

**POLITECNICO DI MILANO**

**Facoltà di Ingegneria dei Sistemi**

**Corso di laurea magistrale in Ingegneria Biomedica**



**L'UTILIZZO DELLA TRATTOGRAFIA DETERMINISTICA  
IN RADIOTERAPIA: un esempio di applicazione alla  
pianificazione di trattamento per gliomi di medio grado**

Relatore: **Prof. Guido BARONI**

Correlatore: **Dr. Marta PERONI**

**Tesi di Laurea Magistrale di:**

**Daniela CASOLINO      Matricola 750988**

**Anno Accademico 2011-2012**

## Indice

Sommario .....	5
Scopo e struttura del lavoro.....	5
Materiali e metodi.....	6
Risultati.....	9
Conclusioni .....	12
Summary .....	13
Purpose and thesis structure .....	13
Materials and methods .....	14
Results .....	16
Conclusion .....	19
1. La Radioterapia.....	20
1.1 La Radiazione.....	20
1.1.1 Generazione di raggi X .....	20
1.1.2 Effetti delle radiazioni nei tessuti.....	21
1.2 Tecniche di radioterapia.....	24
1.2.1 Il problema della definizione dei volumi .....	24
1.2.2 L'imaging in radioterapia.....	28
1.2.3 Workflow di un trattamento di radioterapia .....	30
1.2.4 Tecniche di radioterapia.....	31
1.3 Possibilità di innovazione .....	33
2. Diffusion Tensor Imaging .....	39
2.1 La diffusione .....	39
2.1.1 La diffusione nei tessuti neurali .....	40
2.2 La risonanza pesata in diffusione .....	41
2.2.1 Principi di risonanza magnetica.....	42
2.2.2 La Diffusion Weighted Imaging (DWI).....	43
2.3 Il modello del tensore di diffusione .....	48
2.4 Parametri derivati dal tensore di diffusione .....	50
2.4.1 La diffusività media .....	51
2.4.2 La forma del tensore .....	51
2.4.3 L'orientazione del tensore.....	52
2.4.4 Gli indici di anisotropia.....	53

3. La trattografia.....	57
3.1 Le basi della trattografia .....	57
3.2 Algoritmi di trattografia deterministica .....	59
3.2.1 Metodi streamline basati sul calcolo del tensore .....	59
3.2.2 Metodi streamline HARDI e trattografia a due tensori.....	62
3.2.3 Altri algoritmi deterministici .....	63
3.3 Criteri di stop degli algoritmi deterministici streamline basata su tensore.....	64
3.3.1 Il corpo calloso .....	65
3.3.2 Fascio corticospinale .....	68
3.3.3 Fascicolo arcuato.....	68
3.3.4 Fascicolo uncinato.....	69
3.4 Selezione della regione di interesse.....	69
3.4.1 Corpo calloso.....	70
3.4.2 Fascio corticospinale .....	71
3.4.3 Fascicolo arcuato.....	72
3.4.4 Fascicolo uncinato.....	74
3.5 Validazione dei tratti .....	75
3.5.1 Limiti della trattografia.....	77
3.6 Applicazioni della trattografia .....	78
3.6.1 La trattografia nel trattamento di lesioni della sostanza bianca .....	78
4. Metodi.....	86
4.1 Dataset .....	86
4.2 Elaborazione delle immagini DWI .....	88
4.3 Registrazione.....	88
4.4 Trattografia.....	89
4.5 Nuovo TP .....	92
4.6 Ottimizzazioni.....	93
4.6.1 Paziente 1 .....	94
4.6.2 Paziente 2.....	95
5. Risultati.....	97
5.1 Elaborazione delle immagini DWI .....	97
5.2 Registrazione .....	99
5.3 Trattografia.....	103

5.3.1 Il corpo calloso .....	104
5.3.2 Il tratto corticospinale .....	105
5.3.3 Fascicolo arcuato.....	106
5.3.4 Rappresentazione dei tratti in formato DICOM RT STRUCT .....	108
5.4 Piano di trattamento .....	108
5.4.1 Ottimizzazione - Paziente 1.....	111
5.4.1 Ottimizzazione - Paziente 2.....	115
6. Discussioni.....	117
Conclusioni .....	120
Bibliografia .....	123

# Sommario

---

## Scopo e struttura del lavoro

L'imaging in diffusione (DTI, Diffusion Tensor Imaging) è l'unico metodo non invasivo per indagare la microstruttura della sostanza bianca in vivo, fornendo informazioni strutturali e funzionali attraverso l'estrapolazione di parametri quantitativi quali la Fractional Anisotropy e la Mean Diffusivity [18]. Il principio fisico su cui essa si basa è la diffusione delle molecole d'acqua, che è vincolata dalla disposizione degli assoni nella sostanza bianca cerebrale. Studiando la diffusione si può determinare l'anatomia dei fasci nervosi [24, 25, 31, 32, 56]. L'informazione fornita dalla DTI può essere applicata allo studio di diverse patologie cerebrali in cui sono presenti alterazioni della sostanza bianca, ad esempio la Sclerosi Multipla, lo stroke ischemico, l'epilessia e le demenze [33, 37, 59, 60, 64, 72, 74-76]. Uno dei campi d'applicazione più interessanti riguarda il trattamento delle lesioni a carico dell'encefalo, nei quali i fasci peritumorali vengono infiltrati, dislocati e/o distrutti dalla lesione. L'informazione derivata dalla DTI può essere inoltre utilizzata per stabilire il grado della lesione [77-79], in fase di pianificazione del trattamento, e stimare la morbilità del trattamento in fase di follow up [80-83]. Nonostante le potenzialità di questa tecnica d'imaging, l'impiego della trattografia è limitato nella pratica clinica e tutt'oggi non esiste un protocollo che ne prescriva l'utilizzo sistematico.

Pertanto questo elaborato di tesi propone uno studio di fattibilità in cui l'informazione trattografica, derivata dalla DTI, viene integrata nel piano di trattamento di due pazienti trattati in radioterapia presso l'Istituto IRCCS Besta, valutando innanzitutto la dose ricevuta dai fasci nervosi ricostruiti e proponendo quindi un nuovo piano ottimizzato in cui i fasci stessi vengono assimilati ad organi a rischio (OAR, Organ at risk).

Per meglio comprendere il contesto in cui s'intende inserire l'informazione derivata dalla trattografia, nel primo capitolo si descrive lo stato dell'arte della radioterapia e le tecniche d'imaging ad essa complementari. In seguito, nel secondo capitolo si presenta la risonanza magnetica pesata in diffusione a partire dal principio fisico su cui si basa. Si descrive l'acquisizione delle sequenze immagine, la scelta dei parametri da effettuare per ottenere una buona acquisizione (b value) e le problematiche ad essa connesse. Infine si ricava il tensore di diffusione e i parametri derivati, fra cui la Fractional Anisotropy e la Mean

Diffusivity, con esempi dell'applicazione di quest'ultimi nello studio di alcune patologie della sostanza bianca. La trattografia è presentata nel terzo capitolo a partire dai vari approcci al problema di ricostruzione (deterministico, probabilistico). In particolare, si descrivono nel dettaglio gli algoritmi deterministici streamline, descrivendo in termini di vantaggi e svantaggi la loro performance e i criteri di arresto su cui si basa la trattografia così ottenuta. Nell'interesse di questa tesi sono presentate, inoltre, le caratteristiche del corpo calloso, del tratto corticospinale e del fascicolo arcuato in relazione ai valori di Fractional Anisotropy riscontrati in pazienti sani [34, 35, 44, 57, 58].

## **Materiali e metodi**

Si sono analizzati i casi di due pazienti sottoposti a radioterapia nel 2011 presso l'istituto IRCCS Carlo Besta di Milano. Il paziente 1 presentava un oligastrocitoma anaplastico, mentre il secondo un astrocitoma anaplastico, localizzati entrambi nell'emisfero sinistro. Di entrambi si dispone di sequenza CT di 56 slice, di una sequenza MR sagittale di 256 immagini pesata in  $T_1$  e contrastata con Gadolinio e di immagini pesate in diffusione (DWI, Diffusion Weighted Imaging) acquisite lungo 12 direzioni. Il trattamento VMAT simulato consiste in una dose di 3000 cGy, suddiviso in cinque frazioni. Il piano è stato ottimizzato considerando i fasci ricavati con trattografia come organi a rischio. Il protocollo proposto si sviluppa in quattro fasi:

1. elaborazione delle sequenze immagini e registrazione;
2. trattografia deterministica
3. inserimento dei tratti nel piano di trattamento e calcolo della dose ricevuta
4. ottimizzazione

L'obiettivo della prima fase è quello di registrare le sequenze MR e DWI alla CT sulla quale è operata la dosimetria durante la pianificazione. Per lo scopo si utilizza il software open source 3D Slicer [84]. Prima di far ciò, si opera sulle sequenze DWI per aumentare il rapporto segnale rumore: per il paziente 1 si opera una media sulle otto acquisizioni, mentre per il paziente 2 si applica alla sequenza DWI un filtro di Joint Rician [85] lungo le 12 direzioni. In seguito si procede con la registrazione:

1. si verifica l'allineamento delle sequenze DWI lungo tutte le direzioni, usando come riferimento la sequenza acquisita con gradiente nullo (sequenza  $B_0$ ); se opportuno si opera una registrazione affine usando come riferimento la  $B_0$ .
2. si registra la sequenza DWI sulla MR, calcolando la trasformazione affine che porta la sequenza  $B_0$  delle DWI su quella MR;
3. si registra con trasformazione affine la MR alla CT;
4. la matrice calcolata nel punto 2 è applicata alla DWI, portandola così nel sistema di riferimento CT.

La fase successiva prevede la ricostruzione a partire dalla DWI del fascicolo arcuato, del ponte encefalico e del tratto corticospinale. Il procedimento, effettuato interamente con 3D Slicer, prevede il calcolo ai minimi quadrati del tensore di diffusione, l'estrazione dei valori di Fractional Anisotropy e la trattografia deterministica. Quest'ultima è effettuata a partire da regioni d'interesse (ROI) segmentate manualmente e sviluppata con l'algoritmo di Runge Kutta approssimato al quart'ordine [18]. Per facilitarne il disegno, il contorno è stato tracciato su immagini MR sovrapposte al tensore di diffusione. Le ROI del corpo calloso sono segmentate in vista sagittale in tre slice contigue nell'emisfero sinistro. Il tratto corticospinale è contornato in vista coronale a livello della circonvoluzione prelorandica, mentre il fascicolo arcuato è disegnato in vista assiale all'altezza della corteccia, con controllo in vista sagittale all'altezza dello splenio del corpo calloso. Sono stati imposti come criteri di terminazione dell'algoritmo l'angolo di curvatura ( $40^\circ$ ), la Fractional Anisotropy (0.15) e una lunghezza delle fibre compresa fra 10-800 mm.

Successivamente il contorno dell'involuppo di ciascun tratto, calcolato utilizzando fiberSlicer, un opportuno software sviluppato presso il TBMLab, è stato inserito nel piano di trattamento utilizzando il formato standard DICOM RT STRUCT. Esso è stato integrato con il DICOM RT STRUCT dei volumi d'interesse utilizzato precedentemente nel trattamento dei due pazienti, contenente il target (GTV, Gross Target Volume) e altre strutture d'interesse come l'encefalo, il chiasma, il ponte encefalico e i cristallini. E' stato quindi simulato un piano di trattamento VMAT (Volumetric Modulated Arc Therapy), una tecnica conformazionale ad alta precisione, che distribuisce quantità precise di dose in archi completi parziali intorno al paziente. In questo caso si sono imposti 5 archi per un totale di 94 fasci equamente pesati, senza imporre alcun vincolo sulla dose ai tratti

precedentemente ricostruiti. Dalla simulazione del piano si sono ottenuti gli istogrammi di dose volume (DVH) per tutti i volumi d'interesse.

L'ultima fase è l'ottimizzazione del piano tramite algoritmo AMOA (Arc Modulated Optimization Algorithm). Questo algoritmo, basato sulla ricerca dei minimi attraverso il metodo del simulated annealing, attribuisce iterativamente differenti pesi ai fasci in base ai vincoli di dose scelti dall'utente sul volume di target e OARs. In questo elaborato sono state effettuate tre ottimizzazioni per ciascun paziente (Tabella 1), indicando come organi a rischio il tratto corticospinale e il fascicolo arcuato. Per entrambi, i parametri da rispettare a scapito di una penalità sono la percentuale di volume e la dose massima che esso può ricevere. Per il target invece è definito un range di dose rispettato da una percentuale di volume. La scelta dei parametri è effettuata osservando il DVH del piano di trattamento non ottimizzato: si valuta quanta dose riceve il 50% volume d'interesse e in base al valore riscontrato si cerca di aumentare la percentuale di volume al di sotto di quella soglia di dose. Ogni ottimizzazione prende in considerazione il risultato del test precedente, così da ottenere una riduzione progressiva di dose media.

Tabella 1 - Ottimizzazione AMOA per i due pazienti:

Ottimizzazione	VOI	Tipo struttura	Min Dose (cGy)	Penalità	Max dose (cGy)	Penalità	% Volume
<b>PAZIENTE 1</b>							
<b>I</b>							
	AF	OAR	-	-	800	10000	60
	CST	OAR	-	-	800	10000	70
	GTV	Target	2850	15000	3150	10000	98
<b>II</b>							
	AF	OAR	-	-	600	15000	60
	CST	OAR	-	-	500	15000	70
	GTV	Target	2850	15000	3150	10000	95
<b>III</b>							
	AF	OAR	-	-	600	15000	70
	CST	OAR	-	-	500	15000	80
	GTV	target	2850	13000	3150	10000	80
<b>PAZIENTE 2</b>							
<b>I</b>							
	AF	OAR	-	-	800	10000	60
	CST	OAR	-	-	800	10000	70
	GTV	Target	2850	15000	3150	10000	98
<b>II</b>							
	AF	OAR	-	-	800	15000	50
	CST	OAR	-	-	800	15000	60
	GTV	target	2850	15000	3150	80000	95
<b>III</b>							
	AF	OAR	-	-	800	15000	60
	CST	OAR	-	-	800	15000	60
	GTV	Target	2850	13000	3150	8000	80

## Risultati

Prima di procedere ai calcoli dosimetrici, è stata verificata la correttezza della registrazione delle immagini DTI con MR e CT mediante un confronto visivo delle strutture anatomiche. Essa è risultata soddisfacente, anche se sono presenti distorsioni dovute alla bassa qualità delle immagini DWI.

I risultati della trattografia sono stati invece valutati da un fisico medico dell'unità di radioterapia che li ha ritenuti anatomicamente consistenti. Il paziente 1 presenta una lesione che invade parzialmente il fascicolo arcuato e il corpo calloso, mentre infiltra

notevolmente il tratto corticospinale. La trattografia del fascicolo arcuato per il paziente 2, invece, è risultata difficoltosa, a causa dell'edema presente, che ha ridotto notevolmente la Fractional Anisotropy nella sua prossimità. In figura 1 si osserva l'inviluppo delle fibre ottenuto per il paziente 1 (Figura 1.a) e il paziente 2 (Figura 1.b), in relazione al GTV (in blu) e altri volumi d'interesse (e.g. encefalo in giallo, occhi in azzurro e arancio)

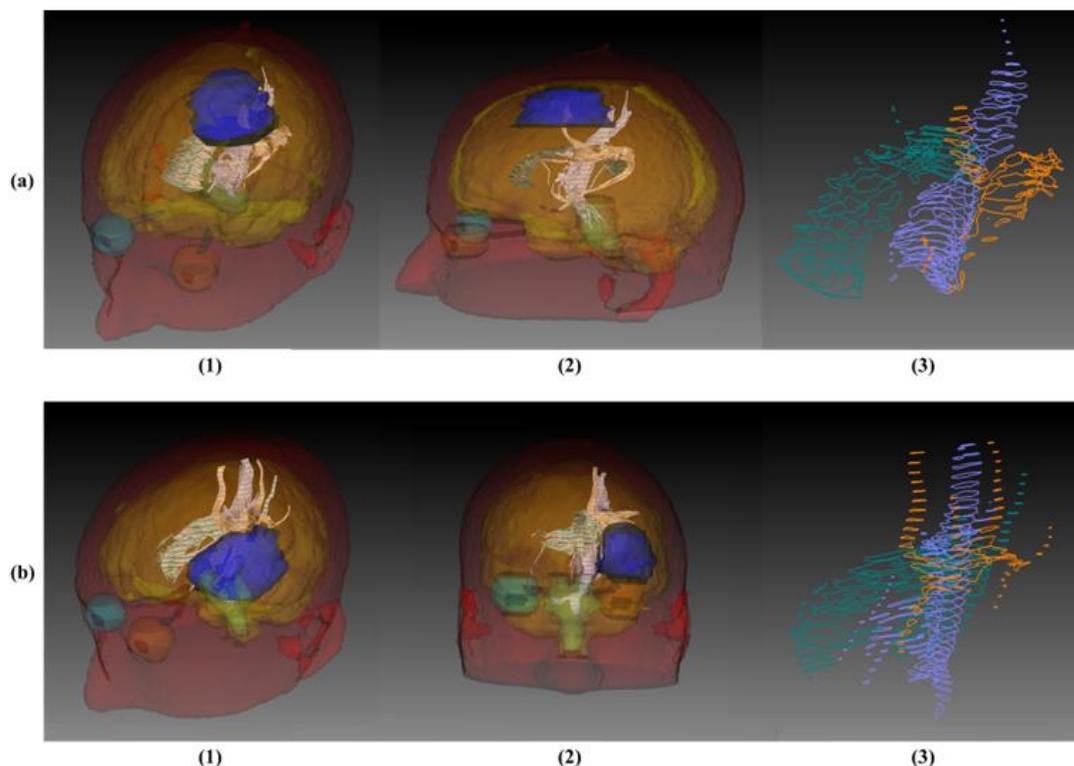


Figura 1 - Inviluppo delle fibre per il paziente 1 (a) e 2 (b). Nel terzo pannello sono visibili le segmentazioni dei tratti nei piani della CT del tratto corticospinale (blu), del corpo calloso (verde) e del fascicolo arcuato (arancio) [88].

Il confronto fra la dose ricevuta dai volumi d'interesse in fase di pianificazione e quella in fase di ottimizzazione è effettuata dall'analisi del DVH della dose totale, da cui si estraggono i valori riportati in tabella 2 per il paziente 1 e in tabella 3 per il paziente 2.

Tabella 2 - Ottimizzazioni a confronto per il paziente 1. Dose media riportata in cGy.

VOI	VMAT (no OAR)	Ottimizzazione 1 (cGy)	Ottimizzazione 2 (cGy)	Ottimizzazione 3 (cGy)	$\Delta\%$ dose
GTV	2924	2922	2914	2875	-0.70
CST	1000	819	716	520	-31.50
Corpo calloso	502	395	264	179	-55.64
AF	1014	720	571	421	-56.28

**Tabella 3 - Ottimizzazioni a confronto per il paziente 2. Dose media riportata in cGy.**

<b>VOI</b>	<b>VMAT (no OAR)</b>	<b>Ottimizzazione 1 (cGy)</b>	<b>Ottimizzazione 2 (cGy)</b>	<b>Ottimizzazione 3 (cGy)</b>	<b>Δ% dose</b>
<b>GTV</b>	2924	2900	2924	2899	-0.56
<b>CST</b>	1000	1203	1139	1147	+16.30
<b>Corpo calloso</b>	502	527	432	457	-5.98
<b>AF</b>	1014	1223	1016	1239	+14.33

Le ottimizzazioni relative al primo paziente mostrano una netta diminuzione della dose media ricevuta dal tratto corticospinale (da 1000 cGy a 819 cGy (I), 716 cGy (II), 520 cGy (III)) e dal fascicolo arcuato (da 1014 cGy a 720 cGy (I), 517 cGy (II), 421 cGy (III)). Anche il corpo calloso, sebbene non sia stato incluso come organo a rischio nell'ottimizzazione, ne ha beneficiato (da 502 cGy a 395 cGy (I), 264 cGy (II), 179 cGy (III)). La copertura del target è rispettata nella prima e seconda ottimizzazione, mentre nella terza si è scelto di penalizzare la copertura del target (80% del volume che riceve dose fra 2850 cGy e 3150 cGy) per testare la capacità dell'algoritmo di risparmiare ulteriormente gli OAR. Per il secondo paziente, al contrario, la dose media resta invariata o addirittura aumenta. Si ipotizza che questo sia dovuto al fatto che un'ampia percentuale del volume del fascicolo arcuato e del tratto corticospinale è inclusa nella lesione e, di conseguenza, per avere una copertura del 95% del target, è necessario che parti di questi OAR ricevano alte dosi. La terza ottimizzazione, in cui si vincola solo l'80% del volume del GTV a soddisfare il range di dose 2850-3150 cGy, non è stata significativa in termini di dose media, confermando il coinvolgimento degli OAR nel target.

Tuttavia si osserva (Tabella 4) un decremento notevole della dose minima ricevuta dagli OAR: del 25% per il CST, del 54.5% per il corpo calloso e del 25% per il AF. Purtroppo anche il target risente dell'ottimizzazione, raggiungendo una dose minima di 1440 cGy nel secondo test.

Tabella 4 - Dose minima comparata nelle diverse ottimizzazioni per il paziente 2 . Dose in cGy.

VOI	VMAT (no OAR)	Ottimizzazione 1 (cGy)	Ottimizzazione 2 (cGy)	Ottimizzazione 3 (cGy)	$\Delta\%$ dose min
GTV	2010	1680	1440	1650	-20.90
CST	120	120	60	90	-25.00
Corpo calloso	330	180	120	150	-54.55
AF	120	90	90	90	-25.00

## Conclusioni

In questa tesi si è studiata la fattibilità dell' integrazione della trattografia al trattamento di lesioni della sostanza bianca in radioterapia. L'introduzione come organi a rischio dei tratti vicini alla lesione in fase di ottimizzazione ha evidenziato una diminuzione di dose nei volumi d'interesse rispetto al piano di trattamento iniziale, conseguenza di una opportuna ottimizzazione dei fasci della VMAT. Si è infatti rilevata per il paziente 1 una riduzione della dose media del 31,5% del tratto corticospinale e del 22,3% del fascicolo arcuato. E' evidente tuttavia, come nel caso del secondo paziente che, se il tratto è largamente incluso nel volume target, l'ottimizzazione permette una riduzione della dose minima, relativa alla parte esterna alla lesione, ma non un decremento della dose media e massima. D'altra parte, penalizzare eccessivamente l'ottimizzazione per garantire un rispetto dei parametri degli OAR può portare a distribuzioni di dose non omogenee e a hot/cold spots. Ulteriori sviluppi di questo protocollo possono riguardare il post-processig della trattografia, operata a posteriori dell'algoritmo di generazione, e il processo di validazione dei tratti, per esempio combinando la trattografia a tecniche di risonanza magnetica funzionale. Inoltre, sarebbe interessante valutare la radiobiologia dei tratti per conoscere delle soglie opportune da inserire come vincolo di dose nella pianificazione.

# Summary

---

## **Purpose and thesis structure**

Diffusion Tensor Imaging (DTI) is the only noninvasive method that allows to explore white matter microstructure in vivo, providing structural and functional information by means of derived quantitative parameters such as Fractional Anisotropy and Mean Diffusivity [18]. The physic principle, on which DTI is based, is molecular water diffusion. In the white matter, its principal direction is influenced by axonal organization and therefore diffusion can be used for describing fibers anatomy [24, 25, 31, 32, 56]. The knowledge offered by DTI has been used to study and cure many pathologies related to white matter alterations, such as Multiple Sclerosis, ischemic stroke, epilepsy and dementia [33, 37, 59, 60, 64, 72, 74-76]. One of the most interesting application field is brain tumor treatment, in which lesion volume can infiltrate, dislocate and destroy its surroundings fibers. For this application, DTI has been used to establish tumor grade during the treatment planning [77- 79], but also to assess the morbidity of the treatment in the follow up [80-83]. Despite the capability of this imaging technique, tractography application is limited in clinical practice and so far no standard study protocol exists.

In this context, this thesis reports a feasibility study for the integration of DTI reconstructed tractography in radiotherapy treatment plan. Two patients who underwent radiotherapy at IRCCS Carlo Besta Hospital were involved in the present feasibility study, in which the dose delivered to the tracts was estimated both according to a current clinical scenario and if the plan would have been optimized considering the fiber bundles as organ at risk (OAR).

In the first chapter, we reviewed state of art and commonly used imaging techniques in radiation oncology department. In the second chapter, diffusion weighted magnetic resonance is fully described, from its basic principles, choice of optimal imaging sequences acquisition and parameters (e.g. b value), through its problems and limitations. Consequently the calculation of diffusion tensor and its indices, such as Fractional Anisotropy, are described and are shown to be useful in the study of white matter pathologies. Tractography reconstruction is reviewed in the third chapter, starting off with: various reconstruction approaches (deterministic, probabilistic) to land to specific

streamline algorithm, with its parameters, stopping criteria and briefly describing its pros and cons. Corticospinal tract, arcuate fasciculus and corpus callosum are then characterized in terms of Fractional Anisotropy calculated in healthy subjects [35, 44, 57, 58].

## Materials and methods

Two patients treated in 2011 at IRCCS Carlo Besta Hospital were included in this feasibility study. Patient 1 was affected by anaplastic oligoastrocytoma whereas patient 2 by anaplastic astrocytoma. Both the tumors were localized in the left hemisphere. The two patients were subjected to a 56 slices CT scan, an anatomical MR sequences T1 weighted (sagittal, 256 slices, Gadolinium enhanced) and diffusion weighted sequences (DWI), acquired along 12 directions. For the purpose of this thesis, we simulated a VMAT (Volumetric Modulated Arc Therapy) treatment, consisting in a total dose delivery of 3000 cGy hypo-fractionated in five sessions. This treatment plan was subsequently optimized considering the fiber calculated by tractography as organ at risk. The protocol can be divided into four steps:

1. Imaging processing and registration;
2. Deterministic tractography;
3. Integration of fibers in treatment plan and dosimetry;
4. Optimization.

The goal of the first stage is the registration of the MR, DWI and CT sequences, assuming CT as reference. The registration is performed using open source software 3D Slicer [84]. Before registering, we enhanced signal to noise ratio on DWI, For patient 1, we averaged eight acquisition along each direction, while for patient 2, we filtered the DWI sequences by Joint Rician [85] smoothing filter. Registration was actually consisting of four steps:

1. verify the alignment of the twelve gradients of DWI sequences, using as reference the sequence acquired with gradient switched-off ( $B_0$  sequence). In case of mismatch, we registered the sequences by an affine transform;
2. register DWI on MR sequences, moving  $B_0$  sequence on fixed MR (affine transform);
3. affine transform to bring the MR sequences in CT reference system;

4. transform matrix obtained in step 2 is used to lead the DWI on CT reference system.

The next stage concerns fibers tracing of corticospinal tract, arcuate fasciculus and corpus callosum for both patients from DWI images. Using 3D Slicer, the tensor estimation was performed using least square method and fibers were traced via streamline deterministic fourth order Runge Kutta algorithm [18]. Regions segmentation were facilitated by overlapping MR sequences to just calculated diffusion tensor. For corpus callosum, three region of interest (ROI) were outlined in sagittal view in the left hemisphere. Corticospinal tract was segmented in coronal view at pre-rolandic gyrus level. Last, arcuate fasciculus's ROI were drawn in axial view, checking its position with respect to splenium. To terminate the streamline algorithm, we imposed 0.15 for Fractional Anisotropy,  $40^\circ$  for curvature angle and we rejected fibers whose length was outside 10-800 mm range.

Afterwards we integrated the envelop of the fibers, calculated with fiberSlicer, an ad-hoc application developed at TBMLab, in the original DICOM RT STRUCT, containing volume of interest used in the prior treatment plan. The resultant DICOM RT STRUCT included fibers, gross tumor volume (GTV), that is the target, and other structures such as crystalline, optic chiasm, brain and brainstem, considered critical for the treatment. The simulated treatment was a VMAT along five arches, employing 94 beams equally weighted. We first of all calculated the dose delivered at the fiber bundles, in terms of dose volume histogram (DVH).

The last step is the plan optimization by AMOA (Arc Modulated Optimization Algorithm). This technique, based on simulated annealing minimum search, sets different weighting to the beams, depending on dose constrains set by the user at target and OARs volumes. In this work, we performed three optimizations for each patient (Table 1), prescribing dose constrains to percentage volume of arcuate fasciculus and corticospinal tract, penalizing violations at different levels. The target dose constrain was between 2850 cGy and 3150 cGy at 95% volume for the first two optimizations and at 80% volume for the third. Optimization parameters were changed based on the observation of the dose received by 50% of OAR volume. The so derived dose level is then set as constrain on OAR's volume and new dose. We must also guarantee that target is covered by the range of dose prescribed. This condition decays in the third optimizations, because we set constrains only

on the 80% of target volume, in order to assess the capability of AMOA algorithm to save OARs.

List 5 - AMOA optimization for each two patients

Ottimizzazione	VOI	Structure	Min Dose (cGy)	Penalty	Max dose (cGy)	Penalty	% Volume
<b>PATIENT 1</b>							
<b>I</b>							
	AF	OAR	-	-	800	10000	60
	CST	OAR	-	-	800	10000	70
	GTV	Target	2850	15000	3150	10000	98
<b>II</b>							
	AF	OAR	-	-	600	15000	60
	CST	OAR	-	-	500	15000	70
	GTV	Target	2850	15000	3150	10000	95
<b>III</b>							
	AF	OAR	-	-	600	15000	70
	CST	OAR	-	-	500	15000	80
	GTV	Target	2850	13000	3150	10000	80
<b>PATIENT 2</b>							
<b>I</b>							
	AF	OAR	-	-	800	10000	60
	CST	OAR	-	-	800	10000	70
	GTV	Target	2850	15000	3150	10000	98
<b>II</b>							
	AF	OAR	-	-	800	15000	50
	CST	OAR	-	-	800	15000	60
	GTV	Target	2850	15000	3150	80000	95
<b>III</b>							
	AF	OAR	-	-	800	15000	60
	CST	OAR	-	-	800	15000	60
	GTV	Target	2850	13000	3150	8000	80

## Results

Before proceeding with dosimetry estimation, registration between the sequences was verified by means of visual inspection of anatomical structures. The global alignment was satisfactory, though distortions were observable, due to low DWI quality.

Tractography results were instead evaluated by attending medical physicist checking their consistency in terms of anatomy conformity and position. Patient 1 tumor partially infiltrated arcuate fasciculus and corpus callosum and heavily corticospinal tract.

Tractography for patient 2 was more difficult for the arcuate fasciculus because of edema, which reduced Fractional Anisotropy next the lesion. In figure 1, we show an example of fibers envelope obtained in fiber Slicer for patient 1 (Figure 1.a) and patient 2 (Figure 1.b). It is possible to compare bundles position with respect to GTV (in blue), brain (in yellow), eye (in light-blue and orange) etc.

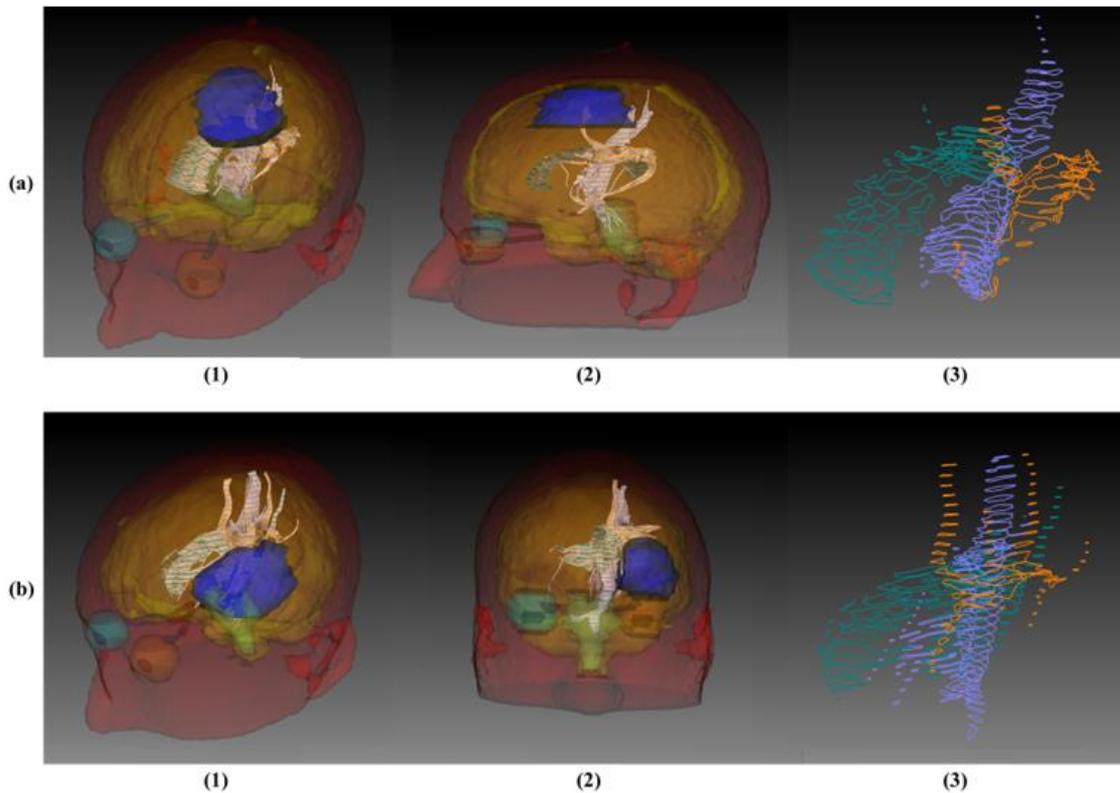


Figure 2 - Fibers envelope for patient 1 (a) and 2 (b). In box 3 it's presented the fibers segmentations along CT slices of the corticospinal tract (blue), arcuate fasciculus (orange) and corpus callosum (green) [88].

DVH comparison between dose received by volume of interest during the first simulation and after optimization is reported in table 2 and 3 in terms of average total dose at the fibers and the target.

List 6 - Optimization result for patient 1. Average dose compared between optimization (cGy).

VOI	VMAT (no OAR)	Optimization 1 (cGy)	Optimization 2 (cGy)	Optimization 3 (cGy)	$\Delta\%$ dose
GTV	2924	2922	2914	2875	-0.70
CST	1000	819	716	520	-31.50
Corpus callosum	502	395	264	179	-55.64
AF	1014	720	571	421	-56.28

List 7 - Optimization result for patient 2. Average dose compared between optimization (cGy).

VOI	VMAT (no OAR)	Optimization 1 (cGy)	Optimization 2 (cGy)	Optimization 3 (cGy)	Δ% dose
GTV	2924	2900	2924	2899	-0.56
CST	1000	1203	1139	1147	+16.30
Corpus callosum	502	527	432	457	-5.98
AF	1014	1223	1016	1239	+14.33

For patient 1 we report a sharp decrease in average dose received by corticospinal tract (from 1000 cGy to 819 cGy (I), 716 cGy (II), 520 cGy (III)) and by arcuate fasciculus (from 1014 cGy by 720 cGy (I), 517 cGy (II), 421 cGy (III)) after optimization. Also corpus callosum, not included as OAR, shows a reduction throughout optimization (from 502 cGy to 395 cGy (I), 264 cGy (II), 179 cGy (III)). The coverage of the target is preserved in the first and second tests, while in the third we have decided to test the capability of AMOA to preserve OAR.

For patient 2, we observe a decrease in the minimum dose at OARs (Table 4), despite the average dose staying the same or increase.

List 8 - Minimum dose (cGy) compared between optimization process for patient 2.

VOI	VMAT (no OAR)	Optimization 1 (cGy)	Optimization 2 (cGy)	Optimization 3 (cGy)	Δ% Min dose
GTV	2010	1680	1440	1650	-20.90
CST	120	120	60	90	-25.00
Corpus callosum	330	180	120	150	-54.55
AF	120	90	90	90	-25.00

This might be due to the wide percentage of volume of arcuate fasciculus and corticospinal tract that actually is in the tumor. Because target needs to be irradiated for the 95% of its volume, it's necessary that OAR regions included in the lesion receive high dose too.

Anyhow, the reduction of average minimum dose demonstrates a slight improvement in the treatment dose delivery. Last, the third trial of optimization, involving 80% of the target, results not significant in terms of change in dose delivery to OAR.

## **Conclusion**

This thesis investigated the feasibility of integration of tractography into treatment plan of white matter tumors. Tractography quality, used to extract bundles as corticospinal tract, arcuate fasciculus and corpus callosum, was assessed by expert clinical staff. Using fiber as OAR in the optimization stage has revealed changes in dose delivered in the volume of interest with respect to the initial treatment, as consequence of non-uniform beams weighting. For patient 1, we estimated a median reduction of 31.5% for the corticospinal tract and of 22.3% for the arcuate fasciculus of the average dose. Nevertheless it's clear that the outcomes of the optimizations depend on the grade of inclusion of fibers into the tumor, as it is shown for patient 2. In this case, in fact, the average dose remains the same, despite the minimum dose is reduced. It must be considered that penalizing too much the non-compliance of parameters for OAR, can lead the algorithm to inhomogeneous dose distribution and to hot and cold spots. Further developments may concern the post processing of tractography and its validation, using for example functional MR imaging. It would be also interesting to assess fibers radiobiology, in order to assign quantitative dose threshold for the specific fiber into optimization algorithm.

# 1. La Radioterapia

La radioterapia è un trattamento medico che prevede l'uso di radiazioni ionizzanti per la cura e/o il controllo dello sviluppo di malattie neoplastiche. Il suo scopo è erogare una dose nota di radiazioni a un volume ben definito, contemporaneamente preservando i tessuti sani circostanti. Lo scopo di questo paragrafo è quello d'introdurre le problematiche relative all'irradiazione e il loro comportamento nei tessuti umani, facendo riferimento in particolare alla radiazione a raggi X.

## 1.1 La Radiazione

### 1.1.1 Generazione di raggi X

Un metodo per produrre raggi X consiste nel bombardare un bersaglio metallico ad alto numero atomico con elettroni ad alta velocità. In altre parole gli elettroni emessi dal catodo sono accelerati da un potenziale costante fino all'anodo (bersaglio metallico), di solito in Tungsteno, e interagendo con esso producono raggi X. L'intensità della radiazione prodotta è modulabile, come si può osservare in figura 1, attraverso il controllo di tre parametri: la differenza di potenziale, l'intensità di corrente e il numero atomico dell'anodo.

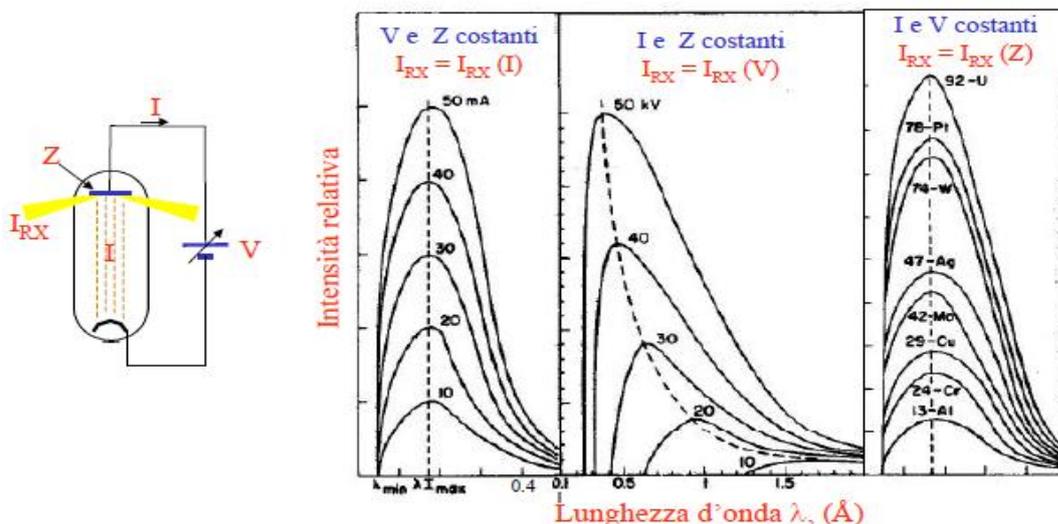


Figura 3 - L'energia cinetica degli elettroni dipende dal potenziale applicato. Valori tipici di energia sono nell'ordine delle decine di MeV, ma l'intensità del fascio dipende dal tipo di acceleratore e dalla sua applicazione. Essa è funzione dell'intensità di corrente, della differenza di potenziale e del numero atomico dell'anodo. In figura si osserva come varia l'intensità dei raggi generati in funzione dei tre parametri [1].

Soltanto l'1% degli elettroni che colpiscono il bersaglio producono radiazione ionizzante tramite il processo detto di "Bremstrahlung", mentre i restanti sono responsabili della produzione di calore, rendendo necessario il raffreddamento dell'anodo.

Il fascio così generato viene conformato tramite collimatori per massimizzare l'efficacia del trattamento.

Ogni fascio di raggi X è caratterizzato dal LET (Linear Energy Transfer) definito come:

$$LET = (dE/dl)_{\Delta} \left[ \frac{KeV}{\mu m} \right] \quad (1.1)$$

dove il rapporto  $dE/dl$  rappresenta la quantità media di energia persa lungo il tratto  $dl$  per collisioni con energia inferiore a  $\Delta$ . Da questa definizione è evidente come la grandezza LET dipenda dalla carica e dalla velocità delle particelle ionizzanti, permettendo la distinzione fra radiazione ad alto LET e quelle a basso LET. I raggi X appartengono alle radiazioni a basso LET, che sono caratterizzate da un tasso di recupero dai danni ai tessuti maggiore rispetto a quello ad alto LET (e.g. protoni e neutroni).

### 1.1.2 Effetti delle radiazioni nei tessuti

Penetrando in un tessuto, la radiazione interagisce con le componenti cellulari, cedendo energia secondo una curva denominata Curva di Rilascio di Dose. La dose è definita come la quantità di energia ceduta per unità di massa:

$$D = \frac{dE}{dm} [Gy] \quad (1.2)$$

Come si può osservare in figura 2, il rilascio di dose in un tessuto non è lineare finché non si supera il punto di massima cessione di dose, detto punto di Build Up.

