

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI BERGAMO

Scuola di Ingegneria

Corso di Laurea Triennale in Ingegneria delle tecnologie per la salute

Classe n. L-9 – Classe delle lauree in Ingegneria industriale

**Ottimizzazione di programmi in uso per la quantificazione di  
volumi nella malattia renale policistica a partire da immagini  
di risonanza**

Relatore:

Chiar.mo Prof. Andrea Remuzzi

Correlatore:

Chiar.ma Dott.ssa Anna Caroli

Tesi di Laurea Triennale di

Luca Fracassetti

Matricola n. 1053315

ANNO ACCADEMICO 2019 / 2020



## Indice

Abstract.....	3
Introduzione.....	4
Capitolo I. Il contesto clinico .....	5
1.1 Anatomia e fisiologia del rene .....	5
1.2 La malattia policistica renale .....	7
1.2.1 Patogenesi.....	8
1.2.2 Complicanze.....	10
1.2.3 Fegato policistico .....	13
Capitolo II. Imaging a risonanza magnetica.....	15
2.1 Principi fisici.....	15
2.2 Risonanza magnetica pesata in T1 e T2.....	24
2.3 Ruolo della risonanza magnetica nella malattia policistica renale .....	30
Capitolo III. Obiettivo del progetto di tesi .....	32
Capitolo IV. Progetto di tesi .....	33
4.1 Software utilizzati .....	33
4.1.1 ImageJ .....	33
4.1.2 ITK .....	34
4.1.3 Slicer-3D .....	35
4.2 Tecniche di quantificazione dei volumi renali ed epatici .....	36
4.2.1 Segmentazione manuale.....	36
4.2.2 Stereologia.....	37
4.3 Quantificazione del volume delle cisti epatiche .....	39
4.3.1 Stereologia semi-automatica .....	39
4.4 Quantificazione semiautomatica del volume delle cisti renali .....	45
4.4.1 Procedura di elaborazione automatica.....	45

4.4.2 Correzione manuale.....	56
Capitolo V. Risultati .....	58
5.1 Ottimizzazione della procedura di quantificazione del volume delle cisti epatiche .....	58
5.2 Ottimizzazione della procedura di quantificazione del volume delle cisti renali .	65
5.2.1 Compatibilità.....	65
5.2.2 Codice sorgente .....	65
5.2.3 Modulo di Slicer.....	67
Capitolo VI. Conclusioni e sviluppi futuri .....	70
6.1 Conclusioni .....	70
6.2 Sviluppi futuri .....	70
Bibliografia e sitografia .....	71
Sitografia delle figure .....	74

## **Abstract**

La malattia policistica renale autosomica dominante è una condizione patologica genetica che comporta lo sviluppo e l'espansione di cisti all'interno e sulla superficie dei reni e, nella maggior parte dei casi, anche nel fegato. Poiché i volumi renali ed epatici aumentano notevolmente nel corso della malattia, la loro quantificazione è utile per definire lo stadio di malattia, monitorarne la progressione e valutare l'efficacia di trattamenti sperimentali. La quantificazione dei volumi viene eseguita su immagini acquisite mediante tecniche di diagnostica per immagini, in particolare la risonanza magnetica, che permette di acquisire immagini dettagliate dei tessuti molli dell'organismo senza esporre i pazienti a radiazioni ionizzanti e senza l'utilizzo di alcun mezzo di contrasto. Mediante l'utilizzo di programmi di elaborazione di immagini e specifiche tecniche manuali o semiautomatiche, quali ad esempio la stereologia, è possibile quantificare il volume totale e cistico degli organi di interesse. L'obiettivo del progetto di tesi è quello di ottimizzare due procedure di quantificazione dei volumi totali e cistici, in uso presso l'unità di medical imaging dell'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri di Ranica, per lo studio della malattia policistica renale, migliorando i risultati ottenuti dall'elaborazione automatica, aggiornando i codici sorgente dei programmi sviluppati e garantendone la portabilità su diversi sistemi operativi.

## **Introduzione**

Il seguente elaborato di tesi descrive il progetto di tesi svolto presso l'Unità di Medical Imaging dell'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, presso la sede di Ranica (BG), riguardante l'ottimizzazione di una serie di procedure in uso per la quantificazione di volumi renali ed epatici in pazienti affetti da malattia policistica renale autosomica dominante.

Nel primo capitolo viene descritto il contesto clinico del progetto di tesi. Viene fatto un accenno ad anatomia e fisiologia del rene e viene introdotta la malattia policistica renale, di cui vengono descritte la patogenesi e le complicanze, inclusa la policistosi epatica.

Nel secondo capitolo vengono illustrati i principi fisici della risonanza magnetica, una delle principali tecniche di diagnostica per immagini utilizzate per la quantificazione dei volumi renali ed epatici nella malattia policistica. Vengono in particolare descritte le sequenze di risonanza pesate in T1 e T2, utilizzate rispettivamente per la quantificazione dei volumi totali e cistici, che necessarie per monitorare con accuratezza la progressione della malattia.

Il terzo capitolo illustra gli obiettivi del progetto di tesi.

Nel quarto capitolo vengono descritti i software di elaborazione di immagini in uso presso l'Unità di Medical Imaging per la quantificazione dei volumi renali ed epatici e vengono descritte in dettaglio due procedure, che permettono la quantificazione dei volumi cistici e che sono state oggetto di ottimizzazione durante il lavoro di tesi.

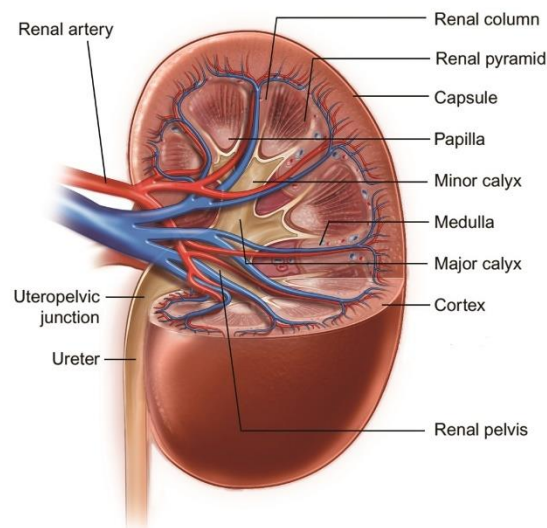
Nel quinto capitolo vengono presentati i risultati del progetto di tesi relativi all'ottimizzazione di procedure per la quantificazione dei volumi cistici renali ed epatici.

Infine, nel sesto capitolo, vengono tratte le conclusioni del lavoro di tesi e vengono illustrati alcuni dei possibili sviluppi futuri.

## Capitolo I. Il contesto clinico

### 1.1 Anatomia e fisiologia del rene

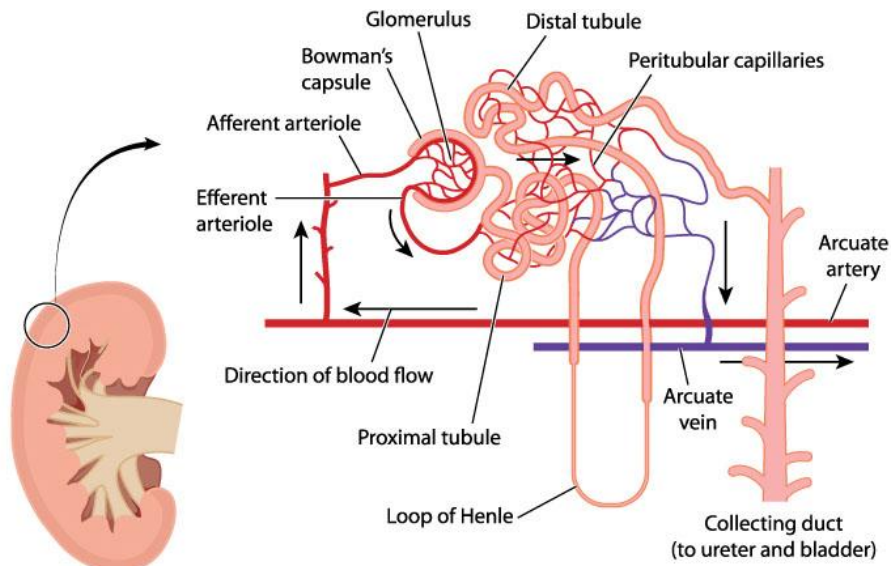
All'interno del corpo umano, i due reni sono posizionati ai lati della colonna vertebrale nello spazio retroperitoneale. I reni presentano una forma a fagiolo e sono disposti tra l'undicesima vertebra toracica e la seconda-terza vertebra lombare [1]. Dal punto di vista anatomico, il rene, lungo la sezione longitudinale, è caratterizzato da due diverse aree: la zona corticale, più esterna, e la zona midollare, più interna. La parte midollare è costituita dalle piramidi renali, strutture di forma triangolare che convogliano l'urina nei calici renali, che confluiscono, a loro volta, verso la pelvi renale (figura 1).



*Figura 1: Anatomia del rene*

L'unità funzionale del renale è il nefrone: ciascun nefrone è in grado di produrre urina e la capacità dell'organo è data dal complesso delle funzioni svolte da tutti i nefroni.

Ciascun nefrone, a sua volta, è costituito da un glomerulo e da un tubulo renale, che termina successivamente nei dotti collettori.



*Figura 2: Schema che rappresenta la struttura del nefrone*

Il glomerulo è costituito da una serie di vasi capillari che si formano a partire da un'arteriola afferente, per poi confluire nell'arteriola efferente. Il glomerulo è contenuto in una capsula, definita capsula di Bowman, che filtra il sangue proveniente dall'arteriola afferente, per poi riversare il liquido raccolto e formarsi all'interno del tubulo renale. Il tubulo renale può essere suddiviso in diversi tratti, in base al percorso che definisce addentrando nella parte midollare per poi tornare nella parte corticale: il tubulo prossimale e il tubulo distale, fra i quali si colloca la cosiddetta ansa di Henle, dove si può distinguere una branca discendente e una ascendente. Nella zona che si trova all'incrocio fra l'arteriola afferente, quella efferente e il tubulo distale vi è l'apparato iuxtaglomerulare, costituito dalle cellule iuxtaglomerulari che secernono la renina. Tutte queste strutture, insieme, regolano quella che è la funzione del nefrone. Il tubulo distale converge poi nel tubulo collettore, dove quest'ultimo si unirà ad ulteriori tubuli collettori, provenienti da altri nefroni, per formare le piramidi renali (figura 2).

Il rene presenta una moltitudine di funzioni; la funzione principale è quella di filtrare le componenti del sangue ed eliminare, attraverso le urine, alcuni elementi e riassorbire quelle che, pur essendo entrate all'interno del circuito del nefrone, non devono essere perse in maniera sovrabbondante, in quanto utili all'organismo. Il rene, inoltre, ha il



compito di effettuare la regolazione dell'equilibrio acido-basico, del bilancio idro-elettrolitico, del volume circolante e di mantenere un'adeguata la pressione arteriosa. Il rene è anche un organo endocrino, dal momento che produce ormoni, come l'eritropoietina e la renina. L'eritropoietina va a stimolare la produzione dei globuli rossi, mentre la renina, prodotta dall'apparato iuxtaglomerulare, trasforma angiotensinogeno in angiotensina I. Nei polmoni e nel fegato, l'angiotensina I viene trasformata dall'enzima Angiotensin Converter Enzyme in angiotensina II, che ha un potente effetto di vasocostrizione e che induce la secrezione di aldosterone e cortisolo. Il rene produce, inoltre, elevate quantità di prostaglandine che regolano anche lo stesso flusso di sangue all'interno dell'apparato renale. Il flusso ematico fisiologico che confluisce nel rene è di circa 1200 ml al minuto, ciò vuol dire che, nell'arco di un minuto, nel rene passa il 25% del volume totale di sangue. Circa l'80% di questo volume viene filtrato dalla capsula di Bowman andando a produrre così il filtrato che entra all'interno del tubulo renale. La quantità di filtrato che viene prodotto è di circa 120 ml al minuto, definito anche come velocità di filtrazione glomerulare (GFR), per un totale di circa 170-180 litri al giorno, per cui risulta evidente l'importanza del riassorbimento dell'acqua nel tubulo renale, per produrre un volume di urina di circa 1-1,5 litri ogni 24 ore. [2]

## **1.2 La malattia policistica renale**

La malattia policistica renale autosomica dominante (ADPKD) è una delle malattie genetiche più comuni ed è la principale causa ereditaria di insufficienza renale. La peculiarità di questa malattia è la formazione di cisti all'interno e sulla superficie dei reni. Le cisti, aumentando di dimensioni e in numerosità nel corso del tempo, determinano un incremento anomalo del volume renale, alterando la normale funzione fisiologica del rene, portando, nella metà dei soggetti affetti, alla perdita totale della funzione renale (figura 3). [3]



*Figura 3: Alterazioni dell'anatomia renale, dovute allo sviluppo di cisti nella malattia policistica renale autosomica dominante*

### **1.2.1 Patogenesi**

Le cisti si sviluppano dai tubuli renali e, in rare circostanze, dalla capsula di Bowman, derivato dell'epitelio dei tubuli. Il principale elemento legato alla formazione delle cisti renali è un incremento importante del numero delle cellule che rivestono la parete del tubulo. Lo sviluppo delle cisti renali ha origine da una cellula o da un gruppo di cellule che presentano una mutazione nel gene PKD1 (policistina-1) o PKD2 (policistina-2). Tale mutazione, però, non causa direttamente la proliferazione delle cellule tubulari, ma è necessario un secondo evento: una mutazione somatica. Le cellule tubulari mutate iniziano così a proliferare in risposta ai cambiamenti molecolari indotti dalla mutazione. L'incremento del numero delle cellule porta all'espansione della parete tubulare e alla dilatazione del segmento tubulare e si che le cisti, sporgendo, vadano a occupare l'interstizio renale. A questo punto la ciste si libera dalla parete del tubulo renale, diventando un'unità autonoma, a causa dell'apoptosi tubulare. A questo punto la cisti si espande e si riempie di fluido che viene importato da meccanismi che coinvolgono cAMP (AMP-ciclico): l'arginina vasopressina agisce sul recettore cellulare e fa sì che l'acqua, dall'esterno della ciste, possa passare per le cellule che costituiscono la parete della ciste, per poi essere riversata poi nello spazio interno insieme al cloruro ( $\text{Cl}^-$ ) (figura 4).

