

Di seguito verranno descritti nel dettaglio i vari steps di cui è composta l'analisi sviluppata e le soluzioni adottate.

I passi principali della metodologia sviluppata sono:

- segmentazione della corteccia cerebrale;
- analisi di trattografia probabilistica;
- individuazione delle regioni nel talamo.

Segmentazione della corteccia cerebrale

Il primo passo delle analisi condotte è stato focalizzato sulla segmentazione del cervello, cioè sulla suddivisione dello stesso in diverse parti in modo da riconoscerne le diverse aree, creando delle maschere (immagini NIFTI binarie) in cui sono presenti le aree di interesse.

Uno dei software open source più diffusi per la segmentazione cerebrale è *Freesurfer*. Tale software (tramite il comando *recon-all*) permette di segmentare l'intero cervello in base ad un atlante di riferimento selezionabile dall'operatore. L'atlante utilizzato nel presente lavoro è l'atlante *Desikan-Killiany* [155], in quanto risulta il più completo in termini di aree selezionabili e perchè permette di estrarre direttamente i lobi di interesse sfruttando alcuni file di output ottenuti al termine dell'analisi.

Un esempio di segmentazione cerebrale è mostrato in figura 4.9.

La durata di questo tipo di analisi per singolo paziente è di circa 8 h. I risultati di queste analisi per un paziente sono mostrati in figura 4.10.

Come si può vedere dalla Figura 4.10, il numero di regioni individuate e riconosciute dal software *Freesurfer* è superiore a 20. Su indicazione dell'equipe medica si è deciso di ottenere una suddivisione della parte corticale costituita solamente da 6 lobi perchè questa risulta essere più funzionale all'individuazione nelle regioni di interesse nel talamo:

- Lobo frontale

CAPITOLO 4. CHIRURGIA AD ULTRASUONI FOCALIZZATI GUIDATI
DA IMAGING DI RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE PER IL
TRATTAMENTO DEI TREMORI ESSENZIALI

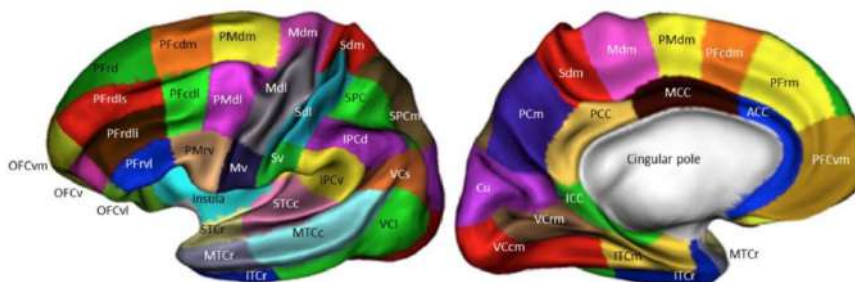
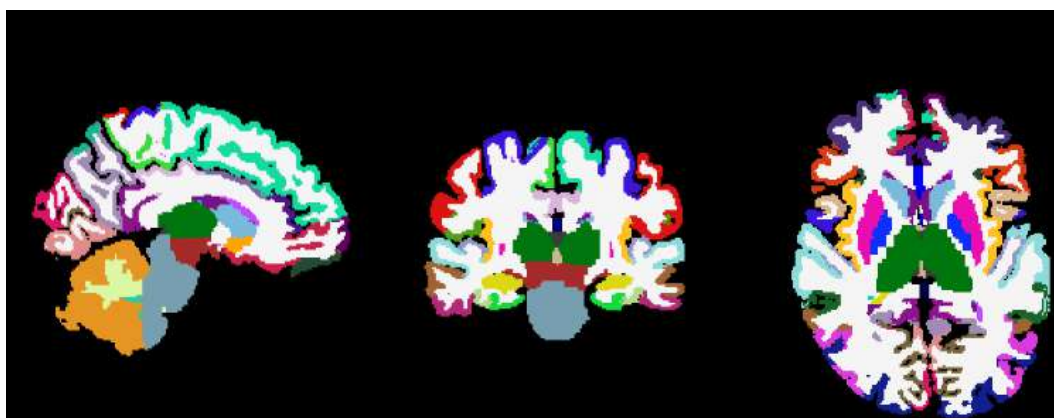


Figura 4.9: Segmentazione del cervello. Il cervello viene suddiviso in diverse regioni, ognuna delle quali è ben definita dalla sua morfologia e dalla funzione che ad essa compete.



- | | |
|--------------------------------|---------------------|
| 1 Left-Cerebral-Exterior | 13 Left-Pallidum |
| 2 Left-Cerebral-White-Matter | 14 3rd-Ventricle |
| 3 Left-Cerebral-Cortex | 15 4th-Ventricle |
| 4 Left-Lateral-Ventricle | 16 Brain-Stem |
| 5 Left-Inf-Lat-Vent | 17 Left-Hippocampus |
| 6 Left-Cerebellum-Exterior | 18 Left-Amygdala |
| 7 Left-Cerebellum-White-Matter | 19 Left-Insula |
| 8 Left-Cerebellum-Cortex | 20 Left-Operculum |
| 9 Left-Thalamus | 21 Line-1 |
| 10 Left-Thalamus-Propor | 22 Line-2 |
| 11 Left-Caudate | 23 Line-3 |
| 12 Left-Putamen | 24 CSF |

Figura 4.10: Risultato della segmentazione del cervello ottenuta attraverso il software *FreeSurfer*. L'atlante di riferimento scelto è quello di Desikan-Killiany. In basso i colori associati ad ogni area del cervello.

- Giro precentrale
- Giro postcentrale
- Lobo parietale
- Lobo temporale
- Lobo occipitale

Alcuni di questi lobi coincidono con regioni individuate da *Freesurfer*, altri quali il lobo frontale o quello parietale sono costituiti da più regioni segmentate. Pertanto, è stato sviluppato uno script opportunamente scritto in *Python* che permette di eseguire delle operazioni sulle immagini in formato *NIfTI*. Lo script utilizza quindi alcuni degli output delle analisi di segmentazione, creando delle maschere dei lobi di interesse.

Inoltre in questa fase vengono create le maschere dei ventricoli (che saranno delle regioni da escludere in fase di analisi trattografica) e del talamo (che rappresenterà il punto di partenza per i fasci di fibre nervose ricostruiti).

Poiché *Freesurfer* utilizza un diverso sistema di riferimento, caratterizzato dalle cosiddette coordinate *Talairach* (l'orientazione delle immagini è quella mostrata in figura [4.11](#)) risulta quindi necessario riadattare le immagini di output di *Freesurfer* all'orientazione standard cioè in coordinate *RAS* (*Right, Anterior, Superior*) (che costituiscono lo standard di orientazione utilizzato in ambito di neuromimaging). Un'immagine orientata in tale modo è quella mostrata in figura [4.12](#). E' stato pertanto implementato nello script di cui sopra un algoritmo per generare le matrici di riorientazione tra lo spazio di partenza (*Talairach*) e quello di arrivo (*RAS*). Queste operazioni per il numero totale di pazienti a disposizione per questo lavoro durano qualche minuto.

Analisi di trattografia probabilistica

E' stata sviluppata una procedura per la costruzione di mappe di trattografia probabilistica in grado di fornire informazioni sui fasci di fibre nervose che connettono le aree corticali con il talamo. Questa procedura di trattografia probabilistica è stata realizzata tramite due opportuni pacchetti di FSL (Sezione [4.3.2](#)) chiamati *BEDPOSTX* (Bayesian Estimation of Diffusion Parameters Obtained using Sample Techniques) e *PROBTRACKX* (Probabilistic Tracking for Crossing Fibers). Il software *BEDPOSTX* permette di trovare la distribuzione di orientazioni delle fibre nervose all'interno di ogni voxel per

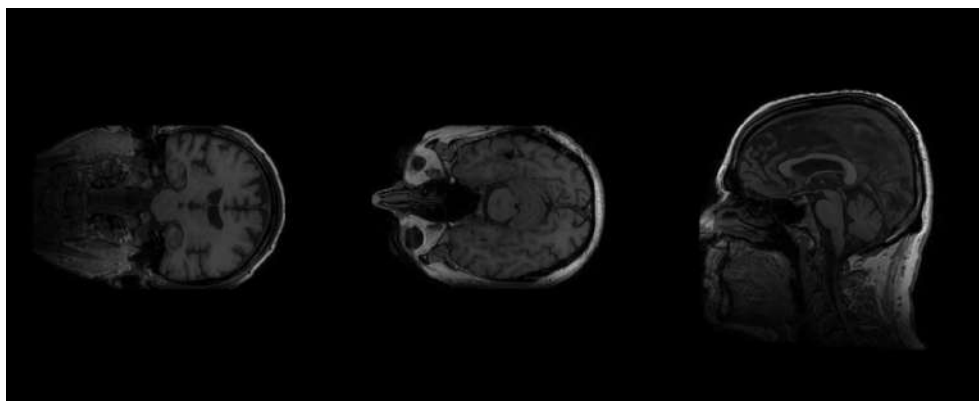


Figura 4.11: Coordinate Talairach, notare l'orientazione delle sezioni coronali, assiali e sagittali.

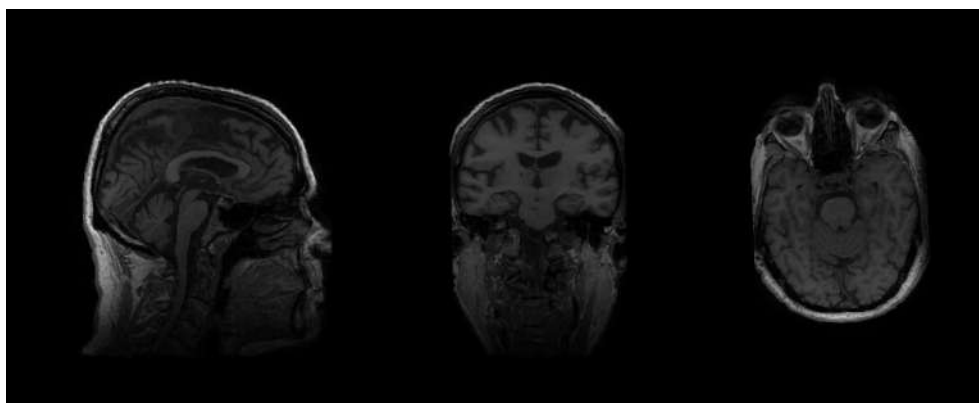


Figura 4.12: Coordinate RAS.

l'intero cervello, utilizzando i metodi discussi nella sezione [2.3.2](#). *BEDPOSTX* necessita come input dell'immagini pesate in diffusione opportunamente preprocessate, una maschera 3D del cervello, un file contenente le direzioni dei gradienti di diffusione e un file contenente i valore del coefficiente di pesatura(*bval*).

Questa fase delle analisi è la più dispendiosa in termini di tempo 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 speso per queste analisi è di circa 20 ore. Il software *BEDPOSTX* restituisce come output diversi file che fungono da 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. Ad esempio, è possibile 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* il talamo e come *target* le regioni corticali di interesse.

Il tool *PROBTRACKX* richiede in ingresso i seguenti dati:

- la cartella di output ottenuta dal software *BEDPOSTX*;
- una maschera di partenza (*seed*) dalla quale si dipartono le fibre all'interno del cervello, in questo caso il talamo;
- le maschere delle aree del cervello che si vogliono escludere dalle analisi trattografiche: in questo caso i ventricoli;
- la matrice di trasformazione tra lo spazio delle immagini pesate in T_1 e lo spazio delle immagini pesate in diffusione.
- le maschere dei lobi di interesse selezionate durante la fase di segmentazione cerebrale.

Si è scelto di utilizzare un'immagine di anisotropia frazionaria (FA) per la determinazione della matrice di trasformazione dei dati dallo spazio delle immagini strutturali a quello delle immagini pesate in diffusione.

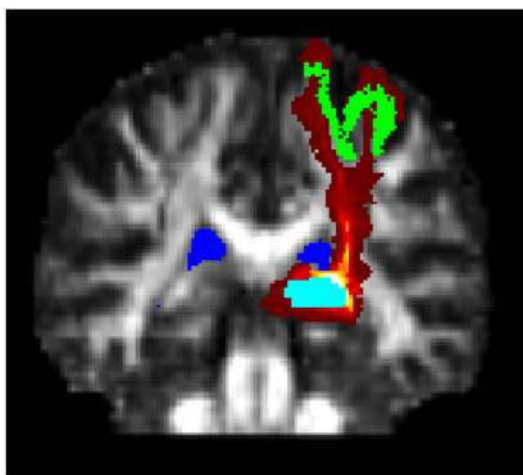


Figura 4.13: Un esempio del risultato che si ottiene utilizzando il software *PROBTRACKX*. In verde il giro postcentrale (il *target* della trattografia), in celeste il talamo (il *seed* o punto di partenza), in blu i ventricoli (le zone da escludere per la trattografia) e in giallo-rosso i tratti che 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

I risultati di queste analisi sono delle mappe di trattografia nelle quali sono visibili i percorsi e le connessioni tra le aree del cervello, come indicato in figura 4.13 o 4.14(a): intensità maggiori indicano una maggiore probabilità di trovare delle fibre passanti per quel voxel.