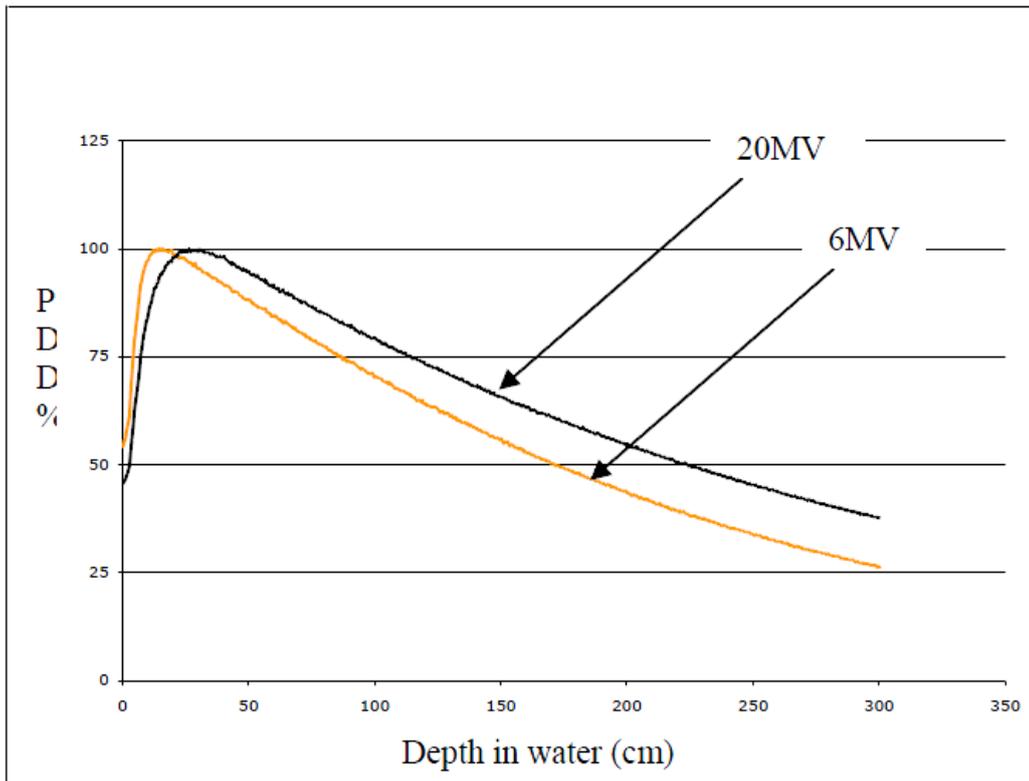


Figura 4 - Dose delivery in funzione della profondità di penetrazione della radiazione X. La dose assorbita dai tessuti è massima nei primi 10 cm attraversati. Per questo motivo trattare lesioni profonde diventa problematico per il rilascio di dose a tessuti non patologici. In figura sono rappresentate due curve di rilascio di dose, rappresentanti due diverse intensità di fascio (6 e 20 MV). Si può notare che un fascio ad intensità elevata ha un potere di penetrazione maggiore rispetto ad uno di intensità minore. In questa immagine il Field Of View è di 20x20 cm. [2].

Gli effetti indotti dalle radiazioni dipendono da vari fattori:

- Fattori fisici: rateo di dose, LET della radiazione, tempo di esposizione;
- Fattori biologici: fase del ciclo cellulare, radiosensibilità e radio resistenza dei tessuti;
- Fattori chimici: agenti chimici sensibilizzanti (e.g. Ossigeno), protettori (e.g. sostanze contenenti zolfo)

Il danno indotto dalla radiazione, come si osserva in figura 3, può intervenire a tutti i livelli d'organizzazione della materia: dalle modificazioni chimiche riguardanti le molecole a quelle cellulari, costituenti i tessuti e gli organi. Alcuni effetti sono immediati, altri invece sono a lungo termine e possono riguardare addirittura intere generazioni.

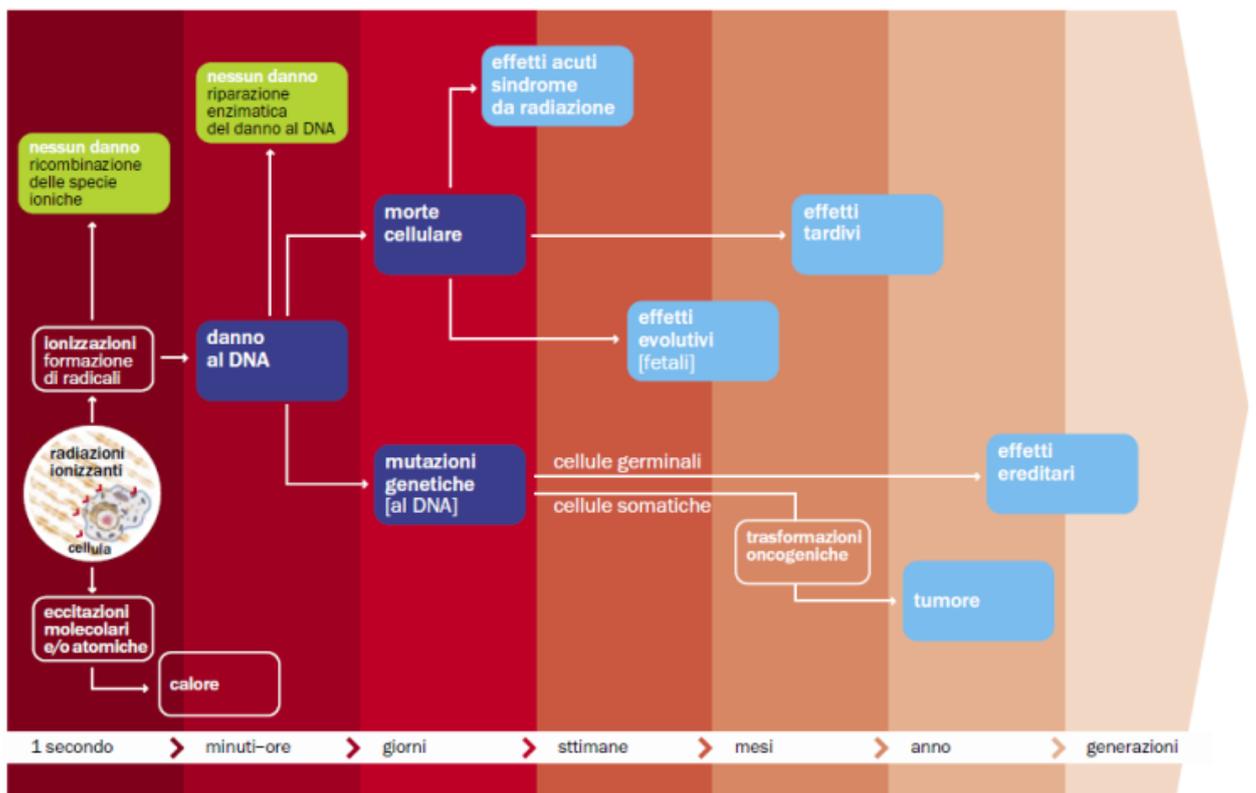


Figura 5 - Effetti delle radiazioni a vari livelli d'organizzazione tissutale: il bersaglio d'elezione è il DNA, sebbene anche le altre strutture cellulari risultino sensibili alla radiazione. I radicali liberi (atomi o molecole elettricamente neutre con un elettrone spaiato sull'orbita esterna) generati dalle radiazioni sono molto reattivi e possono interagire con il DNA creando mutazioni genetiche, o inibendo il processo riproduttivo [3].

In generale, il danno indotto da una radiazione ionizzante è probabilistico, ma se la dose somministrata è molto elevata si può parlare di una correlazione deterministica fra dose e danno atteso. Esiste, infatti, una dose-soglia caratteristica oltre la quale si ha la morte cellulare o l'inibizione proliferativa a seguito dell'irradiazione, anche se lo schema di frazionamento (i.e. come la dose prescritta viene somministrata nel tempo) può limitare o accentuare questi effetti.

Per determinare il valore soglia oltre il quale viene indotta apoptosi cellulare e/o inibizione proliferativa, è necessario costruire sperimentalmente le curve di sopravvivenza, a partire dal rapporto fra la dose somministrata a una cultura cellulare in vitro e percentuale di cellule sopravvissute. La relazione dose-sopravvivenza è descritta utilizzando come riferimento il valore di dose che induce apoptosi nel 50% della popolazione irradiata entro 60 giorni, indicato come **LD<sub>50/60</sub>**. La LD<sub>50/60</sub> per cellule adulte sane è compresa tra 3000 e 5000 cGy; in particolare è pari a 3450 cGy per singolo frazionamento e 900 cGy per dosi somministrate nell'arco di un anno.

L'analisi comparativa delle curve di sopravvivenza per cellule sane rispetto a quelle neoplastiche ha evidenziato come quest'ultime, benché caratterizzate da un metabolismo iperattivo, abbiano una capacità di recupero inferiore rispetto alle sane. Per sfruttare questa proprietà, il trattamento radioterapico viene generalmente suddiviso in più sedute o frazioni.

## 1.2 Tecniche di radioterapia

### 1.2.1 Il problema della definizione dei volumi

Lo scopo di un trattamento di radioterapia è erogare una dose nota di radiazioni in un ben definito volume, danneggiando il meno possibile i tessuti sani circostanti. Si tratta dunque di ottimizzare un rapporto beneficio-rischio, avendo come obiettivo la progressiva riduzione del tumore e la preservazione di una buona qualità di vita e/o il prolungamento della stessa. Idealmente la distribuzione di dose nel volume target dovrebbe essere uniforme e il fascio direzionato in modo tale da non intaccare i tessuti sani circostanti. Tuttavia le tecniche usate più comunemente sono affette da limiti intrinseci che comportano il trattamento di volumi contenenti fino al 10-20% di disomogeneità e una distribuzione di dose ai tessuti sani prossima alla soglia di tolleranza. Per questi motivi la ricerca nel campo della radioterapia si è concentrata sullo sviluppo di nuove tecniche per il trattamento delle lesioni, in particolare definendo al meglio il target da irradiare e monitorandone i cambiamenti anche durante e dopo il trattamento.

Nel 1993 l'International Commission on Radiation Unit [4] ha tracciato le linee guida per la prescrizione, la registrazione e la documentazione dei trattamenti. Nella pratica clinica vengono quindi definiti dei **volumi d'interesse (VOI)** che comprendono sia gli organi funzionali, da risparmiare da irraggiamento, sia il target del trattamento.

In figura 4 sono riassunte le relazioni reciproche tra i diversi volumi di trattamento e le successive espansioni convenzionali e specifiche di ogni singolo istituto, atte a compensare le incertezze del piano di trattamento (e.g. errore di setup e artefatti da movimento).

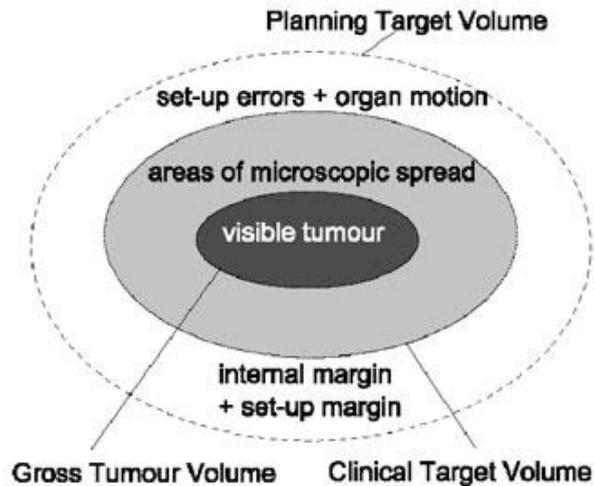


Figura 6 - Schema riassuntivo dei volumi d'interesse: il GTV, individuabile tramite esami radiologici, insieme ai margini microscopici costituisce il CTV. Questo, unito ai margini definiti per includere i movimenti interni fisiologici del paziente (IM), costituisce l'ITV. Infine il PTV, ovvero il volume che verrà irradiato durante il trattamento, è comprensivo anche dei margini che tengono conto degli errori di set-up dovuti al riposizionamento fra diverse sedute [5].

Nel dettaglio si definiscono quindi i seguenti volumi:

**Gross Tumor Volume (GTV):** è la localizzazione e l'estensione palpabile, visibile o dimostrabile della malattia. Esso comprende il tumore primario e le possibili linfadenopatie metastatiche o altre metastasi. In genere in esso è presente la densità maggiore di cellule tumorali, a cui deve essere somministrato il massimo della dose prescritta. In figura 5 è riportato un esempio di tumore in cui si osserva chiaramente l'estensione della lesione.

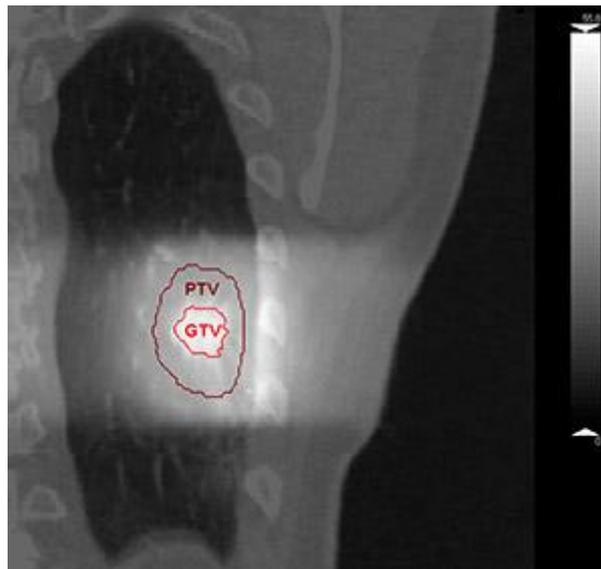


Figura 7 - Il GTV è ben visibile alla TAC come una massa bianca contrastata rispetto allo sfondo. E' rappresentato anche il PTV che come si nota ha un'estensione molto maggiore rispetto alla lesione visibile [6].

**Clinical Target Volume (CTV):** è un volume di tessuto che contiene il GTV e i margini microscopici della malattia, anche se sospetti e non provati. Le regioni portatrici di malattia subclinica possono essere localizzate intorno al GTV ma anche a una certa distanza, come i linfonodi regionali.

**Internal Margin (IM) e Internal Target Volume (ITV):** IM è il margine che tiene conto dei movimenti fisiologici e delle variazioni di dimensione, forma e posizione del CTV durante la terapia. Aggiungendo questo margine al CTV si definisce quindi l'ITV.

**Planning Target Volume (PTV):** contiene l'ITV e le incertezze derivanti dal frazionamento, ovvero errori nel riposizionamento del paziente e variazioni intra seduta. E' un concetto geometrico funzionale alla scelta della dimensione e posizione dei fasci, al fine di assicurare che la dose prescritta interessi completamente il CTV.

**Set-Up Margin (SM):** tiene conto delle incertezze meccaniche nelle posizioni del sistema di irradiazione, incertezze dosimetriche, errori di trasferimento fra CT e unità di trattamento, fattori umani.

I volumi definiti, invece per salvaguardare gli organi essenziali per il paziente sono:

**Organ At Risk (OAR):** sono tessuti normali che se irradiati possono compromettere la sopravvivenza o le funzionalità del paziente. La conoscenza della sensibilità alle radiazioni di un determinato tessuto è basata sull'osservazione clinica. Nell'ICRU 50 [4] gli OAR sono classificati secondo tre classi:

- classe I: organi per cui la lesione da radiazione risulta fatale o altamente compromettente;
- classe II: organi per cui la radiazione provoca danni moderati o lievi;
- classe III: organi in cui lesione da radiazione è lieve, transitoria e reversibile o addirittura inesistente;

Questa suddivisione tuttavia risulta poco utile per valutare la risposta volume-frazionamento in quanto non si tiene conto dalla funzionalità svolta dall'organo considerato. Per questo l'OAR viene distinto anche come organo seriale, parallelo o seriale - parallelo [7]. In particolare, l'organo seriale è composto da sub unità funzionali che, come anelli di una catena, se danneggiate alterano la funzione dell'organo A questa categoria

appartengono ad esempio il midollo osseo, l'esofago e i nervi. L'organo parallelo, come il polmone e il rene, è invece costituito da sub unità che, se danneggiate singolarmente, non incidono significativamente sulla funzionalità complessiva, in quanto le altre sub unità possono sopperire all'unità non funzionante. Infine gli organi strutturati sia parallelamente sia serialmente risultano più complessi in quanto in base alla sub unità colpita si può perdere completamente una funzionalità oppure non avere conseguenze.

**PRV (Planning Organ at Risk Volume):** include un margine di sicurezza interno agli OAR per compensare variazioni in termini di forma, movimento fisiologico degli organi interni ed errori di set-up [8].

Al fine di valutare quanta dose è associata ad ogni volume d'interesse si ricorre all'**istogramma dose-volume (DVH)**. Esso descrive la relazione fra percentuale di dose (ascissa) percentuale di volume che riceve quella dose (ordinate). In figura 6 si riporta un esempio di DVH cumulativo, in cui sono rappresentati il target e un organo a rischio. Idealmente i volumi target devono ricevere almeno il 100% della dose su tutto il volume mentre gli OAR dovrebbero essere totalmente schermati dalla radiazione (6.b). In realtà, la prossimità degli OAR al target comporta l'irraggiamento parziale degli stessi, deviando così la curva ideale, come si vede in figura 6.a.

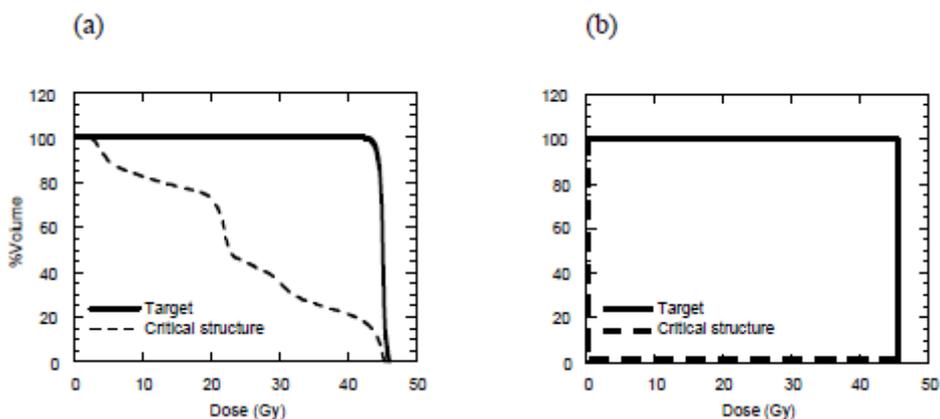


Figura 8 - Iistogramma dose-volume cumulativo reale (a) e ideale (b). In figura (a) è rappresentato un volume target e un OAR. Il 100% del volume target riceve il massimo della dose (5500 cGy) secondo una curva arrotondata che idealmente dovrebbe seguire un profilo come quello rappresentato in figura (b). Gli OAR, come si vede in (b), dovrebbero ricevere dose nulla ma più sono vicini al target e più rischiano di essere investiti da un alto rateo di dose [9].

L'istogramma dose-volume è utile per valutare il piano di trattamento prima che sia approvato, infatti questo strumento permette d' identificare la geometria dei fasci che più si avvicina ai vincoli imposti dai volumi d'interesse, con particolare riguardo per gli OAR.

Per delineare i VOI e stabilire la quantità di dose da attribuire a ciascuno è necessario effettuare l'imaging del distretto d'interesse.

### **1.2.2 L'imaging in radioterapia**

Al fine di sfruttare al meglio le innovative tecniche di rilascio della dose, il cui grado di conformazione al bersaglio permette potenzialmente una maggiore accuratezza, è diventato fondamentale avere a disposizione un sistema di imaging per la pianificazione ed il successivo controllo in sala della posizione dei volumi target. Nella pratica clinica, si parla di radioterapia guidata dalle immagini (IGRT, Image Guided Radiation Therapy), che permette il monitoraggio della posizione della lesione durante tutto il trattamento e risolve il problema del riposizionamento fra le diverse sedute.

In particolare, per il distretto cranico si ricorre sia all'utilizzo di tecniche di imaging anatomico, in grado di caratterizzare i tessuti tramite le loro caratteristiche fisiche, sia di quello biologico, detto anche funzionale in cui si rilevano le funzioni fisiologiche. L'imaging anatomico è fondamentale per l'individuazione dei VOI e la definizione del piano di trattamento. L'imaging funzionale è invece più utilizzato in fase di verifica della terapia adottata e per il follow-up del paziente.

Alle tecniche di imaging anatomico appartengono la tecnica di tomografia computerizzata (CT, Computed Tomography), l'imaging a risonanza magnetica (MR, Magnetic Resonance) e l'imaging a emissione di positroni (PET, Positron Emission Tomography).

Una CT è un'immagine rappresentativa dell'attenuazione di un fascio di raggi X attraverso il volume da visualizzare. L'attenuazione è direttamente proporzionale alla densità elettronica dei tessuti presenti nel voxel, codificata in scala di grigio secondo le Unità di Hounsfield (HU), come si può osservare in figura 7.

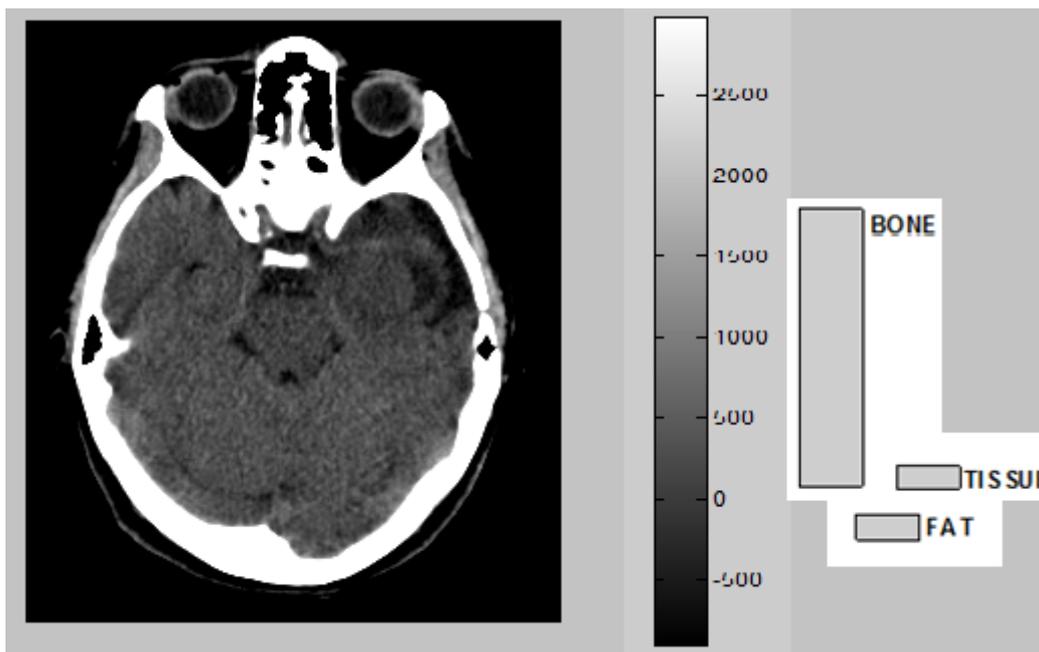
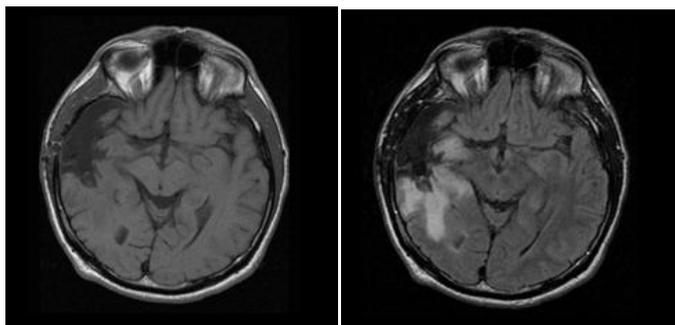


Figura 9 - CT assiale della testa con a legenda le HU relative e i tessuti corrispondenti.

La CT di distinguere eccellentemente le strutture ossee o cartilaginee, fornendo quindi una rappresentazione realistica del distretto. La teca cranica, inoltre, è spesso utilizzata come punto di riferimento per la registrazione tra immagini acquisite con modalità diverse o in diversi istanti della terapia, in quanto invariante durante il trattamento. D'altra parte la CT non è sufficiente per la pianificazione completa del piano a causa del basso contrasto dei tessuti molli di cui è prevalentemente composto l'encefalo e anche perché non permette di rilevare in modo preciso le infiltrazioni nel tessuto [10]. Per questi motivi, nella caratterizzazione anatomica del distretto cranico si affianca alla CT una MR.

L'immagine MR è ottenuta come risposta alla stimolazione tramite campi magnetici degli spin elettronici delle molecole di idrogeno contenute nei tessuti. Il segnale rilevato può essere pesato per diversi parametri, quali i tempi di rilassamento (T1 e T2), la densità protonica o la diffusione. L'immagine di risonanza convenzionale è ottenuta per pesatura T1 o T2. Come si nota in figura 8, grazie alla pesatura in T1 si ha un ottimo rapporto segnale rumore e una buona delineazione delle strutture anatomiche, mentre la pesatura in T2 è più indicata per delineare il liquor e zone edematose.



**Figura 10 - Immagini MR acquisite con contrasto T1 la prima e T2 la seconda. Nella seconda immagine è visibile la lesione in prossimità dello spazio liquorale. [11]**

Con le sequenze convenzionali si riescono inoltre a differenziare i nuclei che compongono la sostanza grigia, mentre non è possibile analizzare la composizione della materia bianca, cioè individuare i fasci nervosi che la compongono.

Infine, la PET permette tramite la localizzazione della sede della lesione e di zone captanti periferiche un tracciante radioattivo iniettato nel paziente. Nonostante la bassa risoluzione spaziale questa tecnica fornisce informazioni sulla biologia della lesione o la presenza di zone iposiche, fortemente soggette a peggioramento durante il trattamento con radiazioni.

Nel trattare lesioni del distretto cranico è quindi necessario acquisire sia una CT che una MR fondendo le informazioni sulla densità del tessuto (da CT), utile per stilare la dosimetria del piano di trattamento, con la risoluzione anatomica dei tessuti molli (MR) per definire i volumi di trattamento degli OAR.

Riassumendo, le tecniche di imaging sopra descritte risultano quindi fondamentali per:

- fornire informazioni anatomiche o metaboliche della regione interessata;
- calcolare la distribuzione di dose per valutare la qualità del trattamento tramite analisi del DVH;
- valutare il corretto posizionamento del paziente durante la seduta, ma anche fra le diverse sedute in un trattamento frazionato;
- valutare la risposta del paziente al trattamento;

### **1.2.3 Workflow di un trattamento di radioterapia**

Un trattamento di radioterapia si può sostanzialmente dividere in due fasi: la pianificazione e la seduta di trattamento.

**La fase di pianificazione** consiste nell'acquisizione di uno o più volumi di immagini anatomico/funzionali con il paziente immobilizzato nella posizione di trattamento. Come sottolineato nel paragrafo precedente, le modalità più utilizzate sono la CT e MR. A questo si accompagna generalmente una PET per la stadiazione e la valutazione di eventuali localizzazioni lontane dalla massa primaria (e.g. linfonodi). Durante questa fase viene costruito un modello paziente-specifico (Treatment Plan, TP) sul quale vengono definiti i contorni dei VOI e i parametri dosimetrici del trattamento. In altre parole, noti i VOI segmentati, si ottimizza la dose facendo variare il numero dei fasci da utilizzare, l'energia del fascio, la conformazione dei collimatori principali o ausiliari (Multi-leaf Collimator, MLC) e la distribuzione della dose negli OAR.

**La somministrazione della dose (delivery)** può essere preceduta da una prima fase di verifica del piano, tramite irraggiamento di pellicole per controllare il corretto posizionamento dei campi e dei collimatori. A valle di una verifica e correzione del posizionamento in sala, il paziente è quindi sottoposto alla terapia in una o più sedute a seconda dello schema di frazionamento scelto. Nel caso di una terapia frazionata, ad ogni seduta viene verificato il posizionamento e l'eventuale avanzamento/riduzione della lesione, così da riprodurre nel modo più fedele possibile il TP. Attualmente il procedimento standard, al fine di conseguire questi obiettivi, prevede l'utilizzo di alcuni sistemi di posizionamento specifici per il singolo paziente, come maschere termoplastiche per la regione del testa-collo, oppure tecnologie di tracking ottico, tattoo e laser per il monitoraggio esterno o infine tecniche di imaging per il rilevamento di eventuali modificazioni non rigide degli organi interni.

#### **1.2.4 Tecniche di radioterapia**

Le tecniche di trattamento in radioterapia possono essere distinte in **statiche** o **dinamiche**. Nelle tecniche statiche rientrano le tecniche con distanza sorgente-cute del paziente fissa mentre le tecniche dinamiche sono caratterizzate dal movimento dell'unità radiante intorno al paziente durante l'erogazione della dose.

Le principali tecniche radioterapiche a fascio collimato si possono riassumere in:

- Radioterapia convenzionale: usa acceleratori lineari (Linac) a sistema isocentrico, in cui la dose massima è rilasciata all'isocentro del sistema, che verrà fatto

- coincidere con il target. Utilizza come collimatori i cunei di cui è dotato l'acceleratore, che possono ridurre il campo del fascio senza tuttavia essere conformati alla lesione. I limiti fondamentali di questa tecnica sono l'incapacità di sagomare ed orientare il fascio, di pianificare in modo efficace la dose in casi complessi e l'impossibilità di correggere spostamenti del paziente durante la seduta;
- Radioterapia conformazionale: sopprime al trattamento convenzionale permettendo di conformare il fascio tramite collimatori ausiliari. Questi sono montati sulla testa del gantry e sono formati da microlamelle di spessori che raggiungono i 3mm. In questo modo, quando la lesione da trattare ha una morfologia complessa, il fascio viene modellato lungo ogni direzione secondo la proiezione della segmentazione fatta in fase di pianificazione, adattandosi quindi ai contorni e permettendo trattamenti vicino a strutture critiche;
  - IMRT (Intensity Modulated Radiation Therapy) con IGRT (Image Guided radiation therapy): è radioterapia conformazionale ad alta precisione che distribuisce precise quantità di dose durante la rotazione del gantry, conformando il fascio al target secondo la segmentazione effettuata in fase di pianificazione e modulandone l'intensità. Il LINAC è inoltre generalmente dotato di un sistema d'acquisizione d'immagini solidale al gantry dell'acceleratore, che permette l'acquisizione di immagini kV 2D e 3D durante la seduta di trattamento, permettendo una correzione del posizionamento del paziente in tempo reale, tramite movimento del lettino o ripianificazione del TP. L'Elekta VMAT (Volumetric Modulated Arc Therapy) è una tecnica avanzata di IMRT. Essa combina la modulazione del fascio a una rotazione del gantry intorno al paziente, permettendo la descrizione di traiettorie ad archi completi o parziali che accelerano notevolmente il processo di delivery della dose rispetto alla tecnica IMRT (e.g da 20 a 2 minuti [90]), oltre a lasciare ampia libertà su come distribuire la dose, tramite la selezione di parametri a discrezione del radioterapista. Grazie ad essi è possibile impostare condizioni stringenti sugli OAR, così da ottimizzare il trattamento sia in termini temporali che di dose rilasciata al paziente.
  - IORT (Intra Operative Radiotherapy): nel corso dell'intervento chirurgico si effettua un'unica irradiazione a dose massiccia (2000 - 8000 cGy prescritti all'isodose dell'80%). E' utilizzata per trattare lesioni benigne quali MAV

(malformazioni artero-venose) in cui è necessaria una rimozione definitiva senza rischi per il paziente, oppure per piccole lesioni maligne lontane da strutture critiche quali tronco celebrale e nervi cranici;

- TBI (Total body Irradiation) e TSEI ((Total Skin Electron Irradiation): è un protocollo di cura per condizionare il paziente antecedentemente a un trapianto di midollo osseo emopoietico. Prevede l'esposizione di tutto il corpo a una dose in grado di immuno deprimere completamente il paziente, al fine di evitare il rigetto del materiale trapiantato e rimuovere le cellule staminali neoplastiche dal suo midollo osseo. La dose si attesta intorno ai 500 - 1400 cGy, frazionate anche due volte al giorno;

Fra tutte le tecniche di trattamento si descrive a seguito quella che è stata utilizzata nello studio di questa tesi per simulare i TPs stilati: la terapia volumetrica ad arco modulata.

### **1.3 Possibilità di innovazione**

Nonostante le tecniche di imaging abbiano conosciuto un notevole sviluppo negli ultimi anni, in radioterapia è ancora poco diffusa l'analisi contemporanea di immagini anatomiche e funzionali. L'utilizzo di informazioni funzionali è, tuttavia, utile anche per indagare quelle zone che CT e MR non sono in grado di caratterizzare appieno, come ad esempio la materia bianca celebrale, sede delle connessioni fra le aree cerebrali. Diversi gruppi (Ospedale Olavs in collaborazione con l'università di scienza e tecnologia di Trondheim - Ospedale Kyorin in collaborazione con l'università di Tokio - Ospedale Aretaieion in collaborazione con l'università di Medicina di Atene) [12] [13] [14] hanno dimostrato non solo l'esistenza di una correlazione fra i cambiamenti nei metaboliti e nella struttura della sostanza bianca in relazione a neoplasie situate in prossimità di essa, ma anche la necessità di modificare la terapia da adottare per trattare la lesione se considerate le informazioni derivate dalle più avanzate tecniche di imaging.

Infatti, nel caso di tumori relativi al distretto encefalico, l'irradiazione di una zona altamente funzionale può portare a una diminuzione delle capacità cognitive e/o motorie del soggetto. Pertanto è evidente che più sono le informazioni dirette o indirette derivate dall'imaging, migliore sarà la diagnosi differenziale del neuro radiologo. In letteratura sono presenti diversi studi ("*Role of magnetic resonance tractography in the preoperative planning and intraoperative assessment of patients with intra-axial brain tumors*" - A.

Romano; "*Surgical Resection of High-grade Gliomas in Eloquent Regions Guided by Blood Oxygenation Level Dependent Functional Magnetic Resonance Imaging, Diffusion Tensor Tractography, and Intraoperative Navigated 3D Ultrasound*" - S. Gulati et al.; "*La spettroscopia protonica nello studio delle neoplasie intra-craniche*" - Popolizio, Scarabino) [15] [12] [10] in cui si evidenzia come non solo la sede della lesione, ma anche altri fattori, quali la presenza/assenza di edema ed eventuale effetto massa, la presenza di calcificazioni e/o formazioni cistiche, la vascolarizzazione, la dinamica del flusso cerebrale, età e presentazione clinica del tumore influenzino l'esito finale della terapia.

Le tecniche di imaging all'avanguardia nella pianificazione di un trattamento radioterapico sono la spettroscopia protonica a risonanza magnetica, la risonanza magnetica funzionale, il mapping corticale e la diffusion tensor imaging.

La **spettroscopia protonica** a Risonanza Magnetica (MRS) fornisce una misura chimica dei tessuti cerebrali prevalentemente in relazione alle concentrazioni di  $^1\text{H}$ ,  $^{23}\text{Na}$  e  $^{31}\text{P}$ . La MRS fornisce informazioni strutturali riguardo l'integrità neuronale, la proliferazione, la degradazione cellulare, il metabolismo energetico e il grado di necrosi del tessuto, attraverso l'analisi di metaboliti quali l'N-acetil aspartato (NAA), il complesso creatina fosfo-creatina, la Colina (Cho), l'acido lattico (Lac), i lipidi e il Mio Inositolo (mI). Per esempio l'aumento della Colina e un decremento del NAA sono indici che permettono di distinguere lesioni neoplastiche da quelle non neoplastiche (Figura 9). Acido lattico e lipidi sono espressioni caratteristiche di necrosi cellulare, mentre il Mio Inositolo è un marker gliale che permette distinzioni fra gliomi di alto e basso grado di malignità. E' comprovato [10] [16] che l'esame spettroscopico, se complementare alla risonanza magnetica anatomica, in particolare nell'ambito della patologia neoplastica cerebrale non solo permette di migliorare la diagnosi e la pianificazione del trattamento radioterapico, ma è anche uno strumento non invasivo per il monitoraggio evolutivo della malattia neoplastica in termini di recidiva o necrosi della lesione.

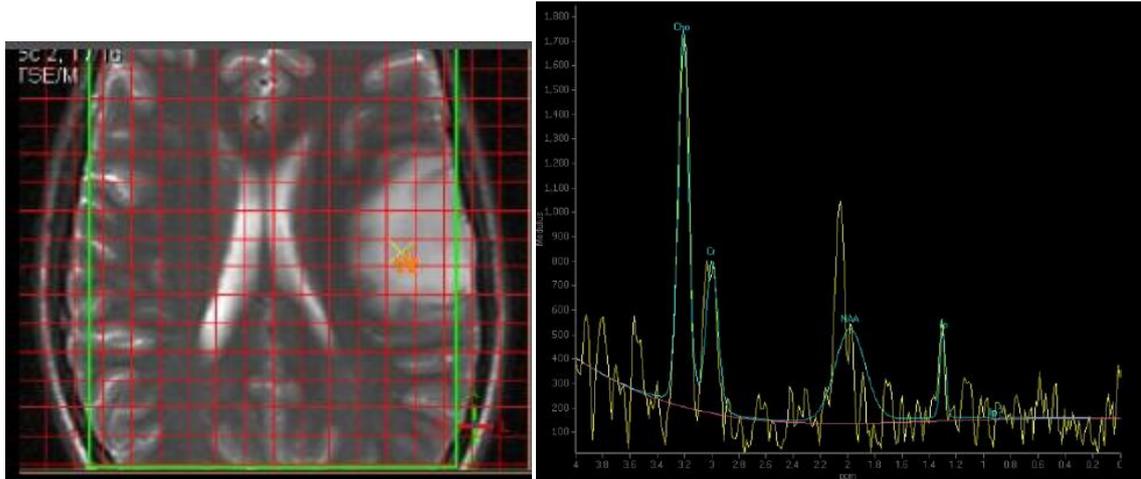


Figura 11 - Spettroscopia Protonica: esame puntuale della concentrazione dei metaboliti. Come si vede nella figura a destra i livelli di Colina sono molto elevati, mentre l'NAA è ridotto, indice che la neoplasia situata dove è presente la crocetta arancione è neoplastica [11].

La **Risonanza Magnetica Funzionale** o fMRI (Figura 10) nel distretto encefalico studia la risposta emodinamica relativa all'attività neuronale. La fMRI si basa su una specifica sequenza di impulsi di risonanza magnetica nucleare tramite cui è possibile rilevare il contrasto Blood Oxygenation Level Dependent (BOLD), la cui intensità è inversamente proporzionale alla concentrazione di emoglobina non ossigenata. In pratica, un incremento del flusso sanguigno cerebrale, se proporzionalmente superiore all'aumento del consumo dell'ossigeno, hanno come corrispettivo un aumento del segnale BOLD. Un limite di questa tecnica è legato all'interferenza dei fenomeni fisiologici neuronali sul segnale rilevato, dovuta principalmente alla natura indiretta della misurazione di attività neuronale. Inoltre, essendo per lo più una misura puntuale, la fMRI non rispecchia completamente la natura distribuita del funzionamento delle reti neurali biologiche.

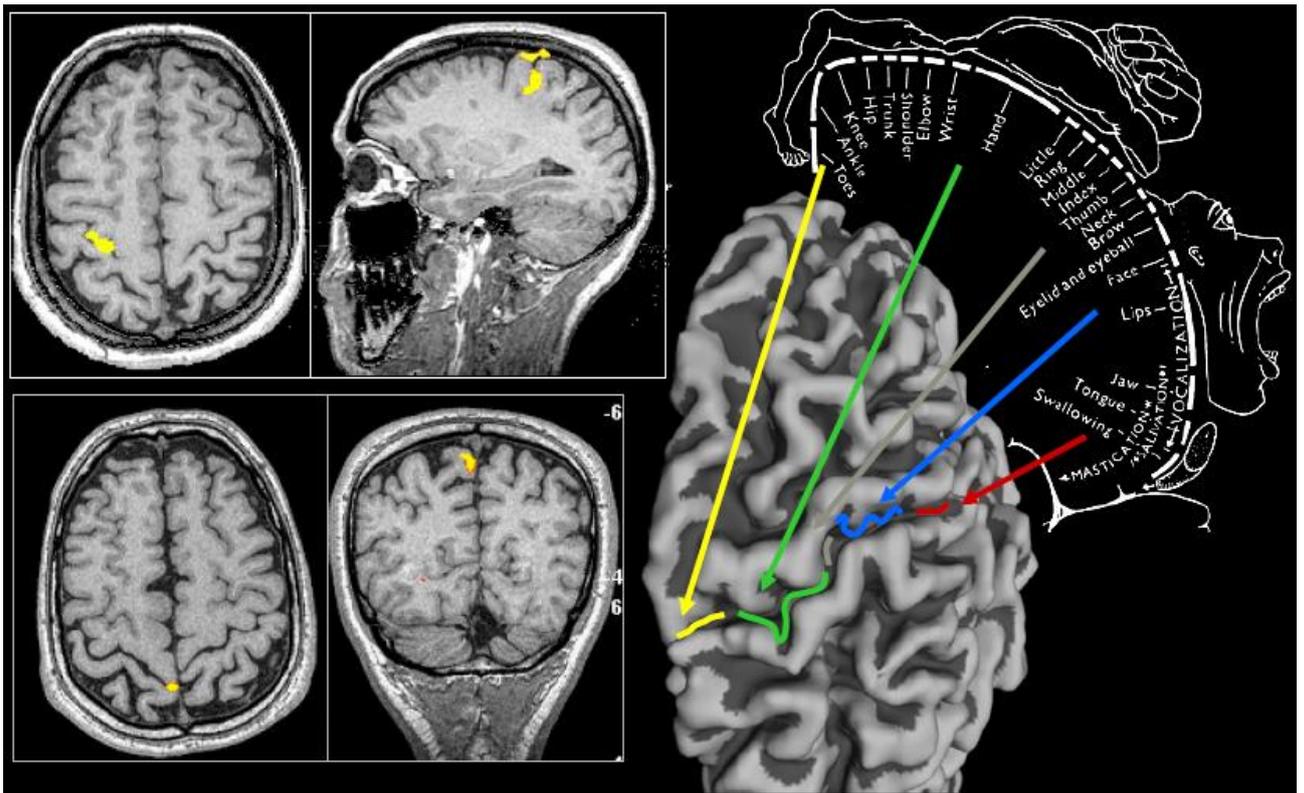


Figura 12 - Esempio di fMRI eseguita nella corteccia motoria [11].