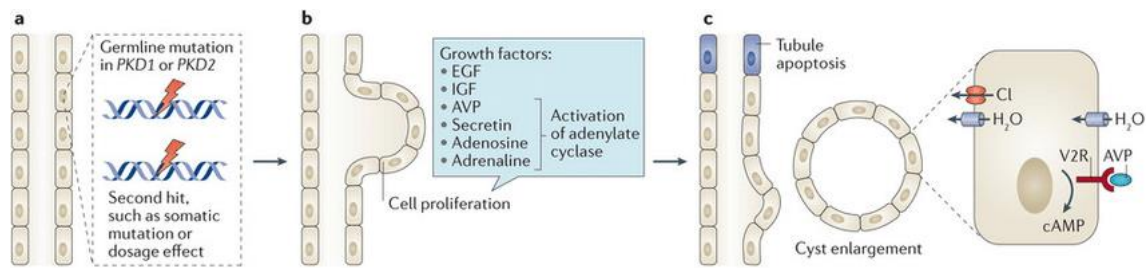


Figura 4: La formazione e l'espansione di una ciste tubulare

Questi processi possono essere influenzati da anomalie nella polarità delle cellule: nelle cisti neoformate la polarizzazione cellulare non è uniforme e divide le cellule, a causa dell'estensione radiale della parete tubulare e della formazione della ciste. Inoltre, a differenza delle cellule sane della parete tubolare, nei pazienti affetti da ADPKD, le cellule epiteliali tubulari acquisiscono una propensione a secernere  $\text{NaCl}$  e fluido nelle urine [4]. La proliferazione cellulare e la secrezione di fluido determinano un progressivo incremento del volume delle cisti. Inoltre, l'arginin-vasopressina, ovvero un ormone antidiuretico che promuove la proliferazione cellulare e la secrezione di fluido, risulta essere al di sopra della norma nei pazienti affetti dalla malattia policistica. Il tasso di crescita del volume renale, a causa dello sviluppo delle cisti, dipende dal numero delle cisti, dal tasso di crescita individuale di ciascuna ciste e dagli effetti intrinseci e estrinseci dei fattori di crescita. Le cisti che si formano nello stato fetale, "in utero", si possono espandere a un rateo molto più elevato rispetto alle cisti che si formano nella vita post-parto. Nella maggior parte dei pazienti, le cisti formatesi "in utero" sono modeste e i pazienti nascono senza evidenza di ADPKD, per poi diventare evidenti nella seconda o terza decade di vita. I pazienti che presentano una mutazione del gene PKD2 presentano meno cisti rispetto a coloro che presentano il gene PKD1 mutato. Fattori genetici e acquisiti, inoltre, possono promuovere la formazione di cisti, come per esempio l'obesità, l'eccesso di sale, proteine e di acidi precursori nella dieta.

Nella malattia policistica, ogni ciste si comporta in maniera autonoma. L'espansione di una singola ciste può causare un concomitante incremento del volume totale renale (TKV), sino alla raggiunta di un tasso di crescita esponenziale per l'intero rene, determinato dall'accrescimento di tutte le cisti. I modelli matematici mostrano, però, come un tasso di crescita esponenziale del volume renale richieda che i tassi di crescita

delle singole cisti rimangano pressoché costanti. Il TKV di ciascun paziente incrementerà secondo un tasso determinato dalla combinazione del numero delle cisti e dal tasso di crescita delle singole cisti. A causa di questa formulazione, le cisti più vecchie e più estese avranno un effetto maggiore sul cambiamento del volume renale rispetto alle cisti più recenti e piccole. Il tasso di crescita sembra essere indipendente se la mutazione sia presente sul gene PKD1 o PKD2. I tassi di crescita individuali delle cisti dipendono da fattori estrinseci e intrinseci che tengono a rimanere relativamente costanti nel corso della vita del paziente. Alcuni dei fattori estrinseci che influenzano il tasso di crescita sono stati identificati. La rapidità della crescita delle cisti “in utero” può essere causata dalle alte concentrazioni di fattori di crescita di cui necessita il feto per lo sviluppo. Nel post-parto, la crescita delle cisti e dei reni può essere alterata da fattori di crescita, come fattori di crescita epidermici e insulinici, e da attivatori della adenilil ciclasi, come arginin-vasopressina, secretina, adenosina e adrenalina. Di questi fattori, la vasopressina ha l’effetto più importante sulla crescita delle cisti che derivano dai tubuli distali e dai dotti collettori, ma una elevata assunzione idrica può contrastare la secrezione di tale ormone. [5]

### **1.2.2 Complicanze**

I reni policistici sono suscettibili a infortuni di tipo traumatico, con emorragie, che si verificano nel 60% circa dei pazienti affetti. Traumi lievi possono causare emorragie intraperitoneali o sanguinamenti all’interno dello spazio retroperitoneale, accompagnati da un intenso dolore, che richiede spesso farmaci antidolorifici. Le cisti sono associate con una eccessiva angiogenesi, caratterizzate da una serie di vasi fragili che attraversano le sue distese pareti. Quando sono soggetti a traumi, i vasi possono causare la perdita di sangue all’interno della ciste, determinandone una rapida espansione e causando intenso dolore. Se l’emorragia persiste, la cisti si può rompere all’interno del sistema dei dotti collettori, causando ematuria, ovvero la presenza di sangue nelle urine. Alternativamente, la cisti si può rompere nel compartimento subcapsulare andando a riempire lo spazio retroperitoneale. Nelle emorragie massive, il sangue può raggiungere la pelle che copre fianchi e addome, inducendo delle ecchimosi subcutanee. I pazienti che presentano una storia clinica con ripetuti episodi di emorragia, evidenziata da ematuria, presentano dei reni di maggiori dimensioni e sviluppano più rapidamente insufficienza renale rispetto a

individui senza tali manifestazioni. L'emorragia renale causata dalle cisti può verificarsi a qualsiasi età e riduce la qualità della vita.

Il dolore in assenza di emorragia è uno dei più frequenti sintomi (circa nel 60%) riportati da pazienti adulti, tra i 31 e i 42 anni, affetti da ADPKD e si manifesta frequentemente in pazienti con normale funzione renale. Il dolore, spesso diffuso nella porzione addominale e dei fianchi, è il sintomo più frequente (superiore al 35%) riportato dai bambini affetti da ADPKD ed è associato con in incremento della dimensione renale. Nei bambini, inoltre, solitamente il dolore non è accompagnato da un'importante ematuria. Nei soggetti più anziani, il dolore è associato spesso a un'emorragia renale, al passaggio di calcoli renali (sono più comuni in pazienti affetti da ADPKD), a cisti infette e a pielonefriti (infiammazione di parenchima, calici e pelvi renale). Quando una o più cisti possono essere identificate come causa del dolore, si può operare chirurgicamente per drenare la cisti e alleviare il dolore. In alcune circostanze, però, non tutte le cisti possono essere rimosse e, col tempo, le cisti residue si possono ingrandire e causare nuovamente dolore. Per questo motivo, circa un quarto dei pazienti non trova giovamento dalla rimozione chirurgica delle cisti o dall'uso di antidolorifici. Spesso, questi pazienti presentano delle cisti che si trovano nella parte midollare del rene, per cui sono inaccessibili. Il dolore causato dalle cisti renali influenza, quindi, la qualità di vita ad ogni età ed è associato all'incremento del volume renale.

I reni, in alcuni pazienti, aumentano di dimensioni al punto che causano una deformazione della zona addominale, estendendola. La massa addizionale nell'addome ha effetto sulla postura durante la camminata o mentre si è in posizione eretta, che contribuisce allo sviluppo di dolore nella zona lombare, che è, però, indipendente da quello renale. Reni che presentano un volume elevato possono compromettere il movimento diaframmatico, causando problemi del sonno. Inoltre, l'elevato volume renale a causa delle cisti incrementa il rischio che cinture di sicurezza possano procurare traumi nella zona addominale e fare insorgere dolore. La deformazione del tratto addominale ad ogni età, quindi, può avere effetti importanti sulla qualità di vita.

L'ipertensione è uno dei principali sintomi determinati dalla malattia policistica. I volumi renali più importanti si manifestano in pazienti soggetti a ipertensione, rispetto a individui normotensivi. Lo sviluppo di ipertensione è un effetto secondario determinato

dall'ingrandimento delle cisti. L'aumento dell'attività dell'apparato iuxtaglomerulare, determinato dalla malattia, svolge un ruolo importante nel determinare l'incremento della pressione arteriosa: l'espansione delle cisti causa la formazione di aree di ischemia renali e di incremento di produzione di renina, responsabile dell'incremento della pressione sanguigna. [6]

L'effetto più critico della malattia policistica è l'insufficienza renale, che costringerebbe il paziente a sedute emodialitiche o all'effettuare un trapianto d'organo. Lo sviluppo dell'insufficienza renale è molto variabile nella malattia. L'insufficienza renale è stata riportata anche nei bambini, mentre è anche possibile che individui affetti possano svolgere una vita normale, senza che si accorgano della malattia. Individui che presentano una mutazione nel gene PKD2 manifestano insufficienza renale circa quindici anni dopo rispetto a coloro che presentano mutato il gene PKD1. Tutti i pazienti, che presentano una mutazione di uno di questi due geni, presentano cisti renali e non tutti i pazienti che ereditano tale condizione svilupperanno di certo l'insufficienza renale. Uno studio canadese del 1984, ha osservato che la probabilità di sviluppare insufficienza renale all'età di 50 anni fosse del 77%, del 57% a 58 anni e del 52% a 73 anni. [7]