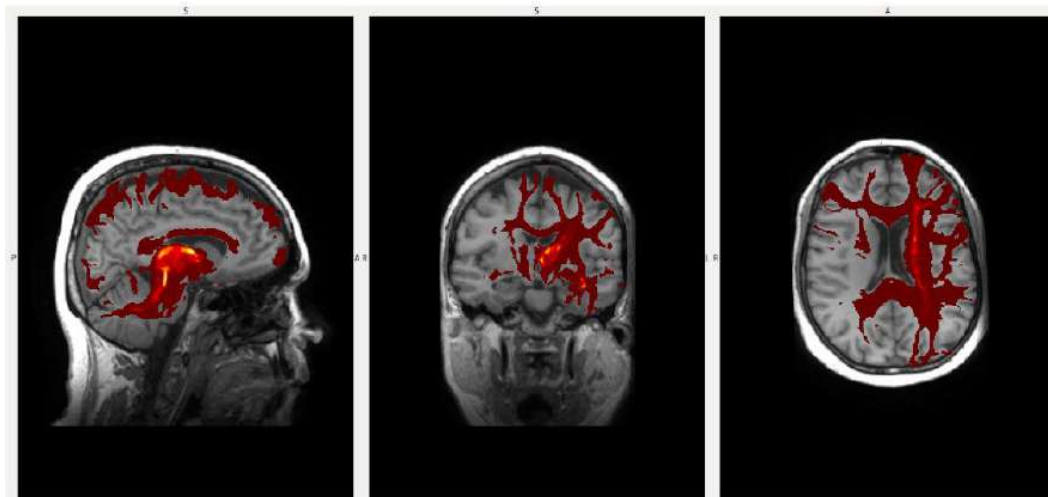
Inoltre, le analisi svolte restituiscono delle immagini che forniscono le proiezioni delle zone di interesse sul talamo (4.14 (b)). Anche in questo caso voxel con intensità maggiori sono caratterizzati da una maggiore probabilità di contenere all'interno fasci di fibre che connettono le regioni del *target* a quelle del *seed*.

Un altro risultato utile ai fini delle analisi è un'immagine che rappresenta la sovrapposizione delle proiezioni delle zone della corteccia cerebrale sul talamo 4.14 (c).

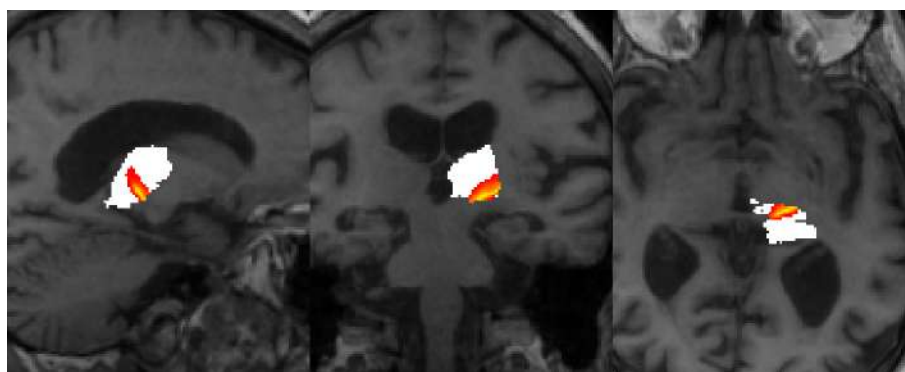
Il risultato finale rappresenta la *parcellizzazione talamica* e cioè una suddivisione del talamo nelle varie regioni attraverso cui passano le fibre nervose provenienti dalla corteccia cerebrale.

Per i trattamenti del tremore essenziale la regione da ablare risulta essere la proiezione del giro precentrale sul talamo. In figura 4.14 (c) è riportata in colore arancione.

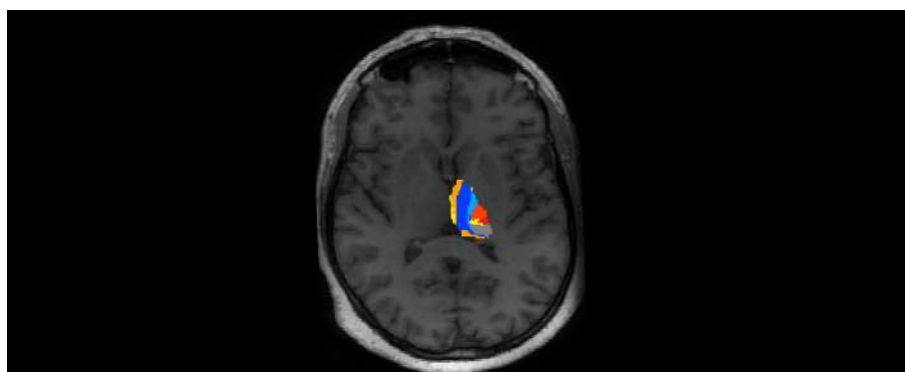
La durata computazionale di questo processo è di qualche ora.



(a)



(b)



(c)

Figura 4.14: (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.

4.5 Studio retrospettivo per la verifica della posizione del target

Una volta completato lo sviluppo della procedura di identificazione del target da ablate tramite le analisi di segmentazione cerebrale e di trattografia probabilistica si è proceduto con il confronto con la regione effettivamente lesionata durante i trattamenti effettuati. 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 durante il trattamento.

Per realizzare tale confronto, si è proceduto con l'estrazione della maschera della lesione a partire dalle immagini pesate in T_2 . Nelle immagini pesate in T_2 post-trattamento la lesione risulta iperintensa. Per eseguire la segmentazione della lesione si è sviluppato uno script appositamente implementato in Python. Le immagini in Figura 4.15 mostrano il risultato ottenuto dalla segmentazione.

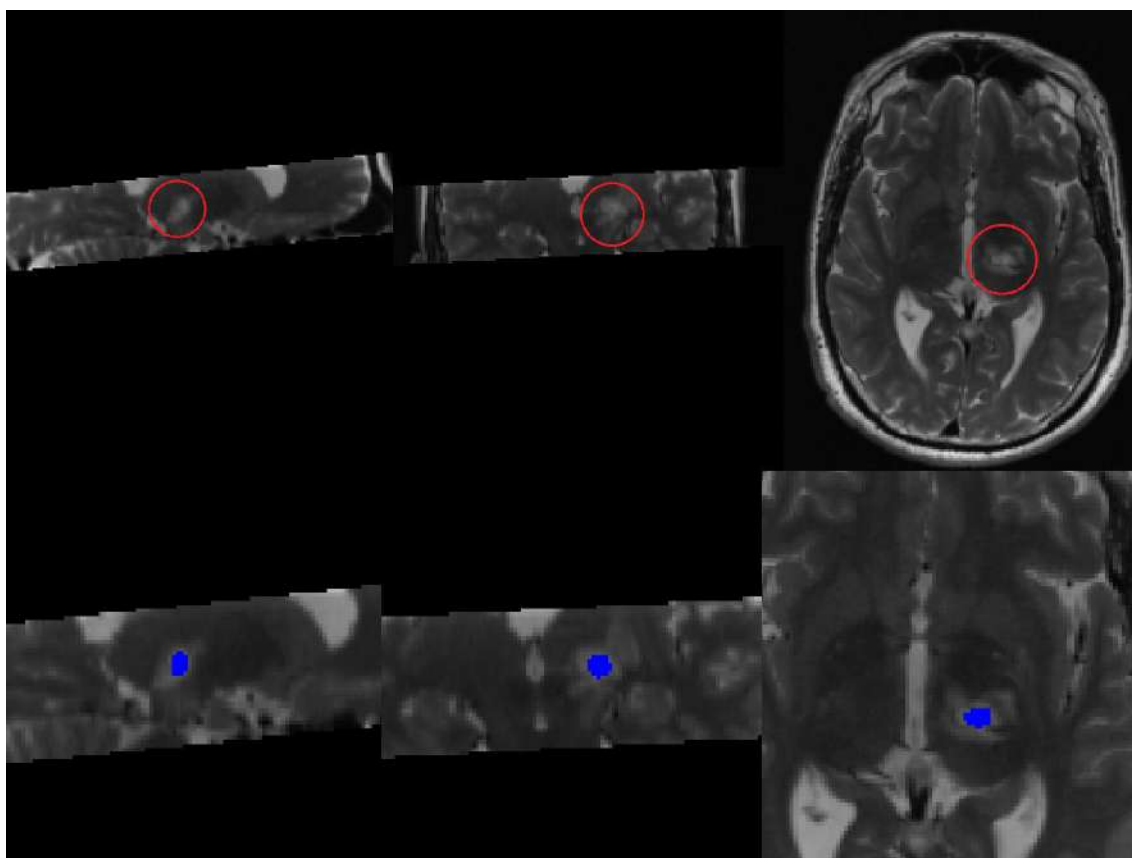
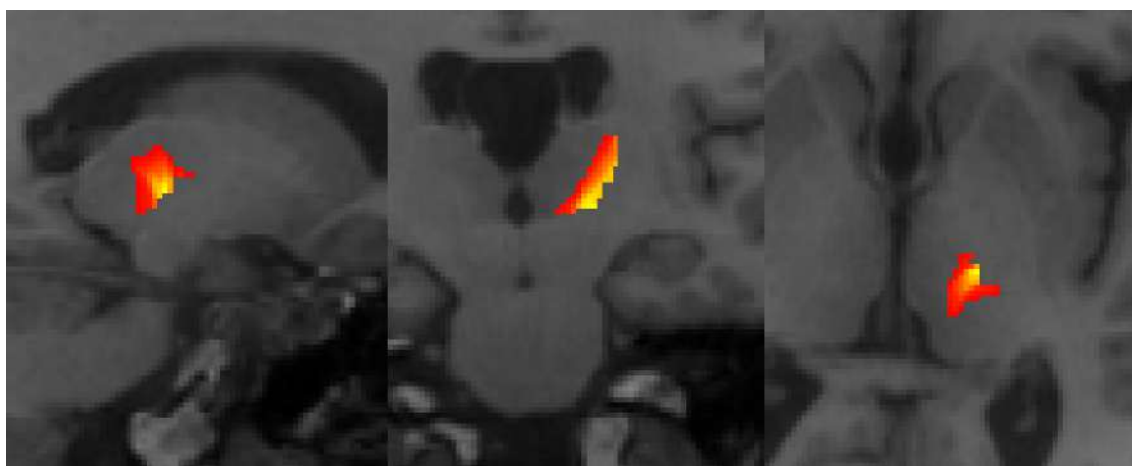
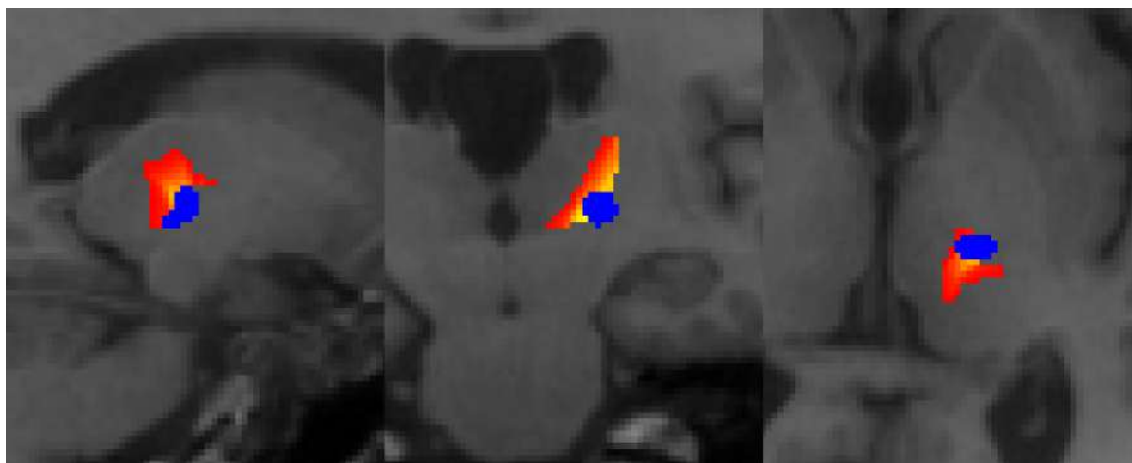


Figura 4.15: Selezionando un punto all'interno della lesione (quella cerchiata) il software appositamente scritto permette di creare una maschera della lesione

Individuata la regione della lesione è possibile effettuare il confronto tra la lesione e le aree di parcellizzazione sul talamo. Tale confronto è eseguito tramite l'ausilio di un ulteriore software scritto in *Python* appositamente sviluppato per questo lavoro. Il software permette di ottenere il grado delle sovrapposizioni tra la lesione e le diverse aree fornendo così la percentuale di *overlap* tra la lesione e una determinata area. Le immagini in Figura [4.16](#) mostrano il risultato della sovrapposizione.