Il **Mapping corticale** è utilizzato per delineare una mappa funzionale del cervello. In particolare, nel trattare lesioni cerebrali, si stimolano le zone ad esse limitrofe al tumore per evidenziare le funzionalità a rischio. La stimolazione è altamente invasiva (Figura 11) e viene effettuata durante l'intervento chirurgico per la resezione del tumore. Essa consiste nell'eccitare tramite delle piccole correnti elettriche le zone della corteccia, analizzando la reazione del paziente sveglio: ogni disfunzione delle capacità motorie o vocali indica che quella zona è funzionale e pertanto da preservare.

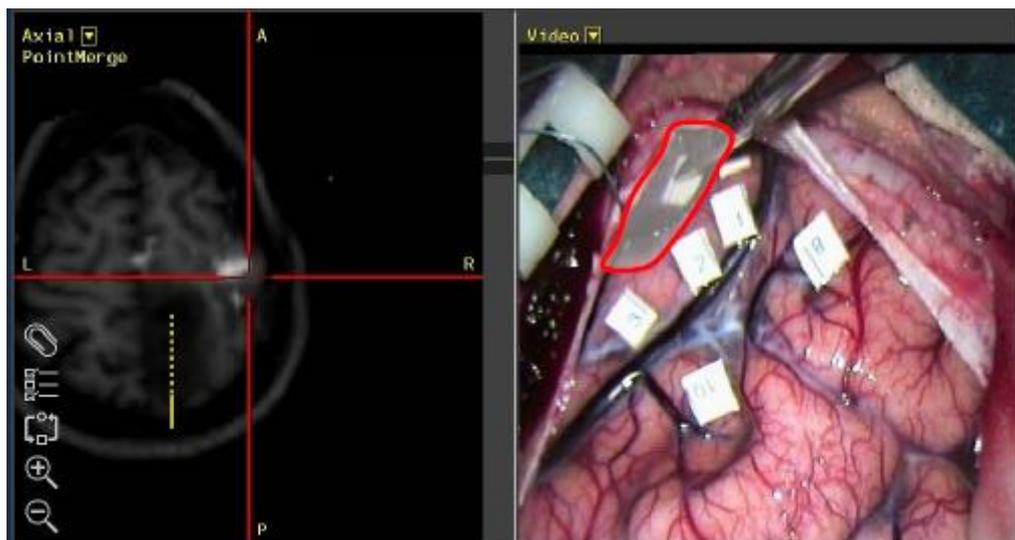


Figura 13 - Esempio di stimolazione corticale guidata dalle immagini [11].

La **Diffusion Tensor Imaging (DTI)** è una tecnica di imaging che indaga i processi diffusivi delle molecole d'acqua nei tessuti. L'analisi della diffusione permette di identificare microstrutture quali i tratti nervosi della materia bianca, non discriminabili con l'imaging anatomico. La trattografia, di conseguenza, è in grado di ricostruire l'orientamento e la disposizione dei tratti della sostanza bianca.

Nell'ultimo decennio sono sempre di più gli studi condotti sulle potenzialità dell'imaging funzionale, soprattutto se usato come strumento per la radioterapia o la radiochirurgia. Giappone, Canada e paesi della penisola scandinava sono all'avanguardia a questo proposito come lo dimostrano le numerose pubblicazioni di interventi eseguiti con l'ausilio di queste tecniche d'imaging [11] [12] [13] .

Questa tesi si pone come obiettivo l'analisi della tecnica della DTI in pazienti candidati per radioterapia VMAT, focalizzando l'attenzione sulla trattografia dei fasci coinvolti dalla lesione e concorrenti a OAR nel TP. Nei capitoli successivi verranno approfonditi i concetti di immagini pesate in diffusione e di trattografia deterministica a partire dal modello del tensore di diffusione. Successivamente si presenterà il data set fornito dall'Istituto IRCSS Besta di Milano e si descriverà la tecnica con cui si sono processate le immagini pesate in diffusione, dalla creazione della trattografia alla registrazione con CT e RM, fino all'inserimento delle stesse in un pianificatore di trattamenti fornito dalla società Elekta di Milano. Infine si commenteranno i risultati raggiunti, confrontando i TPs ottenuti

con quelli di partenza, al fine di valutare la novità informativa introdotta dalla DTI e l'applicabilità delle procedure ricavate.

## 2. Diffusion Tensor Imaging

---

In questo capitolo verrà introdotta la tecnica dell'imaging in risonanza pesato in diffusione, partendo dal concetto di diffusione stesso, proseguendo con il procedimento d'acquisizione della sequenza d'immagini, fino ai metodi di elaborazione.

### 2.1 La diffusione

Con il termine diffusione s'intende il moto di traslazione incoerente e caotico delle molecole in un mezzo, dovuto all'agitazione termica. La legge fisica che regola il fenomeno della diffusione è la legge di Fick, che correla il flusso delle molecole che diffondono alla differenza di concentrazione attraverso la relazione:

$$J = -D\nabla C \tag{2.1}$$

dove  $J$  è il flusso delle molecole,  $C$  è la concentrazione del mezzo e  $D$  è una costante detta coefficiente di diffusione. Il coefficiente di diffusione è intrinseco del mezzo e il suo valore è determinato dall'energia cinetica della molecola diffondente, dalla grandezza della molecola, dalla viscosità e dalla temperatura del mezzo, secondo la relazione di Stokes-Einstein [33]

:

$$D = \frac{kT}{6\pi r_p \eta} \frac{l^2}{t} \tag{2.2}$$

dove  $k$  è la costante di Boltzmann,  $r_p$  il raggio della particella,  $T$  la temperatura in Kelvin,  $\eta$  è la viscosità e  $l$  lo spazio percorso nel tempo  $t$ . Quando la molecola ha possibilità di muoversi liberamente in tutto lo spazio, essa non ha una direzione preferenziale di moto e pertanto la diffusione è definita **isotropa**. In questo caso il moto lungo una direzione  $x$  in tempo  $t$  è ben rappresentato da una distribuzione Gaussiana:

$$P(x, t) = \frac{1}{\sqrt{4\pi D t}} e^{-\frac{x^2}{4 D t}}$$

(2.3)

In altre parole, ad esempio in acqua a 37° in 50 ms il 32% delle molecole si sposterà di 17 µm, mentre il 5% si sposterà del doppio. Se si ipotizza la possibilità di uno spostamento nelle tre dimensioni e l'equazione diventa:

$$P(x, t) = \frac{1}{\sqrt{(4\pi D t)^3}} e^{-\frac{x^2+y^2+z^2}{4 D t}}$$

(2.4)

Da questa equazione è possibile ricavare la sfera di diffusione, imponendo:

$$x^2 + y^2 + z^2 = 2 D t$$

(2.5)

dove x,y,z sono i tre assi del sistema di riferimento e t è il tempo impiegato a diffondere. Tuttavia, non sempre le molecole possono diffondere liberamente nello spazio, in quanto possono trovarsi ostacolate: in questo caso la diffusione non è più detta isotropa, bensì **anisotropa**. Questo è quello che accade, ad esempio, nella sostanza bianca cerebrale.

### 2.1.1 La diffusione nei tessuti neurali

Il moto casuale delle molecole d'acqua nei tessuti è influenzato da diversi fattori, quali le membrane cellulari, il citoscheletro e le macromolecole [34]. La diffusione anisotropa è stata osservata in cristalli liquidi, muscoli, legamenti e addirittura in alcuni tipi di frutta e verdura. E' stato dimostrato che il grado di anisotropia presente nelle fibre neurali sane è maggiore di quello di qualsiasi altro tessuto, quali muscoli, fegato e miocardio [35]. La sostanza bianca dell'encefalo è infatti ricca di filamenti assonali, le cui membrane mieliniche, parallelamente all'elevato grado d'organizzazione in pacchetti ostacolano la diffusione libera delle molecole. Come è rappresentato in figura 12, un fascio di fibre disposte parallelamente alla direzione del moto delle molecole d'acqua faciliterà la diffusione lungo l'asse della fibra stessa, mentre ne ridurrà la velocità in direzione trasversale.

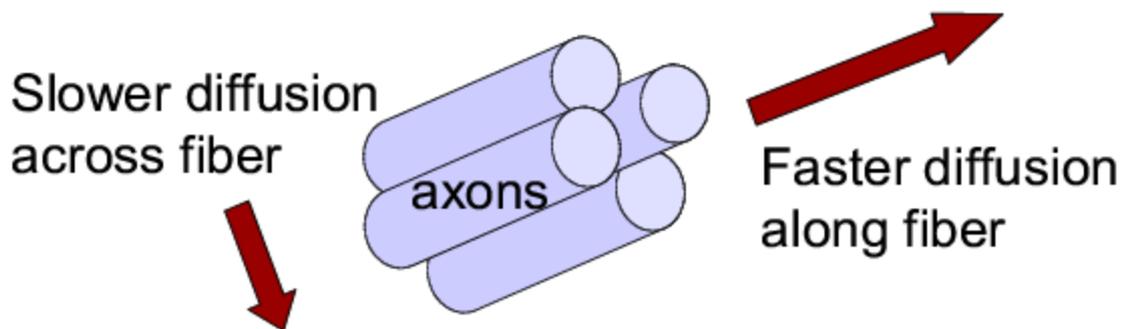


Figura 14 - Diffusione anisotropa lungo un fascio di fibre. La direzione di moto privilegiata è quella parallela al fascio [25].

Noto come le microstrutture dei tessuti influenzino i processi diffusivi, è quindi possibile ottenere preziose informazioni sulla microstruttura biologica dei tessuti semplicemente osservando il moto delle molecole d'acqua. L'analisi di questo fenomeno permette, pertanto, di osservare i processi diffusivi in tessuti ancora poco indagabili con le tecniche di imaging convenzionali, come la sostanza bianca encefalica, sede delle connessioni assionali fra diverse regioni del sistema nervoso centrale e per di più composta prevalentemente d'acqua.

## 2.2 La risonanza pesata in diffusione

La Risonanza Magnetica (RM) è una tecnica diagnostica multi parametrica utilizzata per produrre immagini ad alta definizione di sezioni del corpo umano. Essa si basa sulla rilevazione di segnali provenienti da nuclei caratterizzati da spin non nulli, soggetti a campi magnetici intensi e posti in condizioni di risonanza. Le tecniche avanzate di RM consentono di eseguire misure su scala microscopica valutando effetti ascrivibili non solo ai tempi di rilassamento, ma anche legati a meccanismi biochimici e biofisici più complessi delle cellule stesse, quali ad esempio la diffusione delle molecole d'acqua nei tessuti. La multi parametricità è legata al fatto che quando si rileva il segnale, esso risulta dipendere da più parametri: la densità protonica, i tempi di rilassamento ( $T_1$ ,  $T_2$ ) e la diffusione. Modulando opportunamente i gradienti dei campi magnetici durante l'acquisizione, è possibile far emergere un parametro rispetto agli altri, ottenendo delle immagini con un diverso contrasto, che vengono dette *pesate* secondo quel parametro [36].

### 2.2.1 Principi di risonanza magnetica

Come accennato precedentemente, il segnale utilizzato nell'imaging di risonanza magnetica è originato dai nuclei d'idrogeno, aventi la proprietà di possedere uno spin ( $\mathbf{I}$ ), ovvero una distribuzione di carica nel nucleo che ruota collineare ad  $\mathbf{I}$  attorno ad un asse. La corrente risultante ha un momento di dipolo magnetico associato. Esso può essere modificato imponendo un campo magnetico statico esterno  $\mathbf{B}_0$ , capace d'indurre una magnetizzazione complessiva dei momenti magnetici dei nuclei lungo la stessa direzione del campo esterno. Il tempo impiegato dai dipoli ad allinearsi al campo  $\mathbf{B}_0$  è detto tempo di rilassamento longitudinale  $T_1$ .

Il macchinario in grado di generare il fenomeno di magnetizzazione è la risonanza magnetica che è costituita principalmente da tre componenti: un magnete principale, delle bobine disposte nelle tre direzioni principali x,y,z in grado di generare campi magnetici dinamici, detti gradienti e una bobina capace di produrre un segnale a radiofrequenza e riceverlo.

Il segnale d'interesse è generato successivamente all'attivazione del magnete principale, attraverso l'antenna: viene inviato un impulso a radiofrequenza della durata di milli o micro secondi, che sfasa la magnetizzazione dei dipoli, di un determinato angolo (*flip angle*). Appena l'impulso termina, i dipoli tornano ad orientarsi come  $\mathbf{B}_0$ , impiegando un tempo detto di rilassamento trasversale o  $T_2$ . La bobina antenna/ricevitore percepisce la variazione di campo magnetico e rileva quindi il segnale, da cui verrà ricostruita l'immagine. La selezione della zona d'interesse è effettuata con l'aiuto dei gradienti: in questo modo è possibile selezionare una fetta (*slice*) specificatamente localizzata in un volume.

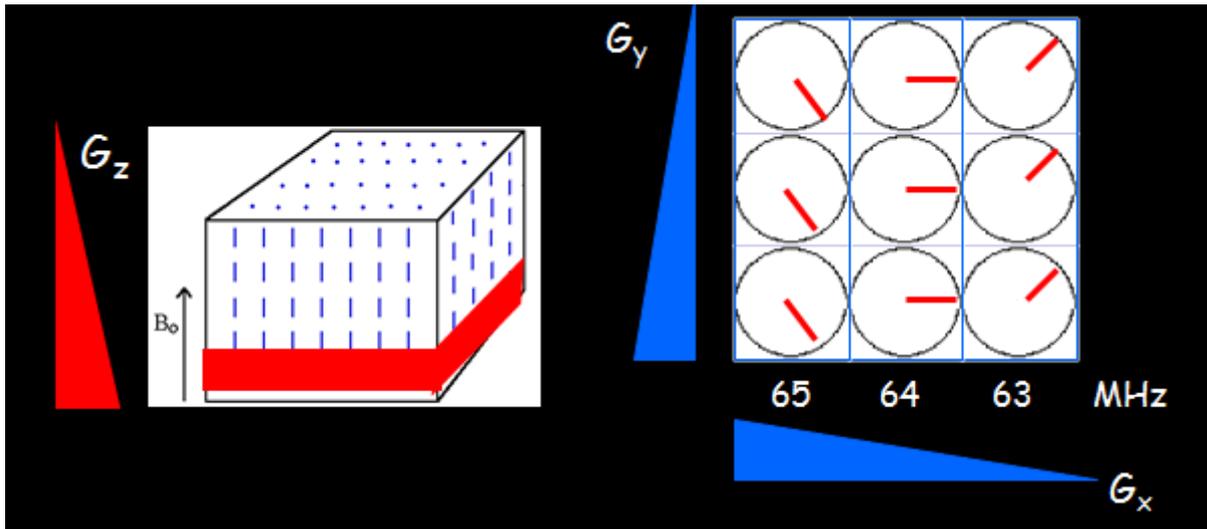


Figura 15 - Formazione di un'immagine in risonanza tramite l'uso dei gradienti per la selezione di una slice specifica in un volume. Un gradiente è utilizzato per selezionare l'altezza della slice nel volume, mentre gli altri due sono necessari per codificare nelle due dimensioni [23].

In genere, come è rappresentato in figura 13, il gradiente  $G_z$  orientato dai piedi verso la testa (inferior-superior, IS), è utilizzato per la selezione dello strato,  $G_x$ , posto da destra a sinistra (right-left, RL), è per la codifica in frequenza mentre  $G_y$ , diretto dalla nuca verso la fronte del paziente (posterior-anterior, PA), è usato per la codifica in fase. La codifica in fase e in frequenza permettono di identificare la fase e la frequenza del pixel.

L'acquisizione di un'immagine RM può essere modulata in modo da ottenere un contrasto desiderato tramite diverse sequenze d'acquisizione, come la sequenza Saturation Recovery, Inversion recovery, Spin Echo, Gradient Echo, ottenendo così immagine pesate secondo i parametri sopra citati.

### 2.2.2 La Diffusion Weighted Imaging (DWI)

Ogni sequenza MRI può essere teoricamente modificata per essere pesata in diffusione, tuttavia la sequenza più nota è la Spin Echo modificata da Stejskal e Tanner nel 1965 (Figura 14).

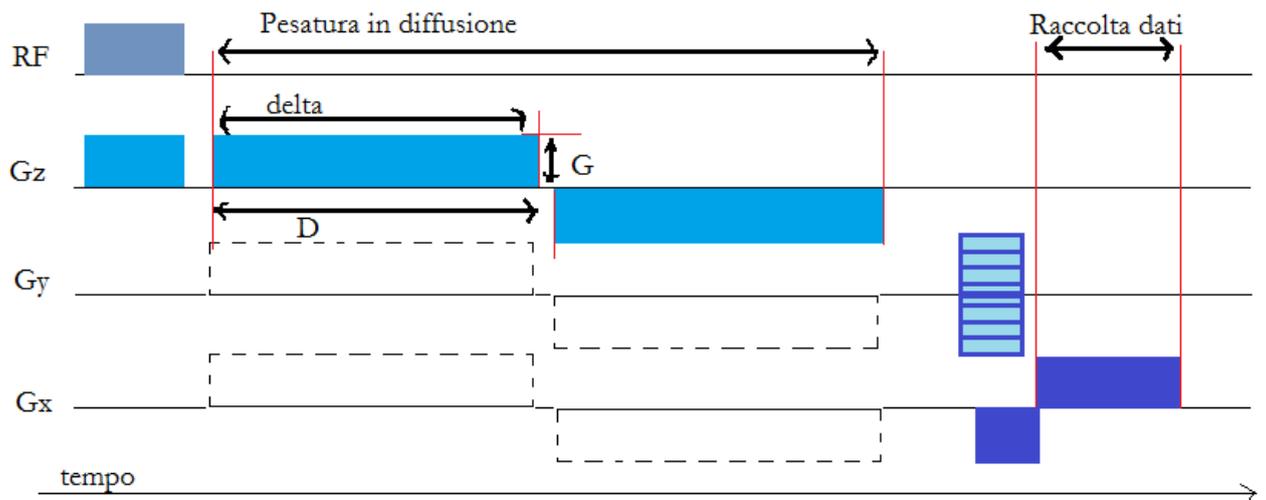


Figura 16 - Sequenza di Stejskal e Tanner: a una sequenza MR è aggiunta la pesatura in diffusione, che consiste nell'applicazione di un gradiente bipolare. Esso è influente per gli spin stazionari mentre risulta fondamentale per quelli non stazionari che subiscono quindi uno sfasamento. I valori indicati rappresentano rispettivamente la durata del gradiente (delta), l'ampiezza del gradiente (G) e la separazione fra i due gradienti bipolari (D). Le linee tratteggiate indicano la possibilità di applicare la pesatura lungo qualsiasi direzione dei gradienti [24].

Questa sequenza prevede l'applicazione di un gradiente bipolare dopo l'impulso a radiofrequenza, in grado di eccitare soltanto gli spin non stazionari, ovvero quelli soggetti a diffusione. Il gradiente, responsabile della pesatura in diffusione, può essere applicato lungo qualsiasi direzione ed è caratterizzato da un'ampiezza G e una durata delta  $\delta$ . In genere, per misurare processi diffusivi in clinica si utilizzano valori di G di almeno 20 mT  $m^{-1}$ , con caratteristiche temporali estremamente veloci (circa 400  $\mu s$ ) [24]. L'immagine viene poi acquisita applicando gradienti di lettura, codificati in fase e frequenza.

Per comprendere meglio l'effetto della pesatura in diffusione, si consideri un gradiente lungo una direzione arbitraria v. Esso genera uno sfasamento  $\Phi$  del momento magnetico  $\mu$  associato allo spin, che è funzione della posizione  $v_i$ , dello spin stesso lungo l'asse, secondo la formula:

$$\Phi = \int_0^{\delta} \gamma G v_i dt \tag{2.6}$$

dove G è l'intensità del gradiente applicato lungo la direzione v,  $\delta$  è la durata dell'impulso e  $\gamma$  è una costante fisica detta rapporto giromagnetico. Quando si applicano due impulsi opposti, se gli spin non sono in movimento (stazionari), essi non subiscono nessun effetto e

dopo  $t=\delta$  sono nella loro posizione iniziale. Se gli spin invece sono in movimento, come risulta durante il moto Browniano tipico del fenomeno diffusivo, questi risentono di uno sfasamento complessivo proporzionale alla distanza percorsa:

$$\Delta\Phi = \Phi_1 - \Phi_2 = \gamma\delta G(v_1 - v_2) \quad (2.7)$$

Il segnale  $f(x,y)$  di una comune Spin Echo è dato da:

$$f(x, y) = M_0 \left(1 - e^{-\frac{Tr}{T1}}\right) e^{-\frac{TE}{T2}} \quad (2.8)$$

dove  $M_0$  è la densità di spin per ogni pixel,  $Tr$  tempo di ripetizione fra un impulso e l'altro, in cui la magnetizzazione degli spin si ripristina,  $T1$  tempo di rilassamento longitudinale e  $T2$  quello trasversale. Esso viene modificato con un'attenuazione esponenziale (2.9) data dal prodotto fra il coefficiente di diffusione  $D$  e un fattore  $b$ , chiamato **b value**, trasformando così il segnale:

$$f(x, y) = M_0 \left(1 - e^{-\frac{Tr}{T1}}\right) e^{-\frac{TE}{T2}} e^{-bD} \quad (2.9)$$

Il  $b$  value per i gradienti rettangolari solitamente usati è dato dall'equazione:

$$b = (\gamma G \Delta)^2 \left(\Delta - \frac{\delta}{3}\right) \quad (2.10)$$

dove  $G$  è l'ampiezza del gradiente, come riportato in figura 14,  $\Delta$  è il tempo dopo il quale si applica il gradiente opposto al primo e  $\delta$  è la durata di un impulso di gradiente.

Il coefficiente di diffusione  $D$  rappresenta la diffusione lungo una sola direzione e può essere calcolato, come in formula (2.11), acquisendo due segnali  $S_0$  e  $S_D$ . Il primo con ampiezza  $G$  di gradiente nulla, e di conseguenza  $b$  value nullo, è il segnale di riferimento, mentre il secondo deve avere un gradiente non nullo, lungo una direzione arbitraria.

$$D = \frac{\text{Log}[S_0/S_D]}{b}$$

(2.11)

In particolare, solo per la diffusione che segue una distribuzione gaussiana (§ 2.4), il coefficiente D può essere calcolato come coefficiente di diffusione apparente (**ADC**) utilizzando due segnali  $S_1$  e  $S_2$  pesati in diffusione (ottenuti come da formula 2.9)), secondo l'equazione:

$$ADC = \frac{1}{(b_1 - b_2) \ln \left( \frac{S_2}{S_1} \right)}$$

(2.12)

Questo valore di diffusione ADC, dato che è rappresentativo della diffusione in una sola direzione, può essere apprezzabile in condizioni di isotropia. Tuttavia, quando questa condizione decade, il coefficiente D dipenderà dalla direzione in cui verrà acquisito e pertanto non sarà sufficiente definirlo come una costante. Il modello che può caratterizzare una diffusione Gaussiana anisotropa è il tensore di diffusione.

La scelta del b value ottimo è trattata in letteratura da molti autori, che sottolineano come l'acquisizione di uno stesso distretto con b value differenti corrisponde ad immagini differenti, informative dei diversi processi diffusivi del tessuto (diffusione libera, ostacolata e costretta [25]). Bito *et al.* (1995) hanno proposto che, al fine di minimizzare la varianza nella stima del ADC lungo una direzione, il b value ottimale dovesse essere dell'ordine di:

$$b_{ottimo} = \frac{1.1}{ADC}$$

(2.13)

da cui deriva la regola spesso utilizzata per cui il b value deve valere il reciproco del valore di ADC che si vuole calcolare. Tuttavia questa regola è limitata dai parametri macchina della risonanza, poichè la scelta del b value è legata all'ampiezza dei gradienti e alla loro durata. Jones *et al.* (1999) hanno proposto quindi d'estendere l'ottimizzazione del b value a

considerazioni su tutto il tensore di diffusione e non solo basandosi su un valore di ADC, ottenendo così che il b value ottimale dovesse essere circa il 77% del valore proposto da *Bito et al.*:

$$b_{ottimo} = 0.85 \frac{3}{traccia(D)} \quad (2.14)$$

Successivi studi [26, 27] hanno dimostrato che, soprattutto in presenza di anisotropia, il b value deve avere un valore inferiore a quelli precedentemente proposti:

$$b_{ottimo} = 900 - 1000 \frac{s}{mm^2} \quad (2.15)$$

In conclusione si ritiene ottimo un b value che si attesti fra 900 e 1200  $mm^{-2}$  [24].

Nella fase d'acquisizione un'altra fonte di criticità, oltre alla scelta del b value, è la presenza di artefatti dovuti principalmente alle correnti parassite (o eddy current) e alle non linearità dei gradienti, oltre ai movimenti minimi dovuta alla pulsazione cardiaca, evidente principalmente nei ventricoli [28]. Le bobine dei gradienti sono responsabili della produzione delle correnti parassite in superfici conduttive esterne, quali il criostato contenente l'elio liquido. Esse risultano molto evidenti per le sequenze pesate in diffusione a causa dell'elevata durata e della grande ampiezza di magnitudine dei gradienti. Per questo, quando ogni gradiente viene spento, in realtà si ha comunque una magnetizzazione residua originata dalle correnti parassite. Tuttavia essa è piccola e costante e se misurata correttamente, può essere rimossa a priori dell'acquisizione agendo sulle bobine, oppure a posteriori effettuando opportuni filtraggi passa basso con appositi filtri (e.g. Joint Rician LMMSE Image Filter) o mediando l'acquisizione su più ripetizioni. Le non linearità dei gradienti sono intrinseche nelle bobine e possono essere corrette aumentando il campo magnetico entro le regioni in cui le immagini sono acquisite e facendo crollare a zero i campi al di fuori.

## 2.3 Il modello del tensore di diffusione

In un tessuto da indagare con DWI, più la zona è strutturalmente organizzata, più il coefficiente ADC dipenderà dalla direzione in cui viene acquisito il segnale. Pertanto risulta necessario avere uno strumento che sia più esplicativo di una costante, per rappresentare al meglio la diffusione nel mezzo. Il modello del tensore di diffusione è in grado di rappresentare tramite una matrice 3x3 la diffusione nello spazio:

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

(2.16)

Questo tensore simmetrico ha rappresentati in diagonale i valori di diffusione lungo i tre assi principali, mentre i termini fuori diagonale sono indicativi della correlazione fra gli spostamenti fra gli assi ortogonali. Di questa matrice, calcolata per ogni voxel del volume d'interesse, vengono poi calcolate le direzioni principali di diffusione (i.e. gli autovettori) e il valore scalare associato ad ognuna (i.e. gli autovalori). Da questi parametri è possibile ricavare il cosiddetto "ellissoide di diffusione", raffigurato in figura 15, che rappresenta tridimensionalmente per ogni voxel la distanza percorsa per diffusione dalle molecole in un dato tempo T.

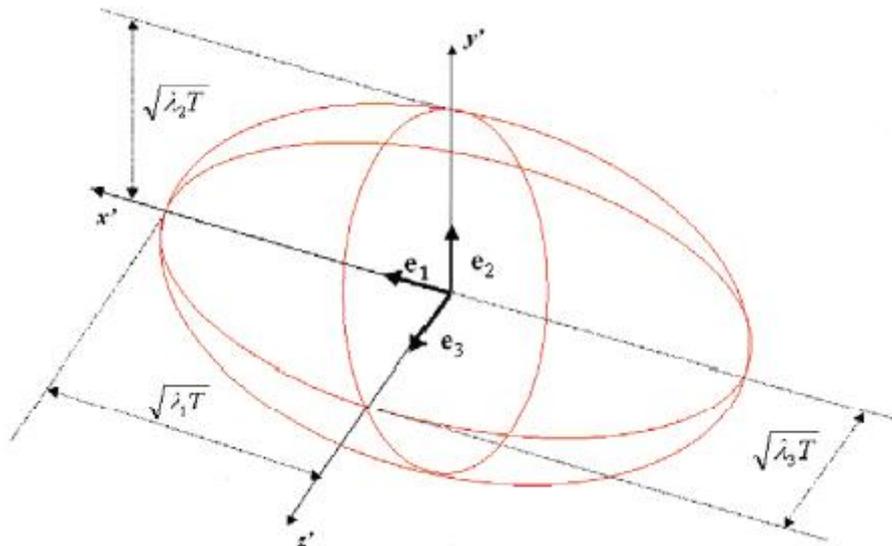


Figura 17 - Ellissoide del tensore di diffusione: gli assi principali sono dati da  $e_1$ ,  $e_2$  ed  $e_3$  a cui sono associate le radici degli autovalori  $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$  e  $\lambda_3$  moltiplicate per il tempo T di diffusione [29].

Se  $D_{xx}$ ,  $D_{yy}$  e  $D_{zz}$  in (2.6) sono congruenti e i termini fuori diagonali nulli, il tensore avrà una forma sferica e si ricadrà quindi nel caso di diffusione isotropa. Al contrario se  $D_{xx}$ ,  $D_{yy}$  e  $D_{zz}$  sono diversi fra di loro, il maggiore sarà associato alla direzione principale di diffusione e il tensore sarà un ellissoide il cui asse principale rispecchierà la direzione di diffusione più veloce. L'autovettore principale  $e_1$  fornisce la disposizione principale dell'ellissoide, che si assume essere collineare all'orientazione della fibra nel voxel considerato.

Il calcolo del tensore di diffusione richiede la determinazione dei sei coefficienti, grazie alla proprietà di simmetria, come si può vedere nella formula (2.17), adeguamento della formula (2.12) per un mezzo anisotropo:

$$\ln\left(\frac{S}{S_0}\right) = - \left[ \sqrt{b_x} \sqrt{b_y} \sqrt{b_z} \right] \begin{bmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{yx} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{zx} & D_{yz} & D_{zz} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \sqrt{b_x} \\ \sqrt{b_y} \\ \sqrt{b_z} \end{bmatrix} \quad (2.17)$$

I parametri mancanti possono essere stimati da una serie d'acquisizioni DWI in numero almeno pari alle incognite da stimare. Queste immagini sono ottenute con gradienti applicati in direzioni non collineari e non complanari fra loro, con l'aggiunta di un'immagine non pesata in diffusione (ampiezza del gradiente  $G$  nulla), come riportato in figura 16. Tuttavia, poichè i dati ottenuti dalle acquisizioni possono essere soggetti ad artefatti, per migliorare il rapporto segnale-rumore (SNR) spesso si utilizza un numero di acquisizioni superiore. Un altro modo per migliorare il SNR è ripetere le acquisizioni e mediare il risultato per ogni gradiente.

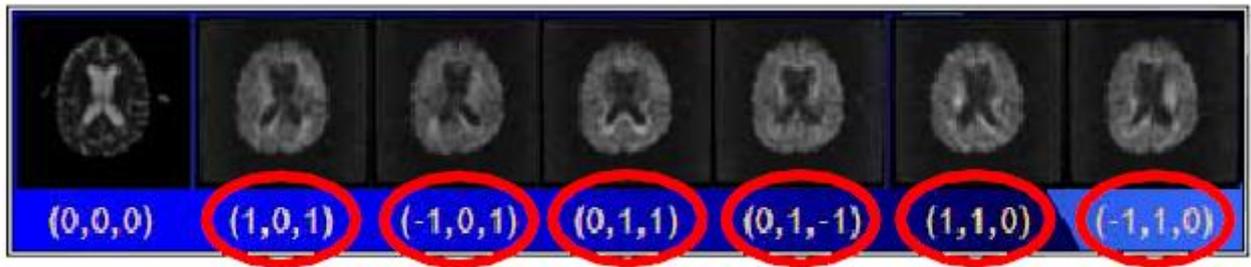


Figura 18 - Esempio di acquisizioni DWI per la stima del tensore: sei direzioni non collineari o complanari e un'immagine di riferimento non pesata in diffusione [30].

Una tecnica molto rapida e comune per risolvere l'equazione lineare (2.17) è quella di utilizzare il metodo del Singular Value Decomposition basato sul metodo dei Minimi Quadrati (Ordinary Least Square, OLS). A volte è però necessario ricorrere a tecniche più complesse per compensare l'eteroschedasticità introdotta dalla trasformazione logaritmica del segnale.

Il modello Gaussiano di diffusione non è l'unico valutato per l'imaging pesato in diffusione: il tensore  $3 \times 3$  non può rappresentare, infatti, geometrie complicate all'interno del voxel come tratti che s'incrociano o si diramano. Una soluzione a questo problema è proposta dai modelli d'imaging come "high angular resolution diffusion" (HARD) o la ricostruzione q-ball. Il modello HARD usa la funzione di distribuzione di orientazione delle fibre (orientation distribution function, ODF) per descrivere la diffusione in ogni voxel, mentre il secondo propone in alternativa al tensore di diffusione l'utilizzo della trasformata di Radon sferica. Tuttavia il modello ad ellissoide derivante da una diffusione Gaussiana è quello, tutt'ora, clinicamente più utilizzato, in quanto veloce da calcolare, e di conseguenza qui valutato.

## 2.4 Parametri derivati dal tensore di diffusione

I dati di diffusione possono essere utilizzati per estrapolare informazioni sulla microstruttura di ogni voxel attraverso:

1. la diffusività media
2. la forma del tensore
3. l'orientazione del tensore
4. gli indici di anisotropia

### 2.4.1 La diffusività media

La diffusività media è ottenuta come la traccia del tensore  $D$ , ovvero come la somma dei tre elementi sulla diagonale principale:

$$MD = Tr(\mathbf{D}) = D_{xx} + D_{yy} + D_{zz} \quad (2.18)$$

che si dimostra essere equivalente alla somma dei tre principali autovalori  $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ . Spesso si utilizza anche l'Apparent Diffusion Coefficient, calcolato come un terzo della diffusività media:

$$ADC = \frac{\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3}{3} = \langle \lambda \rangle \quad (2.19)$$

Una proprietà rilevata della traccia è che per b value inferiori a  $1500 \text{ s mm}^{-2}$ . La diffusività media è piuttosto uniforme nel parenchima ( $0,7 \times 10^{-3} \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$ ) [31].

### 2.4.2 La forma del tensore

In letteratura [31, 32] sono stati proposti due approcci per valutare la forma dell'ellissoide derivata dal tensore. Il primo considera il terzo momento dei tre autovalori, detto skewness, e calcolato come:

$$S = \frac{(\lambda_1 - \langle \lambda \rangle)^3 + (\lambda_2 - \langle \lambda \rangle)^3 + (\lambda_3 - \langle \lambda \rangle)^3}{3} \quad (2.20)$$

con  $\langle \lambda \rangle$  pari a (2.19). Per i tensori a forma di sigaro, ovvero aventi  $\lambda_1 > \lambda_2 = \lambda_3$ , la skewness è positiva, mentre è negativa per i tensori a forma di pancake, con  $\lambda_1 = \lambda_2 > \lambda_3$ . Tuttavia considerare il terzo momento degli autovalori può portare ad aumentare la sensibilità al rumore. Un altro modo per valutare quantitativamente la forma del tensore è quello di valutarne la sfericità  $C_s$  (2.21), la linearità  $C_l$  (2.22) e la planarità  $C_p$  (2.23), calcolate rispettivamente come:

$$C_s = \frac{\lambda_3}{\langle \lambda \rangle}$$

(2.21)

$$C_l = \frac{(\lambda_1 - \lambda_2)}{3\langle\lambda\rangle}$$

(2.22)

$$C_p = \frac{2(\lambda_2 - \lambda_3)}{3\langle\lambda\rangle}$$

(2.23)

Questi elementi, la cui somma è pari a 1, perdono significatività nelle regioni in cui il rapporto segnale-rumore è basso, e per questo vengono corrette con un fattore che tiene conto del livello di rumore [31].

#### **2.4.3 L'orientazione del tensore**

L'orientazione delle fibre può essere inferita acquisendo tre immagini pesate in diffusione [31], applicando la pesatura lungo le tre direzioni ortogonali, e creando delle mappe ADC. In queste mappe si rappresenta l'orientazione delle fibre usando i colori primari (e.g. rosso, verde e blu) associati alle direzioni dei tre autovettori principali, come è visibile in figura 17.

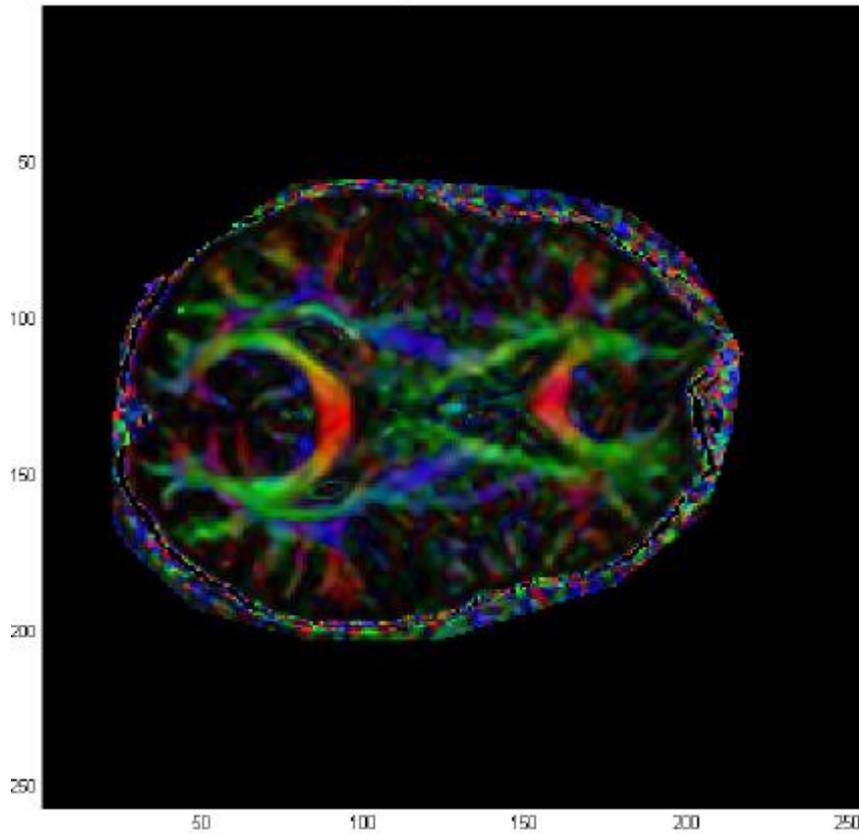


Figura 19 - Mappa ADC a cui alle tre direzioni principali x, y e z sono associate i colori primari. [33].

Seguendo nell'immagine il percorso della variazione di colore lungo la fibra, è possibile ricostruirne la disposizione tridimensionale.

#### 2.4.4 Gli indici di anisotropia

Per valutare il livello di anisotropia, sono stati definiti indici [32] invarianti rispetto al sistema di riferimento utilizzato, in modo da fornire informazioni strutturali intrinseche ed oggettive, a partire dai valori degli autovalori del tensore diagonalizzato. I più usati sono Fractional Anisotropy (FA) (2.24), la Relative Anisotropy (RA) (2.25) e il Volume Ratio (VR) (2.26). La FA è definita come:

$$FA = \frac{\sqrt{3[(\lambda_1 - \langle \lambda \rangle)^2 + (\lambda_2 - \langle \lambda \rangle)^2 + (\lambda_3 - \langle \lambda \rangle)^2]}}{\sqrt{2(\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2)}} \quad (2.24)$$

La FA offre una misura della frazione di tensore associata alla diffusione anisotropa e varia in un range fra 0 (diffusione isotropa) a 1 (diffusione lungo un solo asse). Questo indice è il

più usato in letteratura e attualmente si conosce il valore di FA per le principali strutture dell'encefalo umano [34, 35]. Poiché questa è la misura più utilizzata per la valutazione dell'orientamento delle fibre, si riporta un'analisi più dettagliata del parametro nel capitolo 3 per le strutture d'interesse per questa tesi. L'immagine derivata da FA, in figura 18, è spesso usata per la differenziazione delle fibre cerebrali.

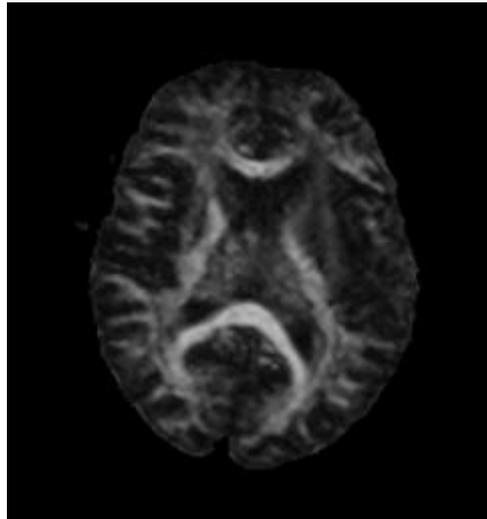


Figura 20 - Immagine di fractional anisotropy, con un range fra 0 e 1.