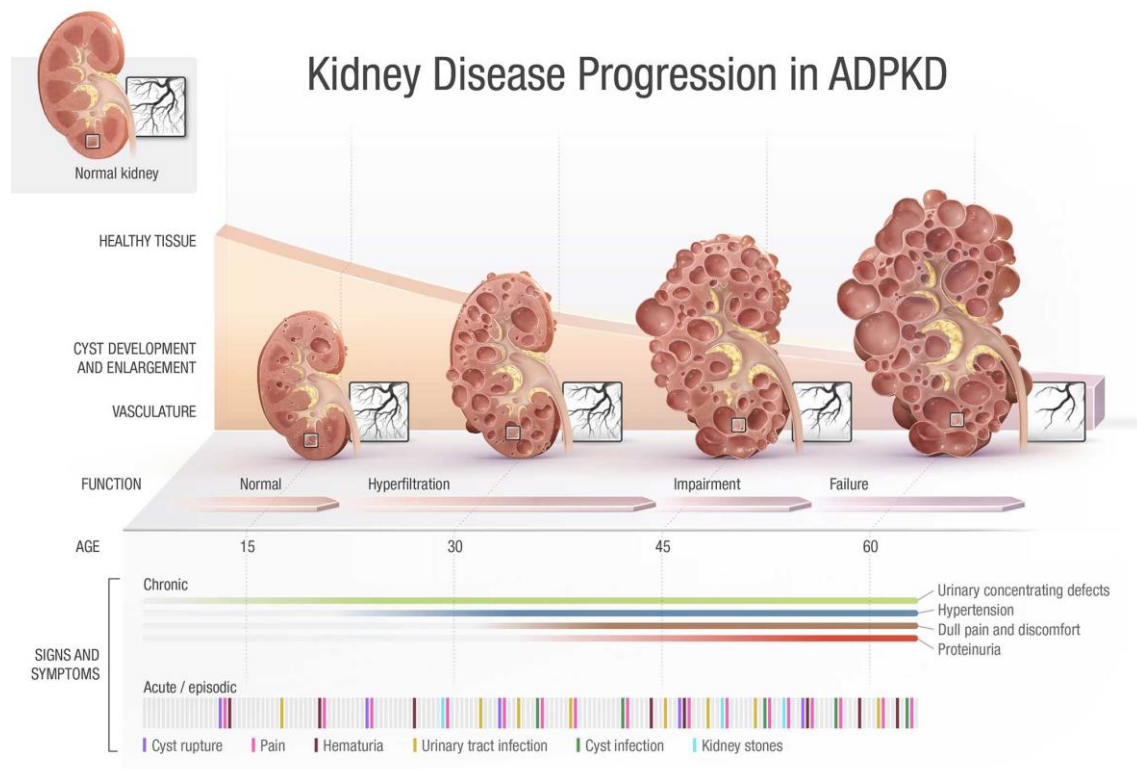
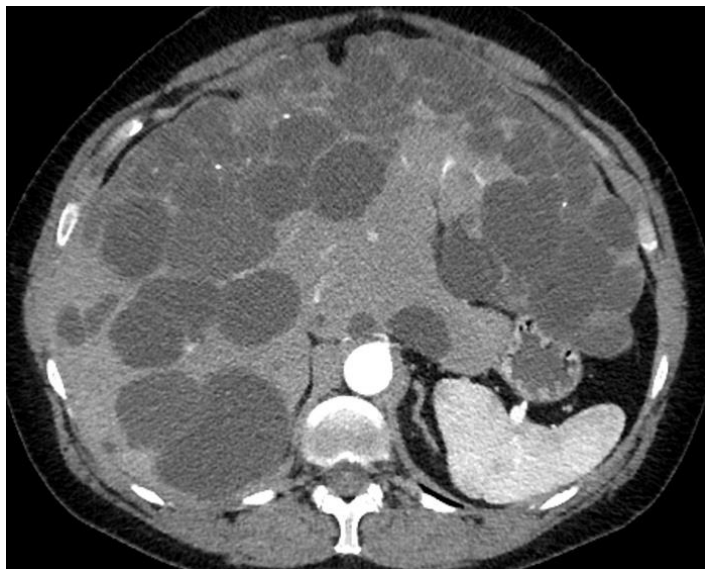


Figura 5: Progressione della malattia renale policistica

### 1.2.3 Fegato policistico

Il fegato policistico è una delle manifestazioni extrarenali più frequenti della malattia policistica renale autosomica dominante, ma può essere anche una entità a sé stante. Si tratta di una condizione che causa la formazione di cisti sul fegato, analogamente a quanto succede per i reni (figura 6).



*Figura 6: Immagine di risonanza che raffigura un fegato policistico. Le macchie scure corrispondono alle cisti epatiche*

Un fegato normale presenta una superficie liscia e uniforme, mentre uno policistico sembra essere costituito da diversi grappoli di cisti. Le cisti possono crescere in maniera autonoma nelle diverse regioni del fegato e se diventano troppo numerose e grandi possono causare problemi e complicazioni di salute [8]. I sintomi peggiorano in parallelo con il progressivo e il massivo ingrandimento del fegato e può essere una condizione particolarmente severa in pazienti che presentano insufficienza renale e che devono sottoporsi a trapianto. Progressivamente, l'ingrandimento epatico comprime il tratto gastrointestinale, la vena cava inferiore e la vena porta o i dotti biliari e possono causare dolore nella zona lombare della schiena, sensazione di sazietà, reflusso gastroesofageo, l'ostruzione dei flussi venosi biliari e ascite (raccolta patologica di liquidi nella cavità addominale) o ittero. L'estensione addominale può causare dispnea. Le cisti possono andare incontro a rottura, sanguinare o diventare infette. Procedure chirurgiche come l'aspirazione delle cisti o la fenestrazione possono limitare la compressione sulle strutture circostanti e drenare il fluido ascitico, per ridurre la distensione addominale. La resezione del fegato o il trapianto stesso possono essere necessari nei casi più severi. Le cisti epatiche derivano dai colangiociti, ovvero dalle cellule epiteliali dei dotti biliari, che

proliferano e secernono fluido in risposta all'attivazione endogena del cAMP [9]. Generalmente, però, la funzione epatica rimane relativamente preservata, ma vi possono essere complicanze per via della massa anomala dell'organo. [10]



## Capitolo II. Imaging a risonanza magnetica

### 2.1 Principi fisici

La risonanza magnetica nucleare, o MRI, si basa sulle proprietà magnetiche degli atomi di idrogeno. L'atomo di idrogeno è l'atomo più comune all'interno dell'organismo e si trova in molteplici sostanze, come acqua e adipe, ed è per questo che viene sfruttato in questa tecnica. I protoni degli atomi presentano un certo movimento di rotazione attorno a un asse di rotazione e tale movimento prende il nome di spin, che genera un piccolo momento magnetico, orientato secondo la direzione dell'asse di rotazione. Questa proprietà fa sì che gli atomi di idrogeno siano suscettibili ai cambi magnetici esterni, dal momento che l'atomo può essere considerato come un piccolo magnete con un polo positivo e uno negativo. Sottoponendo un atomo di idrogeno all'azione di un campo magnetico costante esterno, definito come  $B_0$ , si assisterà all'allineamento del momento magnetico dell'atomo secondo le linee di forza del campo magnetico applicato, dal momento che l'atomo si comporterà come una calamita e si orienterà come l'ago di una bussola all'interno del campo magnetico (figura 7).

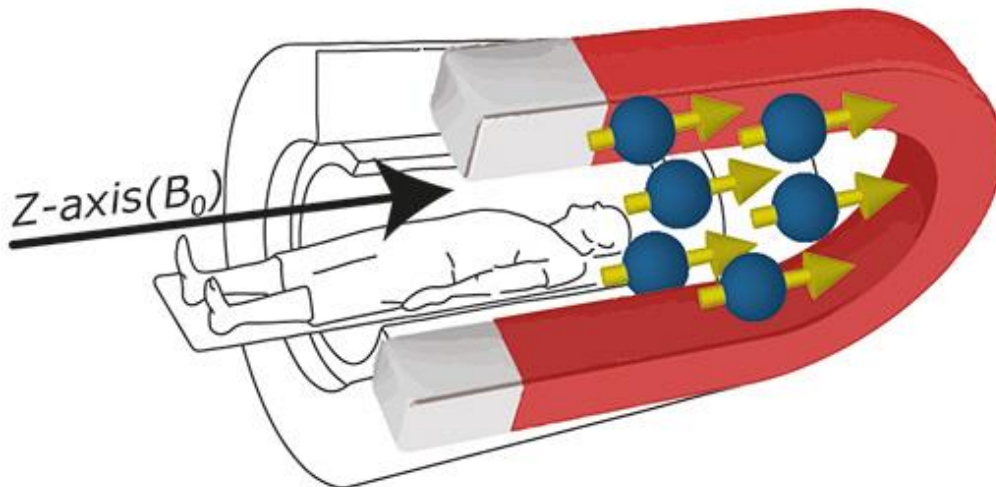


Figura 7: I protoni si allineano in maniera parallela al campo  $B_0$  (direzione lungo l'asse Z)

L'allineamento, tuttavia, non risulta essere istantaneo, dal momento che segue un movimento oscillatorio, un moto circolare, definito come movimento di precessione, caratterizzato dalla cosiddetta frequenza di Larmor. Il protone dell'atomo ruota di  $360^\circ$  attorno al suo asse con una certa velocità, ovvero la frequenza di Larmor, che dipende dalla costante giromagnetica dell'atomo considerato e dall'intensità del campo magnetico

in cui è immerso, secondo la relazione:  $\omega = \gamma B$ , dove  $\omega$  è la frequenza di Larmor,  $\gamma$  la costante giromagnetica e  $B$  l'intensità del campo magnetico (figura 8).

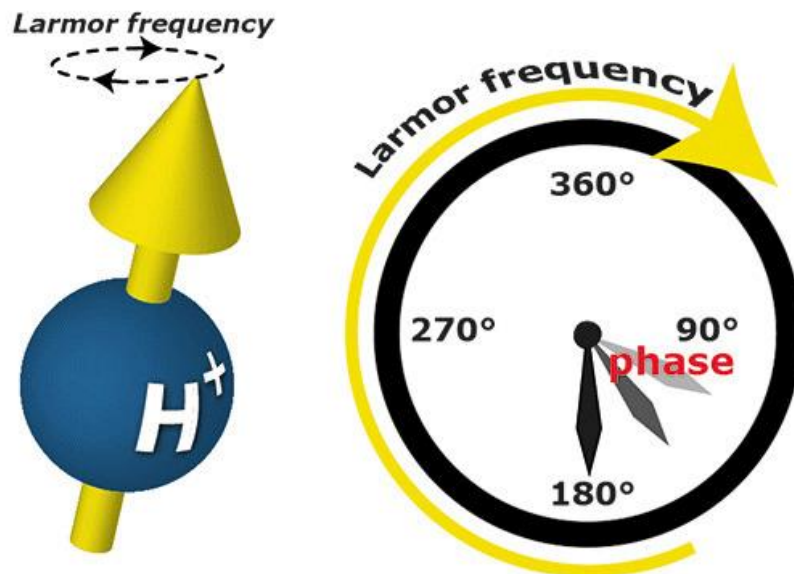


Figura 8: Frequenza di Larmor per un protone dell'atomo di idrogeno

A questo punto è possibile, mediante un impulso a radiofrequenza, ovvero un campo magnetico oscillante, definito come  $B_1$ , spostare gli assi di rotazione degli elettroni mandando in risonanza il sistema, facendo in modo che gli assi di rotazione dei protoni si allineino in modo perpendicolare al campo magnetico costante  $B_0$ , in cui erano stati immersi (figura 9).

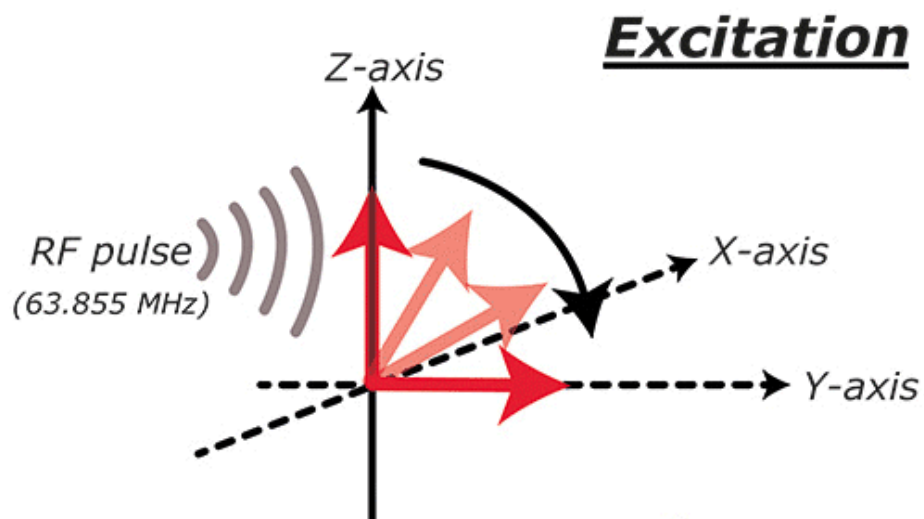


Figura 9: L'impulso a radiofrequenza ( $B_1$ ) manda in risonanza il sistema, facendo in modo che gli assi di rotazione dei protoni si allineino perpendicolarmente all'asse Z (a  $B_0$ )

Nella risonanza magnetica nucleare, il campo magnetico  $B_0$ , applicato lungo l'asse Z, viene applicato mediante un macchinario, nel quale il paziente è posto all'interno, costituito da avvolgimenti elettrici, mediante ai quali si va a generare il campo magnetico. In base all'intensità del campo magnetico che si vuole generare si possono distinguere due diverse tipologie di magneti: i magneti resistivi (0,015-0,3 Tesla) e i superconduttori (possono generare da 0,5 Tesla sino a 11 Tesla, dal momento che non offrono resistenza al passaggio di corrente al di sotto di una certa temperatura). Il passaggio della corrente attraverso gli avvolgimenti, le spire, per la legge di Faraday, permette di generare il campo magnetico. Gli assi di rotazione degli atomi allineati in maniera parallela a  $B_0$  danno al tessuto un momento magnetico massimo  $M_0$ , dato dalla sommatoria di tutti i contributi dei momenti magnetici di tutti gli atomi di idrogeno (figura 10).