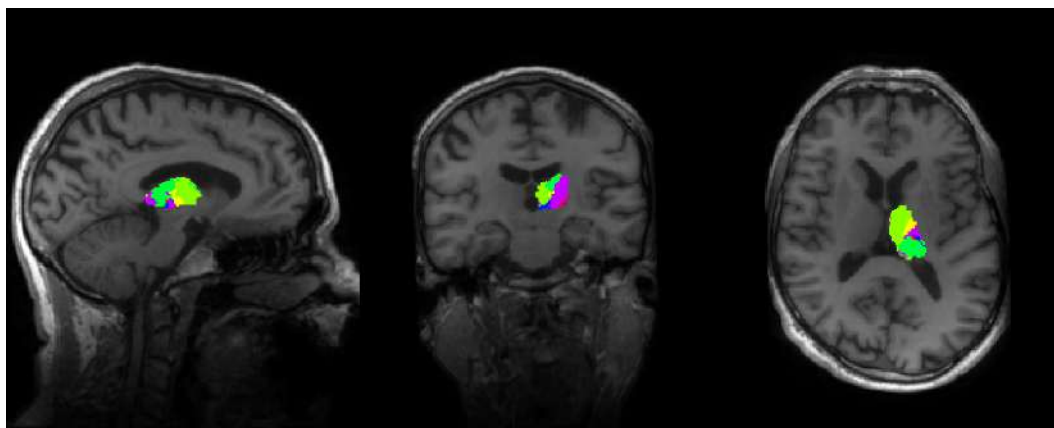
(a)



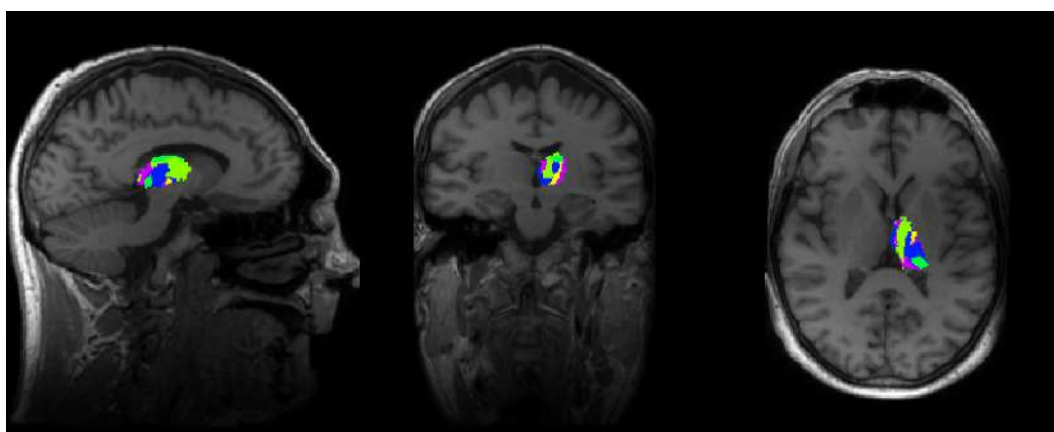
(b)

Figura 4.16: (a) Proiezione del giro precentrale sul talamo, ottenuta con trattografia probabilistica. (b) Sovrapposizione tra lesione segmentata e area precentrale.

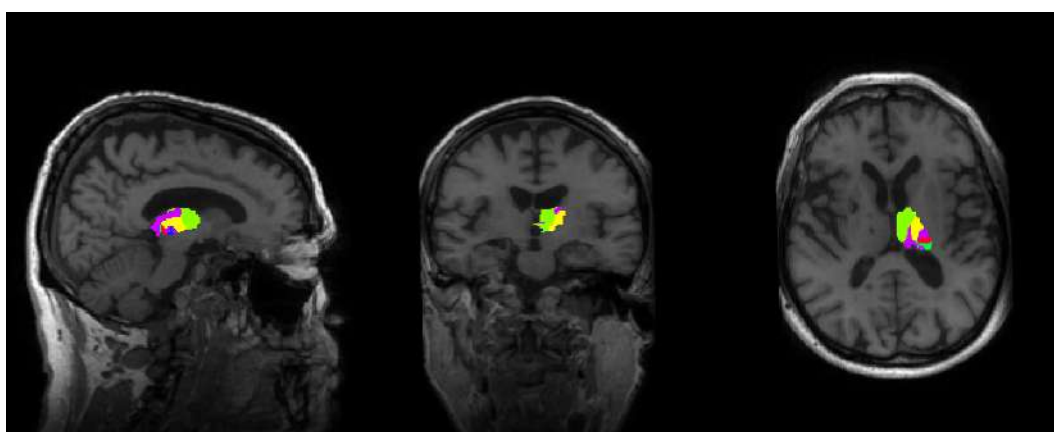
Utilizzando la *pipeline* descritta sono state effettuate le analisi trattografiche su un numero totale di 54 pazienti. Per questi pazienti sono dunque disponibili le mappe di parcellizzazione talamica, come quelle mostrate in figura [4.17](#).



(a)



(b)



(c)

Figura 4.17: Tre diverse parcellizzazioni talamiche ottenute per tre pazienti con la procedura sviluppata e illustrata nella sezione precedente.

Come era prevedibile, dalla Figura 4.17 si evince che l'estensione e la posizione nel talamo dei vari fasci provenienti dalle varie aree della corteccia cerebrale sono differenti da paziente a paziente.

4.5.1 Analisi delle dimensioni delle lesioni indotte durante il trattamento

Per gli stessi pazienti sono inoltre state condotte analisi di segmentazione della lesione. In figura [4.18](#) è riportato un istogramma dei volumi delle lesioni indotte sui pazienti.

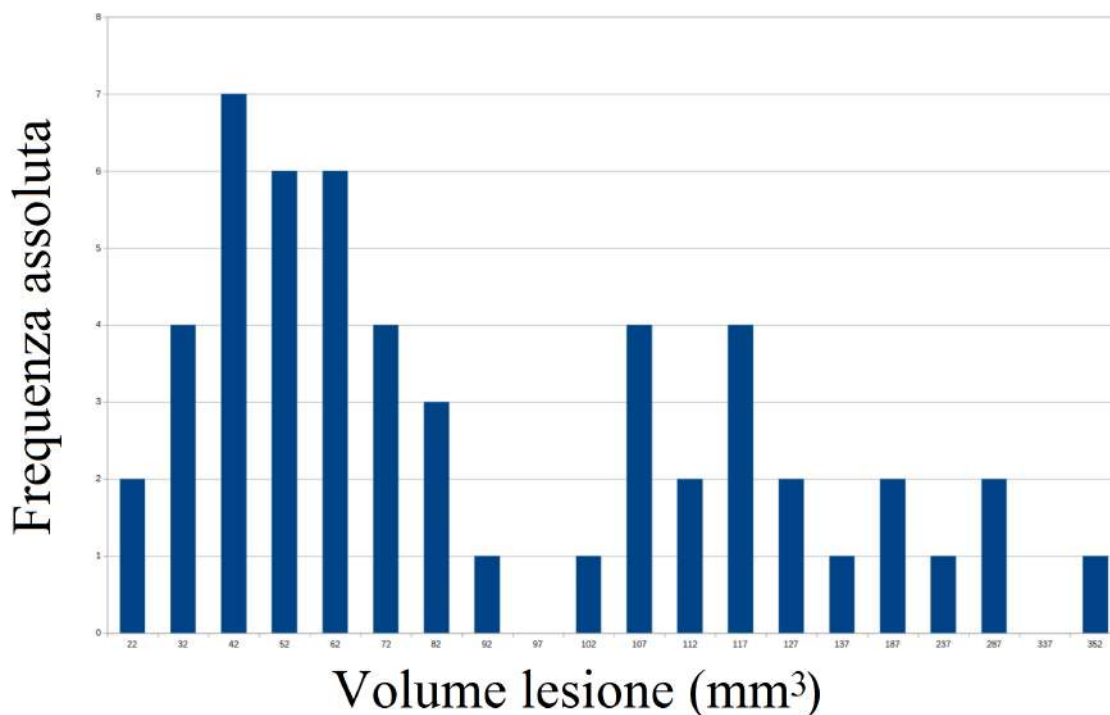
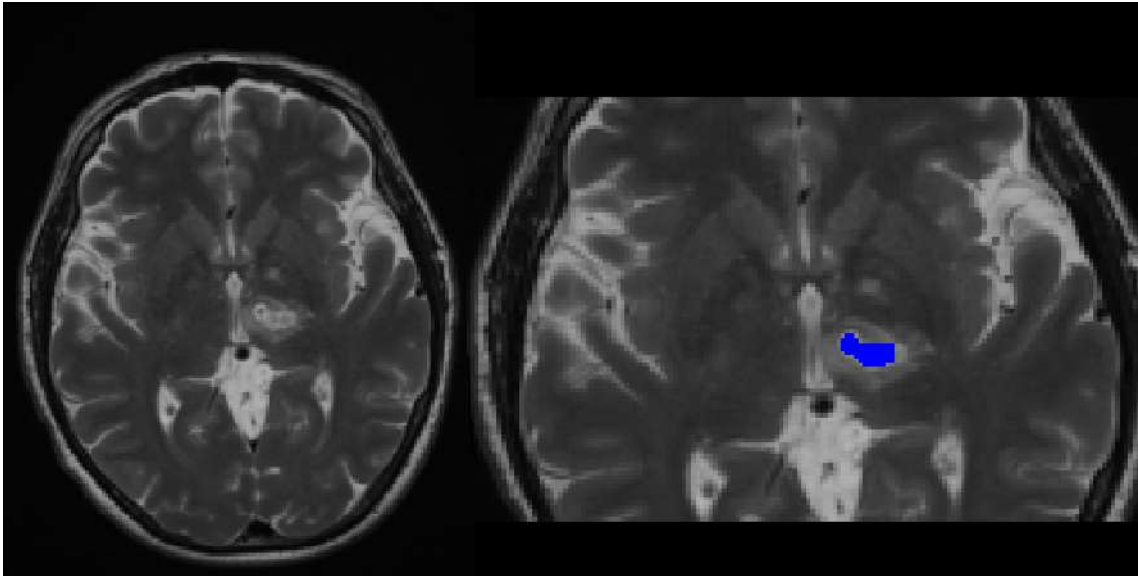
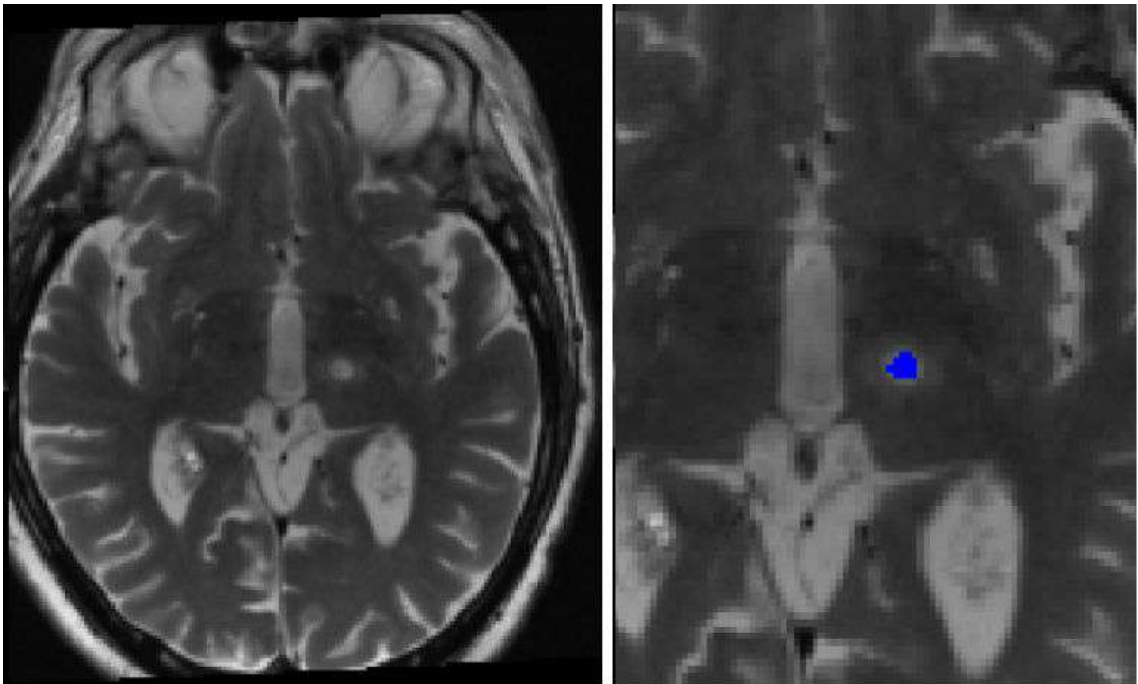


Figura 4.18: Istogramma dei volumi delle lesioni indotte durante il trattamento. Si noti che si ha un picco nella distribuzione dei volumi delle lesioni centrato intorno a 50 mm^3 , mentre si osserva una distribuzione non uniforme dei volumi maggiori di 100 mm^3 .