Un approccio alternativo alla FA è il calcolo della RA:

$$RA = \frac{\sqrt{(\lambda_1 - \langle \lambda \rangle)^2 + (\lambda_2 - \langle \lambda \rangle)^2 + (\lambda_3 - \langle \lambda \rangle)^2}}{\sqrt{3\langle \lambda \rangle}} \quad (2.25)$$

La RA rappresenta la deviazione standard normalizzata, ovvero il rapporto fra componente anisotropa ed isotropa del tensore  $\mathbf{D}$ . Ha un valore compreso fra 0 e  $\sqrt{2}$ .

Infine il VR descrive il rapporto fra il volume dell'ellissoide e quello della sfera di raggio  $\langle \lambda \rangle$ . Il suo range varia da 1 a 0 e viene calcolato secondo la seguente equazione:

$$VR = \frac{\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3}{\langle \lambda \rangle^3} \quad (2.26)$$

In tabella sono riportati i valori di MD e (1-VR) delle principali strutture dell'encefalo umano:

**Tabella 9 - Misure di diffusività in strutture d'encefalo umano non patologico, acquisite con tecnica DWI [25].**

	<b>Diffusività Media</b>	<b>1-Volume Ratio</b>
<b>Fluido cerebro spinale</b>	3.19±0.10	0.02±0.01
<b>Corteccia frontale</b>	0.83±0.05	0.08±0.05
<b>Nucleo caudato</b>	0.67±0.02	0.08±0.03
<b>Tratto piramidale</b>	0.71±0.04	0.93±0.04
<b>Corpo calloso (splenio)</b>	0.69±0.05	0.86±0.05
<b>Capsula interna</b>	0.64±0.03	0.70±0.08
<b>Centro semiovale</b>	0.65±0.02	0.27±0.03

Gli indici sopra descritti caratterizzano pienamente la diffusione in un tessuto e sono complementari l'uno all'altro. Tuttavia, si è osservato che la diffusività media è circa simile sia nella sostanza grigia che in quella bianca, mentre il grado di anisotropia è molto variabile anche all'interno della sostanza bianca stessa [32]. Per questo motivo sono gli indici di anisotropia ad essere i più utilizzati in clinica, in particolare la FA. Essa, oltre che a essere utilizzata per studi quantitativi come "biomarker" d'integrità assonale, è utilizzata come riferimento base della trattografia, di cui si approfondirà successivamente.

Altre applicazioni dei parametri quantitativi della DTI sono nello studio:

- della Sclerosi Multipla: si riscontra un aumento della MD e un calo della FA in corrispondenza delle lesioni;
- delle Demenze di tipo Alzheimer: nei pazienti si riscontra un significativo decremento di FA nel lobo temporale e una variazione di MD dovuta alla demielinizzazione, alla perdita neuronale e ai cambiamenti assonali;
- dello stroke ischemico: il valore del ADC cambia durante le fasi evolutive dello stroke, mentre la FA è incrementata nel emisfero ischemico a causa dell'edema conseguente allo stroke. L'investigazione dei valori di diffusione si è dimostrata uno strumento prognostico per differenziare casi reversibili da quelli irreversibili;

- dell'epilessia: soprattutto nei casi di epilessia refrattaria. La DWI si è dimostrata utile per identificare il loco da operare chirurgicamente;
- dei disordini del movimento (e.g. malattia di Parkinson): DWI usata per una diagnosi differenziale e come aiuto per distinguere i diversi fenotipi della malattia
- dei tumori a carico dell'encefalo: DWI usata per identificare il sottotipo e il grado di tumori appartenenti alle famiglie dei gliomi e meningiomi [24,29].

Tutti questi indici sono relativi a misure intra-voxel, ma è possibile valutare anche le caratteristiche inter-voxel, ad esempio utilizzando un indice detto LI (Lattice Index), che esprime il grado di coerenza direzionale del tensore di un voxel rispetto a quello dei voxel adiacenti.

Nel capitolo successivo si analizzerà il processo per cui da questi indici è possibile risalire alla ricostruzione dei fasci di fibre, ovvero la trattografia.

## 3. La trattografia

---

La trattografia è l'unico metodo non invasivo per identificare i fasci della sostanza bianca cerebrale in vivo. Tuttavia i risultati ottenuti da trattografia, se comparati a quelli ricavati da altre tecniche invasive (e.g. mapping corticale), appaiono difficili da interpretare e difficili da validare. In questo capitolo si analizzeranno le principali tecniche di ricostruzione dei tratti, con particolare interesse riguardo le possibili criticità, fino alle più recenti pubblicazioni riguardanti l'applicazione di questa tecnica in ambito clinico.

### 3.1 Le basi della trattografia

La maggior parte delle tecniche di trattografia si basano sull'ipotesi che, se si hanno degli assoni allineati lungo una stessa direzione, le molecole d'acqua diffonderanno più velocemente lungo la direzione principale piuttosto che in direzioni perpendicolari ad essa. Pertanto, per ricostruire i fasci nervosi (o tratti) è necessario indagare sui processi diffusivi, tenendo conto delle problematiche introdotte dalla modalità d'acquisizione delle immagini pesate in diffusione, nonché dell'anatomia delle regioni d'interesse (ROI, Region Of Interest) indagate. In letteratura [24, 37] esistono più approcci per procedere alla ricostruzione dei tratti (Figura 19):

- l'approccio geometrico (o deterministico)
- l'approccio stocastico (o probabilistico)
- la trattografia basata su modelli globali e atlanti anatomici
- la trattografia basata su proprietà fisiche

All'approccio stocastico e quello geometrico appartengono la maggior parte degli algoritmi utilizzati nella pratica clinica a causa dei vantaggi di cui si parlerà successivamente.

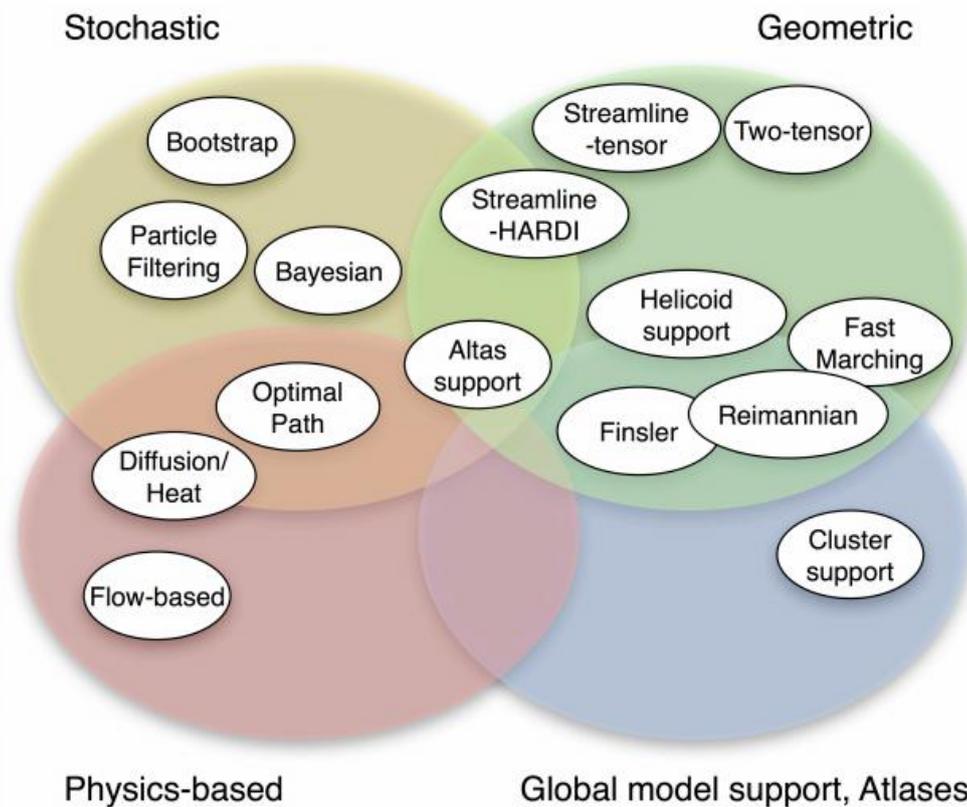


Figura 21 - Schema riassuntivo dei metodi di trattografia. La classificazione è ripartita in quattro metodologie principali: la maggior parte degli algoritmi appartiene ai metodi stocastici e deterministici [38].

**L'approccio deterministico** [24] utilizza il dato ottenuto dall'acquisizione senza tenere conto del rumore sovrapposto e degli effetti di volume parziale. I metodi deterministici di fiber tracking ricostruiscono iterativamente la fibra seguendo la direzione principale di diffusione, che può essere valutata, ad esempio, con il tensore di diffusione. Tale procedimento risulta accurato se la zona interessata è omogenea, ovvero le fibre in quella ROI sono collineari o parallele, e se le variazioni di direzione del fascio di fibre sono dell'ordine di grandezza del voxel. D'altra parte, questi metodi risultano poco efficienti in caso di acquisizioni rumorose [24, 21]. Inoltre, gli errori introdotti dalla modellizzazione per approssimazione di geometrie complesse (e.g. crossing delle fibre) e da una scelta inadeguata del passo d'integrazione, limitano fortemente la capacità rappresentativa dei modelli appartenenti a questa categoria [37]. Alcune di queste problematiche possono essere risolte con modelli deterministici molto complessi come la trattografia HARDI [39] (High Angular Resolution Diffusion Imaging) o utilizzando due tensori di diffusione per voxel (Two-tensor tractography) [40, 41].

**L'approccio probabilistico** [24, 21, 42], al contrario, considera il dato misurato come una variabile stocastica soggetta a rumore casuale, in grado di rappresentare il contenuto rumoroso delle immagini. Questa classe di metodi rappresenta per ogni voxel l'incertezza della direzione della fibra come densità di probabilità (Orientation Density Function, ODF), utilizzata successivamente per valutare i risultati con metodi Bayesiani (e.g. massima verosimiglianza, catene di Markov Monte Carlo) [43]. Utilizzando questi modelli è quindi possibile quantificare e comparare la confidenza con cui diverse regioni cerebrali sono connesse, considerando anche anatomie non realistiche. Questa eventualità di introdurre false connessioni cerebrali penalizza i metodi probabilistici nell'uso clinico, a cui sono preferiti quelli di trattografia deterministica, in quanto producono risultati più affidabili in termini anatomici [37] e con un costo computazionale molto inferiore rispetto al procedimento stocastico.

Le restanti due categorie di algoritmi di trattografia (Figura 19) si basano su fenomeni fisici e sulle proprietà del fascio indagato o atlanti anatomici. Al primo gruppo appartengono, ad esempio, le simulazioni di diffusione impostate su studi di connettività [44], la stima di flusso a stato costante [45] e la propagazione basata su processi diffusivi locali [46]. La trattografia globale, invece, considera le proprietà globali del fascio indagato per tracciarne la traiettoria, [47], basandosi anche sull'informazione fornita dagli atlanti anatomici (e.g. Atlante Susumu Mori della sostanza bianca) e l'analisi con clustering [21].

## 3.2 Algoritmi di trattografia deterministica

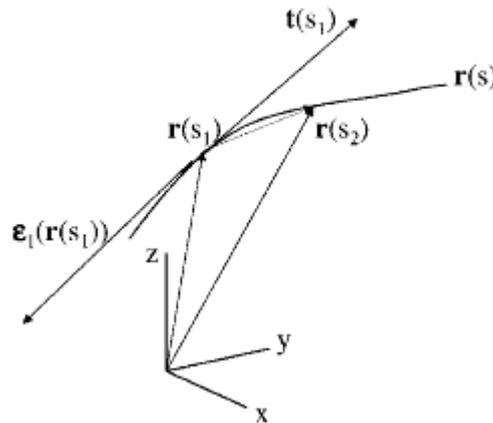
I principali algoritmi di trattografia deterministica sono qui classificati e brevemente descritti. Quasi tutti si basano su metodi iterativi, che considerano la griglia di voxel come una griglia di punti e quindi necessitano d'interpolazione, per passare dalla misura discreta a quella continua.

### 3.2.1 Metodi streamline basati sul calcolo del tensore

In questi metodi, la traiettoria ( $\mathbf{r}(s)$ ) viene ricostruita intuitivamente passo per passo seguendo l'informazione locale fornita dagli autovettori e dagli autovalori del tensore di diffusione, a partire da un punto di inizializzazione detto *seed point*. La traiettoria può essere rappresentata come una curva tridimensionale composta da una catena di vettori che viene parametrizzata dalla lunghezza d'arco  $s$  secondo l'equazione di Frenet:

$$\frac{dr(s)}{ds} = t(s) \quad (3.1)$$

dove  $t(s)$  è il versore tangente alla traiettoria  $r(s)$  nel punto considerato, come è più chiaramente visibile in figura 20.



**Figura 22 - Traiettoria rappresentata come curva 3D  $r(s)$ . Il vettore tangente  $t(s)$  è identificato come l'autovettore associato all'autovalore principale del tensore di diffusione [18].**

Poiché si assume che la fibra sia parallela all'autovettore principale del voxel associato al punto, il vettore tangente  $t(s)$  coincide con l'autovettore  $\epsilon_1$  a cui è associato l'autovalore principale calcolato in posizione  $r(s)$ :

$$t(s) = \epsilon_1(r(s)) \quad (3.2)$$

Sostituendo, quindi, questa equivalenza nell'equazione (3.1) si ottiene:

$$\frac{dr(s)}{ds} = \epsilon_1(r(s)) \quad (3.3)$$

Il sistema costituito dalle tre equazioni implicite (3.1), (3.2) e (3.3) viene risolto imponendo la condizione iniziale, data dal seed point:

$$r(0) = r_0 \quad (3.4)$$

Il sistema può essere risolto con diversi metodi numerici:

- il metodo di Eulero
- il metodo di Runge-Kutta
- il metodo di Diffusion Tensor Deflection

Il metodo di Eulero, a partire dal seed point  $\mathbf{r}(0)$ , valuta il tensore di diffusione  $\mathbf{D}(\mathbf{r}(0))$ , e approssima la posizione del punto più vicino attraverso un'espansione in serie di Taylor, ottenendo:

$$r(s_1) \sim r(s_0) + \alpha \varepsilon_1(r(s_0)) \quad (3.5)$$

dove  $\alpha$  è il passo d'integrazione, d'ampiezza circa pari a metà voxel [18] e mantenuto costante durante tutta la trattografia. Questo procedimento viene ripetuto iterativamente considerando il nuovo punto  $\mathbf{r}(s_1)$  calcolato:

$$r(s_{t+1}) \sim r(s_t) + \alpha \varepsilon_1(r(s_t)) \quad (3.6)$$

L'accuratezza di questo algoritmo è limitata dall'espansione di Taylor troncata al prim'ordine, che di conseguenza porta all'accumulazione ad ogni step degli errori d'approssimazione della traiettoria.

Il metodo di Runge-Kutta supera i limiti del metodo di Eulero approssimando la traiettoria al secondo ordine o successivi, rendendone quindi la stima più affidabile [18]. Il metodo di Runge Kutta del secondo ordine, anche detto "metodo del punto medio", approssima la traiettoria alla tangente calcolata nel punto iniziale e ricalcola la tangente a metà del passo d'integrazione, garantendo così una migliore approssimazione in caso di cambi improvvisi di traiettoria [48]. Il metodo sviluppato al quarto ordine, e da noi utilizzato per calcolare i tratti, utilizza la media pesata di quattro tangenti alla traiettoria per ogni passo d'integrazione [21].

Questi due algoritmi, molto simili, si basano quindi interamente sull'autovalore associato all'autovettore principale  $\varepsilon_1$  e per questo risultano poco performanti in caso di acquisizioni rumorose, decremento del livello di anisotropia (e.g. in zone edematose) ed effetti di volume parziale.

Il metodo di Diffusion Tensor Deflection è un'alternativa ai due metodi base sopra descritti e prevede lo studio della deflessione della la direzione di propagazione della fibra proposta in formula 3.1 utilizzando tutto il tensore di diffusione [49]. La formula di aggiornamento diventerà quindi:

$$v_{out} = \lambda_1(\alpha_1 \varepsilon_1 + \frac{\lambda_2}{\lambda_1} \alpha_2 \varepsilon_2 + \frac{\lambda_3}{\lambda_1} \alpha_3 \varepsilon_3) \quad (3.7)$$

in cui  $\lambda_i$  sono gli autovalori associati agli autovettori  $\varepsilon_i$  con relativi passi d'integrazione  $\alpha_i$  ( $i=1,2,3$ ). La deflessione risulterà maggiore quanto più sarà accentuata l'anisotropia del tensore ad ogni passo [49, 50].

Questo algoritmo è più robusto al rumore introdotto dall'acquisizione e a bassi valori di anisotropia, ma tende a sottostimare la curvatura rispetto alle due tecniche precedenti. Alcuni autori hanno quindi proposto di combinare il metodo di Runge-Kutta con la Tensor Deflection, al variare del parametro di Fractional Anisotropy, ottenendo ottimi risultati sia in immagini rumorose che in quelle con effetti di volume parziale [49, 33].

### 3.2.2 Metodi streamline HARDI e trattografia a due tensori

Si stima che in almeno il 30% dei voxel in immagini DWI esistono minimo due tratti percorrenti traiettorie non collineari [51]. Questo problema non può essere risolto con i metodi sopra descritti e pertanto sono stati sviluppate altre tecniche, come HARDI e la trattografia a due tensori, in grado di risolvere gli errori dovuti ad effetti di volume parziale (Figura 33), per cui il modello basato sul tensore di diffusione risulta insufficiente.

Nella tecnica HARDI si indaga la diffusione con l'utilizzo di 40 o più direzioni di gradiente per ogni voxel, rilevando le direzioni di massima anisotropia. Ad esempio, nel caso del crossing due fibre, si avranno quattro massimi di diffusione in corrispondenza delle due direzioni dei fasci (per ogni direzione si hanno due massimi che puntano in verso opposto) [41]. Questa tecnica è molto dispendiosa dal punto di vista computazionale, anche se permette di evidenziare molteplici direzioni di diffusione.

Il metodo di streamline a due tensori [52, 53], invece, calcola la trattografia considerando due tensori di diffusione che descrivono i fenomeni diffusivi indagati lungo due piani

separati da un certo angolo. In figura 21 è rappresentata la soluzione proposta in caso di fibre soggette a crossing [52]: a sinistra si osserva come appare una ROI per cui ad ogni voxel è associato un tensore di diffusione, rappresentato da una forma tridimensionale che suggerisce la disposizione delle tre componenti principali. A destra, la stessa ROI è indagata applicando la tecnica dei due tensori, che riesce a risolvere un crossing delle fibre nella regione evidenziata in rosso. Si osserva come i due tensori, sovrapposti per ogni voxel, siano molto allungati, segno che la diffusione è chiaramente lungo due direzioni, corrispondenti ai due fasci di fibre intersecanti.

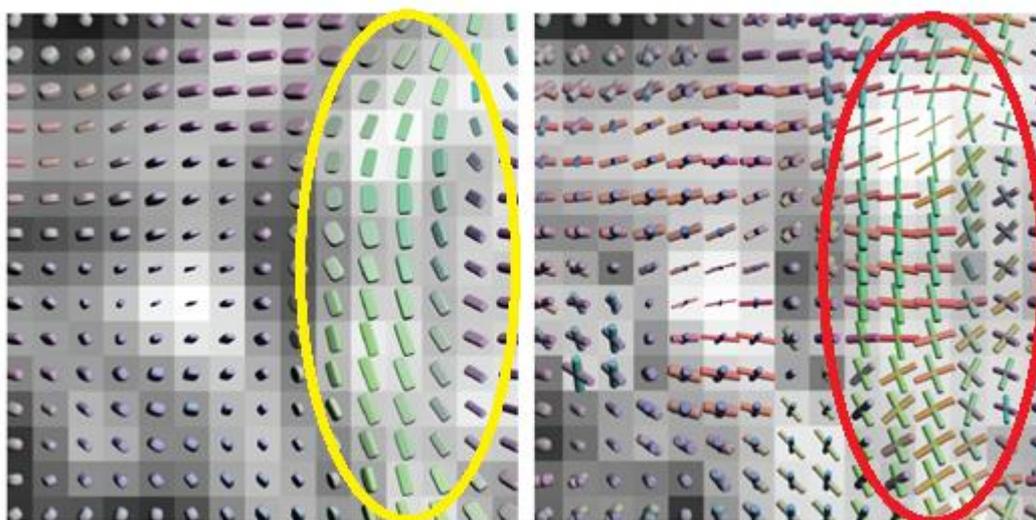


Figura 23 - Stessa ROI caratterizzata con un tensore (a sinistra) e con due tensori di diffusione(a destra). E' chiaramente visibile la lacuna informativa dell'immagine a sinistra (in giallo), dovuta all'incapacità di rappresentare delle fibre che si incrociano [38].

### 3.2.3 Altri algoritmi deterministici

- Fiber Assignment by Continuous Tracking (FACT): trattografia ricavata utilizzando un sistema di coordinate continuo, invece che la matrice discreta basata sul voxel. Questo metodo non necessita d'interpolazione [54].
- Fast Marching Tractography: esegue trattografia basandosi su una funzione costo: la connessione fra due ROI è risolta come percorso a minimo costo [55].
- Analisi geometrica con metrica di Riemannian, in cui ogni tensore è considerato come una curvatura dello spazio in cui si possono trovare percorsi geodetici [56].

### 3.3 Criteri di stop degli algoritmi deterministici streamline basata su tensore

Poiché la trattografia basata sul modello di tensore di diffusione è soggetta agli errori sopra descritti, è necessario stabilire dei parametri che determinino l'affidabilità del tratto ricavato ad ogni step e ne terminino le iterazioni, dato che, a differenza di altri algoritmi più complessi come quelli probabilistici, ad ogni iterazione non è noto il grado di confidenza del calcolo, né l'incertezza associata. I due criteri più comunemente utilizzati [24] per terminare un algoritmo streamline sono la soglia di FA e l'angolo di curvatura della fibra.

La scelta del primo criterio è motivata dal fatto che bassi valori di FA sono associati a incertezza sulla direzione principale di diffusione. Si andrà quindi a definire una soglia minima al di sotto della quale l'algoritmo non è più attendibile. I valori della soglia di FA in sostanza bianca cerebrale si attestano nel range 0.15 - 0.20 [18], in quanto sono il confine fra FA di sostanza grigia ( $<0.18$ ) e sostanza bianca ( $>0.18$ ).

L'angolo di curvatura massima è invece il limite angolare imposto fra due passi d'integrazione successivi. Questo criterio si fonda anche su osservazioni anatomiche, che escludono la presenza di fasci nervosi con curvature repentine. In figura 22 è possibile analizzare la risposta dei metodi Eulero e Runge-Kutta a un test effettuato per vedere la capacità di tracciare traiettorie curve, all'aumentare dell'angolo di curvatura. L'algoritmo risulta performante se al crescere dell'angolo di curvatura esso è in grado di descrivere correttamente la circonferenza: man mano che la curvatura aumenta e quindi il raggio della circonferenza diminuisce, cala anche l'abilità del metodo di Eulero di restare su una traiettoria circolare, portando a tracciare false traiettorie nell'intorno della circonferenza. Il metodo di Runge-Kutta, al contrario, la percorre interamente, anche ad angoli di curvatura elevati.

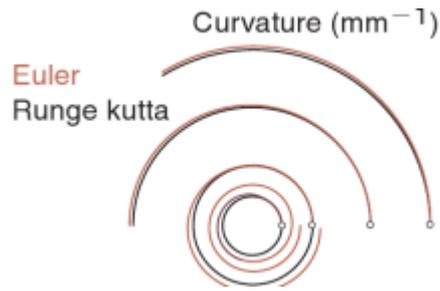


Figura 24 - Risposta degli algoritmi di Eulero (rosso) e Runge-Kutta (nero) al crescere dell'angolo di curvatura. La curvatura aumenta con il diminuire del raggio e pertanto una circonferenza con raggio piccolo è più difficile da seguire. Il metodo di Runge-Kutta si dimostra il più valido [24].

L'angolo massimo generalmente tollerato fra due step successivi è dell'ordine di 0.7 - 0.8 radianti [18].

In base al fascio che si desidera ricostruire bisogna tenere conto delle conoscenze anatomiche a priori fornite dagli atlanti anatomici e quindi impostare degli opportuni criteri di stop.

### 3.3.1 Il corpo calloso

Il corpo calloso concorre al coordinamento dei movimenti, grazie alle sue fibre che mettono in comunicazione l'emisfero destro con quello sinistro. Ne deriva che lesioni a questa formazione encefalica si riflettono in deficit di coordinazione motoria.

Diversi autori hanno studiato la distribuzione dei valori di FA all'interno del VOI corpo calloso, determinandone i valori medi. Un approccio interessante è stato proposto da Hofer e Frahm [57], che hanno analizzato la regione del corpo calloso in 8 pazienti sani, proponendo un proprio schema di suddivisione anatomica del corpo calloso (Figura 23):

- zona I: regione prefrontale
- zona II: regione premotoria e motoria supplementare
- zona III: regione motoria
- zona IV: regione sensoriale
- zona V: regione parietale, occipitale e temporale

ottenendo i valori medi normalizzati di FA riportati in tabella 2.

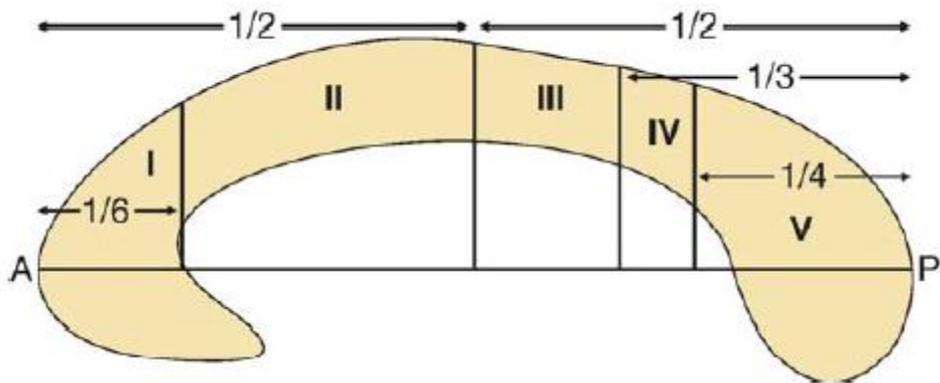


Figura 25 - Parcellizzazione in vista medio sagittale: A= anteriore, P= posteriore [57].

Tabella 10- Valori di FA per ogni parcellizzazione [57].

Regione	FA media normalizzata $\pm$ standard deviation
I (prefrontale)	0.95 $\pm$ 0.05
II (premotoria)	0.95 $\pm$ 0.05
III (motoria primaria)	0.88 $\pm$ 0.05
IV (sensoriale primaria)	0.85 $\pm$ 0.05
V (parietale)	1.00 $\pm$ 0.05
V (temporale)	0.90 $\pm$ 0.05
V (visuale)	1.15 $\pm$ 0.05

I risultati osservati hanno evidenziato una differenza di valori di FA fra i soggetti analizzati, con tuttavia una tendenza a valori elevati di FA nelle zone anteriori (I) e posteriori (V). Nelle zone interne (II, III, IV) i valori sono compresi fra 0.2 e 0.5. La differenza nei valori può essere collegata all'orientazione compatta delle fibre in quelle regioni in cui si registrano valori di FA maggiori.

Seoung et al. [35] hanno affrontato analogamente la stima del valore di FA suddividendo il corpo calloso in 4 aree (Figura 24):

- genu (a)
- corpo (b)
- piccola porzione (c)
- splenio (d)

e derivandone i valori medi su 11 soggetti (Tabella 3), provvedendo inoltre ad operare un confronto sui propri risultati, ripetendo l'esperimento con DWI acquisite lungo 6, 15 e 32 direzioni e angolo di curvatura massimo di 45°.

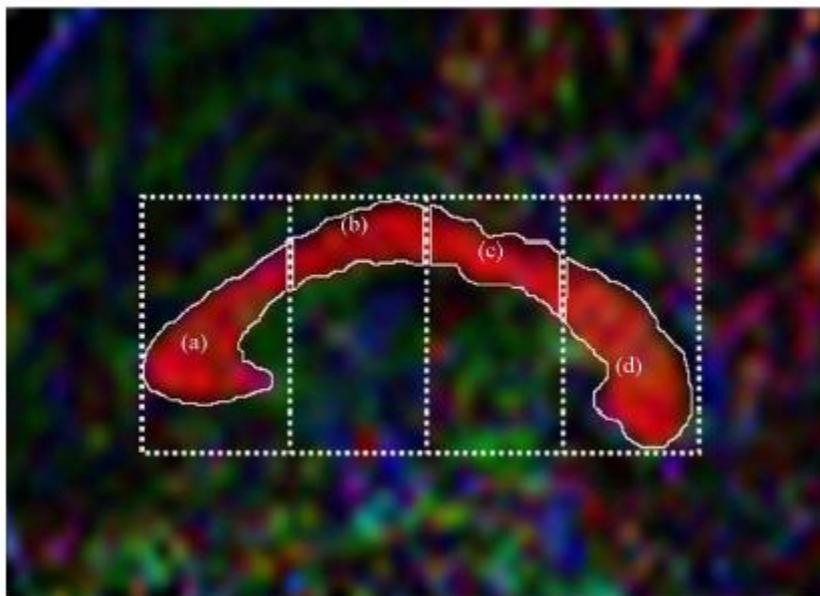


Figura 26 - Parcellizzazione del corpo calloso in genu, corpo, porzione piccola e splenio in vista sagittale [35].

Tabella 11 - Valori di FA e numero di fibre all'aumentare del numero di gradienti utilizzati per l'acquisizione e lunghezza delle fibre ottenute [35].

sede	Lunghezza fibre (mm)	6 grad (2m, 54s)		15 grad (6m, 9s)		32 grad (12m, 18 s)	
		N fibre	FA	N fibre	FA	N fibre	FA
<b>a</b>	11.22±1.87	50.55±9.96	0.689±0.026	60.82±10.16	0.594±0.181	60.91±10.07	0.569±0.186
<b>b</b>	6.40±1.02	32.6±2.50	0.709±0.024	39.91±5.03	0.624±0.022	39.27±4.84	0.603±0.019
<b>c</b>	3.58±0.82	25.00±5.42	0.706±0.026	34.73±6.56	0.607±0.02	34.64±7.28	0.586±0.023
<b>d</b>	10.66±1.56	49.64±7.70	0.728±0.030	59.55±11.54	0.625±0.018	60.55±11.64	0.602±0.021

Il loro studio ha indagato, oltre che il valore di FA ricavato con un vario numero di gradienti, anche la lunghezza e il numero di fibre individuate in funzione delle direzioni d'acquisizione. Seoung et al. hanno concluso che esiste una correlazione fra la grandezza anatomica del corpo calloso e il numero di tratti, proporzionale al numero di gradienti utilizzati. La FA, al contrario, sembra non dipendere dalla grandezza anatomica ne essere sensibile alle variazioni di gradiente.

### 3.3.2 Fascio corticospinale

Il tratto corticospinale (CST, Cortico-Spinal Tract) contiene la maggior parte degli assoni motori che connettono il midollo spinale all'encefalo. A livello della decussazione della piramide si divide in due fasci, che vanno a interessare rispettivamente l'emisfero destro e quello sinistro. L'attivazione del fascio corticospinale determina la contrazione di muscoli coinvolti nei movimenti distali rapidi o che richiedono abilità motoria. Lesioni a questo tratto possono manifestarsi con spasticità, calo dei riflessi e perdita di capacità di compiere movimenti distali.

In tabella 4 sono riportati i valori mediati di FA su 30 volontari adulti sani [34]. Si riscontrano valori di FA maggiori nel CST sinistro rispetto a quello destro, che si ipotizzano essere dovuti alla direzionalità strutturale delle fibre e alla densità delle stesse. Generalmente, per questo tratto non vengono imposti vincoli particolari sull'angolo di curvatura [35].

Tabella 12 - Valori di FA per CST destro e sinistro (media su 30 pazienti sani) [34].

Regione	Emisfero sinistro	Emisfero destro
Medulla allungata	0.435±0.152	0.423±0.147
Ponte	0.528±0.131	0.502±0.134
Penducolo cerebrale	0.684±0.114	0.660±0.122
Limbo posteriore della capsula interna (parte anteriore)	0.633±0.092	0.640±0.093
Limbo posteriore della capsula interna (parte posteriore)	0.674±0.080	0.645±0.098
Corona radiata	0.606±0.068	0.590±0.068
Centro semiovale	0.497±0.069	0.497±0.069

### 3.3.3 Fascicolo arcuato

Il fascicolo arcuato appartiene al fascicolo longitudinale superiore e connette la porzione temporale dell'encefalo con la corteccia frontale, in particolare l'area di Wernicke con l'area di Broca. Danni al questo tratto possono portare ad afasia. I valori tipici di FA per questo fascio sono riportati in tabella 5 [59].

Tabella 13 - Valori di FA per il fascicolo arcuato destro e sinistro mediati su dieci pazienti sani [59].

Fascicolo Arcuato	Valore FA
Emisfero destro	0.508±0.035
Emisfero sinistro	0.503±0.027

### 3.3.4 Fascicolo uncinato

Il fascicolo uncinato è un tratto della sostanza bianca che connette parte del sistema limbico del lobo temporale con la corteccia orbito frontale, situata nel lobo frontale. Tuttavia non si conosce ancora la sua funzione, anche se alcune ipotesi suggeriscono che l'uncinato dell'emisfero sinistro sia coinvolta nella specializzazione del linguaggio [24]. Il fascio invece localizzato nell'emisfero destro sembrerebbe coinvolto in processi di memoria verbale-uditiva e memoria dichiarativa. Valori tipici di FA sono riportati in tabella 6 [59].

Tabella 14 - Valori di FA per il fascicolo uncinato destro e sinistro mediati su dieci pazienti sani [59].

Fascicolo uncinato	Valore FA
Emisfero destro	0.477±0.053
Emisfero sinistro	0.485±0.041

La curvatura utilizzata in pratica clinica per eseguire la trattografia di questo fascio ha valori meno stringenti, permettendo angoli di curvatura anche di 60° [60], data la natura della struttura studiata.

## 3.4 Selezione della regione di interesse

La ricostruzione dei tratti può essere inizializzata in più modi:

- a partire dal singolo voxel
- a partire da più voxel indipendenti
- a partire da più voxel appartenenti tutti alla stessa ROI

Il primo metodo corrisponde all'inizializzazione puntuale con un solo seed, localizzato in un singolo voxel [24]. Il secondo considera invece come inizializzazione una nuvola di punti disposta in una regione di pixel delineata dall'utente [37]. Spesso, con questa metodologia, è possibile impostare il numero di seeds desiderati o lo spazio fra uno un seed e l'altro. I risultati del primo e secondo sono generalmente insoddisfacenti [18] poiché generano fasci troppo sottili. Inoltre, con questa inizializzazione è difficile ricavare i tratti d'interesse, poiché non si hanno abbastanza vincoli nella definizione della traiettoria, come invece accade nel terzo approccio, detto anche "brute-force-approach". Esso impone il passaggio dei tratti in più ROI selezionate su diverse slice. Le diverse ROI possono anche

essere combinate tramite operatori booleani (AND, OR e NOT), raffinando così i fasci delineati dalla trattografia. Il numero di ROI selezionate è variabile ed è correlato alla selettività dell'algoritmo, con un vantaggioso aumento della riproducibilità e della precisione [61, 62].

La delineazione delle ROI è eseguita manualmente e richiede la conoscenza anatomica delle zone in cui s'intende effettuare il fiber tracking. Questo procedimento può essere facilitato dall'aggiunta di informazioni funzionali fornite per esempio dalla tecnica di fMRI.

L'accuratezza della segmentazione delle ROI è migliorata grazie all'utilizzo di immagini ad alta risoluzione spaziale (e.g. RM pesate in  $T_1/T_2$ ) e coregistrando il tensore di diffusione, sottoforma di mappa di colori, o la FA con l'immagine scelta per la delineazione. In questo modo è infatti possibile sovrapporre informazioni anatomiche ad informazioni correlate all'orientamento dei fasci nervosi.

Al fine di migliorare la riproducibilità sono stati definiti protocolli per la segmentazione delle principali strutture di interesse trattografico.

#### **3.4.1 Corpo calloso**

Il protocollo per la selezione delle ROI del corpo calloso prevede la segmentazione di tre o più slice sagittali consecutive a partire dalla linea mediana [57]. In figura 25 si riportano un esempio di segmentazione del corpo calloso in vista sagittale, ottenuto sovrapponendo alla MR anatomica le mappe di colore del tensore. Lo schema di colori utilizzato in questo caso identifica la struttura con il colore rosso e permette una sua facile delineazione. In figura, si può anche osservare il contorno della zona già segmentata.

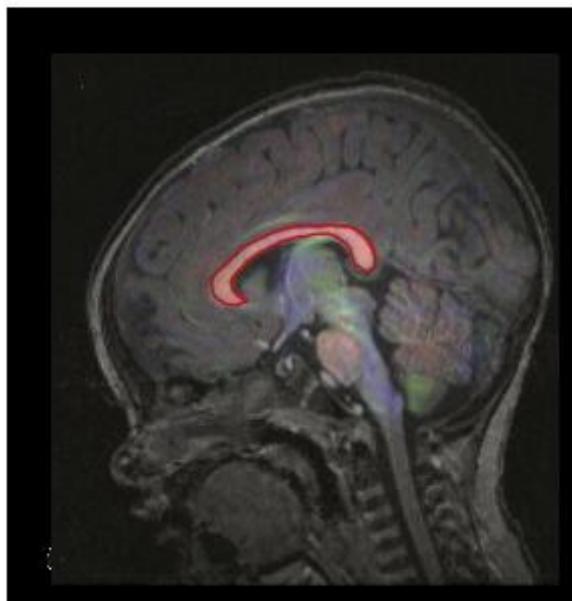


Figura 27 - Corpo calloso segmentato a partire dal tensore di diffusione, registrato a risonanza magnetica [63].

### 3.4.2 Fascio corticospinale

La trattografia di questo fascio può essere eseguita seguendo diversi protocolli:

1. Posizionando tre ROI [64]: la prima (Figura 26a) a livello dell'area motoria, nella circonvoluzione prerolandica destra o sinistra, a seconda che si voglia delineare il tratto destro o sinistro del CST, La seconda (Figura 26b) a livello della capsula interna destra ed infine la terza (Figura 26c) è all'altezza del penducolo mesencefalico destro. In figura 26 sono rappresentate le ROI descritte, relative all'emisfero destro.

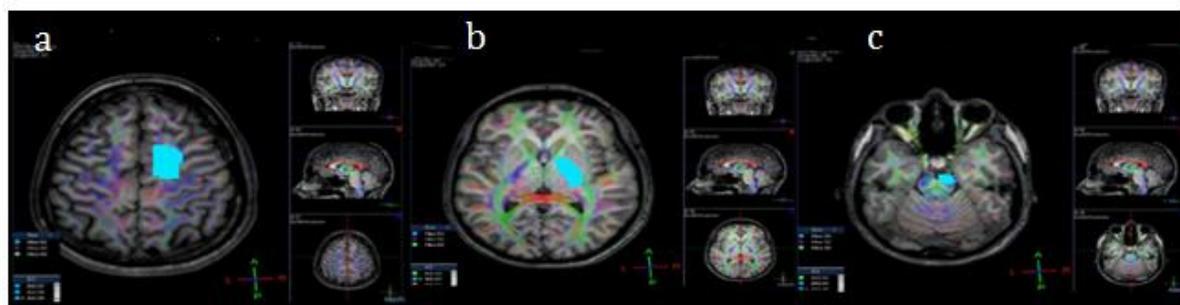


Figura 28 - Selezione delle tre ROI descritte [65].

2. Tracciando due o tre ROI consecutive in sezione coronale, a livello della slice in cui è visibile la circonvoluzione prerolandica (Figura 27) [66].

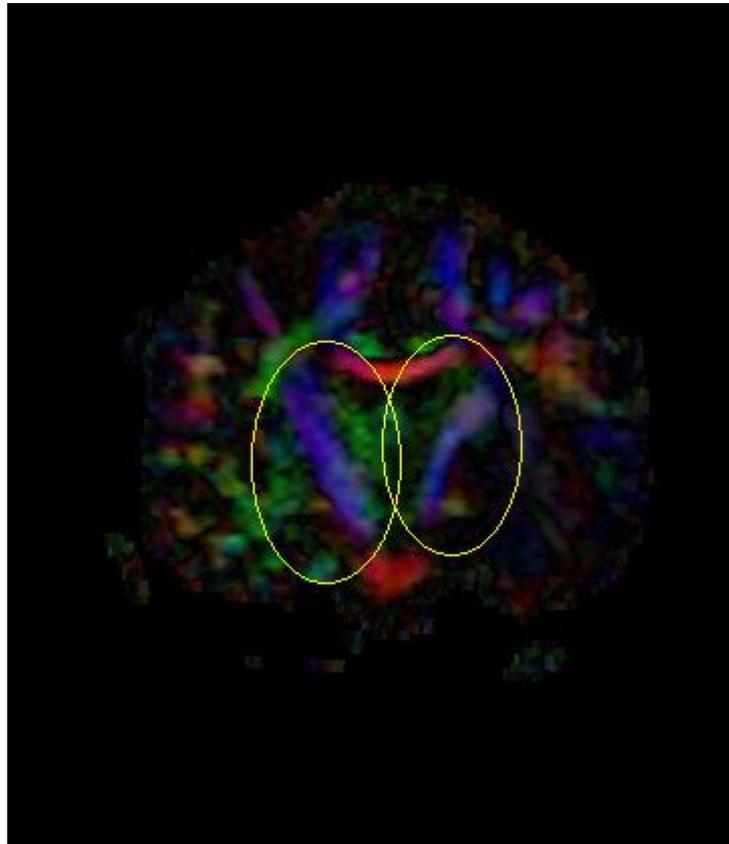


Figura 29 - Visualizzazione coronale del tratto corticospinale destro e sinistro in blu [66].

### 3.4.3 Fascicolo arcuato

Anche per questo fascio sono proposte due soluzioni:

1. Selezione di due ROI in vista sagittale: la prima è posizionata a livello dell'area di Wernicke mentre la seconda è posta nell'area di Broca, come visualizzato in figura 28 [65].