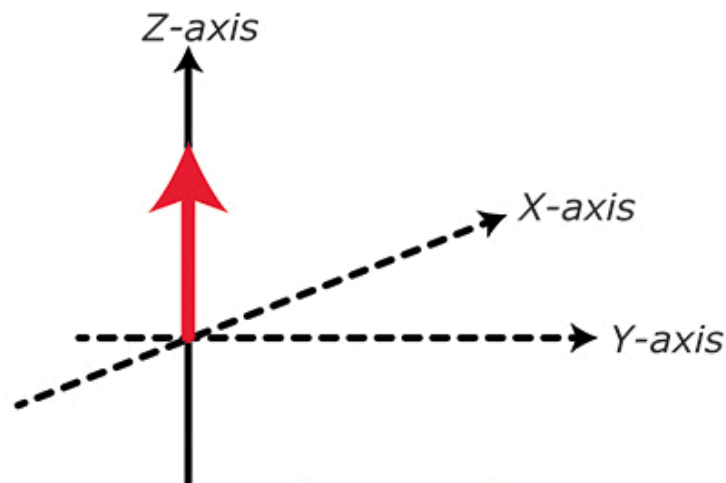


Figura 10: In rosso è indicato il momento magnetico massimo dato dalla somma dei contributi di tutti i protoni, in direzione dell'asse Z

Mediante una bobina posta sul paziente è invece possibile applicare quello che è il campo magnetico  $B_1$  (figura 11), grazie al quale possiamo mandare in oscillazione l'asse dei protoni di idrogeno orientandoli in maniera perpendicolare a  $B_0$  e, durante questa

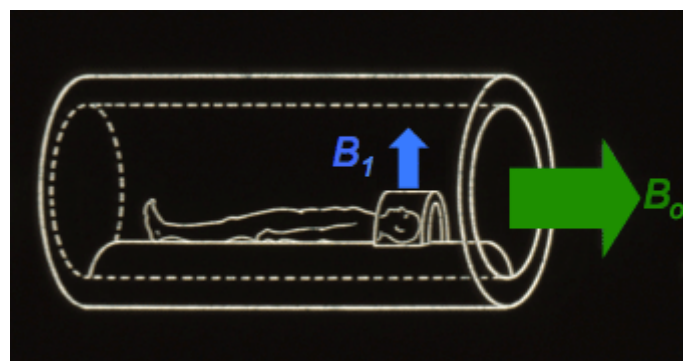
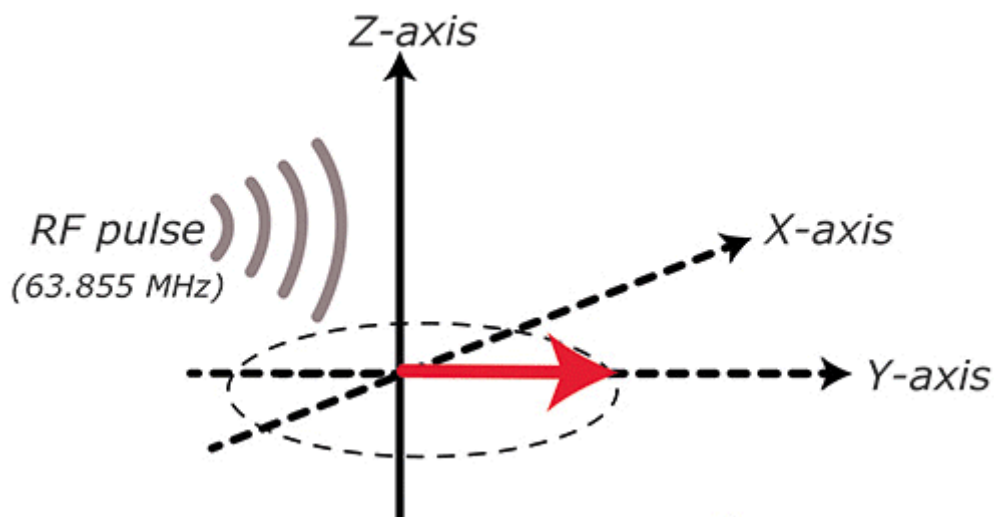


Figura 11: Applicazione dei campi magnetici  $B_0$  e  $B_1$

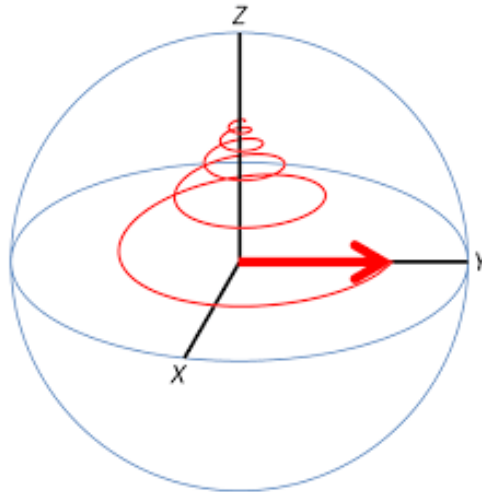
transizione, il momento magnetico sarà caratterizzato da una componente lungo l'asse Z e da una componente lungo il piano trasversale XY.

Una volta che il momento magnetico è disposto perpendicolarmente a  $B_0$ , si assisterà a una rotazione del vettore del momento magnetico lungo il piano trasversale XY (figura 12). Sempre grazie alla bobina che genera  $B_1$ , si è in grado di andare a rilevare l'andamento del momento magnetico lungo il piano trasversale, sfruttando la legge di Faraday, mantenendo applicato il campo magnetico  $B_1$ . Immaginando di porre la bobina di rilevamento perpendicolare all'asse Y, il segnale rilevato sarà di tipo sinusoidale, a causa della rotazione del momento magnetico sul piano XY, e verrà rilevata solo la componente Y del momento.



*Figura 12: Rotazione del momento magnetico lungo il piano XY, mantenendo l'impulso a radiofrequenza ( $B_1$ )*

Interrompendo ora l'applicazione del campo magnetico  $B_1$ , il momento magnetico degli atomi di idrogeno tornerà ad orientarsi in direzione Z, per cui si assisterà alla diminuzione della misura della componente del momento magnetico sul piano trasversale e a un incremento su quello longitudinale (figura 13). Andiamo ora a rilevare l'andamento del momento magnetico sul piano longitudinale e trasversale, una volta terminata la stimolazione.



*Figura 13: Andamento delle componenti del momento magnetico lungo le direzioni XYZ una volta rimosso il campo magnetico B1*

Vi saranno dunque due componenti del momento magnetico:

- la prima è legata alla variazione del momento magnetico secondo il piano trasversale XY, al quale è associato il tempo di rilassamento T2
- la seconda è legata alla variazione del momento magnetico lungo il piano longitudinale, lungo l'asse Z, ovvero la stessa direzione di B0, al quale è associato il tempo di rilassamento T1.

Ciò che ci interessa nella risonanza magnetica è andare a valutare l'andamento del momento magnetico rispetto ai tempi di rilassamento T1 o T2 delle diverse strutture, grazie al quale in grado di andare a generare un'immagine di sezione dell'area indagata.

La tecnica della risonanza magnetica è costituita sostanzialmente da cinque fasi:

1. Il paziente è sdraiato sul lettino del macchinario e posto all'interno del campo magnetico B0
2. Mediante la bobina posta sul paziente si va a generare un impulso a radiofrequenza, ovvero il campo magnetico B1
3. Si disattiva il campo magnetico B1
4. Rileviamo il segnale mediante la bobina posta sul paziente
5. Il segnale misurato viene convertito in un'immagine digitale

Per ricreare l'immagine digitale è innanzitutto necessario comprendere quale parte di tessuto lungo l'asse Z abbia generato il segnale. Per fare questo è necessario andare ad

applicare un gradiente lungo  $B_0$ , dal momento che se  $B_0$  fosse costante, tutti gli atomi oscillerebbero con la stessa frequenza di Larmor e di conseguenza il segnale sinusoidale che otterrei non mi consentirebbe di capire da quale parte è stato generato. Applicando un gradiente lungo  $B_0$ , invece, si va a modificare quella che è la frequenza di oscillazione degli atomi per una certa quota di  $Z$ , la cui frequenza di Larmor sarà quindi diversa da quella di altri atomi lungo quote differenti (figura 14).

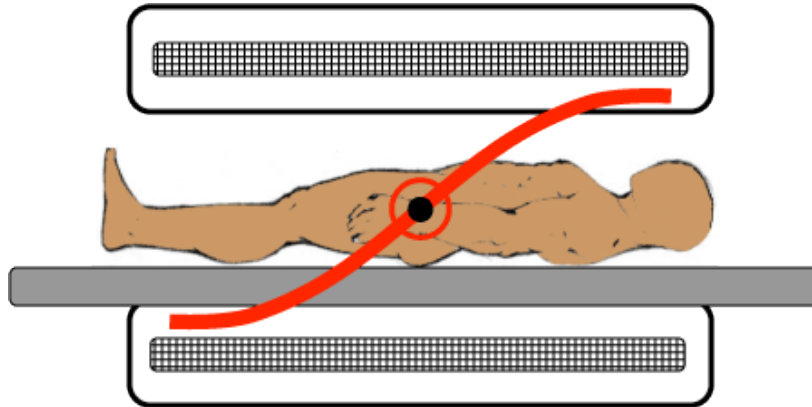


Figura 14: Gradiente applicato lungo  $B_0$  (asse  $Z$ ). Diversa intensità del campo magnetico  $B_0$  tra testa e piedi

Una volta ottenuto il segnale e effettuando l'analisi di Fourier, ovvero un'analisi del segnale nel dominio delle frequenze e non dello spazio, siamo in grado di associare alle diverse frequenze le posizioni lungo l'asse  $Z$ , dal momento che sappiamo il gradiente magnetico che è stato applicato (figura 15).

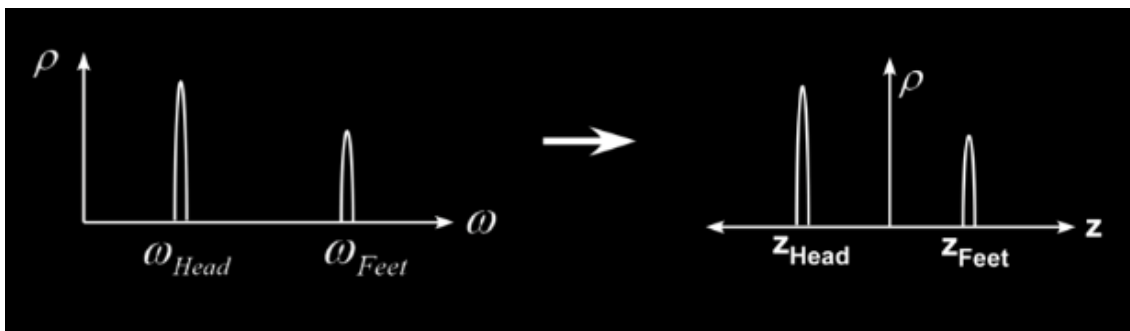


Figura 15: Analisi di Fourier (dominio delle frequenze) del segnale lungo l'asse  $Z$ . Mediante questa procedura siamo in grado di associare a una frequenza la rispettiva quota  $Z$

A questo punto è possibile acquisire il segnale di una sola fetta rilevando il segnale emesso dagli atomi appartenenti solo a questo spazio ben definito, dal quale ricostruiremo l'immagine di tale sezione. Per fare ciò è necessario eccitare mediante uno specifico impulso a radiofrequenza gli atomi appartenenti a una singola fetta, lasciando in condizione di equilibrio tutti gli altri. Questo è possibile mandando in risonanza, mediante il campo magnetico  $B_1$ , gli atomi appartenenti a una specifica fetta, dal momento che per

ciascuna quota  $Z$  gli atomi avranno diverse frequenze di oscillazione o di Larmor (figura 16). Maggiore è la possibilità di creare un gradiente lungo  $B_0$  maggiore e maggiore sarà la possibilità di diversificare in maniera migliore le sezioni lungo l'asse  $Z$ .