Dal grafico in figura [4.18](#) risulta evidente la presenza di una distribuzione di volumi con un picco intorno a 50 mm^3 . Comunque, si osserva anche la presenza di lesioni con volumi ben più grandi di 150 mm^3 come si può vedere anche dalla figura [4.19](#).



(a)



(b)

Figura 4.19: Confronto tra una lesione di grandi dimensioni (a) ed una di piccole dimensioni (b).

Differenze tra le lesioni indotte nei vari pazienti erano prevedibili considerata l'eterogeneità dei pazienti così come la specificità di ogni trattamento. Comunque, per verificare che le differenze fossero effettivamente dovute alla specificità dei vari trattamenti, si è pensato di investigare l'eventuale dipendenza del volume della lesione da vari fattori. Il primo fattore considerato è stato il tempo intercorso tra l'installazione del sistema tcMRgFUS e la data del trattamento per accertarsi che non si fossero verificate variazioni del setup sperimentale così come del protocollo seguito per il trattamento stesso. I risultati di quest'analisi sono riportati in Figura [4.20](#).

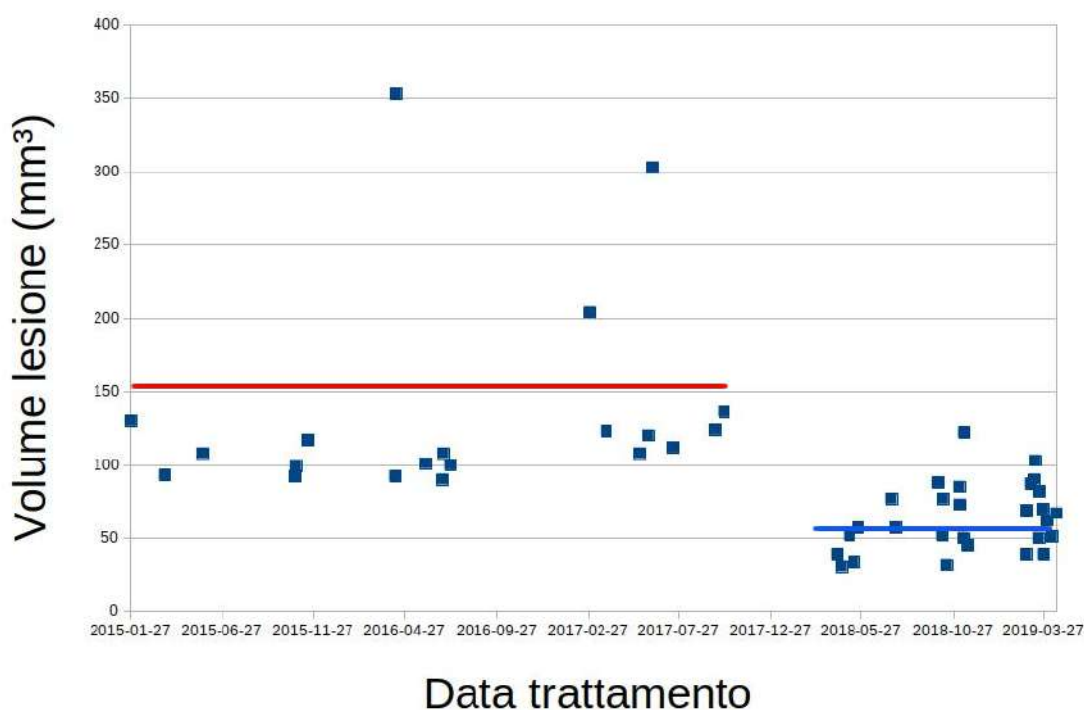


Figura 4.20: Volumi delle lesioni *vs* data del trattamento. La linea in rosso indica la media dei volumi delle lesioni indotte nei pazienti prima del 2018, in blu quelle indotte successivamente.

Come si evince dalla Figura [4.20](#) le lesioni realizzate in trattamenti antecedenti all'anno 2018 risultano essere mediamente più grandi e con fluttuazioni più grandi rispetto alle lesioni indotte nei trattamenti realizzati dall'anno 2018 in poi.

L'affinamento della tecnica e la maggiore esperienza hanno portato a trattamenti eseguiti con poche sonicazioni concentrate in aree molto piccole.

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

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. Su indicazione dell'*equipe* medica è stata utilizzata una scala numerica di valori interi da 1 a 6 che quantificano lo stato del tremore dopo almeno tre mesi dal trattamento: 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*.

Il numero di pazienti su cui si ha un *outcome* clinico affidabile è pari a sedici. 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 è stata condotta 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.

I risultati ottenuti sono mostrati in tabella [4.1](#)

In figura [4.21](#) è mostrato il grafico di correlazione.

*CAPITOLO 4. CHIRURGIA AD ULTRASUONI FOCALIZZATI GUIDATI
DA IMAGING DI RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE PER IL
TRATTAMENTO DEI TREMORI ESSENZIALI*

Tabella 4.1: 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.

	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

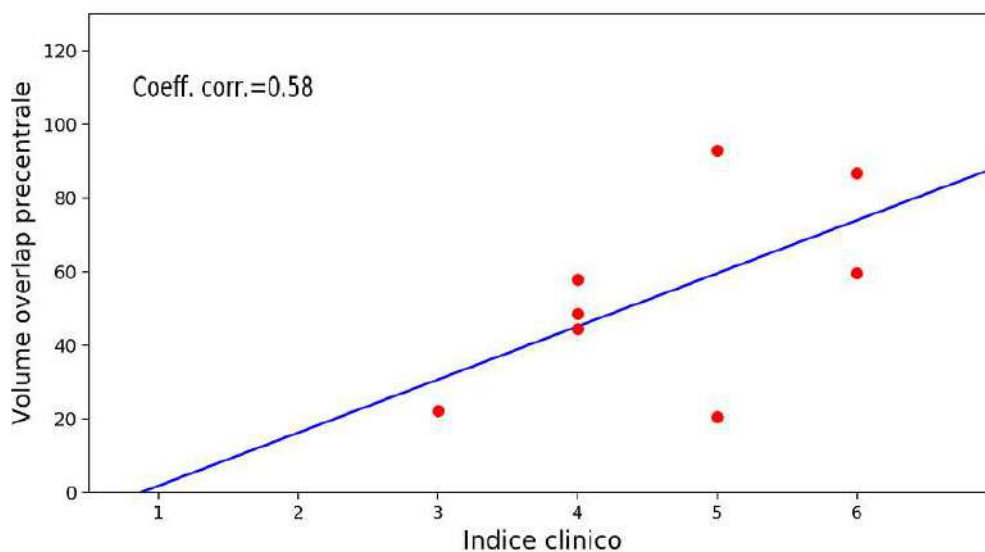
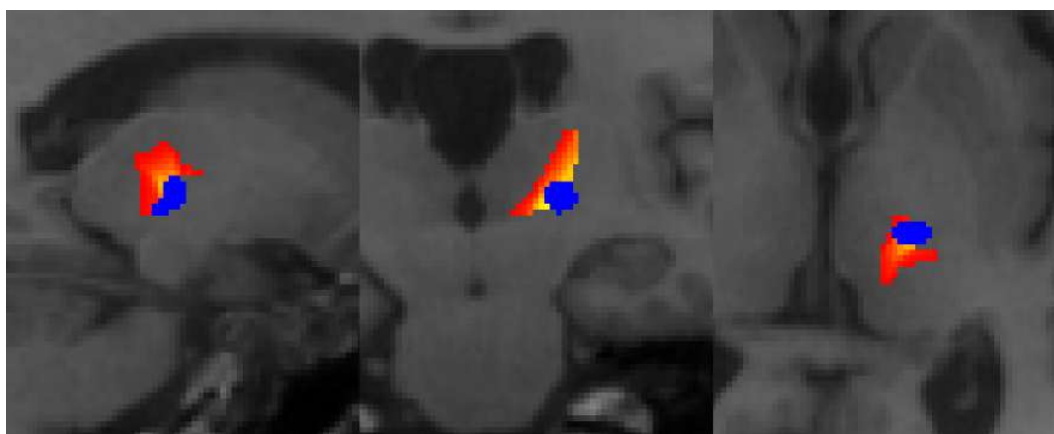


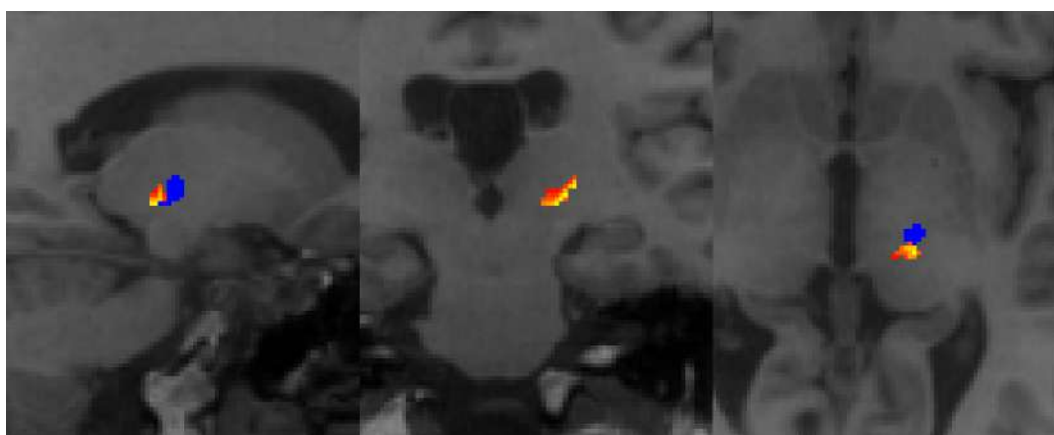
Figura 4.21: Correlazione tra indice clinico e sovrapposizione tra lesione e area precentrale per gli otto pazienti trattati dopo il 2018. Il grafico mostra una discreta correlazione (~ 0.58 e $p - value = 0.07$) tra le due quantità, sebbene il numero di pazienti sia comunque basso.

Infine, in figura 4.22 viene mostrato il confronto tra le immagini relative ad un paziente con un buon *outcome* clinico, in termini di miglioramento del tremore in seguito al trattamento e quelle di un paziente in cui invece i risultati sono stati solo parziali.

Nel primo caso (4.22 (a)) l'*overlap* tra la lesione e la proiezione del giro precentrale sul talamo è molto esteso, mentre nel secondo caso (4.22 (a)) con la soglia scelta (*i.e.* 40%) l'*overlap* è praticamente assente.



(a)



(b)

Figura 4.22: Confronto tra la sovrapposizione tra lesione-area precentrale in un paziente con buon risultato clinico(a) e con scarso risultato clinico(b).

4.5.3 *Independent Component Analysis* preliminare sui dati fMRI in resting state

Sugli stessi pazienti è stata condotta un' *Independent Component Analysis* preliminare sui dati fMRI in *resting state*.

Le modalità con cui quest'analisi è stata condotta sono le stesse di quelle descritte nel capitolo precedente.

La *dual regression analysis* ha mostrato un aumento di connettività funzionale in *resting state* in pazienti con tremore essenziale sottoposti a talamotomia mediante ultrasuoni focalizzati ad alta intensità guidati da RM nei seguenti *networks*:

- *motor network* (IC 0001):
 - Circonvoluzione precentrale destra (area motoria primaria, M1) - (picco in x, y, z: 21, 54, 64, $p < 0.01$, *cluster size* = 206 voxels; Fig. 4.23), in corrispondenza della proiezione dell'omega corticale sede della verosimile area eloquente per il controllo motorio volontario della mano sinistra;
 - Circonvoluzione precentrale destra (area motoria primaria, M1) - (picco in x, y, z: 30, 54, 69, $p < 0.01$, *cluster size* = 41 voxels; Fig. 4.24), in posizione più mesiale rispetto l'omega corticale, sede della verosimile area eloquente per il controllo motorio volontario delle sezioni più prossimali dell'arto superiore sinistro (avambraccio-braccio);
 - Terzo posteriore delle circonvoluzioni frontali superiori in sede mesiale (aree supplementari motorie, SMA) - (picco in x, y, z: 44, 54, 63, $p < 0.01$, *cluster size* = 83 voxels; Fig. 4.24), aree eloquenti che contribuiscono al controllo dei movimenti volontari;
 - Circonvoluzione post-centrale di sinistra (area somatosensoriale primaria, S1) (picco in x, y, z: 58, 42, 63, $p < 0.01$, *cluster size* = 45 voxels; Fig. 4.26), area eloquente deputata alla ricezione di stimoli sensitivi dell'emisoma contro-laterale.
- cerebellum (IC 0009):
 - Crus II dell'emisfero cerebellare destro (picco in x, y, z: 34, 24, 14, $p < 0.01$, *cluster size* = 93 voxels; Fig. 4.27), area che partecipa al processamento delle tempistiche di esecuzione dei movimenti volontari.