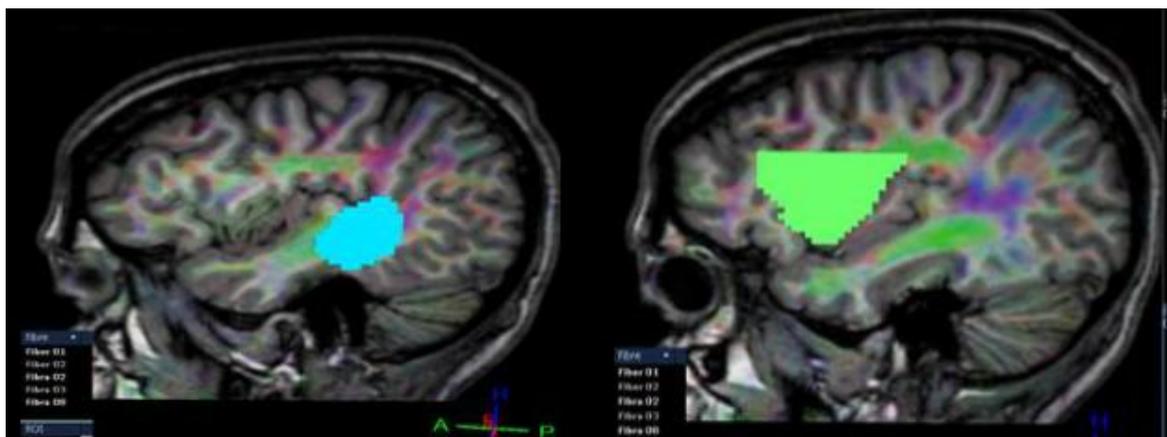


Figura 30- Selezione della ROI nell'area di Wernicke (sinistra) e Broca (destra) [65].

2. Selezione di una ROI in sezione coronale all'altezza in cui è visibile la fornice in sezione assiale, circa nel mezzo del limbo posteriore della capsula interna (Figura 29.a) e di una seconda ROI in una slice coronale a livello sagittale medio, posizionata in mezzo allo splenio del corpo calloso (Figura 29.b) [64].

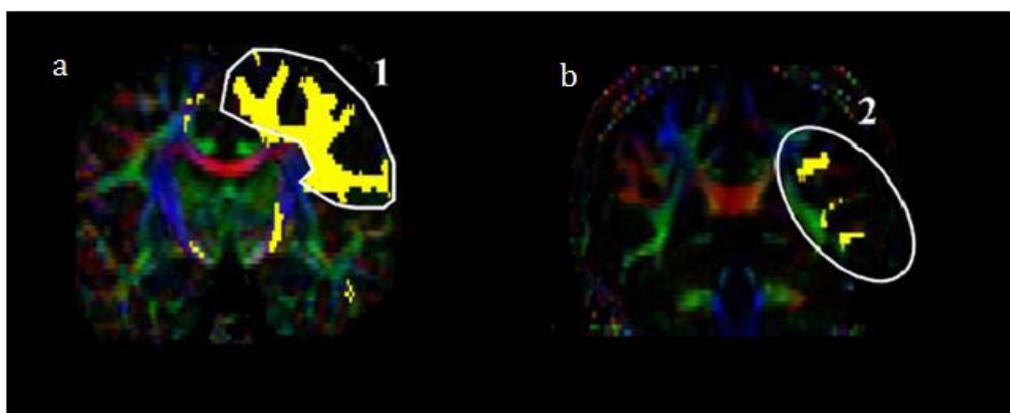


Figura 31 - Selezione delle due ROI sul tensore di diffusione in vista coronale secondo il protocollo sopra descritto [64].

3. Selezione di due o tre ROI posizionate in vista assiale all'altezza della corteccia (Figura 30.a). La ROI può essere estesa se si riconosce il tratto in vista sagittale (Figura 30.b), all'altezza dello splenio del corpo calloso [67].

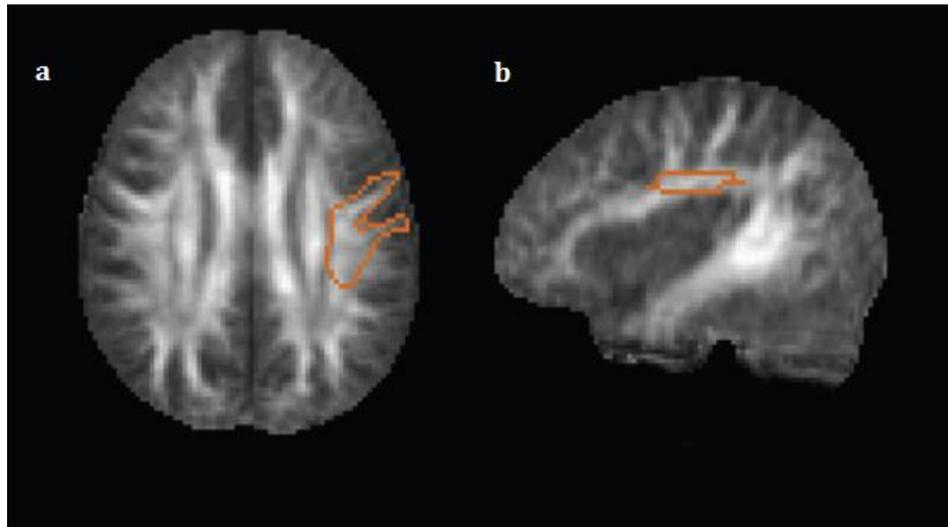


Figura 32 - Selezione di ROI per il fascicolo arcuato in vista assiale (a) e sagittale (b) [67].

#### 3.4.4 Fascicolo uncinato

La trattografia del fascicolo uncinato risulta complessa a causa dell'angolazione delle fibre, che si scontra con l'imposizione di un criterio d'arresto nella ricostruzione iterativa, limitandone così l'accuratezza. Questo è tanto più evidente quanto più questo fascio è dislocato o compromesso da infiltrazione patologiche. La selezione delle ROI è eseguita in vista coronale, nella slice più posteriore in cui è possibile osservare la separazione fra lobo temporale e frontale. Si selezionano quindi due ROI: la prima include l'intero lobo temporale, mentre la seconda coinvolge le proiezioni delle fibre che si estendono verso il lobo frontale (Figura 31) [64].

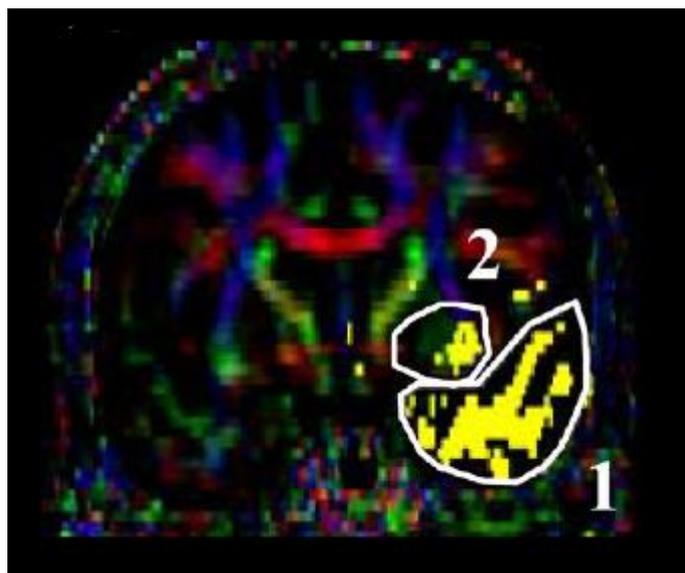


Figura 33 - Le due ROI che identificano il fascicolo uncinato (1,2) in sezione coronale, calcolate sul tensore di diffusione. Il fascicolo uncinato, in questa rappresentazione, è caratterizzato dal colore verde [64].

### 3.5 Validazione dei tratti

Una volta selezionata la ROI e applicati gli algoritmi di trattografia iterativa, è possibile visualizzare i fasci di fibre ottenuti come sovrapposizione alle mappe iniziali. Un esempio di trattografia è riportato a seguito (Figura 32).

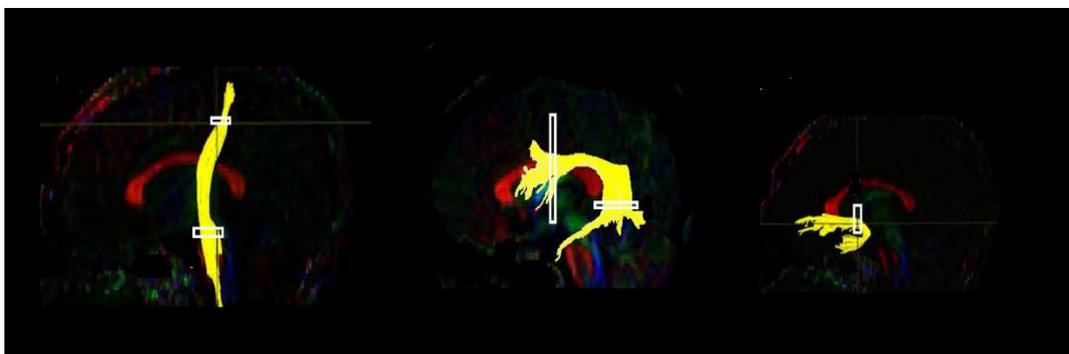


Figura 34 - Da sinistra: trattografia del CST, del fascicolo arcuato e del fascicolo uncinato [64].

La vera validazione dei tratti ricostruiti tramite un algoritmo di trattografia è l'osservazione in vivo dei fasci stessi. Pertanto, questo tipo di validazione è possibile solo nei pazienti da sottoporre ad intervento di neurochirurgia, in cui spesso i fasci ottenuti sono utilizzati come strumento complementare di neuro navigazione. A. Romano et al. [15] hanno valutato i fasci ricavati da trattografia in prossimità di lesioni in venticinque pazienti. L'analisi dei risultati è eseguita in fase preoperatoria in doppio cieco da due neuro radiologi esperti, mentre in fase intraoperatoria un neurochirurgo operatore ha il compito di verificare le

immagini trattografiche. I risultati di questa validazione sono stati soddisfacenti, tanto da suggerire l'integrazione dei tratti nei sistemi di neuro navigazione.

La validazione dei risultati può essere eseguita anche in modo meno invasivo attraverso comparazione con atlanti anatomici, o per confronto con fantocci fisici o fantocci software ricostruiti ed attraverso analisi statistiche dei risultati [24, 68] hanno analizzato statisticamente i risultati ottenuti da trattografia streamline tramite il software FiberViewer, suddividendo in cluster i tratti secondo proprietà geometriche e riscontri anatomici. La trattografia è stata eseguita sei volte, a partire da sei DWI acquisite con direzioni diverse, producendo output simili, convalidando così la riproducibilità del metodo e l'attendibilità dei tratti. Nel 2004 A.J. Taylor et al. [69] hanno testato diversi algoritmi trattografici utilizzando un fantoccio fisico da loro costruito, un fantoccio software e degli atlanti anatomici, riscontrando attendibilità nei risultati in assenza di effetti di volume parziale. Più recentemente S. Pujol [70] ha proposto delle linee guida per valutare l'attendibilità del tratto prodotto, basandosi su criteri qualitativi e quantitativi. La correttezza anatomica del tratto, la presenza di falsi positivi o falsi negativi, la distanza fra la lesione e i tratti ed infine la presenza di dislocazione o infiltrazione del tumore sono dei parametri clinici qualitativi che il neurochirurgo o il neuro radiologo deve esaminare, al fine di considerare attendibile il risultato della trattografia. Invece, quantitativamente sono significativi la distanza di Housdorff, il coefficiente di sovrapposizione e il profilo di FA e MD lungo il tratto.

Non per ultimo, una trattografia può essere comprovata combinando le informazioni ricostruite con altre tecniche di imaging funzionale, e.g. la PET, la fMRI dipendente dal livello di ossigenazione del sangue e metodi elettrofisiologici come la magneto-encefalografia (MEG), in grado di fornire informazioni complementari. K. Tertel et al. [71] hanno eseguito test di memoria su pazienti di cui disponevano della trattografia dell'intero encefalo. Attraverso la stimolazione elettrocorticale, hanno isolato fasci nervosi coinvolti nel task, con l'ausilio dell'immagine trattografica, convalidando in questo modo la connettività cerebrale. In modo analogo, K. Zhang et al. [72] hanno cercato la validazione con l'imaging funzionale, giungendo anch'essi ad affermare il vantaggio della combinazione dei due tipi d'informazione nella diagnosi delle MTBI (Mild Traumatic Brain Injury). T. Okada et al. [17] hanno provato l'utilità della trattografia del CST con

potenziali motori evocati, in fase intraoperatoria, utilizzando poi il tratto disegnato come guida alla neurochirurgia.

L'applicazione più diffusa degli studi di trattografia riguarda pazienti patologici, in cui è ancora più complesso validare i risultati ottenuti, in quanto nelle ROI presentano valori di anisotropia e diffusività media che si discostano dai parametri normali (vedi 2.2.4), che possono condurre al fallimento dell'algoritmo di ricostruzione del tratto. In questi casi quindi si preferisce combinare l'informazione a priori fornita dagli atlanti anatomici, con altre tecniche di imaging ed analisi statistica, nonché sottoponendo i risultati ottenuti a parere di esperti.

### 3.5.1 Limiti della trattografia

La performance di un algoritmo di trattografia è spesso limitata da tre fattori: la rumorosità delle immagini, gli effetti di volume parziale e bassi valori di FA. Il rumore, dovuto all'acquisizione, può essere ridotto con un filtro passa basso oppure può essere considerato nell'algoritmo, come si verifica negli algoritmi probabilistici. I bassi valori di FA sono connessi al rumore oppure possono essere correlati alla patologia del paziente. Tra gli effetti di volume parziale i più importanti sono merging, quando due fasci di fibre, orientati diversamente l'uno dall'altro, tendono ad avvicinarsi tanto che la direzione principale di diffusione dei due fasci coincide, per poi separarsi nuovamente in due direzioni diverse (Figura 33.a), crossing, quando due fasci si intersecano (Figura 33.b) e splitting (Figura 33.c), quando da un fascio di fibre si dirama un fascio secondario con orientazione diversa dal ramo principale [73].

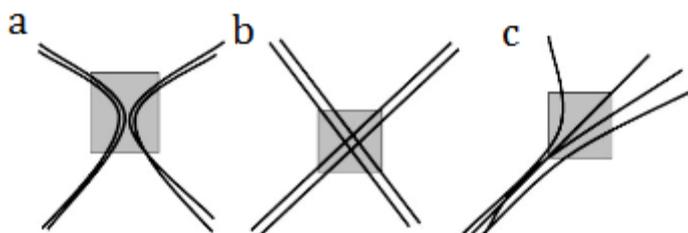


Figura 35 - Rispettivamente da sinistra, merge, crossing e splitting di fasci di fibre nella ROI d'interesse (in grigio) [73].

A causa dei tre fattori sopra descritti il tensore di diffusione non avrà una direzione principale, poichè gli autovalori associati a  $\varepsilon_2$  e  $\varepsilon_3$  saranno non nulli in corrispondenza del merging, crossing e splitting, oppure la direzione principale verrà sottostimata in conseguenza a bassi valori di FA [42, 62].

### **3.6 Applicazioni della trattografia**

La trattografia, se attendibile, è uno strumento applicabile allo studio e alla cura di tante patologie encefaliche. Come già riportato nel capitolo 2 (§2.4.4), i parametri estrapolabili dalla trattografia, come FA e MD, possono essere utili nella diagnosi e nel controllo delle demenze, della sclerosi multipla, dello stroke, dell'epilessia e dei disordini del movimento. M. Pizzolato [33] ha analizzato e rilevato differenze nei tratti dei due emisferi in pazienti soggetti a sclerosi multipla; S. Naganawa et al. [74] hanno proposto di utilizzare la trattografia per la prognosi di pazienti sottoposti a traumi cerebrali, in quanto la DTI può fornire informazione sull'integrità assonale, aiutando a diagnosticare i danni assonali diffusi (DAI) causati da accelerazioni improvvisi o rotazioni non eque, come quelle causate da incidenti stradali. C. Yu et al. [66] hanno identificato i cambiamenti di breve e lungo termine nei parametri di diffusione, attraverso trattografia, nella degenerazione del CST a seguito di stroke in nove pazienti, affermando che tali risultati sono in grado di predire gli sviluppi futuri della degenerazione di Wallerian. P. Freund et al. [75] hanno dimostrato il valore informativo della trattografia nel CST di pazienti affetti da SPI (Spinal Cord Injury) sia per la diagnosi di tale patologia, che nel follow up dei pazienti. Anche nella Deep Brain Stimulation (DBS) è utilizzata l'informazione della DTI per valutare le connessioni cerebrali, oltre agli effetti diretti e correlati della DBS [76].

#### **3.6.1 La trattografia nel trattamento di lesioni della sostanza bianca**

La trattografia, tuttavia, è spesso utilizzata come strumento ausiliario al trattamento di lesioni encefaliche, che possono interessare i fasci nervosi in diversi modi:

- possono dislocare il fascio, lasciandolo parzialmente integro;
- possono infiltrare i fasci;
- possono compromettere il tratto con la massa tumorale o con l'edema derivato;

Uno studio condotto da Yen et al. [77] ha analizzato le alterazioni della sostanza bianca in pazienti oncologici (in tabella 7, 43 lesioni analizzate), fornendo le variazioni di FA rispetto all'emisfero sano. In particolare, l'analisi mirava allo sviluppo di uno strumento di

valutazione a priori dell'integrità del fascio, al fine di valutare la strategia più appropriata per ogni singolo tratto (preservazione o resezione) nel successivo intervento chirurgico. I risultati ottenuti permettono sia di valutare come la patologia influisca su valore di FA (tabella 7), sia di correlare la patologia al tipo di compromissione (tabella 8).

**Tabella 15 - Valori di FA in fasci della sostanza bianca adiacenti alla lesione e confrontati con l'emisfero sano. Nell'ultima colonna è evidenziata la discrepanza percentuale fra FA patologica e sana (CST=tratto corticospinale F=frontale Unc=fascicolo uncinato IOF=fascicolo inferiore occipitale OR=radiazione ottica SLF=fascicolo longitudinale superiore ILF=fascicolo longitudinale inferiore SOF=fascicolo occipitofrontale superiore CTT=tratto tegmentale centrale Cin=cingolo CP=peduncolo cerebrale) [77].**

N	Età	Sesso	Diagnosi	Tratti coinvolti	Caratteristiche	FA normale	FA patologica	Δ FA %
7	67	M	Metastasi	L ILF	Edema	0.3122	0.2647	17.94
				R CST	Edema	0.3892	.3870	0.57
8	55	F	Metastasi	L IOF	Edema	0.3666	0.3592	2.06
				L OR	Edema	0.3740	0.3532	5.89
17	64	M	Glioma	L Unc	Edema	0.2017	0.2520	-19.96
1	44	F	Meningioma	L CST	Dislocamento	0.4087	0.4166	-1.90
2	51	F	Meningioma	L F	Dislocamento	0.3762	0.3449	9.08
3	80	F	Meningioma	L Unc	Dislocamento	0.4631	0.4752	-2.55
				L CST	Dislocamento	0.4745	0.4240	11.91
4	58	F	Meningioma	R OR	Dislocamento	0.5489	0.6041	-9.14
				R CST	Dislocamento	0.4754	0.6115	-22.26
				R SLF	Dislocamento	0.4018	0.3790	6.02
				R SOF	Dislocamento	0.5720	0.4453	28.45
9	37	F	Metastasi	L OR	Dislocamento	0.3385	0.3910	-13.43
10	37	M	Glioma pontino e cisti aracnoidea	L Unc	Dislocamento	0.2474	0.3082	-19.73
12	31	M	Glioblastoma multiforme	L CST	Dislocamento	0.5633	0.5434	3.66
				L OR	Dislocamento	0.4018	0.4332	-7.25
13	37	F	Glioblastoma multiforme	L IOF	Dislocamento	0.3219	0.3371	-4.51
15	18	F	Neuroma acustico	L CP	Dislocamento	0.4661	0.4962	-6.07
				L CST	Dislocamento	0.3788	0.5051	-25.00
16	53	M	Neuroma acustico	R CP	Dislocamento	0.4373	0.4854	-9.91
				R CST	Dislocamento	0.4323	0.5150	-16.06
20	50	M	PNET	R CST	Dislocamento	0.4649	0.6363	-26.94
4	58	F	Meningioma	R IOF	Infiltrazione	0.3768	0.3375	11.64
12	31	M	Glioblastoma multiforme	L IOF	Infiltrazione	0.2424	0.4194	-42.20
13	37	F	Glioblastoma multiforme	R SLF	Infiltrazione	0.3961	0.4776	-17.06
				R Cin	Infiltrazione	0.2803	0.3043	-7.89
14	29	F	Neuroma trigeminale	L CP	Infiltrazione	0.3682	0.5546	-33.61
17	64	M	Glioma	L IOF	Infiltrazione	0.2535	0.3100	-18.23
				L CST	Infiltrazione	0.4995	0.4682	6.69

18	69	M	Glioma	R OR	Infiltrazione	0.3136	0.3773	-16.88
20	50	M	--	R CST	Infiltrazione	0.3975	0.4806	-17.29
5	44	F	Metastasi	R CST	Infiltrazione	0.2819	0.3716	-24.14
6	67	M	Metastasi	R ILF	Distruzione	0.2188	0.3776	-42.06
10	37	M	Glioma pontino e cisti aracnoidea	CTT	Distruzione	0.3255	0.5141	-36.69
11	13	M	Astrocitoma pilocitico	L IOF	Distruzione	0.0000	0.2469	-
	13			L CST	Distruzione	0.3196	0.3895	-17.95
13	37	F	Glioblastoma multiforme	R CST	Distruzione	0.2117	0.2941	-28.02
	37			R CST	Distruzione	0.3273	0.4119	-20.54
18	69	M	Oligodendroglioma	R IOF	Distruzione	0.2705	0.4197	-35.55
19	23	F	Ependimoma	R IOF	Distruzione	0.2604	0.4046	-35.64
21	22	F	Gliosi	R ILF	Distruzione	0.1889	0.4128	-54.24
	22			R IOF	Distruzione	0.2383	0.3037	-21.53

**Tabella 16 - Classificazione dei 43 casi di lesione, in base all'effetto causato sul fascio nervoso d'interesse [77].**

Tipo di coinvolgimento	Tipo di lesione	Numero di tratti studiati
<b>Edema</b>	Metastasi	4
	Glioma	1
<b>Infiltrazione</b>	Glioblastoma multiforme	3
	Glioma	2
	Tumori extra-assiali	2
	Oligodendroglioma	1
	PNET	1
<b>Dislocazione</b>	Tumori extra-assiali	12
	Glioblastoma multiforme	3
	PNET	1
	Glioma pontino	1
	Metastasi	1
<b>Distruzione</b>	Glioblastoma multiforme	2
	Metastasi	2
	Astrocitoma pilocitico	2
	Gliosi	2
	Oligodendroglioma	1
	Ependimoma	1
	Glioma pontino	1

Nell'ultimo decennio il campo della neuro e radio chirurgia si è avvalso delle informazioni derivate dalla DTI per il trattamento delle lesioni encefaliche della sostanza bianca: Gulati et al. [12] hanno studiato venticinque pazienti affetti da gliomi di alto grado, integrando alla DTI la fMRI BOLD, ed arrivando a prevedere le conseguenze funzionali della neurochirurgia, nonché a ridurre i margini del target da trattare, riducendo l'impatto dell'operazione sul paziente. R. Prat et al. [78] e Pantelis et al. [14] hanno valutato positivamente l'utilizzo di DTI e fMRI nella resezione chirurgica di gliomi di alto grado.

In particolare, Pantelis et al. hanno confrontato il piano di trattamento precedente con quello in cui si sono introdotti i tratti calcolati dalla DTI come OAR, riscontrando elevate dosi quando essi non erano considerati come OAR.

La trattografia è altrettanto sfruttata nel campo della radioterapia: R. Jena et al. [79] hanno provato l'importanza di ottenere informazioni sulla zona peri tumorale nel trattamento radioterapico di gliomi di alto grado. Infatti, ricostruendo i tratti della zona peri tumorale, è possibile ricavare un nuovo piano di trattamento, con margini calcolati in base alle informazioni introdotte dalla DTI. In figura 34 è possibile osservare la modifica del PTV ottenuta nei sette pazienti a seguito della DTI.

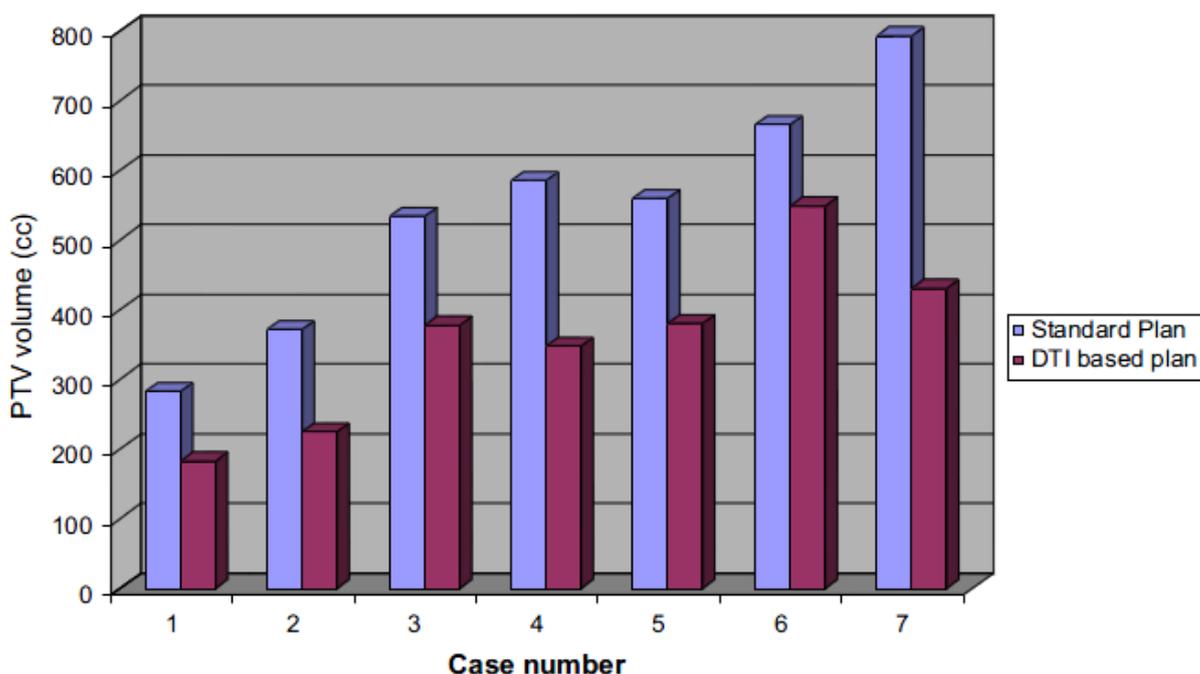


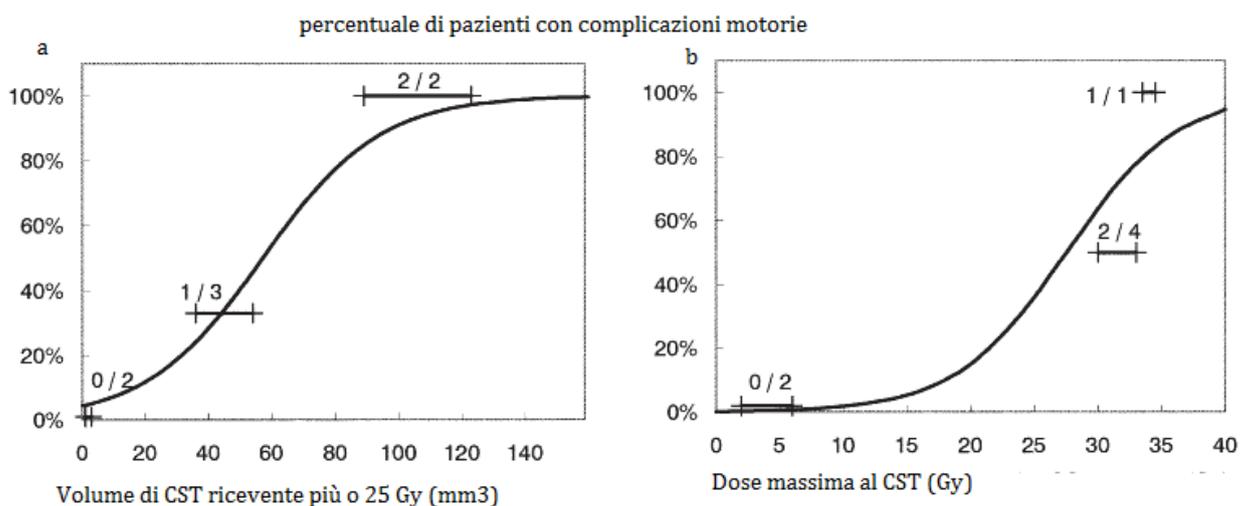
Figura 36 - Riduzione del Planning Target Volume nei TP's includenti DTI (rosso), confrontato con i TP's standard (blu) [79].

L'evidenza clinica è stata dimostrata soprattutto per quelle particolari lesioni che sono poco aggressive o addirittura benigne, come le malformazioni arterovenose (MAV) [79]. Il trattamento chirurgico operato in questi casi porta, infatti, con sé il rischio di compromettere i fasci nervosi adiacenti con gravi conseguenze per il paziente. Maruyama et al. [81, 82] hanno svolto studi approfonditi su MAV coinvolgenti tratti importanti come il CST e il fascicolo arcuato. Il tratto corticospinale è stato analizzato in sette pazienti con MAV adiacente ad esso. Nello studio [82] è stata indagata la quantità di dose ricevuta dal

tratto, correlandola agli effetti del trattamento durante un follow up di in media 22 mesi. In tabella 9 si possono osservare i dati preliminari e i risultati ottenuti, da cui emerge la possibilità del 50% di avere complicazioni motorie quando più di 60 mm<sup>3</sup> del CST ricevono 2500 cGy di dose o quando la dose massima è di 2800 cGy (Figura 35).

**Tabella 17 - Caratteristiche dei pazienti e del rilascio della dose del Gamma Knife. In tabella si rappresentano le caratteristiche delle lesioni, con il rilascio di dose massima e ai margini. Inoltre è elencata la quantità di volume del CST che riceve più di 20 e 25 Gy [82].**

Caso	Età/ sesso	Posizione della lesione	Dose (cGy)			Volume CST (mm <sup>3</sup> )		Follow Up (mesi)	Complicazioni post GK
			Max	Margin	Max CST	al ≥20	≥25		
1	28 M	Corteccia motoria	4000	2000	3000	452	123	22	Transiente
2	11 M	Talamo, capsula interna	4000	2000	3000	302	89	24	Permanente
3	34 F	Corteccia sensoriale	4000	2000	3100	217	54	19	-
4	19 F	Talamo, capsula interna	4000	2000	3300	132	50	19	-
5	20 F	Putamen	4000	2000	3400	105	36	22	Transiente
6	31 F	Corteccia sensoriale	4000	2000	200	0	0	32	-
7	25 F	Talamo, capsula interna	4000	2000	600	0	0	25	-



**Figura 37 - Curva di risposta stimata relativa allo sviluppo di complicazioni motorie transienti o permanenti in relazione al volume di CST irradiato con dose maggiore o uguale a 25 Gy (a) e alla quantità di dose massima ricevuta (b). Le barre numerate indicano la percentuale di pazienti che hanno sviluppato complicazioni [82].**

Gli stessi autori hanno studiato il fascicolo arcuato [81] il fascicolo arcuato (AF, Arcuate Fasciculus) integrandolo a posteriori nei TPs di 12 pazienti sottoposti a trattamento con Gamma Knife. In tabella 10 si possono osservare le caratteristiche dei pazienti e i disturbi del linguaggio connessi al trattamento rilevati nel Follow Up.

**Tabella 18 - Dati clinici dei 12 pazienti sottoposti a trattamento con Gamma Knife in cui è stato integrato il fascicolo arcuato nel TP [81].**

<b>Età/ sess o</b>	<b>Posizione</b>	<b>Presentazioni</b>	<b>Target Volume (cm3)</b>	<b>Dose ai margin i (cGy)</b>	<b>Dose max AF (cGy)</b>	<b>Dose &lt; 800 cGy a AF</b>	<b>Follow Up</b>	<b>Distur bi</b>
<b>Regione frontale</b>								
<b>48 M</b>	Parietalesx	Emorragia	12.9	2000	3000	613	31	Transi ente
<b>59 M</b>	Insulare sx	Emorragia	1.1	200	1680	58.7	52	-
<b>41 F</b>	Frontale sx	Epilessia	18.9	1700	1090	125	23	-
<b>27 F</b>	Centro semiovale sx	Ipertensione cranica	3.5	2000	1080	81.1	27	-
<b>27F</b>	Frontale sx	Ischemia	11.3	2000	1000	70.9	17	-
<b>53 M</b>	Frontale sx	Incidentale	2.5	2000	80	0	34	-
<b>22 F</b>	Putamen sx	Emorragia	0.4	2000	-	-	23	Preced enti
<b>21 F</b>	Frontale sx	Emorragia	2.7	2000	-	-	17	Preced enti
<b>Regione temporale</b>								
<b>45 M</b>	Ippocampo sx	Mal di testa	10.3	2000	960	12.2	34	Transi ente
<b>47 F</b>	Temporale sx	Emorragia	7.3	2000	520	0	50	-
<b>37 M</b>	Temporale sx	Mal di testa	3.0	2000	470	0	23	-
<b>49 F</b>	Temporale sx	Mal di testa	2.7	2000	360	0	42	-

I risultati di questo studio hanno portato ad affermare l'esistenza di una soglia di tolleranza di 800-1000 cGy per le fibre del fascicolo arcuato temporali, mentre quelle appartenenti al lobo frontale possono sopportare dosi fino a 2000 cGy.

Più recentemente Koga, Maruyama et al. [83] hanno analizzato la riduzione di morbilità conseguente all'introduzione della trattografia nei trattamenti stereotassici in 144 pazienti con MAV, avvalendosi anche dei risultati degli studi precedenti. Le MAV erano tutte dislocate in prossimità del fascicolo arcuato (tabella 10), del tratto piramidale del CST

(tabella 9) e del nervo ottico (tabella 11). Nonostante non sia stato possibile delineare in tutti i pazienti i tre tratti considerati, essi sono arrivati a stabilire soglie di dose (a frazione singola) oltre le quali i fasci citati sono irreparabilmente danneggiati:

- <2000 cGy al tratto piramidale;
- <800 cGy per il nervo ottico;
- <800 cGy per il fascicolo arcuato nel lobo temporale;
- <2000 cGy per l'arcuato nel lobo frontale;

**Tabella 19 - Per ogni paziente, valori di dose massima ricevuta dal nervo ottico e disturbi post trattamento [83].**

<b>Età/sexo</b>	<b>Dose massima (cGy)</b>	<b>Disturbi post gamma knife</b>	<b>Mese della comparsa del disturbo post GK</b>
<b>18 M</b>	3200	quadrantanopsia	37
<b>41 F</b>	1200	Emicrania risolta	14
<b>35 M</b>	920	Allucinazioni visive	37
<b>29 F</b>	840	Emicrania sviluppata	15
<b>40 F</b>	760	-	-
<b>58 F</b>	760	-	-
<b>39 M</b>	760	-	-
<b>19 M</b>	280	Risolti	-
<b>30 F</b>	240	-	-
<b>18 F</b>	200	-	-

In base ai risultati ottenuti, si sono valutati i piani di trattamento con l'inserimento dei limiti di dose per i fasci considerati, valutati come OAR e l'informazione aggiunta si è rivelata fondamentale per modificare la dosimetria del TP, al fine di ridurre gli effetti collaterali del trattamento sui pazienti.

Il possibile impatto di un utilizzo clinico della trattografia risulta evidente da questa sintetica panoramica delle tecniche di trattografia e delle sue possibili implicazioni. Nonostante ciò, il suo utilizzo nella clinica radioterapica è ancora fortemente limitato ad un confronto visuale in fase di pianificazione, per i soli casi in cui sia stato acquisito un dataset DTI.

Pertanto, nel prossimo capitolo si propone un protocollo generale per l'acquisizione, l'elaborazione e l'integrazione della tecnica di DTI in un piano di trattamento, che è stato testato su un piccolo data set di pazienti con astrocitomi candidati a radioterapia, al fine di valutare sia l'applicabilità del metodo sia la validità dell'informazione aggiunta,

confrontando i piani formulati secondo il protocollo standard e dopo l'integrazione dei tratti.

## 4. Metodi

Per questo lavoro di tesi si è disposto di due casi di lesioni localizzate nella sostanza bianca trattati nel 2011 presso l'Unità Operativa di Radioterapia dell'Istituto IRCCS Carlo Besta di Milano. Ogni paziente è stato sottoposto a un esame di MR anatomica, ad una acquisizione CT e una sequenza DWI a 12 gradienti. Per ogni caso si è proceduto come descritto in figura 36:

1. elaborazione delle sequenze DWI, per aumentare il rapporto segnale volume;
2. registrazione di MR e DWI nel sistema di riferimento CT;
3. trattografia e inserimento dei fasci nel piano di trattamento;
4. simulazione di un trattamento VMAT con tratti non considerati OAR;
5. ottimizzazioni con tratti considerati OAR;

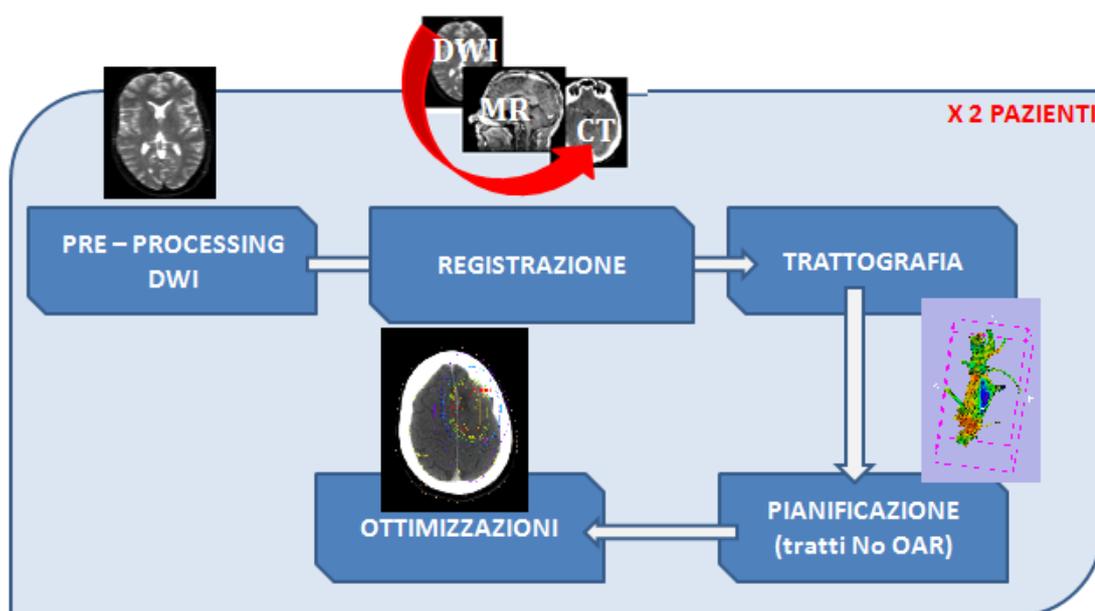


Figura 38 - Protocollo proposto: elaborazione della sequenza DWI, registrazione su CT, trattografia, pianificazione e ottimizzazioni.

### 4.1 Dataset

Il dataset utilizzato per questo lavoro conta due pazienti trattati presso IRCCS Besta per glioma di medio grado nell'emisfero sinistro, con caratteristiche rappresentate in tabella 12.

Tabella 20- Caratteristiche cliniche dei pazienti, caratterizzanti la lesione

	<b>Età/sexo</b>	<b>Tipo di lesione</b>	<b>Edema</b>
<b>#1</b>	36 M	Oligoastrocitoma anaplastico	Presente ed esteso
<b>#2</b>	38 F	Astrocitoma anaplastico	Presente ed esteso

Per entrambi i pazienti si dispone di una sequenza CT, una MR (Tabella 132) e di immagini pesate in diffusione (Tabella 14) con specifici sistemi di riferimento e direzioni d'acquisizione. La sequenza da 56 CT è stata acquisita assialmente con macchinario Philips Brilliance. La MR, pesata in T<sub>1</sub> e contrasta con gadolinio, è stata acquisita sagittalmente con una macchina Avanto Siemens da 1.5 Tesla. Con la stessa si sono acquisite le DWI, utilizzando una sequenza EPI con caratteristiche indicate in Tabella 3. Per il paziente 1 sono state effettuate 8 acquisizioni lungo 12 direzioni, più una sequenza con gradienti spenti (B<sub>0</sub>), mentre Il paziente 2 è stato sottoposto a una sola acquisizione lungo le 12 direzioni, più B<sub>0</sub>.

Tabella 21 - Caratteristiche della CT e MR per i due pazienti.

	<b>CT</b>	<b>MR (T<sub>1</sub>)</b>
<b>#1</b>		
	<b>Dimensioni</b>	512*512*56
	<b>Voxel (mm)</b>	0.683*0.683*3
	<b>Formato</b>	Dicom
	<b>Acquisizione</b>	Assiale
<b>#2</b>		
	<b>Dimensioni</b>	512*512*56
	<b>Voxel (mm)</b>	0.683*0.683*3
	<b>Formato</b>	Dicom
	<b>Acquisizione</b>	Assiale

Tabella 22 - Caratteristiche delle sequenze DWI acquisite per i due pazienti.