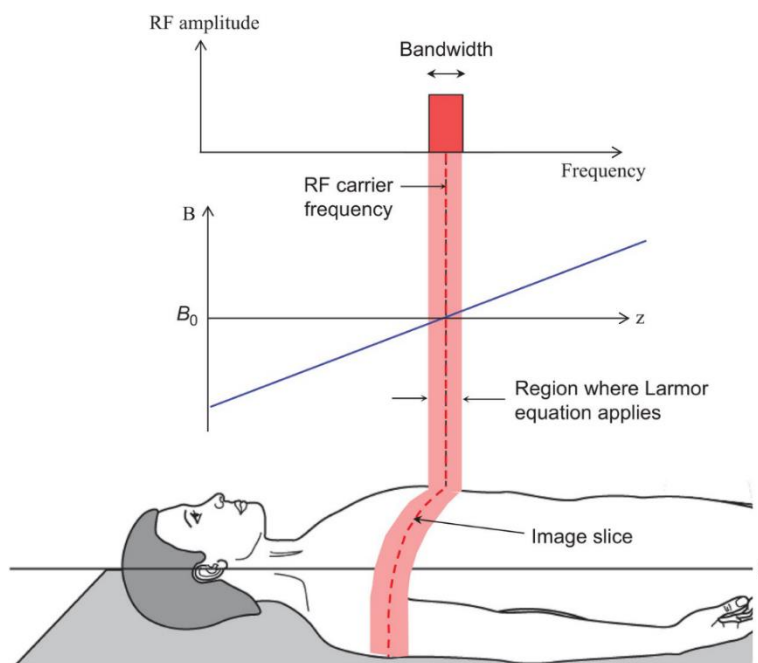


Figura 16: Impulso a radiofrequenza specifico grazie al quale posso eccitare gli atomi appartenenti ad un'unica fetta, fetta di tessuto, lungo l'asse  $Z$

È necessario ora effettuare una seconda decodifica, una codifica in frequenza, per andare a localizzare, dentro la fetta, la linea che può avere generato il segnale lungo l'asse  $X$ . Applicando un gradiente su  $B_1$ , dopo l'impulso a radiofrequenza, durante l'acquisizione del segnale emesso, si varia linearmente la frequenza di emissione da parte dei protoni. Variando l'intensità del campo magnetico  $B_1$  si è in grado di far variare la frequenza di Larmor e, quindi, la frequenza con cui i protoni dell'idrogeno si muovono oscillando per il moto di precessione. Applicando il gradiente al campo magnetico  $B_1$ , gli atomi saranno caratterizzati da una risonanza a frequenza diversa a seconda della posizione lungo l'asse  $X$ . In questo modo, il segnale rilevato sarà la somma di un certo numero di sinusoidi con frequenze diverse e applicando la trasformata di Fourier, compiendo un'analisi nel dominio delle frequenze, si è in grado di associare a ciascuna frequenza una posizione nello spazio lungo  $X$  (figura 17).

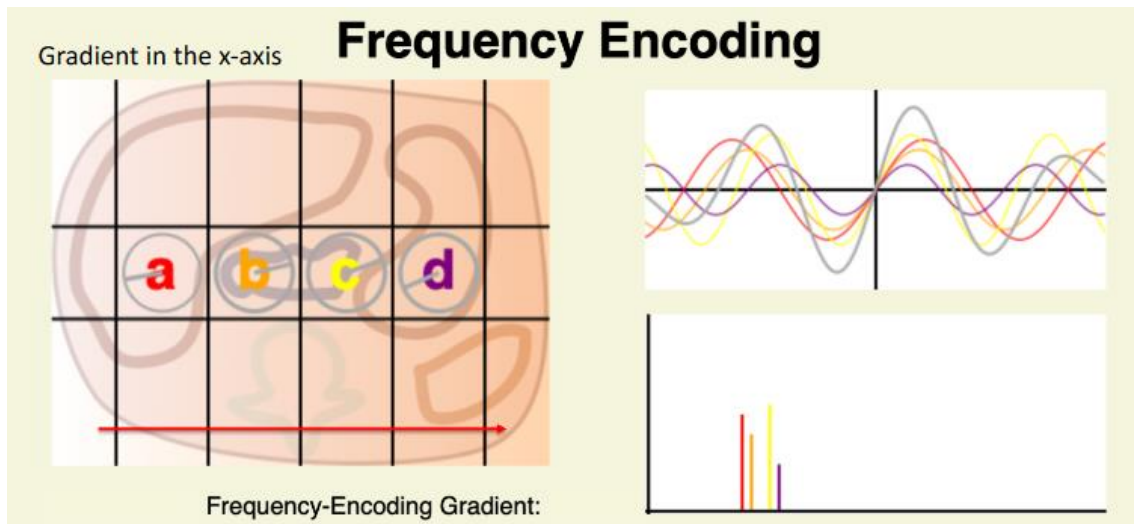


Figura 17: Coding delle frequenze lungo l'asse X. Grazie all'analisi di Fourier siamo in grado di determinare quale atomo lungo l'asse X abbia emesso una certa componente del segnale. In alto a destra, il segnale periodico è stato scomposto in una serie di sinusoidi, mentre, in basso a destra, vi è l'analisi di ciascuna componente sinusoidale nel dominio delle frequenze

Bisogna ora attribuire una diversa caratteristica del segnale affinché si possa differenziare il segnale lungo l'asse Y. In questa situazione, non si è più in grado di variare nuovamente il campo magnetico, dal momento che si sono già sfruttate le due possibilità di cambiamento della frequenza. L'unica cosa che si può effettuare è modificare le caratteristiche dell'onda sinusoidale che i protoni generano muovendosi secondo il moto di precessione, alterando un'altra caratteristica rispetto alla frequenza. Si può ora operare su quella che è la fase dell'onda, in particolare sullo sfasamento. Se i protoni venissero mandati in risonanza con la stessa fase, si avrebbe un grosso aumento del segnale perché ciascun segnale sinusoidale emesso giungerebbe al picco nel medesimo istante, ma non sarei in grado di discriminare la posizione lungo l'asse Y, per cui è necessario andare a far variare la fase. Il cambiamento di fase può essere ottenuto mediante un piccolo impulso applicato durante il moto di precessione, che riesce a ritardare il movimento. Di conseguenza, è possibile sfasare l'onda sinusoidale ed è possibile applicare uno sfasamento maggiore o minore a seconda della durata dell'impulso applicato. In questo modo otterremmo una serie di sinusoidi sfasate e che arrivano ai picchi in tempi diversi, per cui, analizzando il segnale in frequenza e scomponendolo nelle varie componenti, si può usare la trasformata di Fourier per calcolare la fase (figura 18).



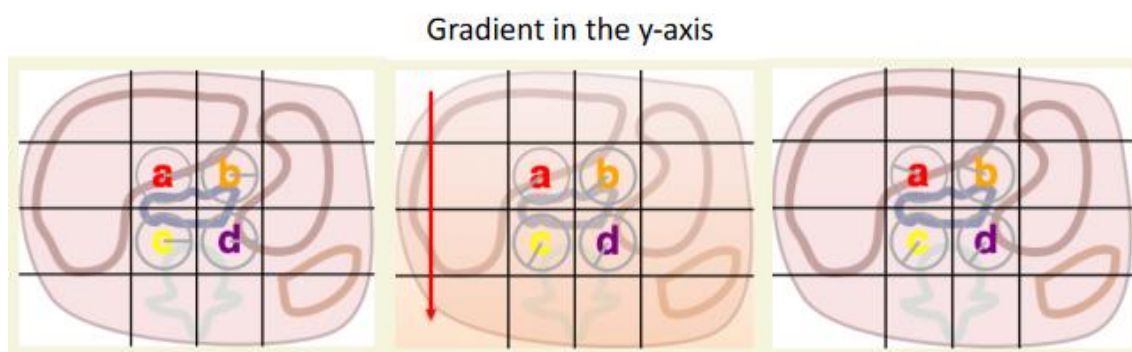


Figura 18: Sfasamento dei protoni, grazie al quale è possibile effettuare una decodifica della fase lungo l'asse Y

A questo punto si è in grado di generare l'immagine (figura 19):

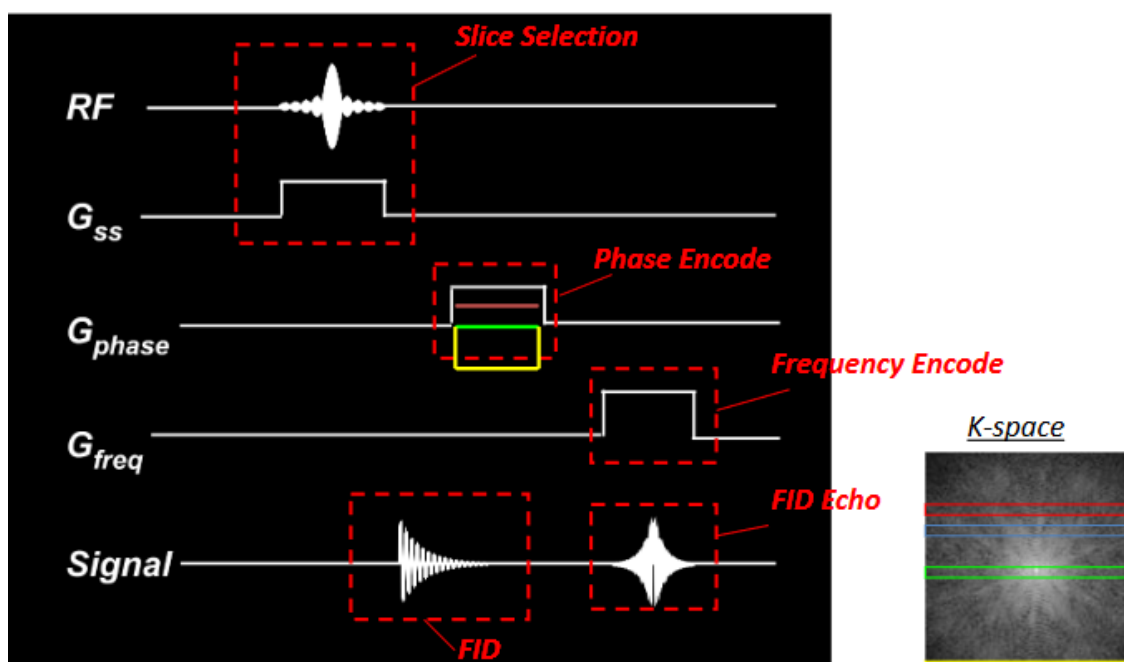


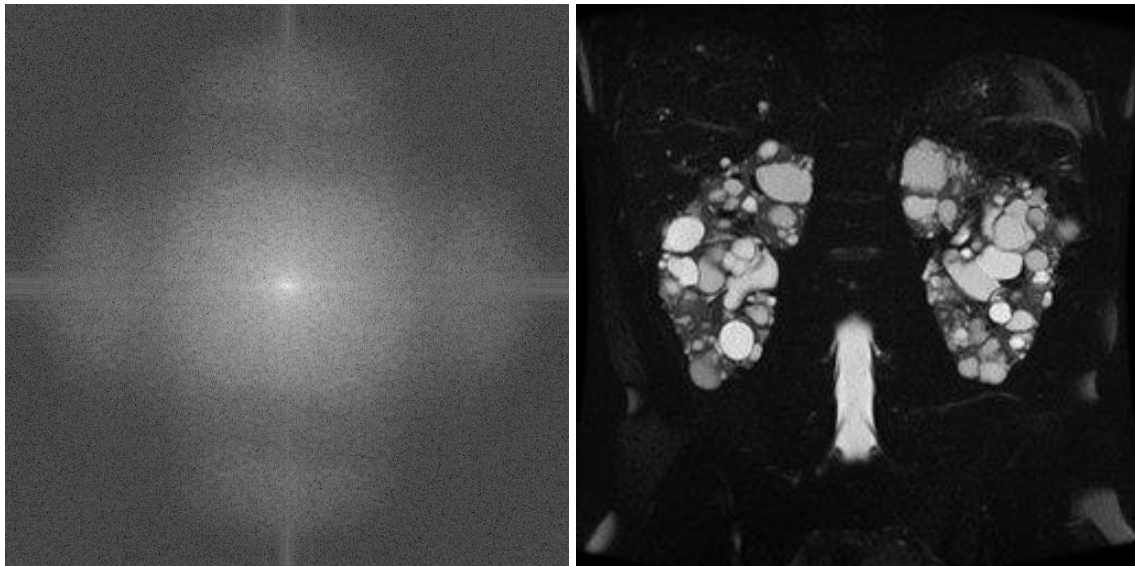
Figura 19: Pulse MRI sequence; protocollo di acquisizione Gradient Echo

La prima cosa che deve essere tenuta in considerazione è la selezione del protocollo di acquisizione dell'immagine, che va a variare il tipo di segnale che viene prodotto e rilevato (figura 20).