- talamo (IC 0024):
 - Il cluster di aumentata connettività identificato in sede talamica sinistra (picco in x, y, z: 48, 56, 36, $p < 0.01$, *cluster size* = 13 voxels; Fig. 4.28) risulta in stretti rapporti di contiguità con la sede del trattamento tcMRgFUS e sembrerebbe localizzarsi in posizione più antero-dorsale sempre in corrispondenza dei nuclei talamici ventro-laterali.

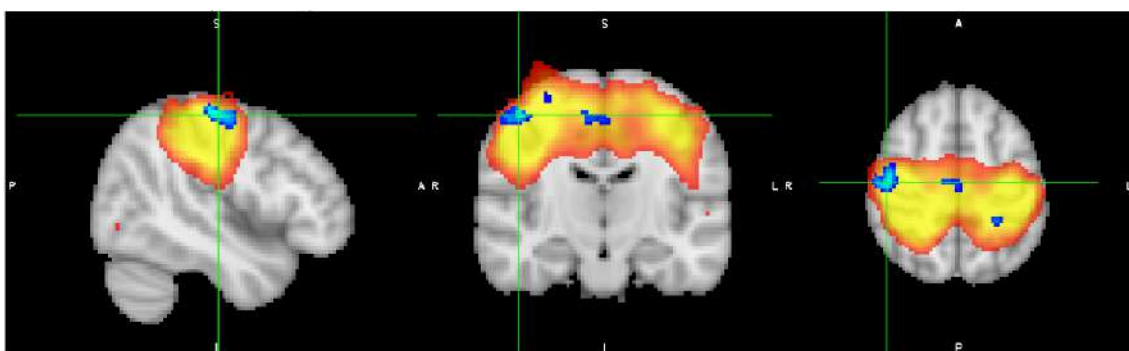


Figura 4.23: Aumento della connettività funzionale in *resting state* in pazienti con tremore essenziale sottoposti a talamotomia sinistra mediante ultrasuoni focalizzati ad alta intensità guidati da RM nella Circonvoluzione precentrale destra (area motoria primaria, M1) - (picco in x, y, z: 21, 54, 64, $p < 0.01$, *cluster size* = 206 voxels)

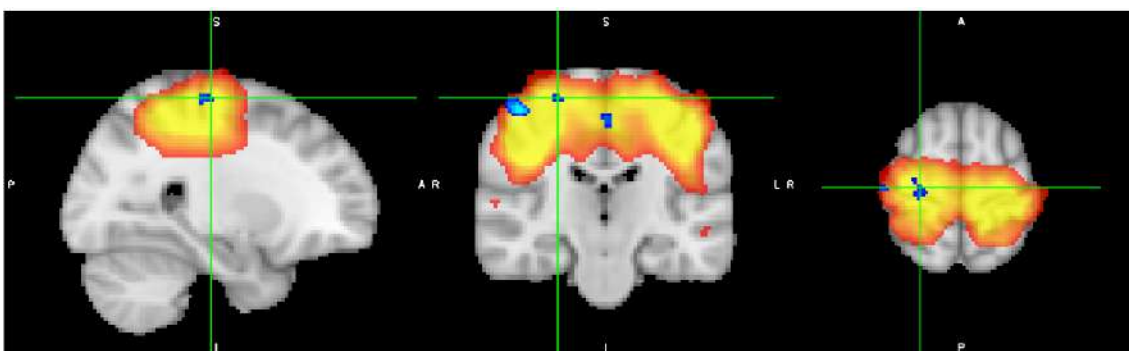


Figura 4.24: Aumento della connettività funzionale in *resting state* in pazienti con tremore essenziale sottoposti a talamotomia sinistra mediante ultrasuoni focalizzati ad alta intensità guidati da RM nella Circonvoluzione precentrale destra (area motoria primaria, M1) - (picco in x, y, z: 30, 54, 69, $p < 0.01$, *cluster size* = 41 voxels)

CAPITOLO 4. CHIRURGIA AD ULTRASUONI FOCALIZZATI GUIDATI
DA IMAGING DI RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE PER IL
TRATTAMENTO DEI TREMORI ESSENZIALI

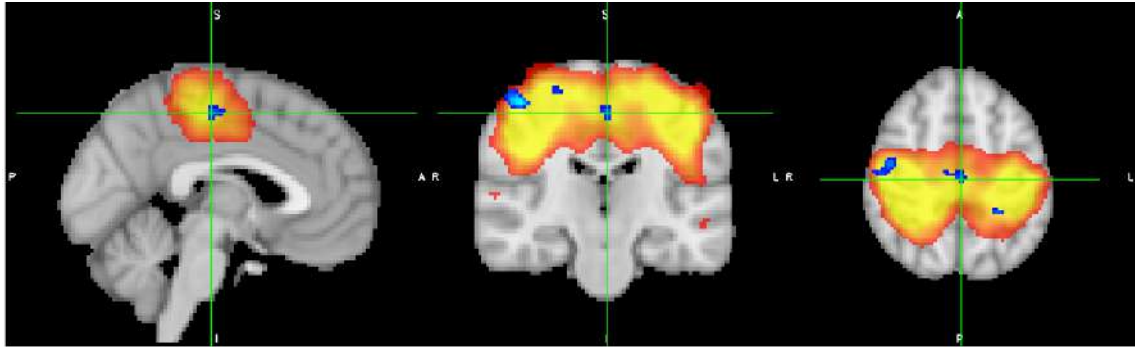


Figura 4.25: Aumento della connettività funzionale in resting state in pazienti con tremore essenziale sottoposti a talamotomia sinistra mediante ultrasuoni focalizzati ad alta intensità guidati da RM nel terzo posteriore delle circonvoluzioni frontali superiori in sede mesiale (aree supplementari motorie, SMA) - (picco in x, y, z : 44, 54, 63, $p < 0.01$, *cluster size* = 83 voxels)

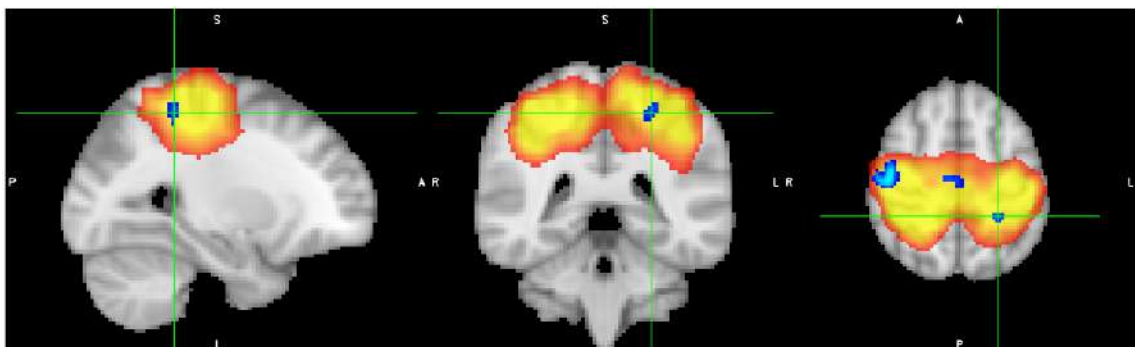


Figura 4.26: Aumento della connettività funzionale in resting state in pazienti con tremore essenziale sottoposti a talamotomia sinistra mediante ultrasuoni focalizzati ad alta intensità guidati da RM nella ciconvoluzione post-centrale di sinistra (area somatosensoriale primaria, S1) (picco in x, y, z : 58, 42, 63, $p < 0.01$, *cluster size* = 45 voxels)

CAPITOLO 4. CHIRURGIA AD ULTRASUONI FOCALIZZATI GUIDATI
DA IMAGING DI RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE PER IL
TRATTAMENTO DEI TREMORI ESSENZIALI

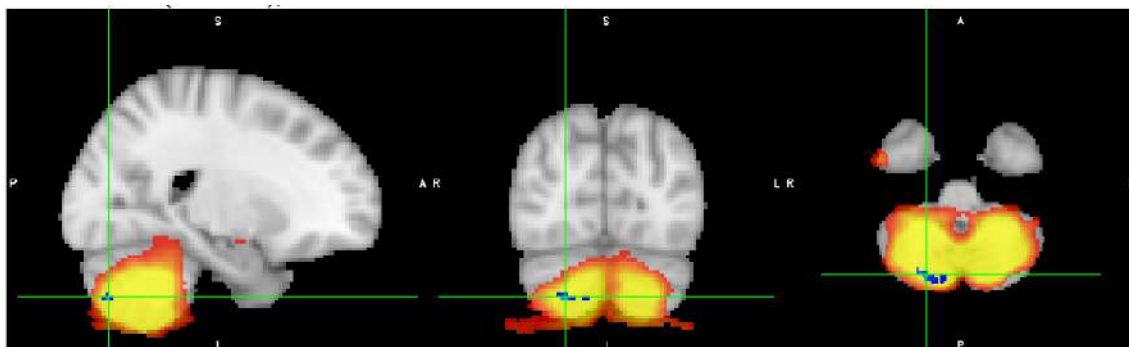


Figura 4.27: Aumento della connettività funzionale in resting state in pazienti con tremore essenziale sottoposti a talamotomia sinistra mediante ultrasuoni focalizzati ad alta intensità guidati da RM nella Crus II dell'emisfero cerebellare destro (picco in x, y, z : 34, 24, 14, $p < 0.01$, $cluster\ size = 93\ voxels$)

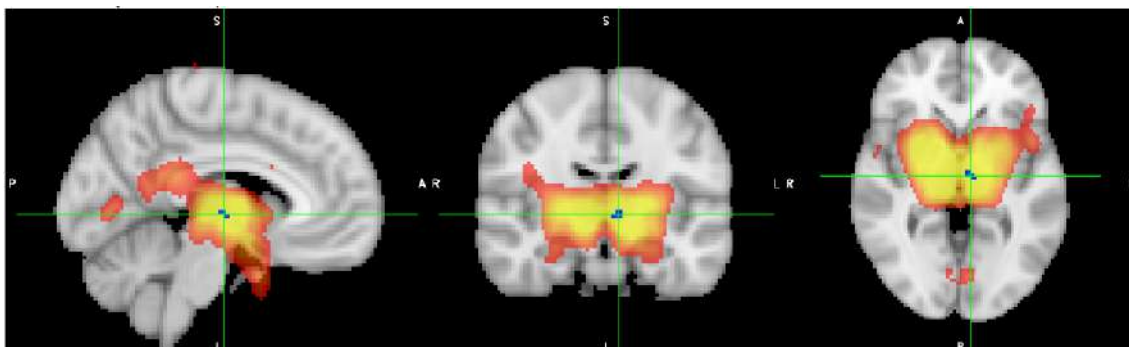


Figura 4.28: Aumento della connettività funzionale in resting state in pazienti con tremore essenziale sottoposti a talamotomia sinistra mediante ultrasuoni focalizzati ad alta intensità guidati da RM nella sede talamica sinistra (picco in x, y, z : 48, 56, 36, $p < 0.01$, $cluster\ size = 13\ voxels$)

4.6 DISCUSSIONE

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.

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 di 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 questa analisi verrà testata su un numero molto più elevato di pazienti sarà possibile validare la stessa e utilizzarla per valutazioni predittive sull'individuazione della posizione del target in trattamenti del tremore essenziale.

Per quanto riguarda l'analisi preliminare dei dati fMRI in *resting state* abbiamo osservato che in tutti i network in cui è stata riscontrata un'aumentata connettività funzionale dopo il trattamento tcMRgFUS (ad eccezione di quello riportato in figura Fig. 4.26) appartengono ai circuiti extra-piramidali preposti al controllo dei movimenti volontari dell'arto controlaterale a quello trattato.

I dati ottenuti, per una corretta interpretazione dovranno essere correlati con i risultati delle valutazioni cliniche (*score* clinici del lato trattato e non).

L'aumentata connettività della corteccia somatosensoriale primaria omolateralmente al target di trattamento, in considerazione della scarsa numerosità di voxel nel cluster identificato, è da considerarsi di discutibile significato clinico e da rivalutare estendendo il campione di soggetti inclusi nella presente analisi.

Il riscontro di un'aumentata connettività in sede talamica sinistra, anterodorsalmente alla sede di trattamento, sarà oggetto di ulteriori analisi mirate alla valutazione retrospettiva, mediante analisi di trattografia probabilistica, della connettività anatomica utilizzando come *seed* le aree talamiche evidenziate dalla presente analisi fMRI preliminare.

CAPITOLO 5

CONCLUSIONI E PROSPETTIVE FUTURE

Il mio progetto di ricerca si proponeva come obiettivo lo sviluppo e il miglioramento di protocolli di acquisizione e metodologie di analisi delle immagini ottenute tramite tecniche avanzate di Risonanza Magnetica (RM) a supporto sia di attività sperimentali che clinico-assistenziali.