DWI	
<b>#1</b>	
<b>Dimensioni</b>	192*256*64
<b>Voxel (mm)</b>	1*1*2
<b>Formato</b>	Dicom multiframe (1536*2048)
<b>Acquisizione</b>	Assiale
<b>b-value (s/mm<sup>2</sup>)</b>	1000
<b>N° gradienti</b>	12 + 1 b <sub>0</sub>
<b>TE</b>	92 ms
<b>TR</b>	8.6 s
<b>N° acquisizioni</b>	8
<b>#2</b>	
<b>Dimensioni</b>	192*256*64
<b>Voxel (mm)</b>	1*1*2
<b>Formato</b>	Dicom multiframe (1536*2048)
<b>Acquisizione</b>	Assiale
<b>b-value (s/mm<sup>2</sup>)</b>	1000
<b>N° gradienti</b>	12+ 1 b <sub>0</sub>
<b>TE</b>	92 ms
<b>TR</b>	8.6 s
<b>N° acquisizioni</b>	1

Le sequenze sono state elaborate e registrate con l'utilizzo di 3D Slicer 4.1 [84], un software open source per la visualizzazione e l'elaborazione delle immagini mediche, con toolkit appositi per il filtraggio, la registrazione e la trattografia.

#### 4.2 Elaborazione delle immagini DWI

Al fine di migliorare il SNR (§2.3) della sequenza DWI si esegue un'operazione di smoothing: per il primo paziente questa è realizzata attraverso la media delle otto sequenze acquisite, mentre per le DWI del secondo si è operato un filtraggio Joint Rician con 3D Slicer [85]. Il filtro rimuove il rumore di Rician o dettagli indesiderati dalle DWI, operando il filtraggio lungo le dodici direzioni contemporaneamente.

#### 4.3 Registrazione

Successivamente si procede con la registrazione delle sequenze DWI e MR a CT, in quanto è nel sistema di riferimento CT che si esegue la dosimetria del piano di trattamento. La registrazione è effettuata con il modulo di 3D Slicer "Expert Automated Registration". Questo modulo permette di effettuare registrazioni rigide, affini e BSpline a seconda della

necessità, fornendo come output la sequenza registrata e la trasformazione che porta l'immagine da registrare (in questo caso ad esempio la MR) nel sistema di riferimento dell'immagine scelta come riferimento (in questo caso la CT). La trasformazione rigida ha sei gradi di libertà, permettendo quindi rotazioni e traslazioni, mentre l'affine ha in aggiunta un fattore di scaling. Il modulo scelto compie iterativamente la registrazione utilizzando come metrica la mutua informazione di Mattes [86], che differisce dalla mutua informazione standard per il fatto che il campionamento dei pixel avviene soltanto nei bin selezionati dell'istogramma. In questo modo è possibile modulare l'accuratezza e il costo computazionale. Per lo scopo di questa tesi, si sono valutate trasformazioni rigide e affini poiché le sequenze da registrare, benché acquisite in modalità diverse, sono dello stesso soggetto e sono state effettuate in un lasso temporale tale da non giustificare deformazioni. In realtà una trasformazione rigida potrebbe essere sufficiente, ma non potrebbe compensare le distorsioni presenti nella DWI.

Poiché le DWI sono composte da più sequenze sovrapposte, la registrazione tra DWI e un altro dataset scelto come riferimento deve essere operata su una sequenza alla volta. Se le DWI sono registrate fra di loro, saranno in ogni caso soggette alla medesima trasformazione, che in questo lavoro è calcolata direttamente tra  $B_0$  e l'immagine di riferimento. La scelta è motivata dal fatto che la sequenza  $B_0$  è acquisita con gradienti spenti e per questo è meno distorta.

La registrazione avviene per fasi successive:

1. verifica della registrazione dei dodici gradienti. Se necessario, si registrano i gradienti fra di loro, usando come immagine di riferimento la  $B_0$ ;
2. registrazione della DWI su MR anatomica;
3. registrazione della MR su CT;
4. registrazione della DWI su CT. Per lo scopo si utilizza la trasformazione calcolata nel punto 3.

#### **4.4 Trattografia**

Per ricostruire i tratti è necessario ricavare prima di tutto il tensore di diffusione. Si ricorre quindi al modulo di 3D Slicer "Diffusion tensor estimation" [87], che attraverso la stima ai minimi quadrati ricava il tensore di diffusione per ogni voxel della sequenza di immagini. Da esso si ottiene la misura di Fractional Anisotropy con il modulo "Diffusion tensor

scalar measurements" e si può ricavare quindi la trattografia. Essa ha lo scopo di disegnare i tratti peri tumorali, che per entrambi i pazienti sono il corpo calloso, il tratto corticospinale e il fascicolo arcuato. L'approccio utilizzato è quello deterministico streamline di Runge Kutta approssimato al quarto grado (cfr. §3.2.1), che richiede la definizioni di ROI multiple [24]. La segmentazione, eseguita in 3D Slicer, è stata facilitata dalla sovrapposizione della MR anatomica al tensore di diffusione precedentemente calcolato.

Il corpo calloso è stato ricavato come descritto nel paragrafo §3.4.1 (Figura 37).

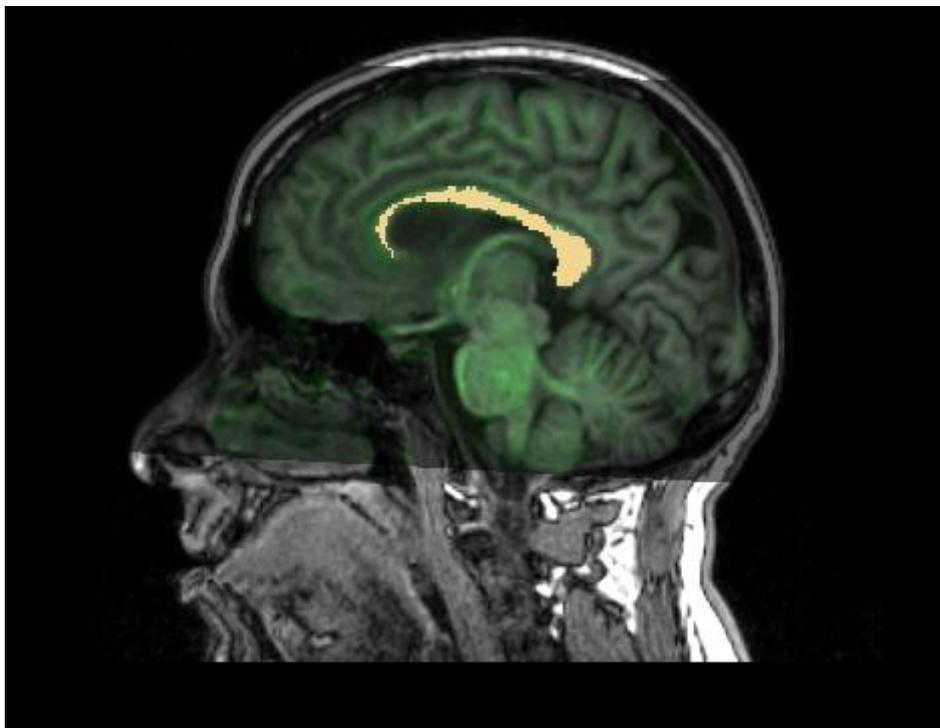


Figura 39 - Selezione della ROI su slice sagittale di immagine MR anatomica (in toni di grigio), sovrapposta a immagine di FA (in verde) registrata.

Il tratto corticospinale è stato segmentato come descritto nel paragrafo §3.4.2., punto due (Figura 38).

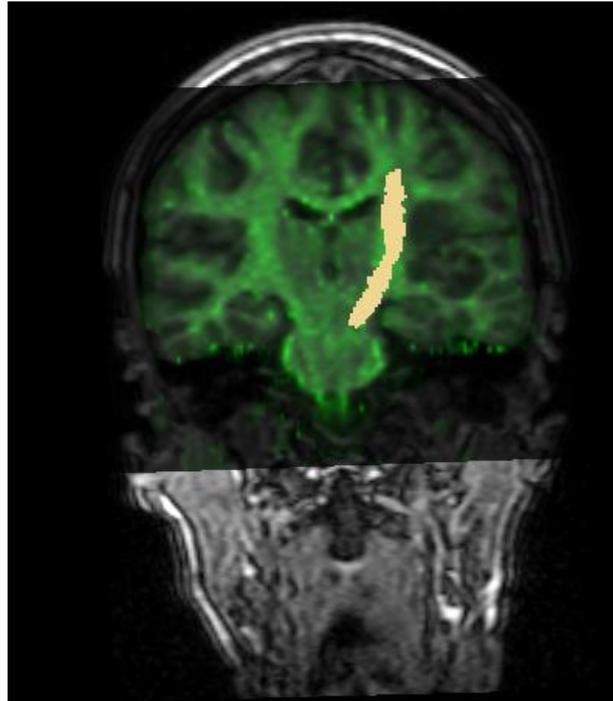


Figura 40 - Selezione della ROI su MR (in toni di grigio) sovrapposta a FA (in verde) per il fascio corticospinale nell'emisfero sinistro in vista coronale.

Infine il fascicolo arcuato si è ottenuto come descritto nel punto 3 del paragrafo §3.4.3 (Figura 39).

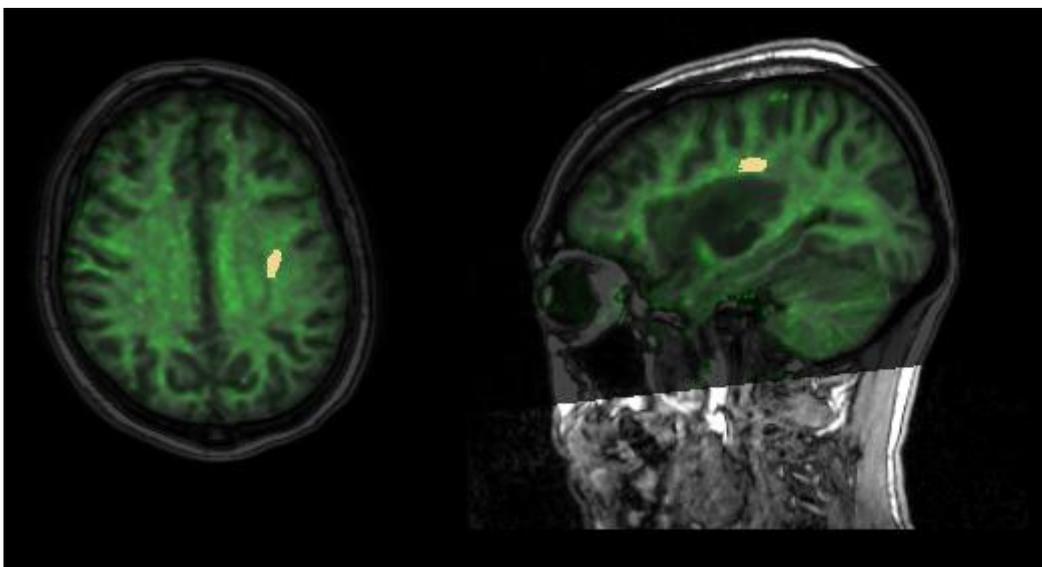


Figura 41 - ROI del fascicolo arcuato selezionata su MR (in scala di grigio) registrata e sovrapposta a FA (in verde). A sinistra vista assiale della ROI, a destra vista sagittale della ROI all'altezza del corpo calloso.

I criteri di stop utilizzati sono un angolo di curvatura di 0.7 gradi/mm e un valore di FA di 0.15. Inoltre, le fibre calcolate sono ritenute accettabili se lunghe da 10 a 800 mm. Infine, il passo d'integrazione è fisso e pari a 0.5 mm.

Per importare i tratti ottenuti nel piano di trattamento è stato necessario trasformare l'output della trattografia in un formato compatibile con quello del pianificatore, come ad esempio il DICOM RT STRUCT. Questo formato è comunemente utilizzato in radioterapia per rappresentare nel piano di trattamento i VOI, segmentati su ogni slice della CT. Pertanto, poiché l'informazione clinicamente rilevante è data dal fascio e non dalla singola fibra, si è utilizzato fiberSlicer, un software sviluppato presso il TBMLab [88], che permette di calcolare l'involuppo del fascio di fibre stesso in corrispondenza delle sole fette dell'immagine di riferimento (in questo caso la CT). I contorni dell'involuppo possono essere integrati ad un DICOM RT STRUCT precedentemente esportato dalla clinica o possono essere semplicemente salvati in uno nuovo.

#### 4.5 Nuovo TP

Il pianificatore scelto per lo sviluppo di questo lavoro è ERGO++ (Elekta A-B, Stoccolma, Svezia), utilizzato per eseguire il trattamento VMAT e fornito dell'algoritmo per pianificazione inversa AMOA (Arc Modulated Optimization Algorithm). In esso si sono importati la CT, sulla quale si esegue la dosimetria, e il nuovo file DICOM RT STRUCT, in cui fiberSlicer ha integrato i tratti calcolati nella fase precedente. I VOI considerati sono l'occhio destro e sinistro, i nervi ottici, il cristallino destro e sinistro, il ponte encefalico, il chiasma, l'encefalo, il corpo calloso, il fascicolo arcuato, il CST e il target, ovvero il GTV.

I pazienti erano stati trattati secondo un protocollo standard di Intensity Modulated Radiation Therapy, che prevede una dose totale di 5400 cGy, frazionata in sedute da 200 cGy. Si è deciso di simulare invece un trattamento VMAT da 3000 cGy, ipo-frazionato in 5 sedute. La scelta è giustificata dal fatto che entrambi i TPs hanno lo stesso valore di EUD (Equivalent Uniform Dose) [89], ovvero che il loro effetto radiobiologico sulla lesione è equivalente, anche se il trattamento ipo-frazionato richiede maggiore precisione nel rilascio della dose.

Per entrambi i pazienti, la VMAT è stata caratterizzata da cinque archi, per un totale di 94 fasci equamente pesati, come è visibile in figura 40.

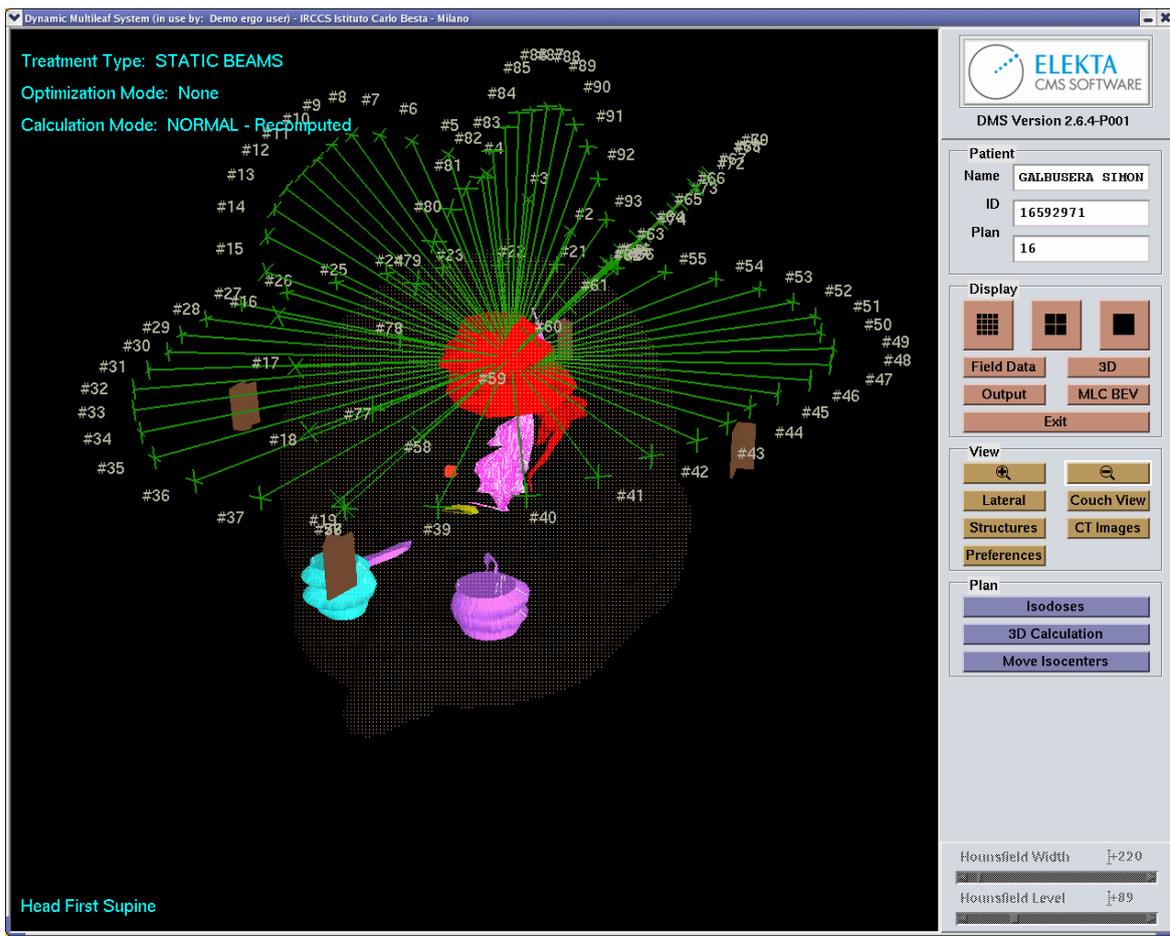


Figura 42 - Trattamento VMAT a 5 archi, con 94 fasci equamente distribuiti.

Il primo trattamento simulato non impone nessun vincolo sulla dose media, massima e minima ai tratti, ma ne valuta comunque la dose ricevuta attraverso il DVH della dose totale. Esso è ricavato automaticamente alla fine della simulazione e mostra la quantità di dose totale ricevuta (in cGy) da ogni VOI durante l'intero trattamento.

#### 4.6 Ottimizzazioni

Il piano di trattamento realizzato viene, successivamente, ottimizzato attraverso l'algoritmo AMOA. Questo algoritmo attribuisce un nuovo peso ad ogni fascio del VMAT, in modo che le condizioni imposte sugli OAR e il target in fase di pianificazione inversa vengano rispettate. La ricerca della soluzione al problema di ottimizzazione avviene per minimizzazione di una funzione obiettivo, attraverso un metodo statistico di tipo simulated annealing. Questo sistema di ottimizzazione richiede che vengano imposte condizioni di volume percentuale e dose massima e minima per il target, solo di dose massima sugli OAR, a scapito di una penalità arbitraria: ad esempio, per il CST si impone

una dose massima di 800 cGy per il 70% del suo volume (tabella 15), che significa che si richiede all' algoritmo di ottimizzare i fasci in modo tale da rilasciare al massimo 800 cGy a 70% del volume del tratto corticospinale. Sul restante 30% del volume invece non ci sono vincoli di dose. Il processo di ottimizzazione è eseguito a partire dall'analisi del DVH ricavato. Per prima cosa, si valuta il valore di dose totale ricevuta al 50% del volume degli organi a rischio e si utilizza questo dato come parametro nell'ottimizzazione, aumentando la percentuale di volume che deve rispettare la soglia di dose trovata. Ogni ottimizzazione considera il valore di dose al 50% del volume ricavato dal DVH del test precedente, così da ottenere un miglioramento progressivo del rispetto degli OAR. Durante le ottimizzazioni, tuttavia, è necessario controllare che la dose al target sia omogenea e che la copertura del target rimanga ottimale (controllando la dose al 95% del volume).

In tabella 15 e 16 sono presentate diverse ottimizzazioni per i due pazienti, in cui gli OAR sono il fascicolo arcuato e il tratto corticospinale, mentre il target è il GTV. Il corpo calloso, situato relativamente più lontano dalla lesione rispetto agli altri due fasci, non è incluso come OAR, ma ne è comunque valutato il DVH.

#### **4.6.1 Paziente 1**

In queste ottimizzazioni si richiede che il target riceva una dose compresa fra i 2850 e i 3150 cGy per almeno il 95% del suo volume. Dal DVH ottenuto dalla simulazione VMAT si ha una dose al 50% di 800 cGy e pertanto nella prima ottimizzazione si impone che la dose massima ricevuta da CST e AF sia di 800 cGy per il 60% e 70% del loro volume. Nella seconda ottimizzazione la dose massima è ulteriormente ridotta a 600 e 500 cGy, mentre nell'ultima ottimizzazione richiede che il target riceva la dose nel range sopradetto per almeno l'80% del volume, al fine di testare la capacità dell'algoritmo di ridurre ulteriormente la dose agli OAR nel caso che parti di essi siano coinvolti nella lesione.

Tabella 23 - Tre ottimizzazioni AMOA per il paziente 1.

Ottimizzazione	VOI	Tipo struttura	Min Dose (cGy)	Penalità	Max dose (cGy)	Penalità	% Volume
<b>I</b>							
	AF	OAR	-	-	800	10000	60
	CST	OAR	-	-	800	10000	70
	GTV	Target	2850	15000	3150	10000	98
<b>II</b>							
	AF	OAR	-	-	600	15000	60
	CST	OAR	-	-	500	15000	70
	GTV	Target	2850	15000	3150	10000	95
<b>III</b>							
	AF	OAR	-	-	600	15000	70
	CST	OAR	-	-	500	15000	80
	GTV	target	2850	13000	3150	10000	80

#### 4.6.2 Paziente 2

Per il secondo caso si sono effettuate quattro ottimizzazioni. La prima e la seconda sono state impostate sulla falsa riga di quelle fatte al paziente 1. Dall'analisi del DVH ottenuto dalla simulazione VMAT si ha una dose al 50% del volume pari a 800 cGy per entrambi gli organi a rischio. Per questo si è imposto che il 60% del AF e il 70% del CST ricevano al massimo tale dose. Nella seconda, si è ridotta la dose soglia a 600 cGy per il fascicolo arcuato e a 500 cGy per il tratto corticospinale, lasciando inalterata la percentuale di volume. Tuttavia, poiché l'algoritmo faticava ad arrivare a convergenza, si sono proposte altre due ottimizzazioni, in cui si impone per dose massima quella ricavata dal DVH del trattamento iniziale, ma con un vincolo minore sul volume: per gli OAR di 800 cGy (per il 50% del AF e il 60% del CST) e una dose compresa fra 2850 e 3150 cGy per il target. La quarta ottimizzazione, come per il paziente 1, è stata effettuata con un vincolo sul volume del target inferiore a quello necessario per il successo del trattamento (80%).

Tabella 24 - Quattro ottimizzazioni AMOA per il paziente 2.

Ottimizzazione	VOI	Tipo struttura	Min Dose (cGy)	Penalità	Max dose (cGy)	Penalità	% Volume
<b>I</b>							
	AF	OAR	-	-	800	10000	60
	CST	OAR	-	-	800	10000	70
	GTV	Target	2850	15000	3150	10000	98
<b>II</b>							
	AF	OAR	-	-	600	15000	60
	CST	OAR	-	-	500	15000	70
	GTV	Target	2850	15000	3150	10000	95
<b>III</b>							
	AF	OAR	-	-	800	15000	50
	CST	OAR	-	-	800	15000	60
	GTV	target	2850	15000	3150	80000	95
<b>IV</b>							
	AF	OAR	-	-	800	15000	60
	CST	OAR	-	-	800	15000	60
	GTV	Target	2850	13000	3150	8000	80

Ogni ottimizzazione produce tante più soluzioni quanto più è lasciata calcolare. La scelta della soluzione è a discrezione del fisico di radioterapia, che valuta quando terminare l'algoritmo. Infatti, le soluzioni proposte non sono necessariamente migliori del TP originario, in quanto l'arresto dell'ottimizzazione avviene quando si raggiunge il miglior compromesso possibile tra hot spot in altri VOI o cold spot nel target.

La soluzione scelta ha come output il DVH, in cui la dose media ricevuta durante il trattamento ottimizzato è espressa per ogni VOI.

## 5. Risultati

---

Dopo aver spiegato il protocollo utilizzato, si passa alla presentazione dei risultati ottenuti ad ogni step del diagramma di flusso (Figura 36, Capitolo 4) nell'ordine seguente:

- calcolo del tensore di diffusione e della Fractional Anisotropy dalle DWI;
- registrazione delle sequenze di immagini (DTI su MR, MR su CT e infine DTI su CT);
- calcolo dei tratti nel sistema di riferimento CT;
- pianificazione del trattamento VMAT;
- ottimizzazione dei TPs tramite AMOA;

### 5.1 Elaborazione delle immagini DWI

La sequenza DWI ottenuta dal filtraggio descritto nel Capitolo 4 (cfr §4.2) è qui proposta per il paziente 1 (Figura 41.a) e per il paziente 2 (Figura 41.b).

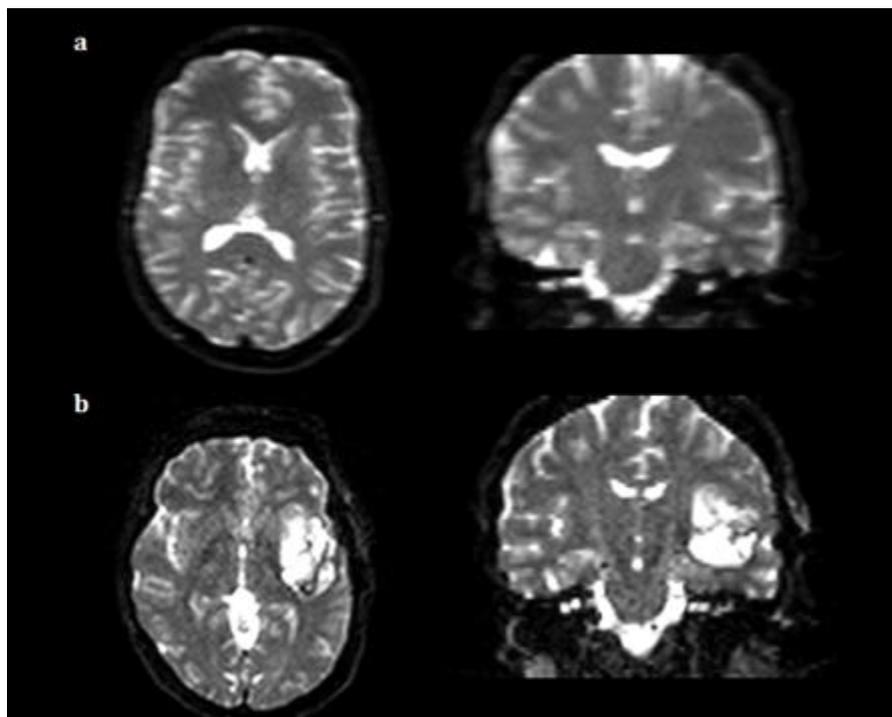
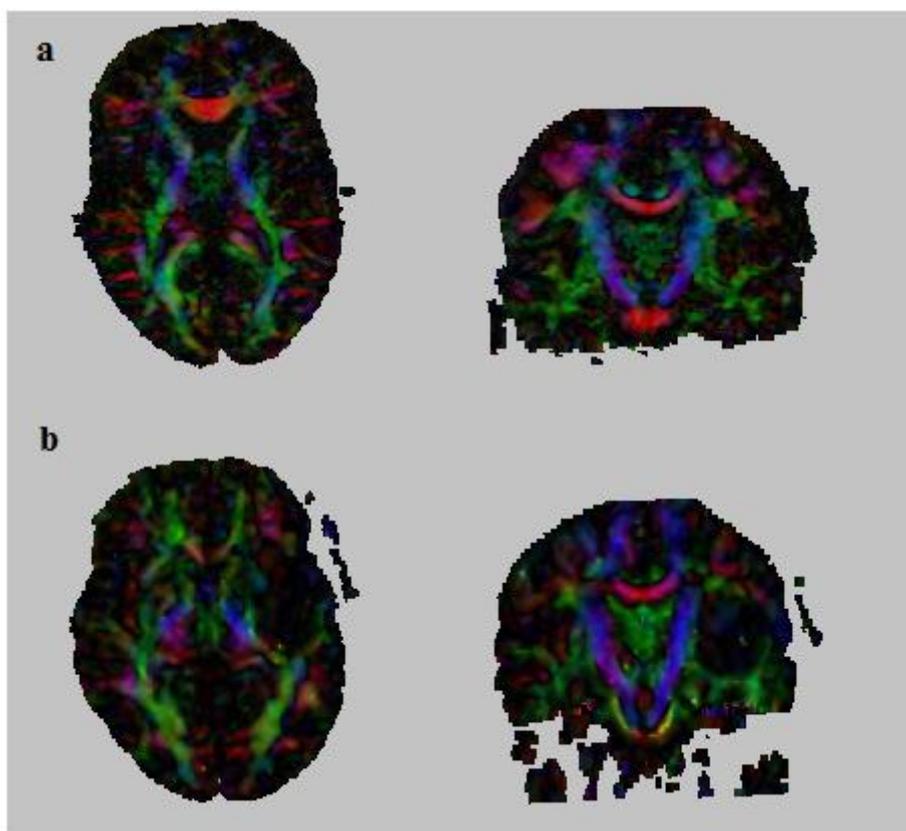


Figura 43 - Immagini DWI in vista assiale e coronale del paziente #1 (a) e #2 (b). Si può osservare l'effetto smooth dovuto alle media sulle ripetizioni (a) e l'eliminazione dei disturbi effettuata dal filtraggio joint Rician (b).

Il tensore di diffusione calcolato direttamente in 3D Slicer come detto nel Capitolo 4 (cfr. §4.4), è associato a mappe rappresentative della direzionalità delle fibre. In figura 42 si ha il risultato ottenuto per i due pazienti.



**Figura 44 - Tensori di diffusione**

Dal tensore di diffusione è estrapolabile il parametro diffusivo della Fractional Anisotropy, per il paziente 1 (Figura 43.1) e il paziente 2 (Figura 43.2). La sequenza FA ottenuta è stata abbinata ad una mappa di colori fittizia per evidenziare il variare del valore di FA nell'encefalo.

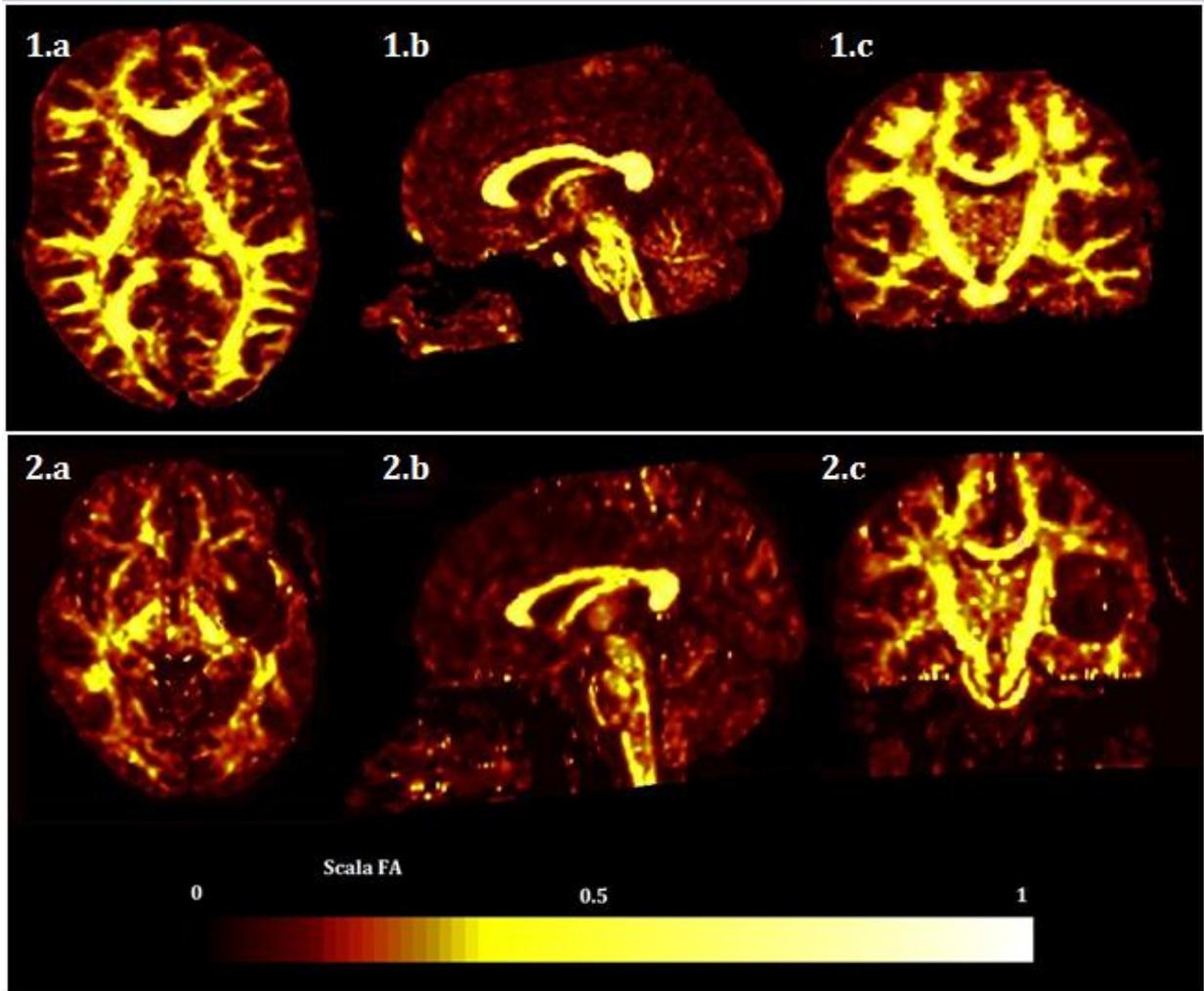


Figura 45 - FA per paziente #1 in vista assiale (1.a), sagittale (1.b) e coronale (1.c) e per il paziente 2 (2.a), (2.b), (2.c). Alle sequenze sono state abbinata una colormap fittizia per evidenziare il range dei valori da 0 a 1.

## 5.2 Registrazione

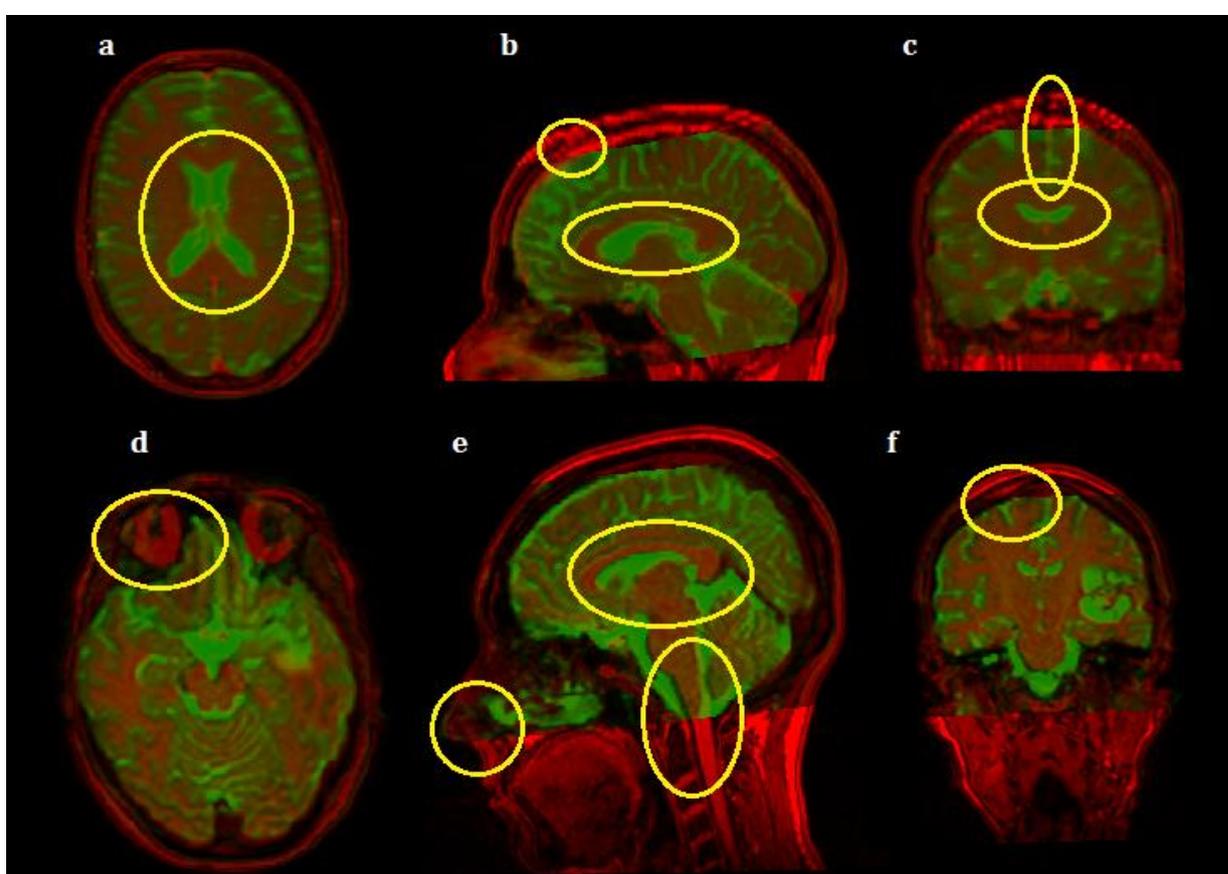
Dopo avere verificato che i gradienti fossero coregistrati fra di loro, la prima operazione di registrazione della DWI su MR è stata calcolata sulla  $B_0$  e poi applicata alle dodici direzioni. Per lo scopo si è utilizzata una trasformazione affine, che risulta come nella matrice di roto traslazione stimata per il paziente 1 (5.1) e come in (5.2) per il paziente 2.

$$\begin{bmatrix} 0.9908 & 0.0132 & 0.0071 & -3.2593 \\ -0.0079 & 0.9993 & -0.0101 & -4.4522 \\ 0.0079 & 0.0145 & 0.9954 & 49.4427 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}$$

(5.1)

$$\begin{bmatrix} 0.9999 & -0.0048 & -0.0126 & -0.7159 \\ 0.0050 & 0.9998 & -0.0176 & 14.1503 \\ 0.0121 & -0.0177 & 0.9998 & 36.4500 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}$$

Non disponendo di dati quantitativi per la stima dell'errore di registrazione, la verifica dell'allineamento è effettuata visivamente confrontando la corrispondenza fra strutture anatomiche, come è visibile in figura 44: applicando una mappa di colore verde alla DTI e una mappa rossa alla MR è possibile evidenziare la sovrapposizione del corpo calloso (Figura 44.b e 44.e), della linea mediana (Figura 44.c), dei solchi cerebrali (Figura 44.f) e dei ventricoli (Figura 44.a). Inoltre, se il campo d'acquisizione è minore nella DTI, come in questi casi, è possibile osservare la congiunzione fra le immagini DTI e MR, così da poter esaminare che i contorni delle strutture restino continui (Figura 44.e e 44.f).



**Figura 46 - Registrazione di DTI (in verde) su MR (in rosso) per il paziente #1 in vista assiale (a), sagittale (b) e coronale (c) e per il paziente 2 in vista assiale (d), sagittale (e) e coronale (f). In giallo sono indicate le regioni anatomiche su cui si può verificare una buona registrazione.**

Il passo successivo prevede la registrazione della MR su CT, attraverso una trasformazione affine, che è risultata essere per il paziente 1 come in (5.3), mentre per il paziente 2 come in (5.4).

$$\begin{bmatrix} 1.0090 & -0.1338 & 0.0080 & 6.8647 \\ 0.1342 & 0.9701 & 0.2093 & 102.4520 \\ -0.0285 & -0.1908 & 0.9918 & 920.9460 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}$$

(5.3)

$$\begin{bmatrix} 0.997693 & -0.055476 & 0.039156 & 21.9115 \\ 0.054746 & 0.998311 & 0.019464 & -87.9027 \\ -0.040170 & -0.017275 & 0.990440 & 462.0620 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}$$

(5.4)

Il risultato della registrazione è visibile in figura 45 per il paziente 1 e 2. Per mettere in risalto le due sequenze, alla MR è stata associata una mappa di colori rossa mentre la CT è associata ad una mappa verde. La bontà della registrazione è stata verificata tramite l'osservazione della coincidenza delle strutture anatomiche, e.g. gli occhi, visibili in RM, nella sede oculare, osservabile in CT (Figura 45.a e 45.d); il setto nasale (45.b e 45.e) e la linea mediana (45.c).