Type of MR Signal	Method of Formation
Free induction decay (FID)	1 RF pulse
Gradient echo (GRE)	1 RF pulse + gradient reversal
Spin echo (SE)	2 RF pulses
Stimulated echo	3 or more RF pulses

Figura 20: Protocolli di acquisizione dell'immagine MRI

In primis, si seleziona la fetta mediante l'emissione di una radiofrequenza specifica. Ricevuto il segnale, si effettua quella che è la decodifica delle frequenze e della fase del segnale. Per una data fetta in posizione Z, si crea il relativo K-Spazio, ovvero un piano che presenta sull'asse delle X le frequenze e sull'asse Y le fasi del segnale emesso da tale fetta. È possibile ora ottenere l'immagine finale applicando la trasformata inversa di Fourier al K-Spazio (figura 21).



*Figura 21: A sinistra, il K-Spazio dell'immagine di destra. È possibile ottenere l'immagine di destra applicando l'inversa della trasformata di Fourier al K-Spazio*

## **2.2 Risonanza magnetica pesata in T1 e T2**

La particolarità della risonanza magnetica è la possibilità di ottenere diverse tipologie di immagine, in base alla sequenza di risonanza utilizzata. Per studiare l'anatomia, le sequenze di risonanza più utilizzate sono le sequenze pesate in T1 e T2; queste risulteranno essere fondamentali per lo studio dell'anatomia renale nella malattia policistica, di conseguenza ci concentreremo essenzialmente su esse. Ponendo una spira saremo in grado di valutare le variazioni del campo magnetico nella direzione perpendicolare alla spira, ottenendo una variazione di campo elettrico all'interno della spira per la legge di Faraday dell'induzione elettromagnetica. Posizionando una spira in direzione perpendicolare all'asse Y, misureremo solamente le variazioni del momento magnetico lungo l'asse Y, mentre non avremo contributi per quanto riguarda il momento lungo l'asse X. Otterremo in questo modo un segnale di tipo sinusoidale, dove avremo un

andamento sinusoidale costante lungo il piano XY nel caso in cui venga mantenuto l'impulso dato da B1.

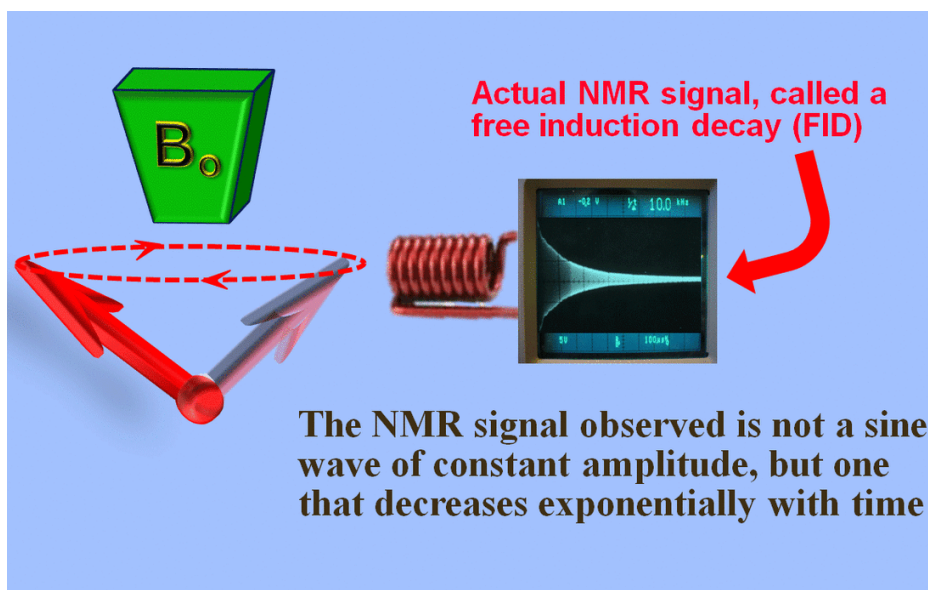


Figura 22: Rilevamento dell'andamento del momento magnetico lungo il piano XY, lungo uno dei suoi due assi, una volta terminato l'impulso di B1. Per FID si intende il decadimento spontaneo del momento magnetico lungo il piano XY

Una volta rimosso il campo magnetico B1, si assisterà a una variazione del campo magnetico nelle sue due componenti lungo l'asse Z e lungo il piano XY, seguendo degli andamenti di tipo esponenziale (figura 22-23).

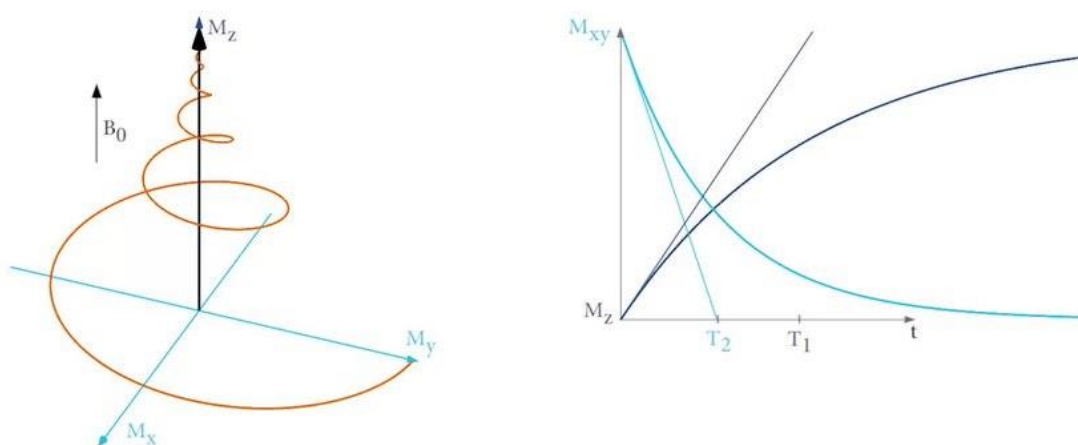


Figura 23: Andamento delle componenti del momento magnetico una volta rimosso l'impulso a radiofrequenza, a sinistra. A destra è rappresentato l'andamento esponenziale delle componenti del momento magnetico lungo Z e lungo XY, con i rispettivi e ipotetici andamenti lineari

Tali curve esponenziali permettono di calcolare i tempi di rilassamento T1 e T2. Il tempo di rilassamento T1, o tempo di rilassamento longitudinale, indica il tempo per cui si riottenrebbe il momento longitudinale, lungo l'asse Z, una volta tolta la stimolazione di

B1, nel caso in cui l'andamento fosse di tipo lineare e non esponenziale. Il tempo di rilassamento T2, invece, indica il tempo con cui il momento trasversale lungo il piano XY si annullerebbe nel caso vi fosse un andamento lineare e non esponenziale.

La necessità di considerare i tempi T1 e T2 sorge dal fatto che sarebbe quasi impossibile misurare il tempo per il quale la componente dei momenti si esaurisca o giunga a transitorio esaurito, dal momento che son andamenti esponenziali e quindi asintotici. Sorge quindi la necessità di caratterizzare la dinamica delle curve esponenziali e questo può essere fatto mediante T1 e T2.

Il tempo di rilassamento T1 è un tempo di rilassamento legato allo spin e reticolo, ovvero il tempo in cui i nuclei perturbati si riallineano con la struttura reticolare esistente del materiale, immerso nel campo magnetico. L'equazione che descrive l'andamento del momento magnetico lungo l'asse Z è:

$$M_z = M_0(1 - e^{-\frac{t}{T1}})$$

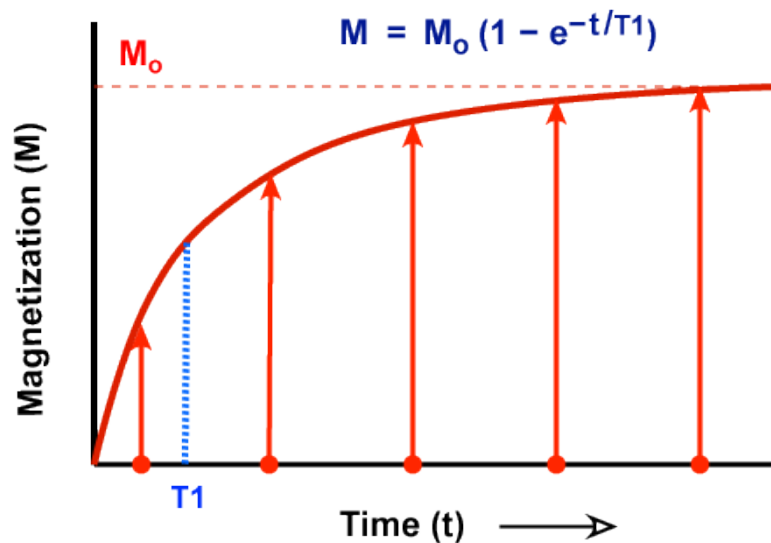


Figura 24: Andamento del momento magnetico longitudinale (asse Z)

Il rilassamento longitudinale segue un'equazione esponenziale negativa con costante di tempo T1, dove il momento raggiunge il 63% del suo massimo valore (M0) per t=T1 (figura 24). A questo punto è possibile andare a generare un'immagine di risonanza, una volta calcolati i tempi T1. Ai tessuti aventi tempi T1 brevi verranno associati colori chiari dell'immagine, mentre per valori molto più elevati di T1 verranno assegnati colori scuri.

Considerando, per esempio, acqua e grasso, si noterà come il grasso abbia un tempo di rilassamento longitudinale minore rispetto all'acqua, per cui nell'immagine all'acqua verranno assegnati colori più scuri rispetto al grasso (figura 25).

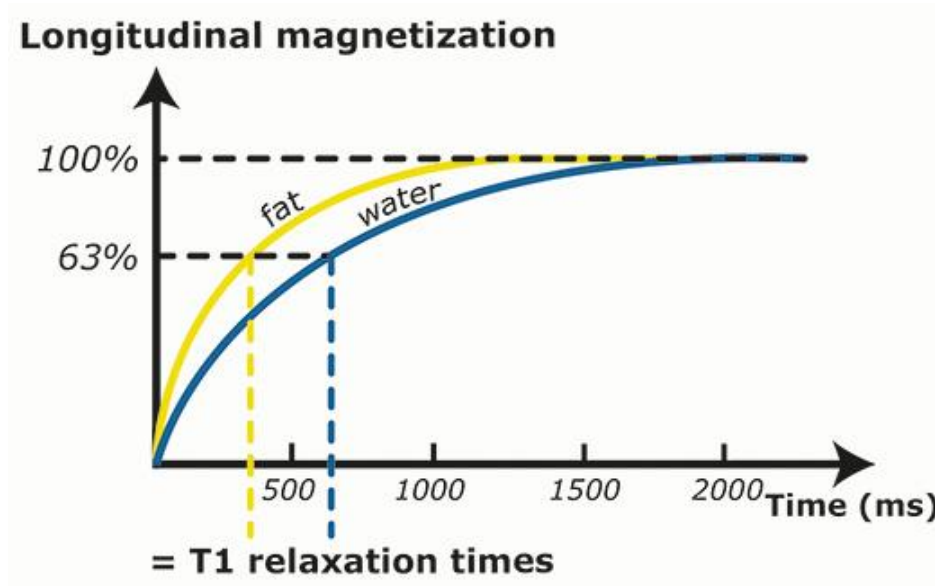


Figura 25: Tempi di rilassamento T1 di acqua e grasso

Il tempo di rilassamento T2, definito anche come tempo spin-spin, invece, è il tempo necessario per la disattivazione reciproca degli spin perturbati in fase, ovvero per tornare tutti in direzione verticale. Il tempo T2 è il tempo di rilassamento trasversale è il decadimento della componente del momento lungo il piano XY. L'equazione che descrive l'andamento del momento magnetico lungo il piano XY è:

$$M_{xy} = M_0 e^{-t/T_2}$$

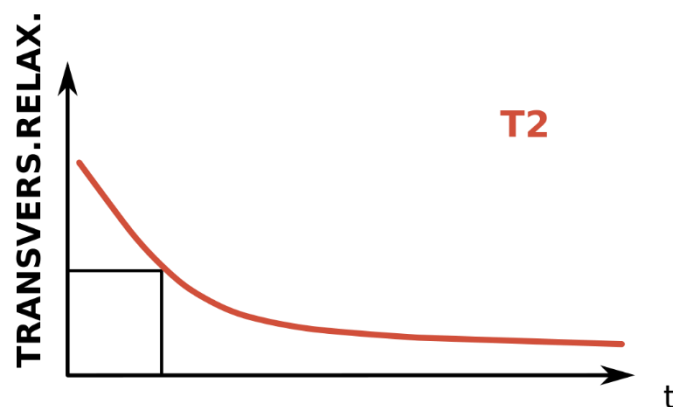


Figura 26: Andamento del momento magnetico trasversale (piano XY)

T2 è il tempo necessario per cui la magnetizzazione trasversale, ovvero XY, scenda a circa il 37% del suo valore iniziale massimo (M0) (figura 26).