Lo scopo della prima parte della tesi è quello di studiare i correlati neurofisiologici dei fenotipi clinici dei pazienti affetti da gioco d'azzardo patologico, tramite l'analisi ICA di dati fMRI. Gli studi di neuroimaging hanno dimostrato che una eccessiva esperienza in un certo comportamento può alterare l'attivazione cerebrale. Il gioco d'azzardo eccessivo può condurre a processi di neuroadattamento, come appunto l'aumento della connettività funzionale: questo può riflettere un processamento *bottom-up* facilitato delle informazioni e determinato da un allenamento costante alla trasmissione di questi impulsi d'azione tra regione ventrostriatale e corteccia prefrontale, zone coinvolte nella pianificazione e nella motivazione del comportamento d'azzardo. Gran parte della letteratura attuale risulta essersi concentrata sullo studio fMRI di specifiche regioni cerebrali coinvolte nei processi decisionali, durante lo svolgimento di test appositamente progettati per la evocazione di comportamenti misurabili nei soggetti che li svolgono. Le analisi fMRI in *resting state* che usano il modello delle componenti indipendenti nei giocatori d'azzardo patologici risulta ad oggi ancora scarno. Per lo svolgimento dello studio sono stati reclutati 14 soggetti sani e 14 giocatori d'azzardo patologici provenienti dal Servizio Centrale per le Dipendenze di Palermo (tutti di sesso maschile, destrimani, età media $36, 17 \pm 9, 45$). I due gruppi non differivano per età media e scolarità. In questi soggetti la tendenza al gioco d'azzardo problematico/patologico è stata misu-

rata tramite il SOGS (South Oaks Gambling Screen) e il GABS (Gambling Attitudes and Believes Survey). La presenza di sintomi ossessivi compulsivi è stata misurata tramite il Yale-Brown Obsessive Compulsive Test. Lo stato d'ansia è stato misurato tramite lo STAI (State-Trait Anxiety Inventory). Lo stato depressivo è stato misurato tramite il BDI (Beck Depression Inventory). L'impulsività è stata misurata tramite il BIS (Barratt Impulsiveness Scale). Lo stress totale è stato misurato tramite la MSP (Misura di Stress Perceptito).

Sono state trovate delle differenze significative in circuiti che includono aree cerebrali dove nella maggior parte è noto un coinvolgimento nei processi cognitivi superiori riguardanti il controllo degli impulsi, il *decision-making*, la capacità di valutare le conseguenze delle proprie azioni.

Una delle aree risultate funzionalmente iperconnesse è il *network* che comprende il *nucleus accumbens*, la testa del nucleo caudato e la corteccia cingolata anteriore.

Le regioni iperconnesse di tale *network* sono state già esaminate in passato e il loro ruolo nell'omeostasi del circuito della ricompensa è abbastanza condiviso. Nel complesso, la aumentata connettività e integrazione di questo *network* nei giocatori d'azzardo patologici rispetto ai controlli suggerisce un'alterazione dei sistemi cognitivi capaci di rappresentare gli stimoli esterni al soggetto potenzialmente ricompensanti.

Le altre regioni in cui nel nostro studio abbiamo evidenziato una aumentata connettività funzionale sono quelle del verme cerebellare e della corteccia cerebellare destra.

Il cervelletto è da sempre riconosciuto come la struttura nervosa responsabile del mantenimento del tono muscolare, come dell'apprendimento, della pianificazione e della correzione delle sequenze motorie; le ipotesi relative ad un interessamento di questa struttura nervosa nei circuiti cognitivi alterati, in ambito di dipendenze, sono recenti e frammentate.

Il quadro generale ottenuto dallo studio effettuato è quello di una circuiteria cerebrale nei giocatori d'azzardo, rispetto ai controlli sani, oggettivamente alterata. La presenza di un'aumentata connettività funzionale in regioni cerebrali più o meno interconnesse tra loro, ma comunque accomunate cognitivamente dalle funzioni svolte in ambito di processamento delle ricompense e degli stimoli esterni, di attribuzione di caratteristiche spaziotemporali alla rilevanza degli eventi, e del derivante *decision-making*, permette di ipotizzare l'esistenza di una correlazione con molteplici aspetti clinici del disturbo da gioco d'azzardo quali l'impulsività, l'illusione di controllo, la reiterazione di

comportamenti disfunzionali nonostante le conseguenze negative, il *craving*, la rincorsa delle perdite, il deprezzamento delle ricompense posticipate in funzione di una ipervalutazione di quelle attuali e probabilistiche. Il giocatore d'azzardo patologico potrebbe presentare, quindi, uno stato di ipersensibilità costante a trigger (esterni o interni) richiamanti il gioco in virtù di una circuiteria organicamente implementata, tramite processi di neuroadattamento e neuroplasticità, dalle persistenti attivazioni dei network funzionali reclutati durante le continue riesperienze del gioco d'azzardo. Tale ipotesi sui giocatori d'azzardo devono però necessariamente essere supportate da successive evidenze scientifiche.

L'obiettivo della seconda parte della tesi è stato lo sviluppo di un protocollo di analisi di immagini di risonanza magnetica nucleare (MRI) finalizzato all'ottimizzazione dei trattamenti *trans-cranial Magnetic Resonance-guided Focused Ultrasound Surgery (tcMRgFUS)*. La *tcMRgFUS* fa uso di ultrasuoni focalizzati per la cura di disturbi del movimento quali il tremore essenziale e permette, in maniera non invasiva, di trattare con precisione millimetrica bersagli anche nelle zone più profonde del cervello, come il talamo. Pertanto si è cercato di identificare le varie regioni del talamo corrispondenti alle varie aree delle corteccia cerebrale. In particolare, si è interessati al nucleo ventrale intermedio (in inglese *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) che è riconosciuta come l'area responsabile del tremore [148]. Questa procedura di identificazione delle regioni talamiche prende il nome di *parcellizzazione talamica*.

Questa parte del lavoro di Tesi è stato svolto in due fasi: la prima relativa allo sviluppo della procedura di analisi delle immagini e l'individuazione del target da colpire tramite *tcMRgFUS*; la seconda relativa 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 rispettive regioni del talamo, all'interno del quale dovrà essere individuato il target. Dai dati ricavati dalle immagini di risonanza magnetica pesati in diffusione acquisiti durante uno screening pre-operatorio sono stati ricostruiti i valori del tensore di diffusione e, da questi, tramite algoritmi di trattografia probabilistica, i

fasci che congiungono il talamo alle aree del cervello selezionate cioè: lobo frontale, giro precentrale, giro post centrale, lobo parietale, lobo temporale, lobo occipitale. Considerando questi fasci è stato individuato nel talamo il tessuto 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 (prodotta durante il trattamento) e che è stata ricavata *a posteriori* dalle immagini del primo controllo successivo al 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. Su indicazione dell'*equipe* medica è stata utilizzata una scala numerica di valori interi da 1 a 6 che quantificano lo stato del tremore dopo almeno tre mesi dal trattamento: 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 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 è stata condotta 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 della sezione da ablare 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. Nel prossimo futuro ci si aspetta che questo tipo di analisi possa essere validata con un numero più elevato di pazienti e successivamente possa essere utilizzata estensivamente in maniera predittiva per l'individuazione *a priori* della posizione del target su cui focalizzare il fascio durante la tcMRgFUS.

Per quanto riguarda l'analisi preliminare dei dati fMRI in resting state abbiamo osservato un'aumentata connettività funzionale dopo il trattamento tcMRgFUS in network appartenenti ai circuiti extra-piramidali preposti al controllo dei movimenti volontari dell'arto controlaterale a quello trattato. Tale analisi è sicuramente da rivalutare estendendo il campione.

I risultati di questa attività di ricerca, il loro interesse per l'avanzamento della conoscenza e le eventuali potenzialità applicative potrebbero rappresentare un passo avanti per la ricerca biomedica.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Peter A Bandettini, Eric C Wong, R Scott Hinks, Ronald S Tikofsky, and James S Hyde. Time course epi of human brain function during task activation. *Magnetic Resonance in Medicine*, 25(2):390–397, 1992.
- [2] Seiji Ogawa, David W Tank, Ravi Menon, Jutta M Ellermann, Seong G Kim, Helmut Merkle, and Kamil Ugurbil. Intrinsic signal changes accompanying sensory stimulation: functional brain mapping with magnetic resonance imaging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(13):5951–5955, 1992.
- [3] Kenneth K Kwong, John W Belliveau, David A Chesler, Inna E Goldberg, Robert M Weisskoff, Brigitte P Poncelet, David N Kennedy, Bernice E Hoppel, Mark S Cohen, and Robert Turner. Dynamic magnetic resonance imaging of human brain activity during primary sensory stimulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(12):5675–5679, 1992.
- [4] Ali-Mohammad Golestani and Bradley G Goodyear. Regions of interest for resting-state fmri analysis determined by inter-voxel cross-correlation. *NeuroImage*, 56(1):246–251, 2011.
- [5] Christian F Beckmann, Marilena DeLuca, Joseph T Devlin, and Stephen M Smith. Investigations into resting-state connectivity using independent component analysis. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 360(1457):1001–1013, 2005.

- [6] Bharat Biswal, F Zerrin Yetkin, Victor M Haughton, and James S Hyde. Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar mri. *Magnetic resonance in medicine*, 34(4):537–541, 1995.
- [7] David M Cole, Stephen M Smith, and Christian F Beckmann. Advances and pitfalls in the analysis and interpretation of resting-state fmri data. *Frontiers in systems neuroscience*, 4, 2010.
- [8] Jessica S Damoiseaux and Michael D Greicius. Greater than the sum of its parts: a review of studies combining structural connectivity and resting-state functional connectivity. *Brain Structure and Function*, 213(6):525–533, 2009.
- [9] Michael D Fox and Marcus E Raichle. Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging. *Nature Reviews Neuroscience*, 8(9):700–711, 2007.
- [10] Michael Greicius. Resting-state functional connectivity in neuropsychiatric disorders. *Current opinion in neurology*, 21(4):424–430, 2008.
- [11] Dongyang Zhang and Marcus E Raichle. Disease and the brain’s dark energy. *Nature Reviews Neurology*, 6(1):15–28, 2010.
- [12] S Dimou, RA Battisti, DF Hermens, and J Lagopoulos. A systematic review of functional magnetic resonance imaging and diffusion tensor imaging modalities used in presurgical planning of brain tumour resection. *Neurosurgical review*, 36(2):205–214, 2013.
- [13] AMHJ Aertsen and H Preissl. Dynamics of activity and connectivity in physiological neuronal networks. *Nonlinear dynamics and neuronal networks*, 2:281–301, 1991.
- [14] KJ Friston, CD Frith, PF Liddle, and RSJ Frackowiak. Functional connectivity: the principal-component analysis of large (pet) data sets. *Journal of cerebral blood flow and metabolism*, 13:5–5, 1993.
- [15] Michael D Greicius, Ben Krasnow, Allan L Reiss, and Vinod Menon. Functional connectivity in the resting brain: a network analysis of the default mode hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(1):253–258, 2003.