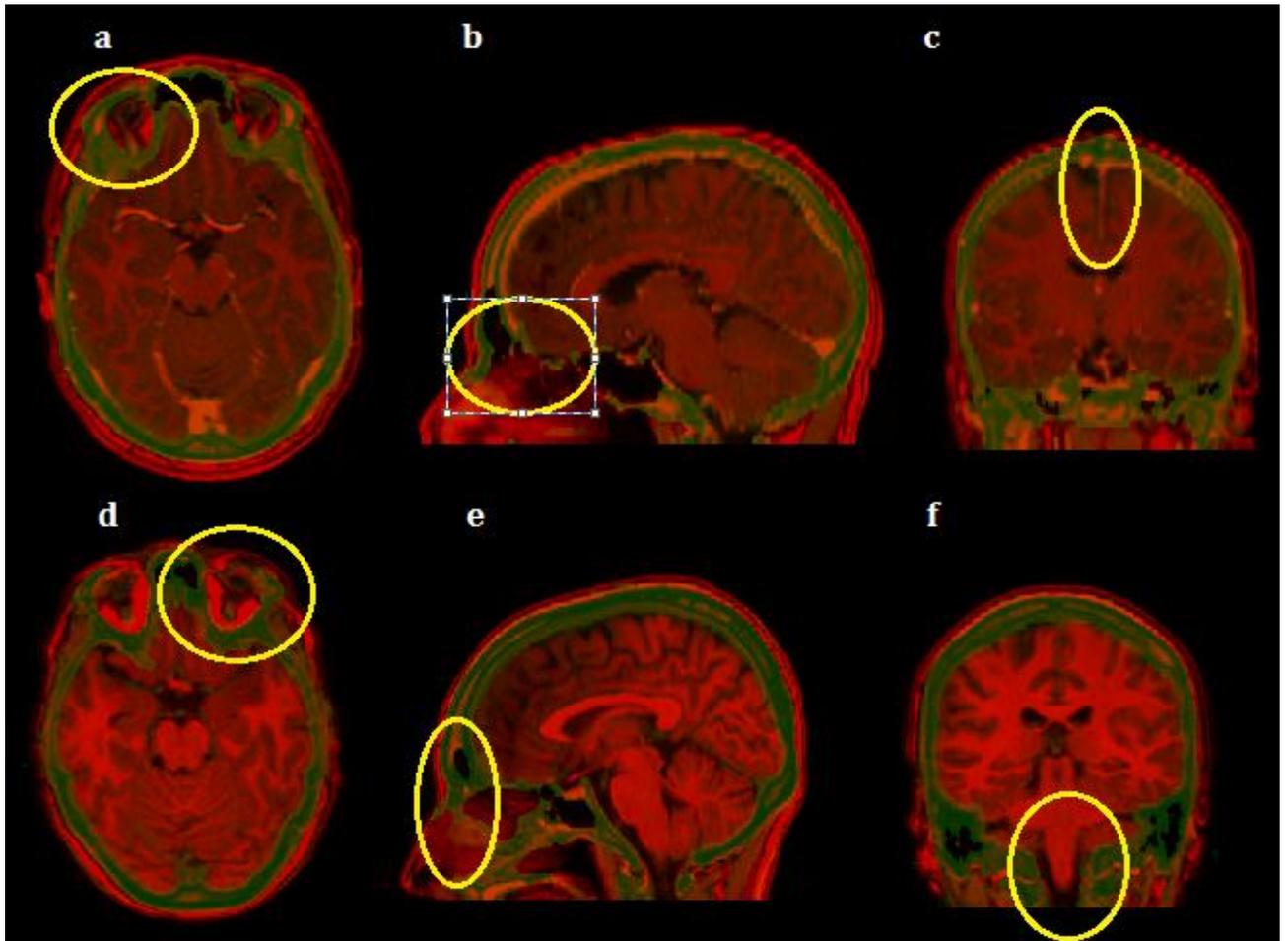


Figura 47 - Risultato della registrazione fra MR e CT per il paziente 1 in vista assiale (a), sagittale (b) e coronale (c). Alla MR è applicata una mappa di colori rossa, mentre in scala di grigi è la sequenza CT.

Successivamente, le trasformazioni calcolate vengono applicate alle DTI, così da portarle nel sistema di riferimento CT (Figura 46). Anche in questo caso, la verifica della bontà della registrazione è puramente visiva e dato che le DTI sono soggette a distorsioni dovute ai gradienti che nemmeno la media sulle ripetizioni (paziente 1) e il filtraggio (paziente 2) hanno potuto eliminare. Questo spiega i possibili disallineamenti indicati in figura con dei riquadri azzurri. Si è deciso di contrastare le due sequenze applicando alla DTI una mappa di colori verde, mentre alla CT una mappa di colori rossa.

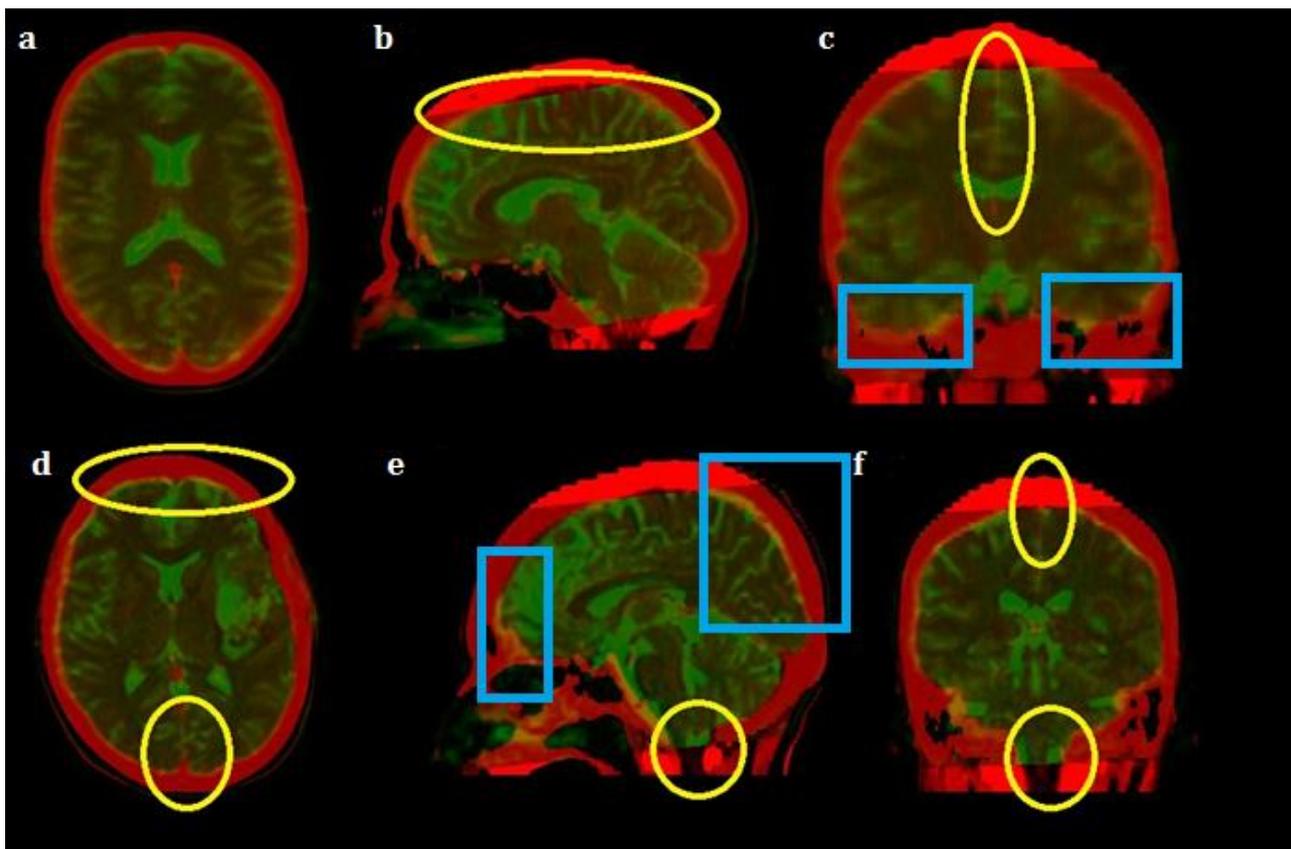


Figura 48 - Paziente 1: DWI (in verde) su CT (in rosso) in vista assiale (a), sagittale (b) e coronale (c). Paziente 2 in assiale (d), sagittale (e) e coronale (f). Sono evidenziate in giallo le zone in cui è possibile osservare la bontà della registrazione, mentre in azzurro le zone dove è presente disallineamento dovuto al blurring della DWI.

### 5.3 Trattografia

In questo elaborato si è deciso per entrambi i pazienti di calcolare i tratti a partire dalla DTI registrata alla CT.

L'individuazione delle ROI è stata critica soprattutto per quelle regioni in prossimità della lesione, come il fascicolo arcuato sinistro. Il protocollo, descritto nel Capitolo 4 (Cfr. §4.2) per il corpo calloso e il CST, si è rivelato facilmente eseguibile, anche perchè i due tratti erano meno interessati dall'edema. I risultati della trattografia sono stati visualizzati in 3D Slicer correlandoli alla rispettiva MR anatomica. Le differenze nei tratti ricostruiti sono dovute alla variabilità inter individuale, ma anche alla morfologia delle lesioni, che alterano le strutture ad esse circostanti. Nonostante l'applicazione di un protocollo di segmentazione delle ROI, le variabilità inter- ed intra- operatore andrebbero opportunamente valutate al fine di ottenere una stima dell'errore di selezione delle ROI, da aggiungere all'accuratezza di ricostruzione. L'attendibilità della trattografia è stata valutata

qualitativamente dal fisico di radioterapia G.F. dell'Istituto IRCCS C. Besta, che ha ritenuto anatomicamente consistenti i risultati e quindi adatti ad essere inseriti nei TPs.

### 5.3.1 Il corpo calloso

La trattografia risultante è visibile in figura 47 per il paziente 1 e 48 per il paziente 2, a cui sono sovrapposte le MR in sagittale e in coronale.

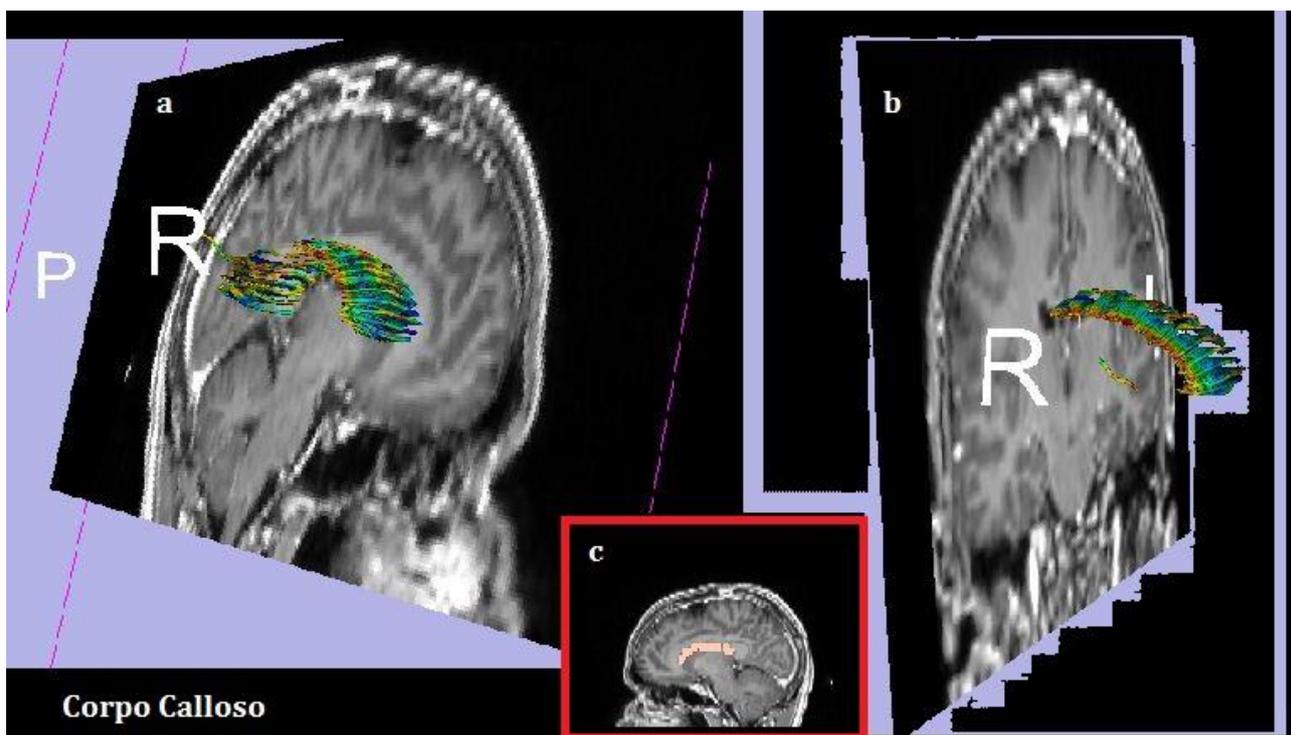


Figura 49 - Trattografia del corpo calloso nel paziente 1. A sinistra (a) una vista sagittale, a destra (b) coronale. E' riportata in (c) la ROI utilizzata.

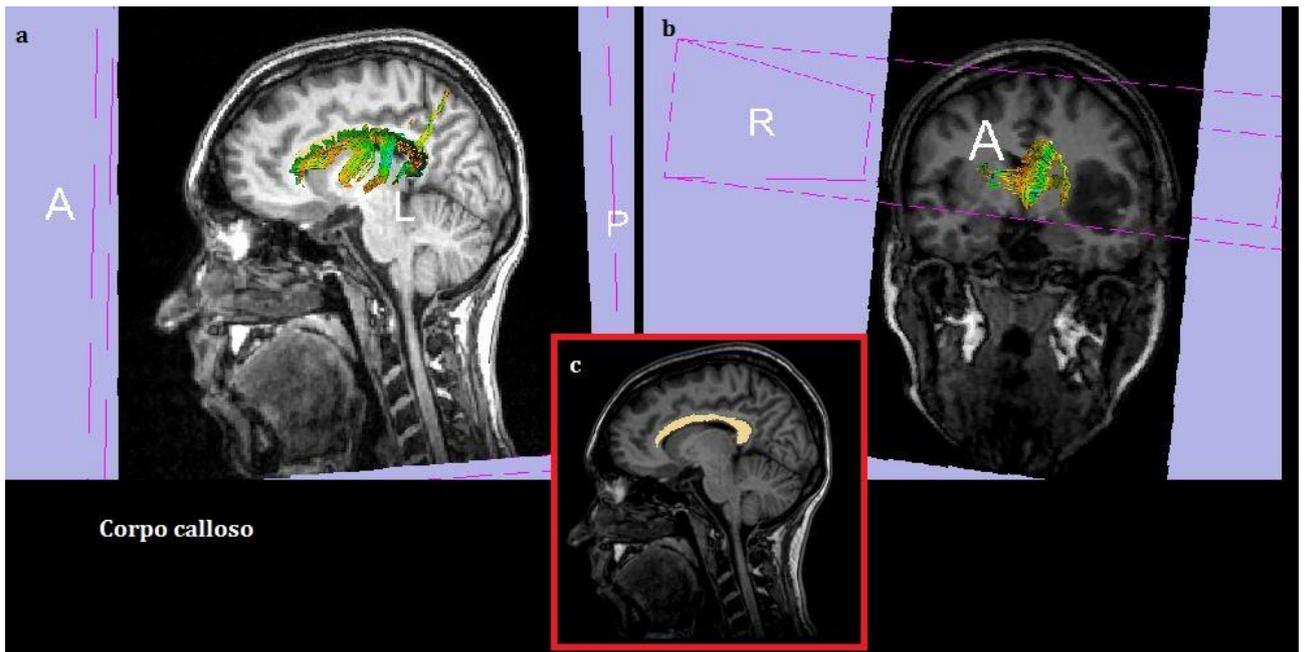


Figura 50 - Trattografia del corpo calloso nel paziente 2. A sinistra (a) una vista sagittale, a destra (b) coronale. E' riportata in (c) la ROI utilizzata.

### 5.3.2 Il tratto corticospinale

La trattografia del CST è visualizzata in figura 49 per il paziente 1 e in figura 50 per il paziente 2.

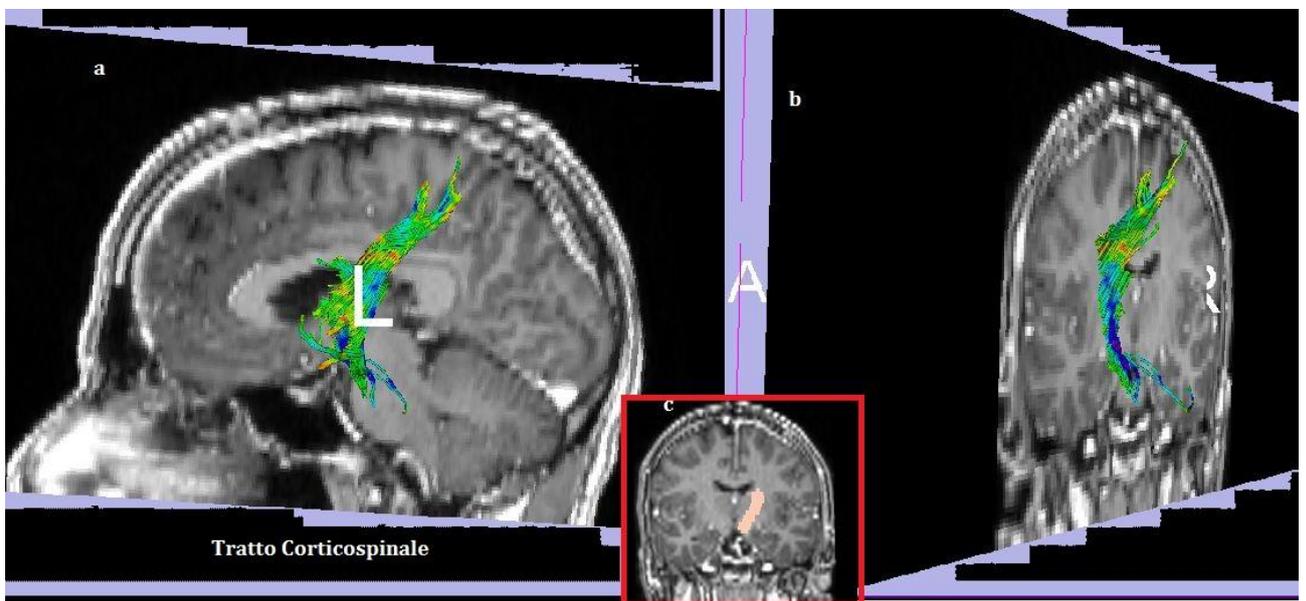


Figura 51 - Tratto corticospinale nel paziente 1, sovrapposta a vista sagittale (a) e coronale (b) della MR. Nel riquadro rosso (c) la selezione della ROI corrispondente.

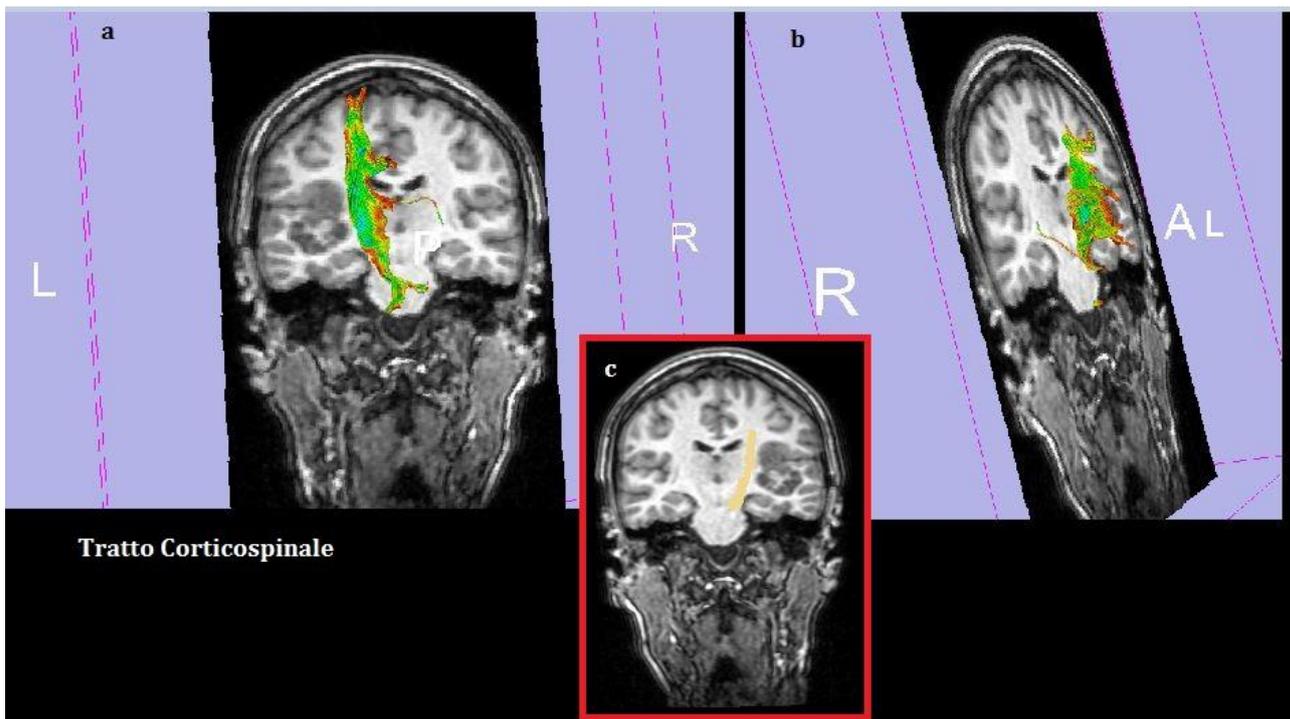


Figura 52 - Tratto corticospinale nel paziente 2, sovrapposta a vista sagittale (a) e coronale (b) della MR. Nel riquadro rosso (c) la selezione della ROI corrispondente.

### 5.3.3 Fascicolo arcuato

I risultati della trattografia sono riportati per il paziente 1 (Figura 51) e per il paziente 2 (Figura 52).

La trattografia del fascicolo arcuato è stata difficoltosa soprattutto per il secondo paziente, in cui l'estensione della lesione e l'espansa zona edematosa hanno limitato l'accuratezza dell'algoritmo di ricostruzione. Infatti, come è visibile in figura 43 (Figura 43, 2.c), la FA ha valori molto bassi nell'emisfero sinistro (zona evidenziata in verde) dove è localizzata la lesione, rispetto alla zona speculare nell'emisfero destro. In particolare, in corrispondenza della lesione si registrano valori di FA inferiori a 0.10, mentre nell'emisfero destro sono inferiori a 0.25. Inoltre la lesione, oltre a dislocare il fascio, lo infiltra parzialmente in entrambi i pazienti, alterando l'anatomia del tratto.

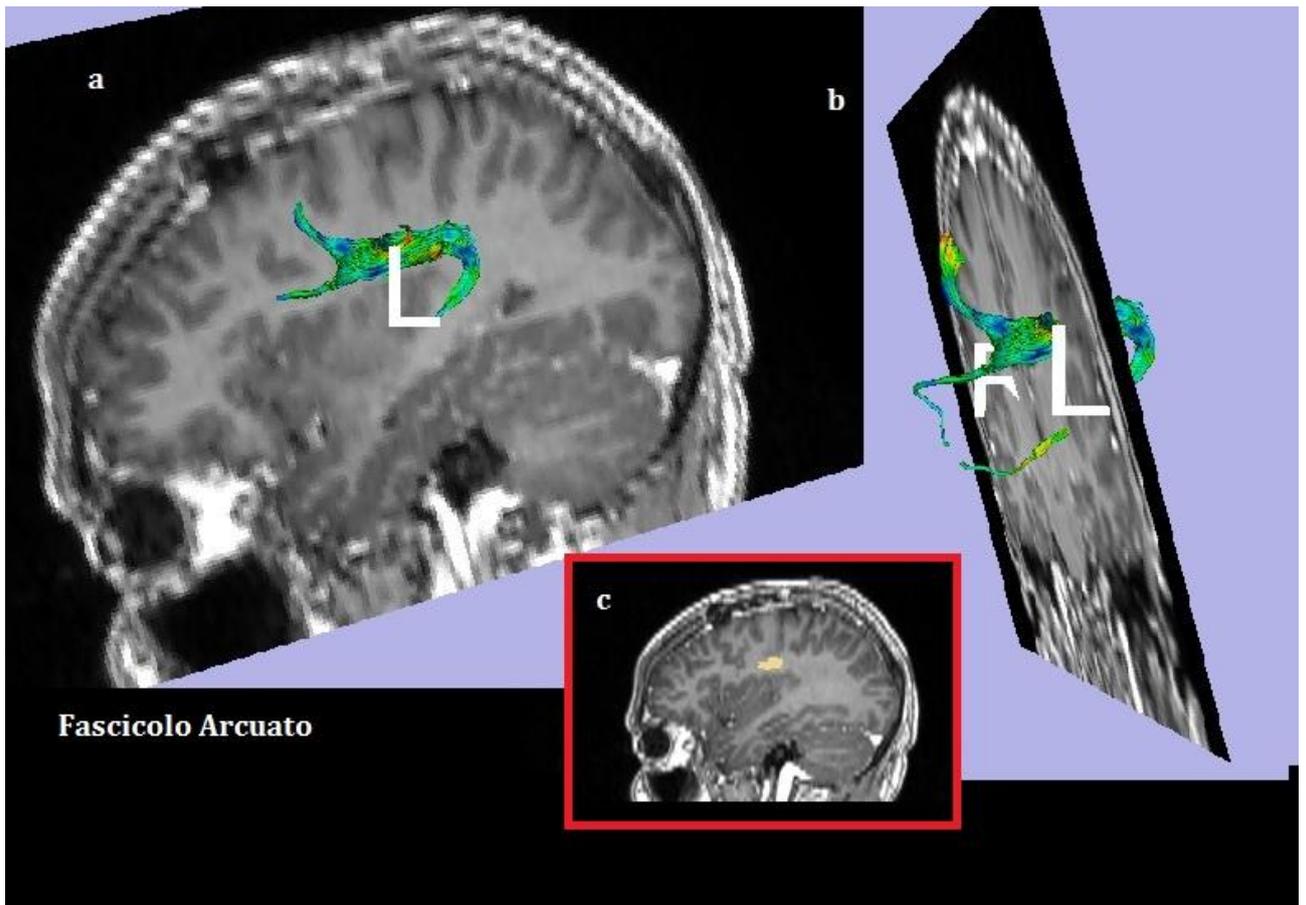


Figura 53 - Trattografia del AF per il paziente 1, con sovrapposta MR sagittale (a) e coronale (b). Nel riquadro rosso (c) si presenta la ROI.

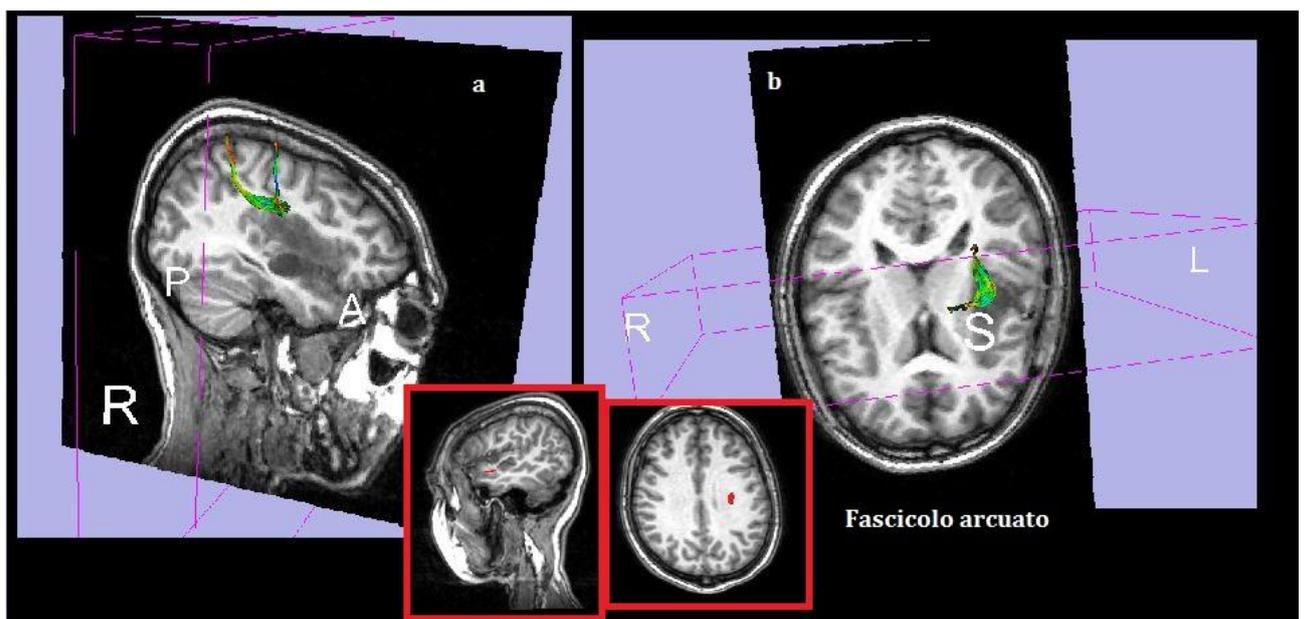


Figura 54 - Trattografia del AF per il paziente 2, con sovrapposta MR sagittale (a) e coronale (b). Le ROI presentate nei riquadri sono state individuate con difficoltà a causa dell'edema e dell'estensione della lesione.

### 5.3.4 Rappresentazione dei tratti in formato DICOM RT STRUCT

Si sono quindi convertiti i risultati della trattografia in formato DICOM RT STRUCT, aggiungendo l'informazione dei tratti al file RT STRUCT originario del piano di trattamento dei due pazienti. I risultati ottenuti sono rappresentati in figura 53, in cui è visibile l'involuppo delle fibre del CST per in viola, il corpo calloso in verde e il fascicolo arcuato in arancio per il paziente 1 (53, a.3) e per il paziente 2 (53, b.3). In figura è anche osservabile la disposizione delle fibre in relazione agli altri VOI e alla lesione (in blu).

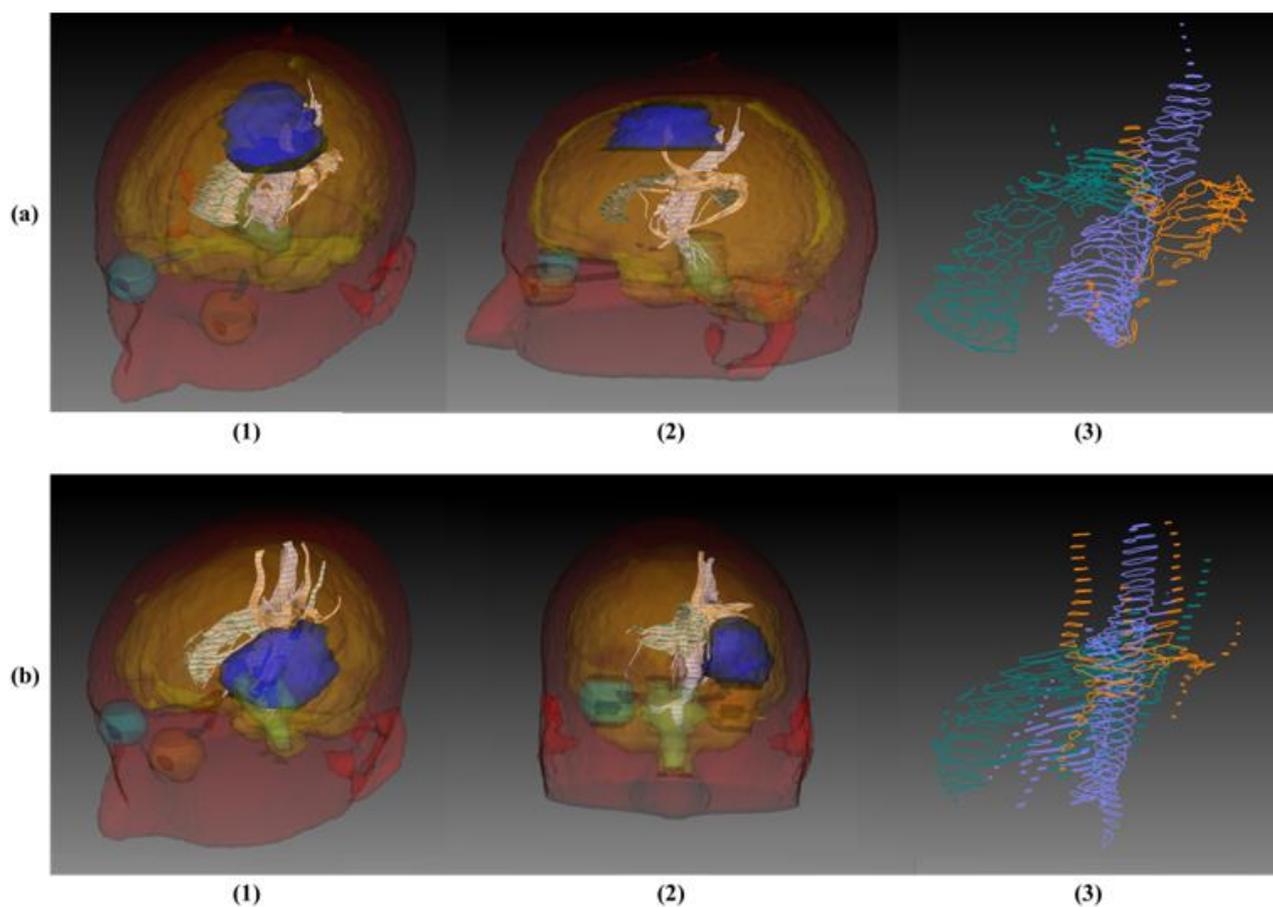


Figura 55 - Involuppo delle fibre per il paziente 1 (a) e 2 (b). Nei riquadri(1) e (2) sono visibili i tratti in relazione alla lesione (in blu) e altri VOI, quali occhi ed encefalo [88].

### 5.4 Piano di trattamento

Nel pianificatore sono state importate la sequenza CT, il nuovo file RT STRUCT e il trattamento VMAT è stato impostato, come spiegato nel capitolo precedente (Cfr. §4.3).

La disposizione dei 5 archi è visibile in figura 54, dove sono inoltre riconoscibili i VOI considerati (e.g. occhio destro e sinistro) e il target, qui colorato in rosso. Per gli scopi di questo lavoro, gli archi sono posizionati nello stesso modo per entrambi i pazienti.

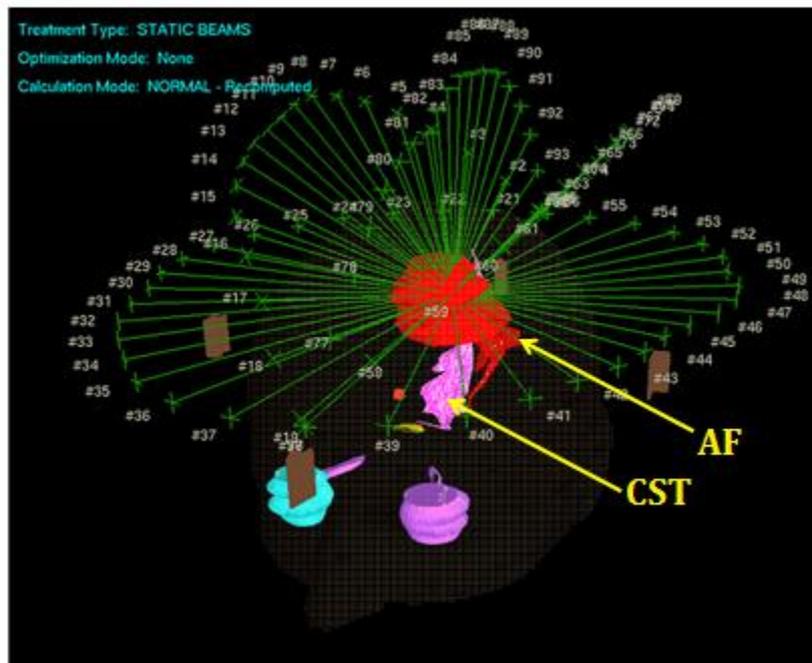


Figura 56 - Disposizione dei 94 fasci intorno alla lesione (in rosso) per il paziente 1. La massa rossa, verso cui sono diretti i fasci, è il target (GTV). In rosa è visibile il CST, in rosso il AF, mentre chiaramente rappresentati sono l'occhio destro (azzurro) e sinistro (viola).

Il calcolo della dose totale ricevuta dai tratti e dagli altri VOI è ottenuto con i DVH presentati in figura 55 per il paziente 1 (55.a) e il paziente 2 (55.b) mentre in tabella 17 sono riportate le dosi calcolate a partire dai grafici dei DVH, in cui sono indicate la dose massima, minima e media per ogni struttura d'interesse. I risultati derivati dal DVH servono per decidere i parametri di dose, volume e penalità da inserire nell'ottimizzazione AMOA, in cui il CST e il AF sono OAR.

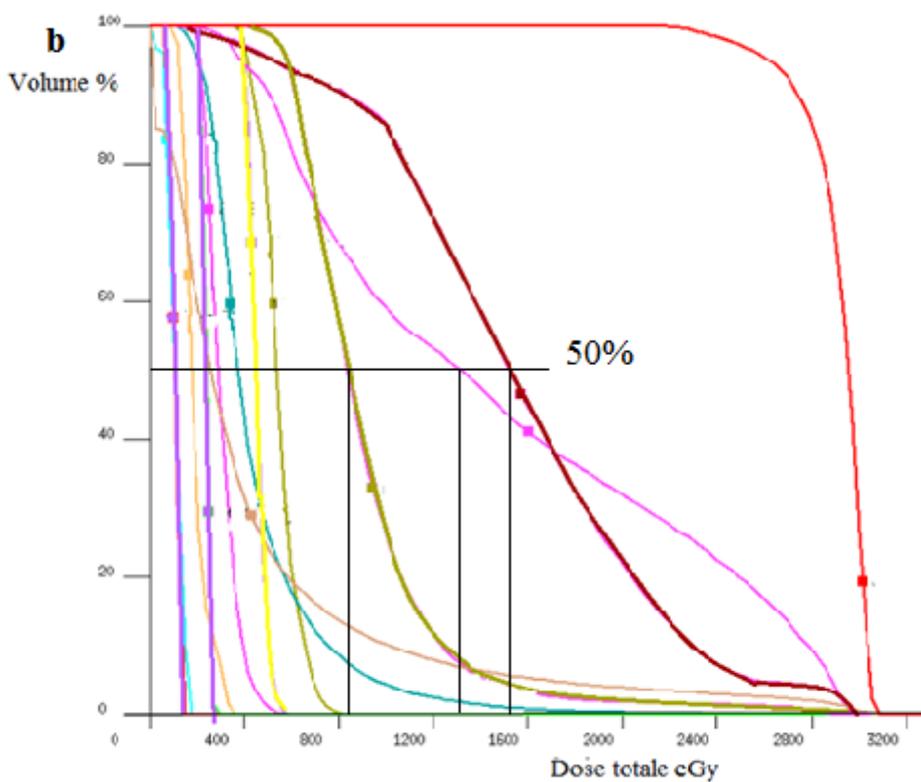
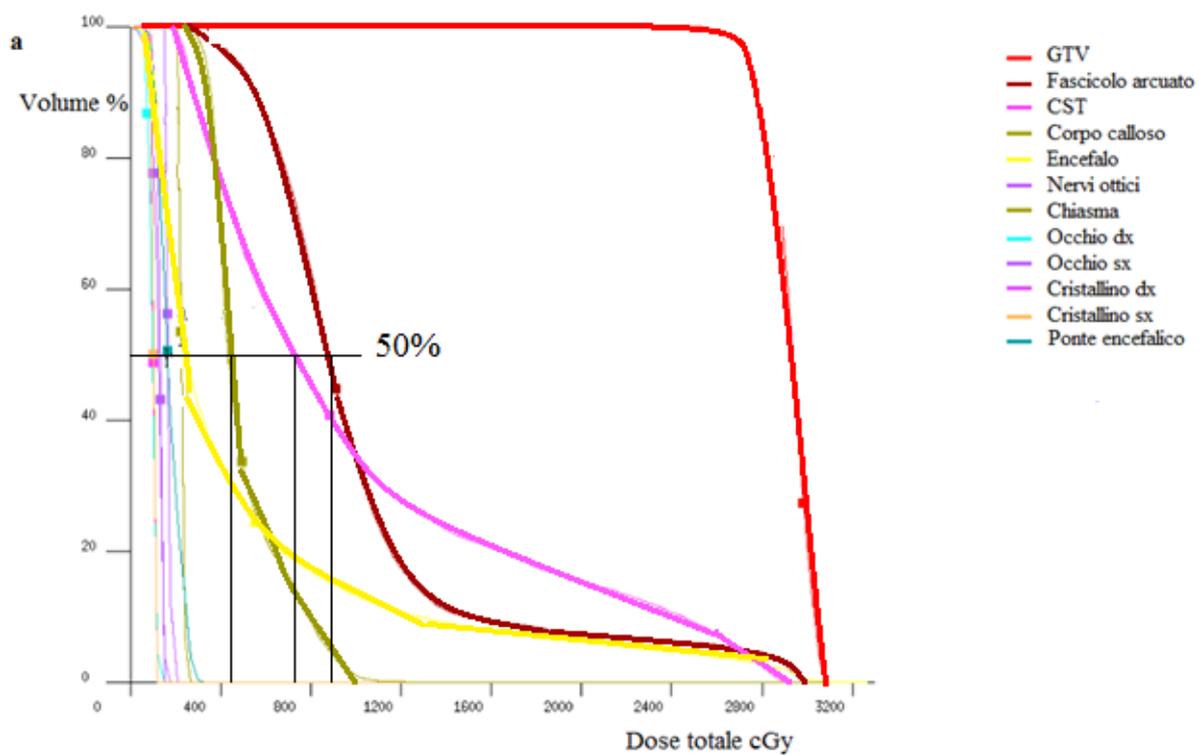


Figura 57 - DVH calcolato per il trattamento VMAT per il paziente 1 (a) e per il paziente 2 (b). L'istogramma ha in ascissa la quantità di dose ricevuta da ogni VOI (in cGy) e in ordinata la percentuale di volume di ogni VOI

soggetta alla dose. Nella figura sono evidenziati nei riquadri rossi le strutture di interesse: il target GTV, il CST, il fascicolo arcuato e il corpo calloso. Per entrambi i DVH è indicata la dose al 50% del volume.

Tabella 25 - Dati derivati dal DVH del paziente 1. Per ogni VOI è espresso il volume, la dose massima, minima e media ricevuta.

<b>PAZIENTE 1</b>				
<b>VOI</b>	<b>Volume (cc)</b>	<b>Dose Max (cGy)</b>	<b>Dose Min (cGy)</b>	<b>Dose media (cGy)</b>
<b>GTV</b>	42.6	3060	2400	2924
<b>CST</b>	6.3	2910	90	1000
<b>Corpo Calloso</b>	6.2	1200	240	502
<b>AF</b>	3.4	2970	300	1014

<b>PAZIENTE 2</b>				
<b>VOI</b>	<b>Volume (cc)</b>	<b>Dose Max (cGy)</b>	<b>Dose Min (cGy)</b>	<b>Dose media (cGy)</b>
<b>GTV</b>	53.9	3060	2010	2913
<b>CST</b>	8.7	2970	120	1480
<b>Corpo Calloso</b>	6.2	2880	330	906
<b>AF</b>	2.6	2970	120	1551

### **Paziente 1**

Dall'analisi del DVH si osserva che il 50% del tratto corticospinale, del corpo calloso e del fascicolo arcuato ricevono rispettivamente una dose media superiore a 700, 900 e 400 cGy. Osservando il DVH è possibile ipotizzare che circa il 10% del volume del AF sia incluso nel GTV, percentuale che sale a circa il 20% per il CST. Infatti, le curve rappresentative di questi fasci subiscono una netta deflessione verso alte quantità di dose in corrispondenza di questa percentuale di volume. Nell'ottimizzazione questo dato deve essere tenuto in considerazione, al fine di modulare correttamente i parametri.