In questo caso, per valori di T2 corti verranno assegnati colori scuri, mentre verranno assegnati colori chiari a tempi di T2 alti, ovvero a tessuti in cui il decadimento del momento risulta avere una dinamica più lenta.

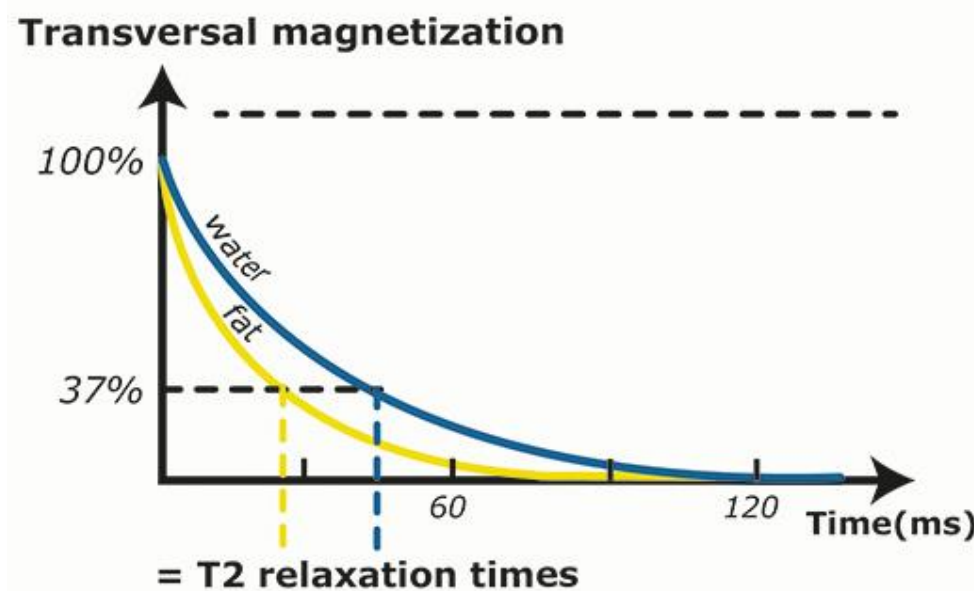


Figura 27: Tempi di rilassamento T2 di acqua e grasso

Considerando, per esempio, acqua e grasso, si nota come il grasso abbia tempo di rilassamento T2 inferiore rispetto all'acqua, per cui ad esso verrà assegnato un colore più scuro rispetto all'acqua, ottenendo così un'immagine diversa rispetto al caso precedente con T1 (figura 27).

A questo punto vi è quindi la necessità di capire quale tempo considerare per ottenere l'immagine di risonanza ideale. I tempi T1 e T2 rappresentano fenomeni abbastanza distinti. Il tempo di rilassamento trasversale T2 risulta essere più veloce di quello longitudinale T1, inoltre, entrambi i tempi risultano essere sensibili alla struttura molecolare e agli ambienti che circondano i nuclei, ossia a come il nucleo dell'atomo di idrogeno risulta essere bloccato nel suo movimento. In particolare, T2 tende ad aumentare con l'aumento del movimento nucleare da microsecondi nei solidi a secondi nei liquidi. Nei tessuti biologici, i tempi di T2 dell'idrogeno vanno da 0.04 a 2 secondi, mentre i tempi T1 da 0.5 a 5 secondi. Vi sono delle diversità che possono essere apprezzate con



queste due modalità, ovvero possiamo distinguere strutture in maniera migliore in base al tempo di rilassamento considerato.

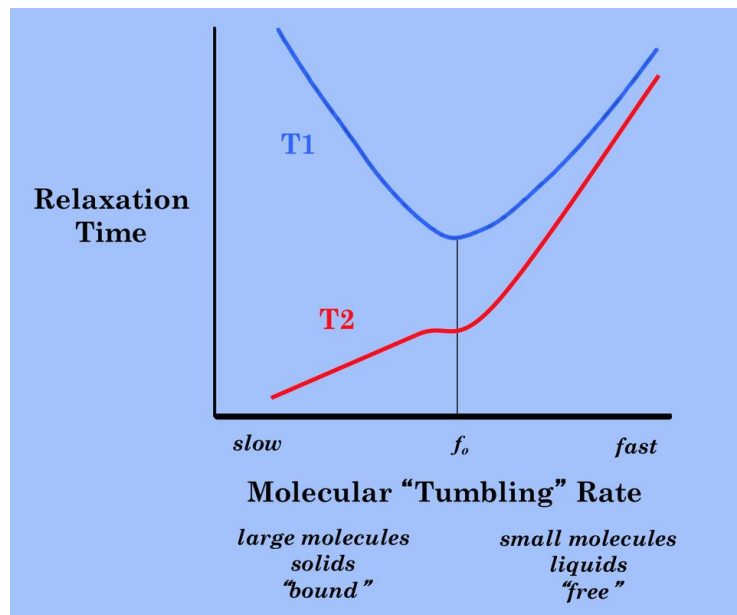


Figura 28: Andamento dei tempi di rilassamento T1 e T2 in funzione della grandezza delle molecole

Nel grafico sovrastante (figura 28), è possibile notare l'andamento dei tempi di rilassamento T1 e T2 a seconda del fatto che gli atomi di idrogeno appartengano o siano legati a molecole che hanno una certa mobilità. Vi sono molecole che hanno atomi di idrogeno in grado di muoversi liberamente e che presentano valori di T1 e T2 elevati. Se invece le molecole che contengono l'idrogeno appartengono a strutture più solide, strutture che hanno una certa rigidità perché costituite da proteine e grassi, ad esempio, il tempo di rilassamento varia molto rispetto a T1.

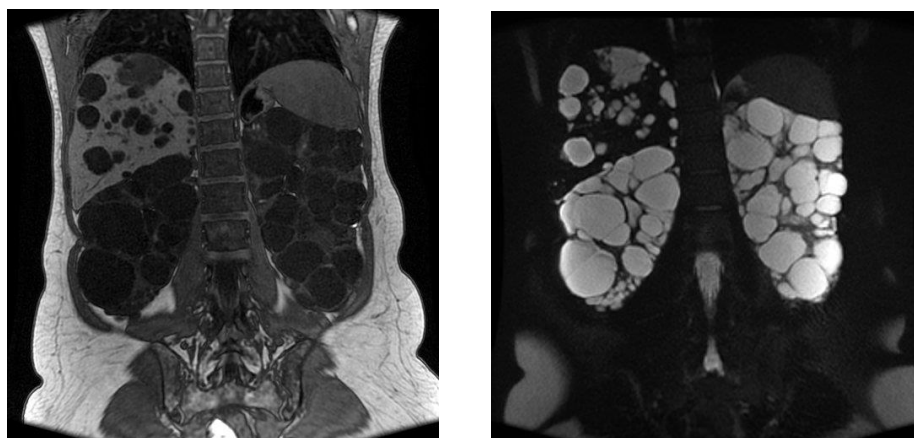


Figura 29: Differenze tra un'immagine pesata T1, a sinistra, e T2, a destra, raffiguranti reni policistici

Nella pratica, le immagini T1 sono prevalentemente usate per valutare la normale anatomia, dal momento che solo a poche strutture viene attribuito un colore bianco: grasso, mezzo di contrasto (gadolinio), melanina, proteine, mentre a acqua e collagene viene assegnato un colore scuro (figura 30).

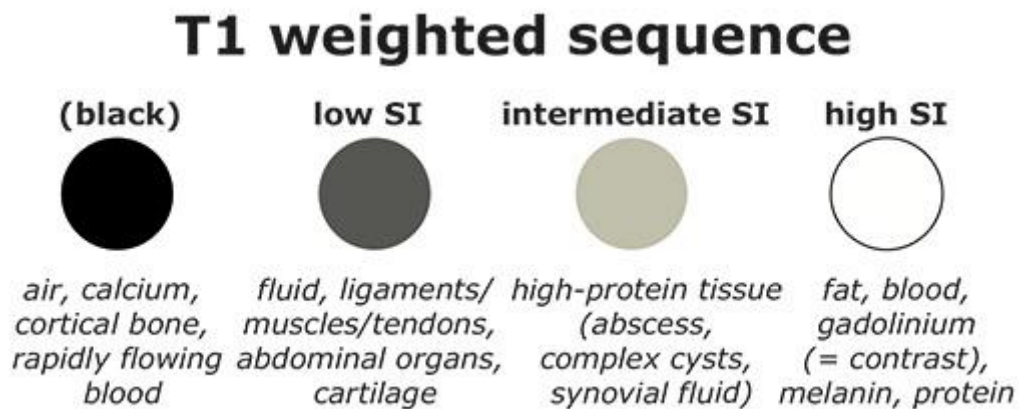


Figura 30: Attribuzione dei colori in relazione al tessuto considerato in un'immagine T1

Le immagini T2, invece, sono caratterizzate dall'associare valori molto chiari ai fluidi e all'acqua. Per questo motivo, le immagini sono molto utili per identificare patologie associate spesso a edemi (figura 31). [11]

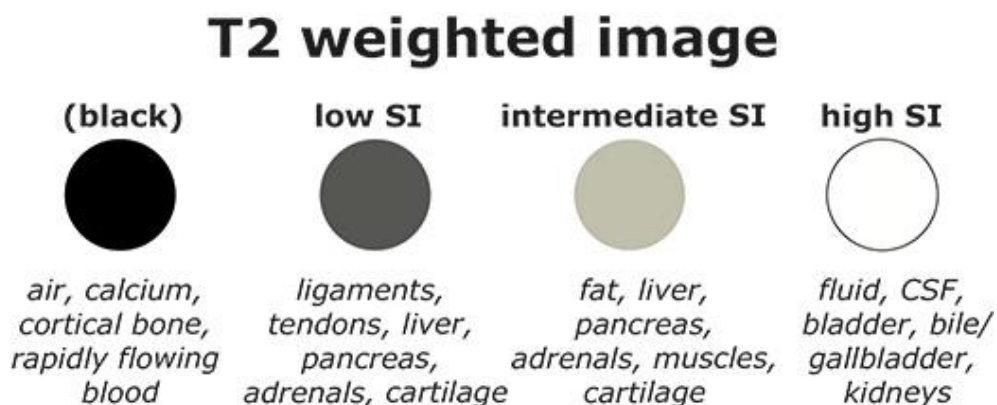


Figura 31: Attribuzione dei colori in relazione al tessuto considerato in un'immagine T2

### 2.3 Ruolo della risonanza magnetica nella malattia policistica renale

La malattia policistica renale è caratterizzata dalla formazione ed espansione di cisti e dal conseguente aumento del volume renale, per cui la quantificazione di tale volume risulta essere fondamentale per studiare il progredire della malattia, sin dagli stadi più precoci. A differenza di altre patologie renali, la velocità di filtrazione glomerulare (GFR) non può essere considerata un parametro affidabile nel valutare quello che è lo sviluppo della patologia. Nonostante nella malattia policistica la funzione renale si mantenga costante per diverse decadi, la struttura renale si modifica e le cisti renali si formano ed espandono



sin dagli stadi precoci di malattia. Questa condizione potrebbe essere determinata dal fatto che il rene sia in grado di compensare la perdita di funzione di alcuni nefroni incrementando quella dei nefroni ancora sani. Questo meccanismo di compensazione fa sì che il GFR vada ad offuscare quello che è il danno procurato dalla patologia nelle prime fasi di malattia, per cui nella malattia policistica renale risulta essere indispensabile lo studio del volume totale renale, TKV (Total kidney volume). Studi preliminari hanno messo in evidenza come un incremento del TKV annuo rifletta un'espansione e crescita delle cisti, affermando ulteriormente la validità del TKV nello studio della malattia. Indagini effettuate dal "Consortium for Radiologic Imaging Studies of Polycystic Kidney Disease" hanno confermato i risultati precedenti e portato a diverse conclusioni: il TKV progredisce con un andamento esponenziale dalla nascita sino all'età adulta; ogni paziente ha un proprio tasso di crescita del volume renale; il crollo della funzione renale (GFR) si può verificare in un vario range d'età; i reni risultano avere dimensioni minori e il declino del GFR risulta essere inferiore nei pazienti che presentano una mutazione del gene PKD2, rispetto a quelli che presentano una mutazione del gene PKD1. Dato che il TKV risulta essere indispensabile per valutare il progredire della malattia, esso risulta essere un indicatore ottimale per valutare l'efficacia di trattamenti, terapie e farmaci contro la malattia policistica. [5]

L'importanza del TKV pone attenzione su quella che è la diagnostica per immagini, fondamentale per permettere di acquisire questo indicatore. Il TKV, infatti, può essere misurato mediante tecniche ecografiche, con la risonanza magnetica o con la TAC. L'ecografia, nonostante sia una tecnica adeguata alla diagnosi, non risulta essere precisa nella quantificazione, sia per la risoluzione delle immagini ottenute, sia per il fatto che sia una tecnica operatore-dipendente, ovvero si potrebbero ottenere risultati differenti in base al medico che svolge l'indagine. La TAC permette di ottenere immagini con una buona risoluzione, tuttavia comporta l'esposizione al paziente di radiazioni ionizzanti (raggi X), mentre la MRI risulta essere ottimale, in quanto permette di effettuare una quantificazione molto accurata, anche senza l'utilizzo di agenti di contrasto, senza aver alcun effetto collaterale per il paziente. Di conseguenza, la risonanza magnetica risulta essere la tecnica più idonea per andare a quantificare il volume renale. [12]

### **Capitolo III. Obiettivo del progetto di tesi**

L'obiettivo del progetto di tesi è l'ottimizzazione dei programmi in uso dall'unità di medical imaging dell'istituto di ricerca Mario Negri, di Ranica, per la quantificazione di volumi nella malattia renale policistica, a partire da immagini di risonanza. La revisione e il miglioramento hanno interessato due codici di elaborazione: il primo è una stereologia semi-automatica per l'identificazione e la quantificazione del volume delle cisti epatiche, mentre il secondo è una procedura semi-automatica che consente di individuare e quantificare il volume delle cisti renali. Come descritto nei precedenti capitoli, risulta fondamentale quantificare quello che è il volume di reni e fegato nei pazienti affetti da malattia policistica, per valutare il progresso della malattia e per effettuare studi clinici, valutando il grafo di efficacia di nuovi farmaci e trattamenti in grado di contrastare la malattia.