- [16] Mark J Lowe, Mario Dzemidzic, Joseph T Lurito, Vincent P Mathews, and Micheal D Phillips. Correlations in low-frequency bold fluctuations reflect cortico-cortical connections. *Neuroimage*, 12(5):582–587, 2000.
- [17] Martijn P Van Den Heuvel and Hilleke E Hulshoff Pol. Exploring the brain network: a review on resting-state fmri functional connectivity. *European Neuropsychopharmacology*, 20(8):519–534, 2010.
- [18] Qi-Zhu Wu, Dong-Ming Li, Wei-Hong Kuang, Ti-Jiang Zhang, Su Lui, Xiao-Qi Huang, Raymond CK Chan, Graham J Kemp, and Qi-Yong Gong. Abnormal regional spontaneous neural activity in treatment-refractory depression revealed by resting-state fmri. *Human brain mapping*, 32(8):1290–1299, 2011.
- [19] G Andrew James, Zhong-Lin Lu, John W VanMeter, K Sathian, Xiaoping P Hu, and Andrew J Butler. Changes in resting state effective connectivity in the motor network following rehabilitation of upper extremity poststroke paresis. *Topics in stroke rehabilitation*, 16(4):270–281, 2009.
- [20] Tao Wu, Liang Wang, Yi Chen, Cheng Zhao, Kuncheng Li, and Piu Chan. Changes of functional connectivity of the motor network in the resting state in parkinson’s disease. *Neuroscience letters*, 460(1):6–10, 2009.
- [21] Vesa Kiviniemi, Juha-Heikki Kantola, Jukka Jauhiainen, Aapo Hyvärinen, and Osmo Tervonen. Independent component analysis of nondeterministic fmri signal sources. *Neuroimage*, 19(2):253–260, 2003.
- [22] Vincent G van de Ven, Elia Formisano, David Prvulovic, Christian H Roeder, and David EJ Linden. Functional connectivity as revealed by spatial independent component analysis of fmri measurements during rest. *Human brain mapping*, 22(3):165–178, 2004.
- [23] Evangelia Tsolaki, Angela Downes, William Speier, W Jeff Elias, and Nader Pouratian. The potential value of probabilistic tractography-based for mr-guided focused ultrasound thalamotomy for essential tremor. *NeuroImage: Clinical*, 17:1019–1027, 2018.
- [24] Cesare gagliardo, Massimo Midiri, Roberto Cannella, Alessandro Napoli, Paul Wragg, Giorgio Collura, Maurizio Marrale, Tommaso Vincenzo Bartolotta, 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.
- [25] Pejman Ghanouni, Kim Butts Pauly, W Jeff Elias, Jaimie Henderson, Jason Sheehan, Stephen Monteith, and Max Wintermark. Transcranial mri-guided focused ultrasound: a review of the technologic and neurologic applications. *American Journal of Roentgenology*, 205(1):150–159, 2015.
- [26] E. M. Purcell, H. C. Torrey, and R. V. Pound. Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid. *Physical Review*, (69):37–38, 1946.
- [27] Hahn EL. Spin Echoes. *Phys. Rev.*, (80):580–594, 1950.
- [28] Mansfield M. Multiplanar image formation using nmr spin echoes. *Journal of Physical Chemistry*, L(10):55–58, 1977.
- [29] Turner R. et al. Echo-planar imaging of intravoxel incoherent motion. *Radiology*, (177):407–414, 1990.
- [30] Seiji Ogawa, Tso-Ming Lee, Alan R Kay, and David W Tank. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(24):9868–9872, 1990.
- [31] Scott A Huettel, Allen W Song, and Gregory McCarthy. *Functional magnetic resonance imaging*, volume 1. Sinauer Associates Sunderland, 2004.
- [32] Keith R Thulborn, A Gregory Sorensen, NW Kowall, Ann Mckee, Albert Lai, Robert C Mckinstry, J Moore, BR Rosen, and TJ Brady. The role of ferritin and hemosiderin in the mr appearance of cerebral hemorrhage: a histopathologic biochemical study in rats. *American journal of neuroradiology*, 11(2):291–297, 1990.
- [33] Bruce R Rosen and Robert L Savoy. fmri at 20: has it changed the world? *Neuroimage*, 62(2):1316–1324, 2012.
- [34] R. Brown. A brief account of microscopical observations made in the month on June, July and August 1828 on the particles contained in the pollen of plants and on the general existence of active molecules in organic and inorganic bodies. *Philosophical Magazine*, (4):161–173, 1828.

- [35] A. Fick. On liquid diffusion. *Philosophical Magazine*, 63(10):30–39, 1855.
- [36] D. Scelfo. Misure di diffusione in MRI: realizzazione di un modello sperimentale per la validazione di tecniche di ricostruzione tramite algoritmi di fiber tracking. *Tesi di Laurea Università di Pisa*, Anno Accademico 2008/2009.
- [37] Einstein A. Investigations on the theory of the brownian movement. *New York, NY: Dover.*, 1956.
- [38] Beaulieu C. The basis of anisotropic water diffusion in the nervous system - a technical review. *NMR in Medicine*, (15):435–455, 2002.
- [39] Le Bihan D, Breton E, Lallemand D, Grenier P, Cabanis E, and Laval-Jeantet M. MR imaging of intravoxel incoherent motions: application to diffusion and perfusion in neurologic disorders. *Radiology*, 2(161):401–7, 1986.
- [40] Carr H.Y. and Purcell E.M. Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments. *Physical Review*, (94):630–638, 1954.
- [41] Torrey H.C. Bloch equations with diffusion terms. *Physical Review*, pages 563–565, 1956.
- [42] Stejskal EO. Use of spin echoes in a pulsed magnetic-field gradient to study anisotropic, restricted diffusion and flow". *Journal of Chemical Physics*, 10(43):3597–3603, 1965.
- [43] 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.
- [44] Le Bihan D. and Van Zijl P. From the diffusion coefficient to the diffusion tensor. *NMR in Biomedicine*, (15):431–434, 2002.
- [45] Mori S. and Barker P.B. Diffusion magnetic resonance imaging: Its principle and applications. *Anatomical Record*, (257):102–109, 1999.
- [46] Mori S. and Zhang J. Principles of diffusion tensor imaging and its applications to basic neuroscience research. *Neuron*, (51):527–539, 2006.

- [47] Mori S. *Introduction to Diffusion Tensor Imaging*. Elsevier Science, ISBN-10:0444528288, 2007.
- [48] Mattiello J., Basser P.J., and Le Bihan D. The b matrix in diffusion tensor echo planar imaging. *Magnetic Resonance in Medicine*, (37):292–300, 1997.
- [49] 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.
- [50] Basser PJ, Mattiello J, and LeBihan D. Estimation of the effective self-diffusion tensor from the NMR spin-echo. *Journal of Magnetic Resonance Series B*, 3(103):247–254, 1994.
- [51] Alexander AL and Lee JE and Lazar M and Field AS. Diffusion tensor imaging of the brain. *Neurotherapeutics*, 3(4):316–29, 2007.
- [52] Basser PJ and Pierpaoli C. Microstructural and physiological features of tissue elucidated by quantitative-diffusion tensor MRI. *J Magn Reson B*, (111):209–219, 1996.
- [53] 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.
- [54] S. L. Keir and J. M. Wardlaw. Systematic review of diffusion and perfusion imaging in acute ischemic stroke. *Stroke*, 11(31):2723–2731, 2000.
- [55] 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.
- [56] 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.
- [57] A. S. Field and A. L. Alexander. Diffusion tensor imaging in cerebral tumor diagnosis and therapy. *Topics in Magnetic Resonance Imaging*, 5(15):315, 2004.

-
- [58] 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.
- [59] 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.
- [60] 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.
- [61] M. E. Moseley. Diffusion tensor imaging and aging-a review. *NMR in Biomedicine*, 7-8(15):553–560, 2002.
- [62] 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.
- [63] Q. Dong, R. C. Welsh, T. L. Chenevert, R. C. Carlos, P. Maly-Sundgren, D. M. Gomez-Hassan, and S. K. Mukherji. Clinical applications of diffusion tensor imaging. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 1(19):6–18, 2004.
- [64] Y. Assaf and O. Pasternak. Diffusion tensor imaging (DTI)-based white matter mapping in brain research: a review. *Journal of Molecular Neuroscience*, 1(34):51–61, 2008.
- [65] 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.
- [66] 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.
- [67] 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.

- [68] Barry Horwitz. The elusive concept of brain connectivity. *Neuroimage*, 19(2):466–470, 2003.
- [69] Karl J Friston, Andrew P Holmes, Keith J Worsley, J-P Poline, Chris D Frith, and Richard SJ Frackowiak. Statistical parametric maps in functional imaging: a general linear approach. *Human brain mapping*, 2(4):189–210, 1994.
- [70] Karl J Friston. The disconnection hypothesis. *Schizophrenia research*, 30(2):115–125, 1998.
- [71] Dietmar Cordes, Victor M Haughton, Konstantinos Arfanakis, John D Carew, Patrick A Turski, Chad H Moritz, Michelle A Quigley, and M Elizabeth Meyerand. Frequencies contributing to functional connectivity in the cerebral cortex in “resting-state” data. *American Journal of Neuroradiology*, 22(7):1326–1333, 2001.
- [72] Karl J Friston. Functional and effective connectivity: a review. *Brain connectivity*, 1(1):13–36, 2011.
- [73] Michael D Greicius, Gaurav Srivastava, Allan L Reiss, and Vinod Menon. Default-mode network activity distinguishes alzheimer’s disease from healthy aging: evidence from functional mri. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(13):4637–4642, 2004.
- [74] Kei Yamada, Koji Sakai, Kentaro Akazawa, Sachiko Yuen, and Tsunehiko Nishimura. Mr tractography: a review of its clinical applications. *Magnetic resonance in medical sciences*, 8(4):165–174, 2009.
- [75] 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.
- [76] Maxime Descoteaux, Rachid Deriche, Thomas R Knosche, and Alfred Anwander. Deterministic and probabilistic tractography based on complex fibre orientation distributions. *IEEE transactions on medical imaging*, 28(2):269–286, 2008.
- [77] 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.
- [78] 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.
- [79] FSL. Fsl lecture about probtrackx. 2007.
- [80] Saskia Quester and Nina Romanczuk-Seiferth. Brain imaging in gambling disorder. *Current addiction reports*, 2(3):220–229, 2015.
- [81] AAVV. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. *Arlington (2013)*. doi:10.1176/appi.books.9780890425596.744053.
- [82] Jon E Grant, Brian L Odlaug, and Samuel R Chamberlain. Neural and psychological underpinnings of gambling disorder: A review. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 65:188–193, 2016.
- [83] Nina Romanczuk-Seiferth, Wim Van Den Brink, and Anna E Goudriaan. From symptoms to neurobiology: pathological gambling in the light of the new classification in dsm-5. *Neuropsychobiology*, 70(2):95–102, 2014.
- [84] Anna E Goudriaan, Jaap Oosterlaan, Edwin De Beurs, and Wim Van Den Brink. Neurocognitive functions in pathological gambling: a comparison with alcohol dependence, tourette syndrome and normal controls. *Addiction*, 101(4):534–547, 2006.
- [85] Anna E Goudriaan, Jaap Oosterlaan, Edwin de Beurs, and Wim van den Brink. Decision making in pathological gambling: a comparison between pathological gamblers, alcohol dependents, persons with tourette syndrome, and normal controls. *Cognitive Brain Research*, 23(1):137–151, 2005.
- [86] Damien Brevers, Axel Cleeremans, Anna E Goudriaan, Antoine Bechara, Charles Kornreich, Paul Verbanck, and Xavier Noël. Decision making under ambiguity but not under risk is related to problem gambling severity. *Psychiatry research*, 200(2-3):568–574, 2012.

- [87] Semion Kertzman, Helena Lidogoster, Anat Aizer, Moshe Kotler, and Pinhas N Dannon. Risk-taking decisions in pathological gamblers is not a result of their impaired inhibition ability. *Psychiatry research*, 188(1):71–77, 2011.
- [88] Paolo Cavadini, Giovanna Riboldi, Roberto Keller, Arcangela D’Annuncci, and Laura Bellodi. Frontal lobe dysfunction in pathological gambling patients. *Biological psychiatry*, 51(4):334–341, 2002.
- [89] Maartje Luijten, Gert-Jan Meerkerk, Ingmar HA Franken, Ben JM van de Wetering, and Tim M Schoenmakers. An fmri study of cognitive control in problem gamers. *Psychiatry Research: Neuroimaging*, 231(3):262–268, 2015.
- [90] Marc N Potenza, Hoi-Chung Leung, Hilary P Blumberg, Bradley S Peterson, Robert K Fulbright, Cheryl M Lacadie, Pawel Skudlarski, and John C Gore. An fmri stroop task study of ventromedial prefrontal cortical function in pathological gamblers. *American Journal of Psychiatry*, 160(11):1990–1994, 2003.
- [91] Ruth J Van Holst, Mieke Van Holstein, Wim Van Den Brink, Dick J Veltman, and Anna E Goudriaan. Response inhibition during cue reactivity in problem gamblers: an fmri study. *Plos one*, 7(3):e30909, 2012.
- [92] Michiel B de Ruiter, Jaap Oosterlaan, Dick J Veltman, Wim van den Brink, and Anna E Goudriaan. Similar hyporesponsiveness of the dorsomedial prefrontal cortex in problem gamblers and heavy smokers during an inhibitory control task. *Drug and Alcohol Dependence*, 121(1-2):81–89, 2012.
- [93] Jody Tanabe, Laetitia Thompson, Eric Claus, Manish Dalwani, Kent Hutchison, and Marie T Banich. Prefrontal cortex activity is reduced in gambling and nongambling substance users during decision-making. *Human brain mapping*, 28(12):1276–1286, 2007.
- [94] Pinhas N Dannon, Tammar Kushnir, Anat Aizer, Ruth Gross-Isseroff, Moshe Kotler, and David Manor. Alternation learning in pathological gamblers: an fmri study. *Brain imaging and behavior*, 5(1):45–51, 2011.
- [95] Jan Peters, Stephan Franz Miedl, and Christian Büchel. Elevated functional connectivity in a striatal-amygdala circuit in pathological gamblers. *PloS one*, 8(9):e74353, 2013.