### **Paziente 2**

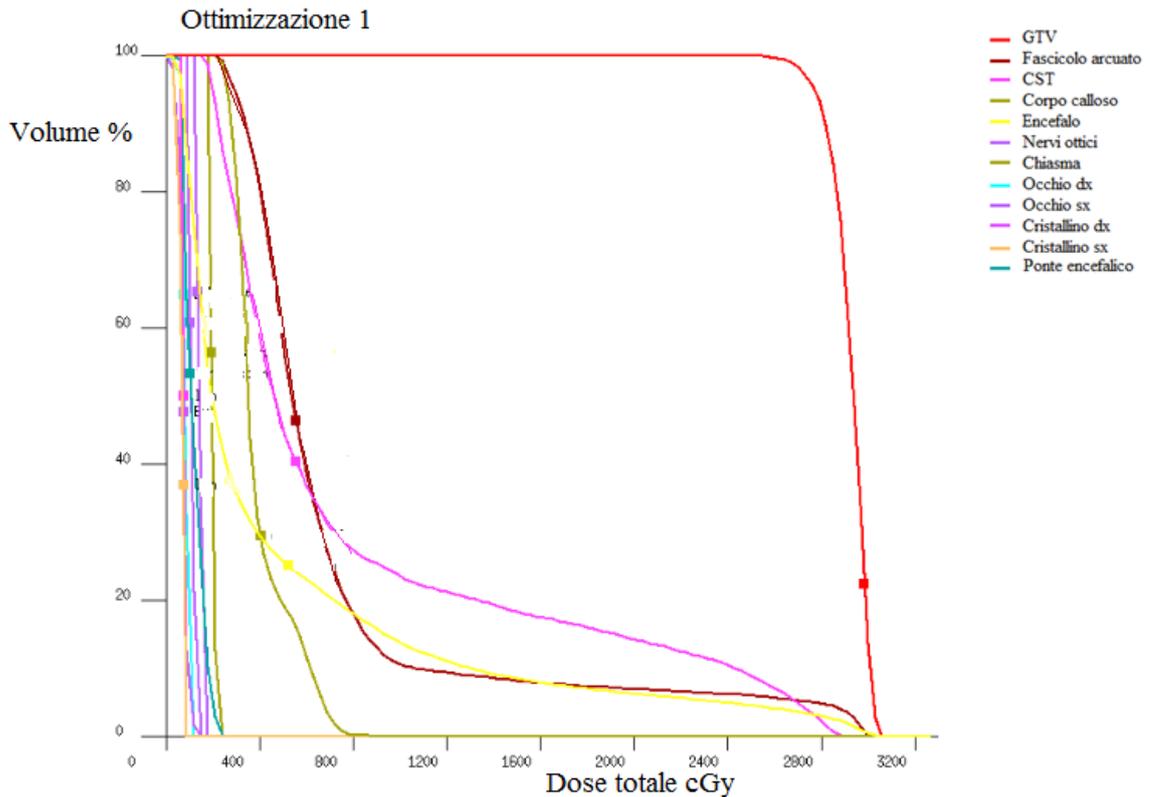
Analogamente al paziente 1, l'analisi del DVH rivela che il CST e l'arcuato sono effettivamente investiti dal fascio di trattamento. Al 50% del loro volume CST, AF e corpo calloso ricevono dosi medie superiori a 1200, 1400 e 800 cGy. Per questo motivo si può ipotizzare che il volume coinvolto nella lesione sia maggiore rispetto al primo caso.

#### **5.4.1 Ottimizzazione - Paziente 1**

Per il paziente 1 sono proposte tre successive ottimizzazioni, secondo i parametri riportati nel Capitolo 4 (Cfr. §4.3). In questa fase si verifica anche che le ipotesi sulla percentuale di

volumi di CST e AF inclusi nella lesione siano vere. Nella prima e seconda ottimizzazione si è ritenuta soddisfacente la terza soluzione, trovata dopo un tempo rispettivo di 15 e 25 minuti, mentre nel terzo caso la seconda soluzione, ottenuta dopo 10 minuti .

I DVH della dose totale ottenuti (Figura 56) evidenziano un'effettiva riduzione di questa negli OAR: le curve risultano più strette, ad indicare volumi minori soggetti a dosi elevate.



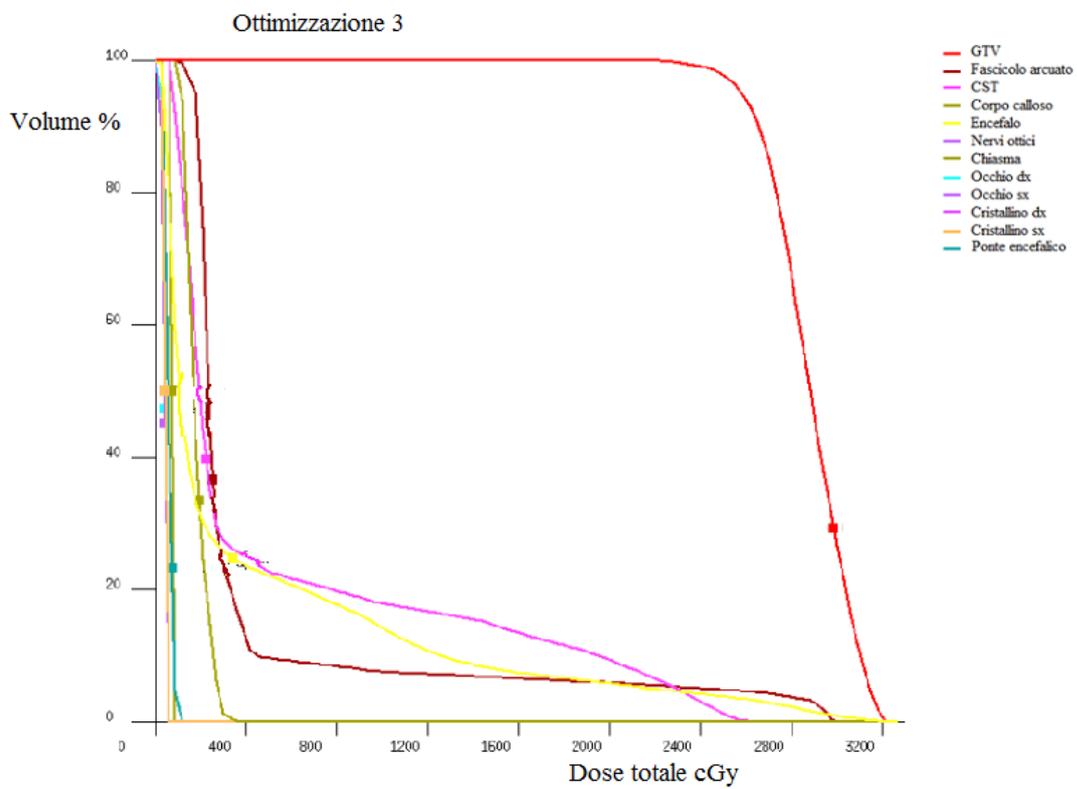
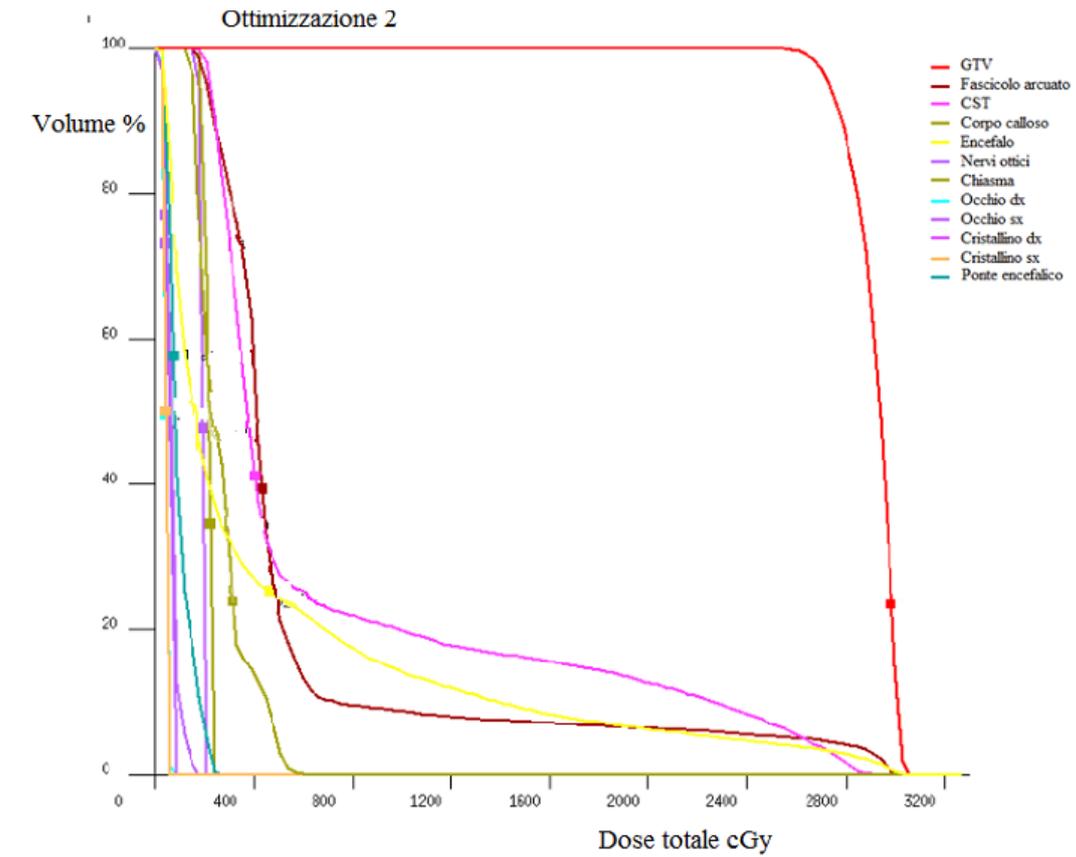


Figura 58 - DVH delle ottimizzazioni 1, 2 e 3. Il CST è in fucsia, il AF è bordò mentre il corpo calloso è in verde.

### Prima ottimizzazione

In tabella 18 si può osservare il confronto fra la dose ricevuta dagli OAR prima e dopo l'ottimizzazione. Con l'ottimizzazione, la dose media viene ridotta del 18.1% per il CST, del 22.99% per il AF e del 21.31% per il corpo calloso. Al contrario la dose media al target resta praticamente invariata (-0.07%). Il CST e il AF tuttavia registrano ancora dosi massime elevate (2910 e 2970 cGy).

Tabella 26- Ottimizzazione 1, paziente 1.

Ottimizzazione 1 VOI	Max (cGy) Prima	Dopo	Min (cGy) Prima	Dopo	Media (cGy) Prima	Dopo	Δ% dose media
GTV	3060	3030	2400	2370	2924	2922	-0.07
CST	2910	2880	90	60	1000	819	-18.10
Corpo Calloso	1200	870	240	210	502	395	-21.31
AF	2970	3000	300	180	1014	720	-22.99

### Seconda ottimizzazione

I risultati ottenuti mostrano un'ulteriore riduzione della dose media ricevuta (Tabella 19), con diminuzione di solo 0.34% della dose al target. La dose massima agli OAR resta tuttavia invariata, a dimostrare il coinvolgimento nel target.

Tabella 27 - Ottimizzazione 2, paziente 1.

Ottimizzazione 2 VOI	Max (cGy) Prima	Dopo	Min (cGy) Prima	Dopo	Media (cGy) Prima	Dopo	Δ% dose media
GTV	3060	3030	2400	2430	2924	2914	-0.34
CST	2910	2910	90	30	1000	716	-28.40
Corpo Calloso	1200	600	240	120	502	264	-47.41
AF	2970	2970	300	150	1014	571	-43.69

### Terza ottimizzazione

In questo caso (Tabella 20), il target riceve dosi nel range richiesto per solo l'80% del suo volume. Il CST infatti riceve al massimo 2610 cGy mentre nei casi precedenti riceveva 2910 cGy e 2880 cGy. Analogamente il corpo calloso che da 800 cGy e 600 cGy, riceve al massimo 360 cGy. La dose massima al fascicolo arcuato è invece invariata. Da queste osservazioni si può ipotizzare che il CST sia incluso parzialmente rispetto al fascicolo arcuato nella lesione.

Tabella 28 - Ottimizzazione 3, paziente 1.

<b>Ottimizzazione 3 VOI</b>	<b>Max (cGy) Prima</b>	<b>Dopo</b>	<b>Min (cGy) Prima</b>	<b>Dopo</b>	<b>Media (cGy) Prima</b>	<b>Dopo</b>
<b>GTV</b>	3060	3210	2400	2010	2924	2875
<b>CST</b>	2910	2610	90	30	1000	520
<b>Corpo Calloso</b>	1200	360	240	90	502	179
<b>AF</b>	2970	2970	300	90	1014	421

#### 5.4.1 Ottimizzazione - Paziente 2

Per il paziente 2 sono proposte quattro ottimizzazioni, secondo i parametri riportati nel Capitolo 4 (Cfr. §4.3). La prima ottimizzazione viene fermata alla quarta iterazione, ricavata dopo circa 30 minuti. L'algorithmo AMOA, nella seconda ottimizzazione non arriva a soluzioni soddisfacenti: non riuscendo a rispettare i parametri richiesti, abbassa notevolmente la dose al target. Non convergendo a soluzioni significativi, questa ottimizzazione è stata interrotta. Per il terzo e quarto studio, si ritiene valida la seconda soluzione, ricavata dopo rispettivamente 30 e 10 minuti.

#### Prima ottimizzazione

I risultati ottenuti in termini di dose media (tabella 21) non sono soddisfacenti, poiché in tutti gli OAR si registra un aumento della dose media ricevuta, tranne nel target in cui diminuisce sensibilmente. Tuttavia è interessante analizzare anche i valori di dose massima e minima riportati in tabella 22 per il corpo calloso e il fascicolo arcuato. Per entrambi si notano decrementi significativi di dose minima ricevuta. Mentre per il CST viene ridotta sensibilmente la dose massima ricevuta.

Tabella 29 - Ottimizzazione 1, paziente 2.

<b>Ottimizzazione 1 VOI</b>	<b>Max (cGy) Prima</b>	<b>Dopo</b>	<b>Min (cGy) Prima</b>	<b>Dopo</b>	<b>Media (cGy) Prima</b>	<b>Dopo</b>	<b>Δ% dose media</b>
<b>GTV</b>	3060	3120	2010	1680	2924	2900	-0.14
<b>CST</b>	2970	2880	120	120	1000	1203	+20.30
<b>Corpo Calloso</b>	2880	2880	330	180	502	527	+4.78
<b>AF</b>	2970	2970	120	90	1014	1223	+20.61

**Tabella 30 - Variazioni percentuali di dose massima e minima in ottimizzazione 1.**

VOI	$\Delta\%$ dose massima	$\Delta\%$ dose minima
GTV	+1.96	-16.42
CST	-3.03	0.00
Corpo calloso	0.00	-45.45
AF	0.00	-25.00

### Terza ottimizzazione

I risultati ottenuti mostrano un aumento del 13% circa della dose media al CST e un calo del 13% della dose al corpo calloso (Tabella 23). Per gli altri VOI la dose media rimane invariata. Tuttavia, l'analisi della variazione di dose minima (tabella 24) mostra una notevole riduzione della stessa anche nel target.

**Tabella 31 - Terza ottimizzazione**

Ottimizzazione 3 VOI	Max (cGy) Prima	Dopo	Min (cGy) Prima	Dopo	Media (cGy) Prima	Dopo	$\Delta\%$ dose media
GTV	3060	3390	2010	1440	2924	2924	0.00
CST	2970	3000	120	60	1000	1139	+13.90
Corpo Calloso	2880	2850	330	120	502	432	-13.94
AF	2970	3150	120	90	1014	1016	+0.20

**Tabella 32 - Variazioni percentuali di dose massima e minima in ottimizzazione 2.**

VOI	$\Delta\%$ dose massima	$\Delta\%$ dose minima
GTV	+10.78	-28.36
CST	+1.01	-50.00
Corpo calloso	-1.04	-63.63
AF	+6.06	-25.00

### Quarta ottimizzazione

In tabella 25 i risultati dell'ultima ottimizzazione mostrano che l'unica variazione positiva di dose media ha riguardato il corpo calloso, mentre per gli altri OAR è aumentata significativamente. Se si analizza tuttavia la variazione di dose massima e minima si può vedere un calo in entrambe. Anche il target registra una dose minima molto inferiore rispetto a quella del piano iniziale.

Tabella 33 - Quarta ottimizzazione

Ottimizzazione	Max (cGy) Prima	Dopo	Min (cGy) Prima	Dopo	Media (cGy) Prima	Dopo	$\Delta\%$ dose media
4							
VOI							
GTV	3060	3090	2010	1650	2924	2899	-0.85
CST	2970	2880	120	90	1000	1147	+14.70
Corpo Calloso	2880	2820	330	150	502	457	-8.96
AF	2970	2940	120	90	1014	1239	+22.19

Tabella 34 - Variazioni percentuali di dose massima e minima in ottimizzazione 2.

VOI	$\Delta\%$ dose massima	$\Delta\%$ dose minima
GTV	+0.98	-17.91
CST	-3.03	-25.00
Corpo calloso	-2.08	-54.54
AF	-1.01	-25.00

## 6. Discussioni

Nel lavoro svolto, si è utilizzato un metodo di trattografia deterministico per ricavare i fasci peri tumorali, inseribili come OAR nel piano di trattamento di due pazienti. I tratti ricavati sono stati valutati da un fisico di radioterapia, che li ha ritenuti validi per il TP. D'altra parte, l'accuratezza della validazione può essere aumentata, ad esempio combinando uno studio di fMRI con la trattografia. Inoltre, gli output della trattografia possono essere inseriti in software di post processing, che attraverso un'analisi di cluster ricavano caratteristiche quali la lunghezza delle fibre e i valori di FA media lungo esse, e li confrontano con quelli di atlanti anatomici. Tuttavia, non bisogna dimenticare che lavorando in soggetti patologici, i risultati ottenuti dalla trattografia potrebbero non essere riconducibili a quelli analizzati negli atlanti di confronto.

I risultati ottenuti dalle ottimizzazioni hanno confermato l'ipotesi che l'introduzione dell'informazione tratta grafica modifica in termini di dose la pianificazione del trattamento per entrambi i pazienti. Infatti, nel confrontare la pianificazione prima dell'ottimizzazione con quelle posteriori ad essa, si evidenzia una variazione significativa di dose massima, minima e media ricevuta dagli OAR. I pazienti analizzati in questo studio presentavano due situazioni apparentemente simili, che tuttavia hanno dato origine a risultati di ottimizzazione differenti.

Per il paziente 1 è risultata particolarmente soddisfacente la soluzione trovata nella seconda ottimizzazione: i tratti considerati ricevono, in questo caso, una dose media inferiore agli 800 cGy, che si è assunto essere un valore di dose media accettabile per il trattamento frazionato. L'ottimizzazione 4, pur riducendo i vincoli per il target del trattamento (dose minima 1650 cGy) ha dimostrato che si è in grado di ridurre notevolmente la dose rilasciata alle zone peri tumorali, risparmiando così alcune aree funzionali come i fasci nervosi. I DVH sono una prova del successo dell'ottimizzazione: tutti i VOI ricevono per almeno il 50% del loro volume una dose inferiore agli 800 cGy.

La situazione del paziente 2, invece, è risultata più complessa poiché la lesione interessava grandi sezioni dei VOI considerati. L'ottimizzazione ha richiesto dei parametri meno stringenti e ha portato una modifica della dose media nettamente inferiore, se non in alcuni casi superiori, rispetto al trattamento iniziale. Tuttavia, attraverso l'inverse planning si è riusciti a ridurre drasticamente le dosi minime ricevute da questi tratti (-50% per il CST, -63% per il corpo calloso e -25% per il AF), risparmiando così in parte questi OAR.

Per entrambi i pazienti i vincoli di dose e la sua omogeneità al target vengono rispettati. Infatti, come si può osservare dai DVH e dai valori riportati nelle tabelle (tabella 2-7), essi restano circa costanti in tutte le ottimizzazioni.

Osservata la fattibilità dell'ottimizzazioni, alcune riflessioni sono necessarie per quel che riguarda l'applicabilità di questo protocollo. Innanzitutto, sarebbe necessario eseguire uno studio della radiobiologia dei tratti che si interessa trattare, al fine di ricavare delle soglie di dose oltre le quali si ha la possibilità di compromettere la funzionalità del fascio nervoso. Questi valori sarebbero utili nella pianificazione inversa per impostare i limiti di dose e le penalità associate. Inoltre, sarebbe interessante valutare accuratamente il volume del tratto incluso nella lesione per assegnare nell'AMOA la giusta percentuale di volume da risparmiare. E' opportuno considerare che introdurre elevate penalità per gli OAR può indurre l'algoritmo AMOA a concentrare il rilascio di dose lungo certe direzioni, generando così dei punti caldi che, sebbene non interessino i tratti, potrebbero danneggiare altre strutture d'interesse.

Infine, il protocollo qui proposto potrebbe essere utilizzato in tecniche di radioterapia all'avanguardia, come i trattamenti con Gamma o Cyber Knife, dove la potenziale alta precisione può essere combinata con l'informazione derivata dalla DTI.

# Conclusioni

Questa tesi ha come scopo lo studio della fattibilità d'integrazione dei fasci nervosi in un piano di trattamento di radioterapia per le lesioni della sostanza bianca: attraverso lo studio di due casi di gliomi all'encefalo sinistro si è mostrato un esempio di applicazione della trattografia nell'ottimizzazione del piano. Nel protocollo proposto, la sequenza DWI, post miglioramento del rapporto segnale rumore, e la MR pesata in T<sub>1</sub> sono state registrate alla CT, calcolando così i tratti nel sistema di riferimento in cui si opera la dosimetria. I tratti d'interesse per questo lavoro sono il fascicolo arcuato, il tratto corticospinale e il corpo calloso, per ragioni di prossimità spaziale e potenziale coinvolgimento nel trattamento delle lesioni dei pazienti inclusi in questo studio. Questi, una volta delineati, sono stati valutati da personale clinico esperto per verificarne la consistenza anatomica. Successivamente essi sono stati importati con successo nel piano di trattamento dei due pazienti e valutati come OAR nell'ottimizzazione del piano di trattamento. In particolare, per il paziente 1 è stata evidenziata una diminuzione di dose media nei volumi d'interesse (Tabella 27) rispetto alla pianificazione iniziale, in cui i fasci non erano inclusi negli OAR.

Tabella 35 - Dose media nel piano iniziale e nelle tre ottimizzazioni successive per i paziente 1. Dose espressa in cGy.

VOI	VMAT (cGy)	I ottimizzazione (cGy)	II ottimizzazione (cGy)	III ottimizzazione (cGy)	Δ dose media
Corpo calloso	502	395	264	179	44.4%
CST	1000	819	716	520	31.5%
AF	1014	720	571	421	43.7%
GTV	2924	2922	2914	2875	0.70%

Al contrario, il target nelle ottimizzazioni ha sempre ricevuto una dose media compresa nel range (2850 - 3150 cGy) richiesto. Questi risultati riflettono la variazione del piano di trattamento, come è visibile in figura (Figura 57) dalle isodosi comparate prima e dopo ottimizzazione.

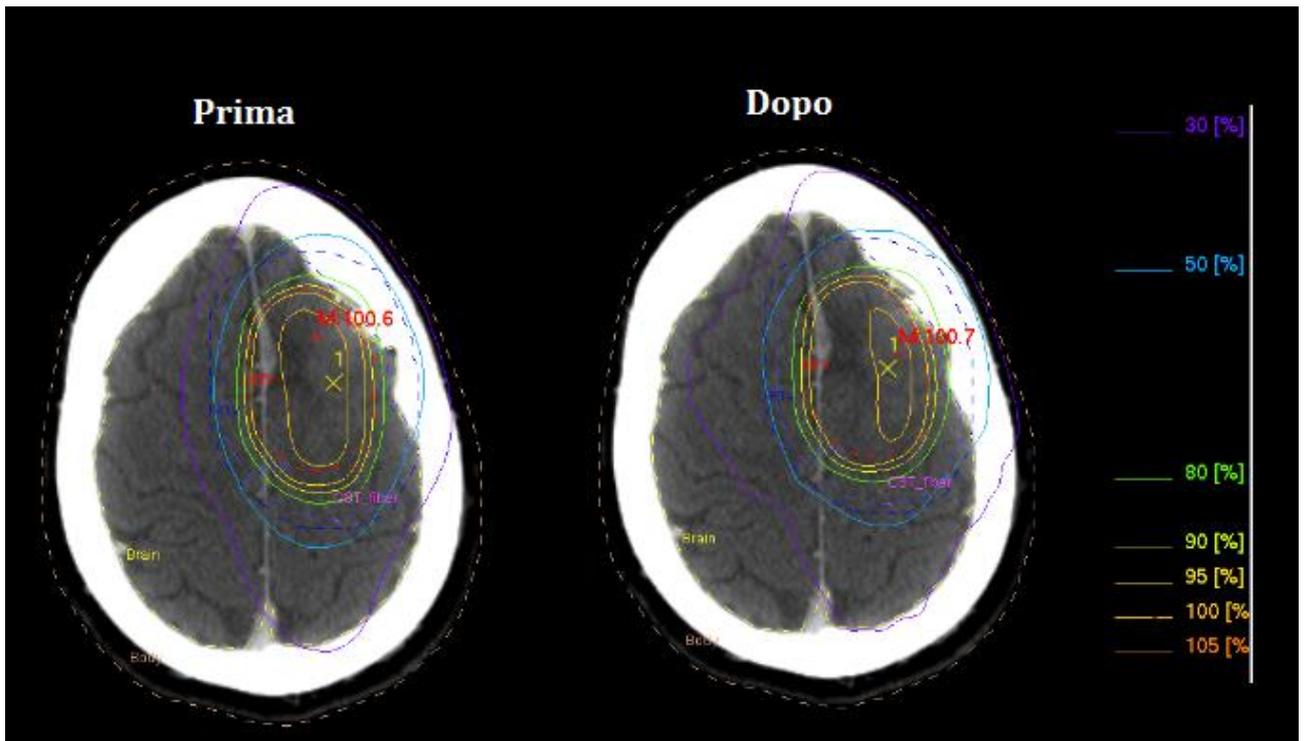


Figura 59 - Variazione delle isodosi del paziente 1. In figura si presenta la slice #42 prima e dopo la prima ottimizzazione. E' ben visibile il cambiamento di conformazione dei fasci.

Il secondo caso proposto, invece, ha evidenziato quanto sia importante conoscere il coinvolgimento del tratto nella lesione al fine dell'ottimizzazione. Infatti poiché nel paziente 2 la lesione infiltrava notevolmente il CST e il AF, in fase di pianificazione inversa non si sono registrati cambiamenti significativi nella dose media e massima ricevuta. Al contrario si è riusciti a diminuire quella minima ricevuta dagli OAR, garantendo comunque la copertura omogenea del target. Si è potuto anche osservare che se si impone una penalizzazione eccessiva per gli OAR, si può indurre l'algoritmo di ottimizzazione a concentrare la dose lungo determinate direzioni, generando così disomogeneità e hot/cold spot.

Lo studio condotto ha evidenziato molti spunti di miglioramento successivi. L'algoritmo di trattografia deterministica (Runge Kutta approssimato al quarto ordine) potrebbe essere per esempio sostituito da un metodo non streamline come il FACT o la trattografia probabilistica. Il confronto fra gli output di questi metodi può portare alla valutazione di quello ottimale per la pratica clinica, sia in termini di risultati sia di costo computazionale. Inoltre, i tratti possono essere ulteriormente rifiniti con un post processing, che miri ad eliminare le fibre che si discostano maggiormente dal fascio. Per una validazione più

quantitativa del tratto si propone inoltre l'utilizzo di atlanti anatomici e/o la combinazione con tecniche di risonanza magnetica funzionale. Al fine di applicare sistematicamente la trattografia in radioterapia, sarebbe inoltre interessante conoscere la radiobiologia del fascio interessato, così da utilizzare un vincolo di dose adeguato nella pianificazione del trattamento. In questo lavoro è stato simulato un trattamento VMAT, ma tuttavia l'informazione trattografica potrebbe essere meglio sfruttata in trattamenti ad alta precisione, ad esempio con Gamma o Cyber Knife. A valle di queste considerazioni, si ritiene che il lavoro presentato suggerisca la potenzialità dell'introduzione della trattografia in radioterapia quale standard per i trattamenti cerebrali, al fine di migliorare la qualità del trattamento.

## Bibliografia

- [1] "*Macchine radiogene*" - A. Cesana, Applicazione delle radiazioni nucleari, Politecnico di Milano, 2009
- [2] "*Study of dose distribution in high energy photon beam used in radiotherapy*" - R. Rafaravavy et al., HEP MAD, 2007
- [3] "*Danni da radiazioni*" - A. Cesana, Applicazione delle radiazioni nucleari, Politecnico di Milano, 2009
- [4] "*Prescribing, recording and reporting photon beam therapy*" - ICRU Report 50 - 65, 1993
- [5] "*Prescribing, recording and reporting photon beam therapy*", ICRU Report 62, 1999
- [6] "*Simulation and evaluation of the impact of breathing motion on thoracic dose distributions for different radiation delivery techniques using 4D CT data*" – R. Werner et al., Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, 2009
- [7] "*Organi a rischio e constraints di dose*" - Associazione Italiana di Radioterapia Oncologica, 2009
- [8] "*Definizione dei volumi in radioterapia*", M. Siracusa, Facoltà di Medicina e Chirurgia, 2011
- [9] "*Clinical treatment planning in external photon beam radiotherapy*" - W. Parker, H. Patrocinio
- [10] "*La spettroscopia protonica nello studio delle neoplasie intra-craniche*" - Popolizio, Scarabino, Servizio di neuroradiologia, Foggia
- [11] Corso di Malattie del Sistema Nervoso, Policlinico di Milano, 2010
- [12] "*Surgical resection of high-grade gliomas in eloquent regions guided by blood oxygenation level dependent functional magnetic resonance imaging, diffusion tensor tractography, and intraoperative navigated 3D ultrasound*" - S. Gulati et al., Minim Invasive Neurosurgery, 2009
- [13] "*Integration of diffusion tensor tractography into radiosurgery*" - K. Maruyama et al., Department of Neurosurgery, University of Tokio & Kyorin, ISRS, 2011
- [14] "*Integration of fMRI and white matter tractography in stereotactic radiosurgery clinical practice*" - E. Pantelis et al., Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys, 2010

- [15] " *Role of magnetic resonance tractography in the preoperative planning and intraoperative assessment of patients with intra-axial brain tumors*" - A. Romano et al., *Neuroradiology*, 2007
- [16] " *La spettrografia con risonanza magnetica (MRS)*", Onlus IDEA RM, Gennaio 2011
- [17] " *Corticospinal tract localization: integration of diffusion-tensor tractography at 3-T MR imaging with intra operative white matter stimulation mapping - preliminary results*" - T. Okada et al., *Radiology*, Vol 4, 2006
- [18] " *In vivo fiber tractography using dt-mri data*" - P.J. Basser et al., *Magnetic Resonance in Medicine*, 44:625–632, 2000
- [19] Tanner & Stejskal, 1968
- [20] Cleveland et all, 1976
- [21] " *Celebral white matter analysis using diffusion imaging*", L. J. O'Donnel, Massachussets Institute Of Technology, 2006
- [22] " *Tecniche MRI per studio di processi di diffusione celebrale*" - M. Giannelli, M. Lazzari, U.O. Fisica Sanitaria
- [23] " *Formazione dell'immagine RM*" - Dr. G. Petralia, Dr. D. Origgi, Policlinico di Milano, 2010
- [24] " *Diffusion MRI, from a quantitative measurement to in vivo neuroanatomy*" - H. Johansen-Berg, T. E. J. Behrens, Elsevier 2009
- [25] " *DTI: concepts and applications*" - Le Bihan et all., 2001
- [26] Armitage e Bastin, 2002
- [27] Kingsley e Monahan, 2004
- [28] Anderson e Gore, 1994
- [29] " *MR diffusion tensor imaging: recent advance and new techniques for diffusion tensor visualization*" - Y. Masutami et all, *EJR*, 2003
- [30] " *Risonanza magnetica pesata in diffusione e fiber tracking*" - M. Laganà, Don Gnocchi di Milano
- [31] " *Processing and visualization of diffusion tensor MRI*" - C.F. Westin et al., *Medical Image Analysis*, 2002

- [32] "*High resolution diffusion tensor imaging of the human brain*" - P.J. Basser & Pierpaoli, National Institutes of Health, Bethesda, MD
- [33] "*Sviluppo di un algoritmo di traccografia deterministica DTI e applicazione ad immagini di soggetti affetti da SM*" - M. Pizzolato, Università degli Studi di Padova, 2011
- [34] "*Fractional anisotropy of the CST in normal adults*" - X. Sun et al., Neural Regeneration Research, 2010
- [35] "*Measuring fractional anisotropy of the corpus callosum using diffusion tensor imaging: mid-sagittal versus axial imaging planes*" - YH. Seoung et al., Korean J. Radiol, 2008
- [36] Provenzale et al., 2004
- [37] "*MR tractography: a review of its clinical applications*" - K. Yamada et al., MRMS an official journal of Japan Society of Magnetic Resonance in Medicine 8, 165-74, 2009
- [38] "*Trends in diffusion MRI tractography*" - C. Westin, MICCAI diffusion tutorial, 2008
- [39] "*Deterministic and probabilistic Q-Ball tractography: from diffusion to sharp fiber distributions*" - M. Descoteaux et al., Rapport de recherche, Theme Bio, N 6273 August 2006
- [40] "*Fiber tractography in diffusion tensor magnetic resonance imaging: a survey and beyond*" - J. Zhang et al., University of Kentucky, April, 2005
- [41] "*Spectral decomposition of a 4th-order covariance tensor: applications to diffusion tensor MRI*" - J. Basser et al., Signal Processing 87: 220-236, 2006
- [42] "*Uncertainty in white matter fiber tractography*" - O. Friman, CF. Westin, Med Image Comput Comput Assist Interv, 107-14, 2005
- [43] Gilks et al., 1996
- [44] "*Study of the connectivity in the brain using full diffusion tensor from MRI*" - P. Bachelor et al., IPMI, 2001
- [45] "*Steady state flow field estimated*" - O'Donnell et al., MICCAI 2002
- [46] L. Frank et al., USC, 2008
- [47] "*On the differential geometry of 3D flow patterns: generalized helicoids and diffusion MRI analysis*" - P. Savadjiev et al., ICCV, 2007

- [48] "*Numerical recipes in C: the art of scientific computing*" - W. H. Press, S. A. Teukolsky et al., Runge-Kutta Method, Cambridge University Press, 1992
- [49] "*White matter tractography using diffusion tensor deflection*" - M. Lazar et al., *Human Brain Mapping*, 18:306-321, 2003
- [50] "*Tensorlines: advection-diffusion based propagation through diffusion tensor fields*" - D.M. Weinstein et al., *IEEE Visualization Proceedings*, 1999
- [51] "*High angular resolution diffusion imaging of the human brain*" - D. Touch, *ISMRM*, 1999
- [52] "*Geometrically constrained two-tensor model for crossing tracts in DWI*" S. Peled et al., *MRI*, 2007
- [53] ["*Two-tensor fiber tractography*"] - O. Bermann et al., *Biomedical Imaging*, 796-799, 2007]
- [54] "*DtiStudio: Resource program for diffusion tensor computation and fiber bundle*" - H. Jiang et al., *Computer methods and programs in biomedicine*, Elsevier, 106-116, 2006
- [55] "*White Matter Tractography by Anisotropic Wavefront Evolution and Diffusion Tensor Imaging*" - M. Jackowski et al., *Yale University*
- [56] "*New approaches to estimation of white matter connectivity in diffusion tensor MRI: Elliptic PDEs and geodesics in a tensor-warped space*" - L. O'Donnell et al., *Computing and Computer Assisted Intervention*, LNCS 2448, 459-466, 2002
- [57] "*Topography of the human corpus callosum revisited - Comprehensive fiber tractography using diffusion tensor magnetic resonance imaging*" - S. Hofer e J. Frahm, *NeuroImage* 32, 989-994, Elsevier, 2006
- [58] "*Neuropathological abnormalities of the corpus callosum in schizophrenia: a diffusion tensor imaging study*" - J.Foong et al., *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 242-244, 2000
- [59] "*White matter fiber tracking in first-episode schizophrenia, schizoaffective patients and subjects at ultra-high risk of psychosis*" - B.D. Peters et al., *Neuropsychobiology*, 2008
- [60] "*Dissociating the human language pathways with high angular resolution diffusion fiber tractography*" - S. Frey et al., *The Journal of Neuroscience*, November 2008
- [61] Heiervang et al., 2006
- [62] Haug et al., 2004
- [63] "*Loss of white matter micro structural integrity is associated with adverse neurological outcome in tuberous sclerosis complex*" - J.M. Peters et al., *Academic Radiology*, 2012
- [64] "*Reproducibility of quantitative tractography methods applied to cerebral white matter*" - S. Wakana et al., *Neuroimage*, 2007
- [65] "*Definizione di protocolli di postprocessing in acquisizione DTI*" - G. A. Giuseppe, Costa, Università degli studi di Milano, 2010

- [66] "A longitudinal diffusion tensor imaging study on Wallerian degeneration of corticospinal tract after motor pathway stroke" - C. Yu et al., *NueroImage*, 2009
- [67] "Aberrant diffusion and geometric properties in the left arcuate fasciculus of developmentally delayed children: a diffusion tensor imaging study" - J-W. Jeong et al., *Am J Neuroradiol*, 32:323-30, 2011
- [68] "A quantitaive DTI fiber tract analysis suite" - C. Goodlett et al., NAMIC
- [69] "Diffusion tensor imaging: evaluation of tractography algorithm performance using ground truth phantoms" - A.J. Taylor et al., Faculty of the Virginia Polytechnic Institute, may 2004
- [70] "Challenges in clinical transfer of DT-MRI: towards validation of DTI tractography" - S. Pujol, Surgical Planning Laboratory Harvard University, 2012
- [71] "Probing brain connectivity by combined analysis of diffusion MRI tractography and electrocorticography" - K. Tertel et al., *Computers in Biology and Medicine*, 2010
- [72] "Are functional deficits in concussed individuals consistent with white matter structural alterations:combined fMRI & DTI studio" - K. Zhang et al., *Exp. Barin Res.*, 2010
- [73] "DTI visualization with streamsurfaces and evenly-spaced volume seeding" - A. Vilanova et al., *IEEE ECVG Symposium on Visualization*, 2004
- [74] "Serial evaluation of diffusion tensor brain fiber tracking in a patient with severe diffuse axonal injury" - S. Naganawa et al., *Am J Neuroradiol*, 25:1553-1556, October 2004
- [75] "Axonal integrity predicts cortical reorganization following cervical injury" - P. Freund et al., *Spinal Cord Injury Research Paper, JNNP*, 2012
- [76] "A role of diffusion tensor imaging in movement disorder surgery" - G. Barkhoudarian et al., *Acta Neurochirurgica*, Dec 2010
- [77] "White matter tract involvement in brain tumors: a diffusion tensor imaging analysis" - P. S. Yen et al., *Surgical Neurology*, 2009
- [78] "Impact of the combined use of tractography, functional magnetic resonance imaging and brain neuronavigation on high grade glioma extent of resection" - R. Prat et al., *RC Neurochirurgia*, 2011
- [79] "Diffusion tensor imaging: possibile implications for radiotherapy treatment planning of patients with high-grade glioma" - R. Jena et al., *Clinical Oncology*, 2005
- [80] "Diffusion tensor fiber tractography for arteriovenous malformations:quantitative analyses to evaluate the corticospinal tract" - Okada et al., *AJNR*, 2007
- [81] "Arcuate fasciculus tractography integrated into Gamma Knife surgery" - K. Maruyama et al., *J Neurosurg* 111:520-526, 2009
- [82] "Integration of three-dimensional corticospinal tractography into treatment planning for gamma knife surgery" - K. Maruyama et al., *J Neurosurg*, 102:673-677, 2005

- [83] "*Outcomes of diffusion tensor tractography - integrated stereotactic radiosurgery*" - T. Koga, K. Maruyama et al., *Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 2012
- [84] "*The NA-MIC kit: ITK, VTK, pipelines, grids and 3D Slicer as an open platform for the medical image computing community*" - S. Pieper et al., *Proceedings of the 3rd IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: from nano to macro*, 1:698-701, 2006
- [85] "*DWI filtering using joint information for DTI and HARDI*" - A. Tristan-Vegas and S. Aja-Fernandez, *Medical Image Analysis*, V 14, I 2, 205-218, 2010
- [86] "*Mutual information based registration of medical images: a survey*" - J.P.W. Pluim et al., - *IEEE Transaction on Medical Imaging*, Vol xx, 2003
- [87] "*Diffusion-tensor MRI: theory, experimental design and data analysis - a technical review*" - P.J. Basser and D.K. Jones, *NMR Biomed*, 456-67, 2002
- [88] "*VMAT inverse planning including DTI tractography fiber bundles as organ at risk: a feasibility study*" - M. Peroni, P. Patete et al., 2012
- [89] "*A quality index for equivalent uniform dose*" - F.C. Henriquez and S.V. Castrillon, *Journal of Medical Physics*, 126-132, 2011
- [90] "*Elekta VMAT, freedom to treat*" - Elekta
-