- [96] Marc N Potenza. The neurobiology of pathological gambling and drug addiction: an overview and new findings. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363(1507):3181–3189, 2008.
- [97] David N Crockford, Bradley Goodyear, Jodi Edwards, Jeremy Quickfall, and Nady el Guebaly. Cue-induced brain activity in pathological gamblers. *Biological psychiatry*, 58(10):787–795, 2005.
- [98] Anna E Goudriaan, Michiel B De Ruiter, Wim Van Den Brink, Jaap Oosterlaan, and Dick J Veltman. Brain activation patterns associated with cue reactivity and craving in abstinent problem gamblers, heavy smokers and healthy controls: an fmri study. *Addiction biology*, 15(4):491–503, 2010.
- [99] Stephan F Miedl, Jan Peters, and Christian Büchel. Altered neural reward representations in pathological gamblers revealed by delay and probability discounting. *Archives of general psychiatry*, 69(2):177–186, 2012.
- [100] Stephan F Miedl, Christian Büchel, and Jan Peters. Cue-induced craving increases impulsivity via changes in striatal value signals in problem gamblers. *Journal of Neuroscience*, 34(13):4750–4755, 2014.
- [101] Iris M Balodis, Hedy Kober, Patrick D Worhunsky, Michael C Stevens, Godfrey D Pearlson, and Marc N Potenza. Diminished frontostriatal activity during processing of monetary rewards and losses in pathological gambling. *Biological psychiatry*, 71(8):749–757, 2012.
- [102] Michiel B De Ruiter, Dick J Veltman, Anna E Goudriaan, Jaap Oosterlaan, Zsuzsika Sjoerds, and Wim Van Den Brink. Response perseveration and ventral prefrontal sensitivity to reward and punishment in male problem gamblers and smokers. *Neuropsychopharmacology*, 34(4):1027, 2009.
- [103] Jan Reuter, Thomas Raedler, Michael Rose, Iver Hand, Jan Gläscher, and Christian Büchel. Pathological gambling is linked to reduced activation of the mesolimbic reward system. *Nature neuroscience*, 8(2):147, 2005.
- [104] Ruth J van Holst, Dick J Veltman, Christian Büchel, Wim van den Brink, and Anna E Goudriaan. Distorted expectancy coding in problem

- gambling: is the addictive in the anticipation? *Biological psychiatry*, 71(8):741–748, 2012.
- [105] Stephan F Miedl, Thorsten Fehr, Gerhard Meyer, and Manfred Herrmann. Neurobiological correlates of problem gambling in a quasi-realistic blackjack scenario as revealed by fmri. *Psychiatry Research: Neuroimaging*, 181(3):165–173, 2010.
- [106] Myung Hun Jung, Jae-Hun Kim, Young-Chul Shin, Wi Hoon Jung, Joon Hwan Jang, Jung-Seok Choi, Do-Hyung Kang, Jung-Seo Yi, Chi-Hoon Choi, and Jun Soo Kwon. Decreased connectivity of the default mode network in pathological gambling: a resting state functional mri study. *Neuroscience letters*, 583:120–125, 2014.
- [107] Saskia Koehler, Smadar Ovadia-Caro, Elke van der Meer, Arno Villringer, Andreas Heinz, Nina Romanczuk-Seiferth, and Daniel S Margulies. Increased functional connectivity between prefrontal cortex and reward system in pathological gambling. *PloS one*, 8(12):e84565, 2013.
- [108] Melanie Tschernegg, Julia Sophia Crone, Tina Eigenberger, Philipp Schwartenbeck, Mira Fauth-Bühler, Tagrid Leménager, Karl Mann, Natasha Thon, Friedrich M Wurst, and Martin Kronbichler. Abnormalities of functional brain networks in pathological gambling: a graph-theoretical approach. *Frontiers in human neuroscience*, 7:625, 2013.
- [109] Christian F Beckmann and Stephen M Smith. Probabilistic independent component analysis for functional magnetic resonance imaging. *Medical Imaging, IEEE Transactions on*, 23(2):137–152, 2004.
- [110] Aapo Hyvärinen and Erkki Oja. Independent component analysis: algorithms and applications. *Neural networks*, 13(4):411–430, 2000.
- [111] Vince D Calhoun, Jingyu Liu, and Tülay Adalı. A review of group ica for fmri data and ica for joint inference of imaging, genetic, and erp data. *Neuroimage*, 45(1):S163–S172, 2009.
- [112] Ganesh R Naik and Dinesh Kant Kumar. An overview of independent component analysis and its applications. *Informatica: An International Journal of Computing and Informatics*, 35(1):63–81, 2011.

- [113] Aapo Hyvärinen and Erkki Oja. A fast fixed-point algorithm for independent component analysis. *Neural computation*, 9(7):1483–1492, 1997.
- [114] Christian F Beckmann, Clare E Mackay, Nicola Filippini, and Stephen M Smith. Group comparison of resting-state fmri data using multi-subject ica and dual regression. *Neuroimage*, 47(Suppl 1):S148, 2009.
- [115] Christopher M Bishop et al. Neural networks for pattern recognition. 1995.
- [116] Niels Vaever Hartvig and Jens Ledet Jensen. Spatial mixture modeling of fmri data. *Human Brain Mapping*, 11(4):233–248, 2000.
- [117] Stephen M Smith and Thomas E Nichols. Threshold-free cluster enhancement: addressing problems of smoothing, threshold dependence and localisation in cluster inference. *Neuroimage*, 44(1):83–98, 2009.
- [118] Vincent J Schmithorst and Scott K Holland. Comparison of three methods for generating group statistical inferences from independent component analysis of functional magnetic resonance imaging data. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 19(3):365–368, 2004.
- [119] Martina Andellini. Analisi delle componenti indipendenti di segnali cerebrali ottenuti con risonanza magnetica funzionale task-driven applicata allo studio di soggetti affetti da deficit uditivo. 2014.
- [120] Stephen M Smith. Fast robust automated brain extraction. *Human brain mapping*, 17(3):143–155, 2002.
- [121] Mark Jenkinson, Mickael Pechaud, and Stephen Smith. Bet2: Mr-based estimation of brain, skull and scalp surfaces. In *Eleventh annual meeting of the organization for human brain mapping*, volume 17, 2005.
- [122] Mark Jenkinson and Stephen Smith. A global optimisation method for robust affine registration of brain images. *Medical image analysis*, 5(2):143–156, 2001.
- [123] Mark Jenkinson, Peter Bannister, Michael Brady, and Stephen Smith. Improved optimization for the robust and accurate linear registration and motion correction of brain images. *Neuroimage*, 17(2):825–841, 2002.

- [124] Ning Ma, Ying Liu, Nan Li, Chang-Xin Wang, Hao Zhang, Xiao-Feng Jiang, Hu-Sheng Xu, Xian-Ming Fu, Xiaoping Hu, and Da-Ren Zhang. Addiction related alteration in resting-state brain connectivity. *Neuroimage*, 49(1):738–744, 2010.
- [125] Feng Zou, Xinhuai Wu, Tianye Zhai, Yu Lei, Yongcong Shao, Xiao Jin, Shuwen Tan, Bing Wu, Lubin Wang, and Zheng Yang. Abnormal resting-state functional connectivity of the nucleus accumbens in multi-year abstinent heroin addicts. *Journal of neuroscience research*, 93(11):1693–1702, 2015.
- [126] Maggie M Sweitzer, Charles F Geier, Merideth A Addicott, Rachel Denlinger, Bethany R Raiff, Jesse Dallery, F Joseph McClernon, and Eric C Donny. Smoking abstinence-induced changes in resting state functional connectivity with ventral striatum predict lapse during a quit attempt. *Neuropsychopharmacology*, 41(10):2521, 2016.
- [127] Guangheng Dong, Xiao Lin, Yanbo Hu, Chunming Xie, and Xiaoxia Du. Imbalanced functional link between executive control network and reward network explain the online-game seeking behaviors in internet gaming disorder. *Scientific reports*, 5:9197, 2015.
- [128] Stan B Floresco. The nucleus accumbens: an interface between cognition, emotion, and action. *Annual review of psychology*, 66:25–52, 2015.
- [129] Amitai Shenhav, Matthew M Botvinick, and Jonathan D Cohen. The expected value of control: an integrative theory of anterior cingulate cortex function. *Neuron*, 79(2):217–240, 2013.
- [130] Jessica A Grahn, John A Parkinson, and Adrian M Owen. The cognitive functions of the caudate nucleus. *Progress in neurobiology*, 86(3):141–155, 2008.
- [131] Jessica A Grahn, John A Parkinson, and Adrian M Owen. The role of the basal ganglia in learning and memory: neuropsychological studies. *Behavioural brain research*, 199(1):53–60, 2009.
- [132] Jaime R Villablanca. Why do we have a caudate nucleus. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*, 70(1):95–105, 2010.

- [133] Marcos Economides, Marc Guitart-Masip, Zeb Kurth-Nelson, and Raymond J Dolan. Arbitration between controlled and impulsive choices. *NeuroImage*, 109:206–216, 2015.
- [134] Kara L Kerr, Jason A Avery, Joel C Barcalow, Scott E Moseman, Jerzy Bodurka, Patrick SF Bellgowan, and W Kyle Simmons. Trait impulsivity is related to ventral acc and amygdala activity during primary reward anticipation. *Social cognitive and affective neuroscience*, 10(1):36–42, 2014.
- [135] Y Zhu, Q Fan, Z Zhang, H Zhang, Shanbao Tong, and Yao Li. Spontaneous neuronal activity in insula predicts symptom severity of unmedicated obsessive compulsive disorder adults. In *2015 37th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)*, pages 5445–5448. IEEE, 2015.
- [136] Koray Basar, Thibaut Sesia, Henk Groenewegen, Harry WM Steinbusch, Veerle Visser-Vandewalle, and Yasin Temel. Nucleus accumbens and impulsivity. *Progress in neurobiology*, 92(4):533–557, 2010.
- [137] Janardhanan C Narayanaswamy, Dania Jose, Sunil Kalmady, Ganesan Venkatasubramanian, and YC Janardhan Reddy. Clinical correlates of nucleus accumbens volume in drug-naïve, adult patients with obsessive-compulsive disorder. *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry*, 47(10):930–937, 2013.
- [138] Hinshaw JL. Webb H, Lubner MG. Thermal ablation. *Semin Roentgenol*, 2011.
- [139] Ivana Despotović, Bart Goossens, and Wilfried Philips. Mri segmentation of the human brain: challenges, methods, and applications. *Computational and mathematical methods in medicine*, 2015, 2015.
- [140] RF Heimburger. Ultrasound augmentation of central nervous system tumor therapy. *Indiana Medicine*, 78:469–476, 1985.
- [141] Kullervo Hynynen. Ultrasound for drug and gene delivery to the brain. *Advanced drug delivery reviews*, 60(10):1209–1217, 2008.
- [142] Wesley L Nyborg. Biological effects of ultrasound: development of safety guidelines. part ii: general review. *Ultrasound in medicine & biology*, 27(3):301–333, 2001.

-
- [143] Elan D Louis and Ruth Ottman. Essential tremor. In *Genetics of Movement Disorders*, pages 353–363. Elsevier, 2003.
- [144] Shashank Agarwal and Milton C Biagioni. Essential tremor. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing, 2019.
- [145] Graeme Schwindt and Jeremy Rezmovitz. Essential tremor. *CMAJ: Canadian Medical Association Journal*, 189(44):E1364–E1364, 2017.
- [146] Russell K Hobbie and Bradley J Roth. *Intermediate physics for medicine and biology*. Springer Science & Business Media, 2007.
- [147] 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.
- [148] Jau-Shin Lou and Joseph Jankovic. Essential tremor: clinical correlates in 350 patients. *Neurology*, 41(2 Part 1):234–234, 1991.
- [149] A Athinoula. Martinos center for biomedical imaging: Freesurfer. <http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>.
- [150] M Jenkinson, CF Beckmann, TEJ Behrens, MW Woolrich, and SM Smith. *Fsl neuroimage* 62, 782–790. 2012.
- [151] FSL. *Fsl lecture about bedpostx*. 2008.
- [152] 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.
- [153] G.K. Rohde, A.S. Barnett, P.J. Basser, S. Marenco, and C. Pierpaoli. Comprehensive Approach for Correction of Motion and Distortion in Diffusion-Weighted MRI. *Magnetic Resonance in Medicine*, (51):103–114, 2004.
- [154] 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.
- [155] 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.

RINGRAZIAMENTI

La mia più grande gratitudine va verso il Prof. *Maurizio Marrale*, mio *Tutor*, che grazie al suo aiuto, alla sua passione e dedizione, mi ha trasmesso un grande interesse verso questo ambito di ricerca, consentendomi di concludere al meglio questo lavoro. Non finirò mai di ringraziarla per la sua gentilezza, pazienza e disponibilità che ha mostrato durante questi anni, e di apprezzarla per le sue ammirevoli competenze e professionalità.

Ringrazio il Dott *Cesare Gagliardo* che con grande professionalità mi ha guidato e consigliato per portare avanti questo lavoro di tesi; i suoi consigli li porterò con me, saranno indispensabili per il mio percorso.

Ringrazio il Prof. *Massimo Midiri*, della sezione di Scienze Radiologiche, Dipartimento di Biomedicina, Neuroscienze e Diagnostica avanzata dell'Università di Palermo, Coordinatore del Dottorato in Medicina Molecolare e Biotecnologie.

Un ringraziamento va al Prof. *Leone* e al Prof. *Caruso* , per avermi dato la possibilità di percorrere questa strada nelle migliori delle condizioni possibili.

Grazie a *Riccardo*, *Olga*, *Stefania*, *Salvo* e ai colleghi del Corso di Dottorato per la stimolante condivisione di conquiste e delusioni in questi anni.

A *Paolo* e ad *Anna* per il tempo che vi ho sottratto...