Il programma riguardante la stereologia necessitava la correzione di alcuni errori presenti all'interno del codice, per quanto riguarda la selezione delle cisti epatiche; si è poi proceduti a garantire una maggiore automazione dell'intero processo e al settaggio di alcuni parametri, per ottenere un risultato migliore al termine della procedura, che avrebbe comportato un minore intervento manuale di correzione da parte dell'utente.

La procedura semi-automatica per la quantificazione delle cisti renali, invece, necessitava un intervento di aggiornamento del codice, dal momento che era stato sviluppato mediante l'utilizzo di alcune librerie di elaborazione di immagini divenute oramai obsolete. Una volta effettuato ciò, è stata garantita la portabilità dell'intera procedura, sviluppata interamente per ambiente MacOS, su un sistema operativo con architettura Windows, in modo tale che l'esecuzione di tale procedura potesse essere eseguita su qualsiasi calcolatore. È stato anche necessario aggiornare l'estensione di un software utilizzato all'interno della procedura, che consente la selezione e la correzione manuale della selezione delle cisti da parte dell'utente, dato che anch'essa era stata sviluppata per una versione oramai obsoleta. Inoltre, son state semplificate quelle che sono le istruzioni necessarie per eseguire il codice, evitando l'inclusione di molteplici parametri in righe di comando da inserire all'interno di una shell o prompt dei comandi.

## **Capitolo IV. Progetto di tesi**

### **4.1 Software utilizzati**

Nel corso del progetto di tesi, per l'ottimizzazione dei codici e delle procedure in uso per la quantificazione dei volumi nell'ambito della malattia policistica, sono stati utilizzati numerosi software e librerie esterne open-source, disponibili gratuitamente che offrono all'utente la possibilità di modificare il codice sorgente [13]. I principali software utilizzati nel corso del progetto di tesi sono descritti di seguito.

#### **4.1.1 ImageJ**

Imagej è un software di dominio pubblico di elaborazione digitale di immagini, basato su Java e sviluppato dal NIH (National Institutes of Health degli Stati Uniti). Presenta diverse distribuzioni che lo rendono disponibili su tutti i sistemi operativi più comuni, come Windows, MacOS e Linux. ImageJ è in grado di mostrare, modificare, analizzare, processare, salvare e stampare immagini a 8, 16 o 32 bit. È in grado di leggere molteplici formati di immagine, come TIFF, GIF, JPEG, BMP, DICOM, FITS e immagini grezze ('raw data'). ImageJ supporta anche la visualizzazione di una serie di immagini, definite 'stack', in una singola finestra. Il software, inoltre, consente il multithreading, ovvero l'esecuzione in parallelo di processi, in modo tale che operazioni che possano richiedere molto tempo, come la lettura di un file immagine, possano essere eseguite in parallelo con altre operazioni.

ImageJ incorpora una serie di strumenti utili per l'elaborazione di immagini digitali: può calcolare l'area e statistiche riguardanti i valori dei pixel all'interno di una certa regione selezionata dall'utente; può misurare distanze, angoli; può creare degli istogrammi dell'intensità delle immagini; permette l'ottimizzazione del contrasto, della luminosità, supporta operazioni di sharpening (aumento della nitidezza e della qualità dell'immagine), smoothing (filtraggio volto all'eliminazione di rumore) e detezione di bordi. Può, inoltre, effettuare delle trasformazioni geometriche quali scaling, rotazione e riflessione dell'immagine, ed è anche dotato di un calibratore spaziale, grazie al quale è possibile effettuare delle misure reali sull'immagine, e di un calibratore per la densità o la scala di grigi. Il programma è in grado di aprire un elevato numero di finestre, limitato solamente dalla disponibilità di memoria RAM del calcolatore.

ImageJ è stato realizzato mediante una architettura aperta che consente di avere estensioni, macro e plugin, scritti in Java, all'interno dell'applicazione. Ciascun utente può creare dei propri plugin di analisi ed elaborazione, che possono essere sviluppati all'interno dell'applicativo sfruttando l'editor integrato e il compilatore Java presenti in ImageJ, per automatizzare una serie di processi che altrimenti dovrebbero essere svolti passo dall'utente. [14]

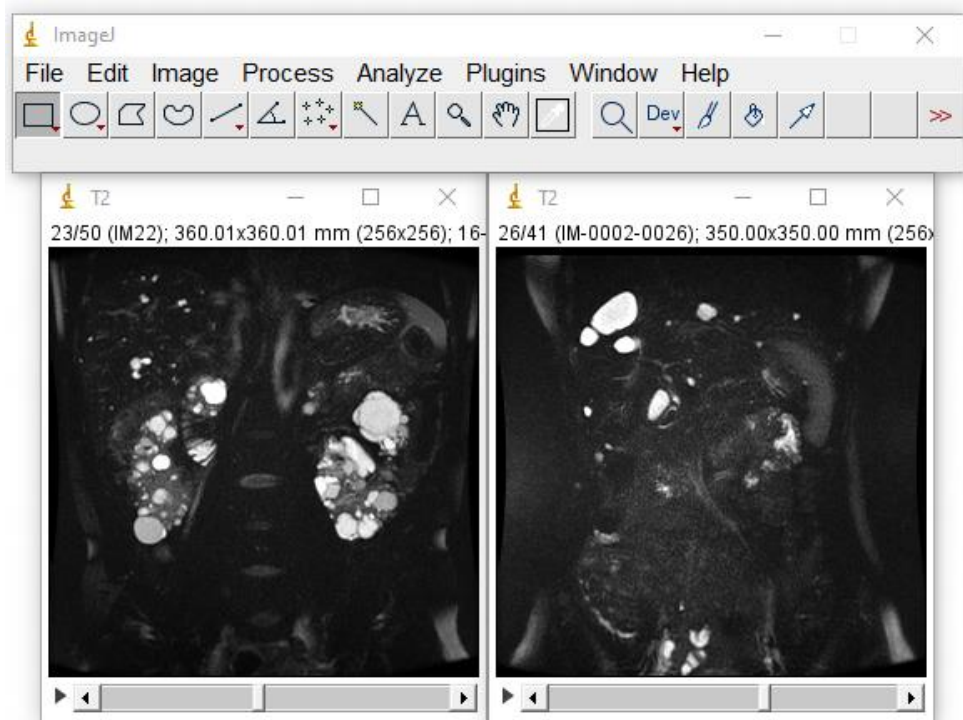


Figura 32: Menu di ImageJ. All'interno dell'applicativo sono stati aperti due stacks di immagini MRI pesate in T2 raffiguranti reni (a sinistra) e fegato policistici (a destra)

#### 4.1.2 ITK

ITK, acronimo di Insight Segmentation and Registration Toolkit, è una libreria multiplatforma, open-source, utilizzata per l'elaborazione di immagini digitali, in particolare per la segmentazione e per la registrazione di immagini, dove per segmentazione si intende il processo di identificazione e di classificazione dei dati di un'immagine, mentre per registrazione si intende il processo che permette la trasformazione di differenti insiemi di dati presenti in diversi insiemi di coordinate in un sistema dove ogni coordinata spaziale corrisponde, evidenziando così ogni possibile cambiamento in dimensioni, forma o posizione. [15]

Il toolkit rende disponibili una serie di algoritmi di segmentazione e di registrazione di immagini avanzati, in grado di operare su due tre e più dimensioni. ITK necessita dell'ambiente di creazione CMake per gestire il processo di configurazione.

CMake è un software multiplatforma e open-source progettato per creare, testare e impacchettare software. CMake viene usato per controllare il processo di compilazione del software mediante dei file di configurazione indipendenti dalla piattaforma e dal compilatore, e per generare makefile nativi (che contengono le istruzioni per la compilazione) o aree di lavoro che possono essere usati nell'ambiente di compilazione. [16]

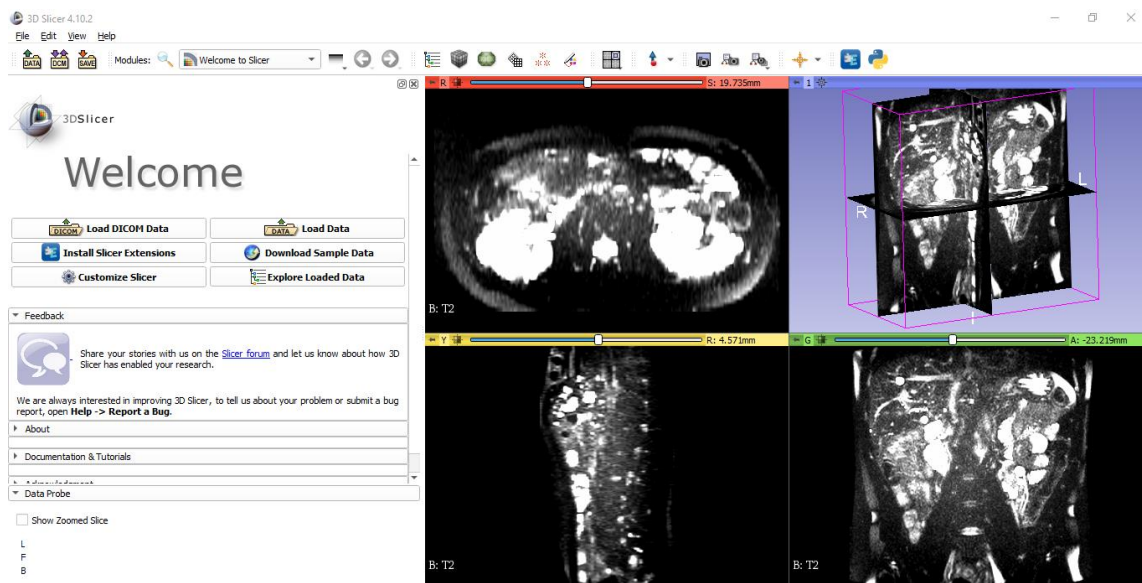


*Figura 33: Logo di ITK*

Il software ITK è sviluppato nel linguaggio di programmazione C++ e si interfaccia anche con Python. [15]

#### **4.1.3 Slicer-3D**

Slicer-3D è una piattaforma software open-source per la visualizzazione e l'analisi di immagine mediche [17]. Slicer-3D presenta diverse funzionalità: permette di leggere e di scrivere le immagini, sia in formato DICOM che in altri formati; permette la visualizzazione interattiva delle immagini, la triangolazione dei modelli di superficie, con annesso rendering volumetrico; consente un editing manuale delle immagini da parte dell'utente mediante specifiche funzioni e plugins; permette la fusione di immagini mediante algoritmi di trasformazione; incorpora moduli specifici per la segmentazione automatica. [18]



*Figura 34: Schermata iniziale di Slicer-3D. Nella parte di destra, si possono vedere le immagini di risonanza pesate in T2, dell'addome di un paziente affetto da malattia policistica, visualizzate nei diversi piani*

## 4.2 Tecniche di quantificazione dei volumi renali ed epatici

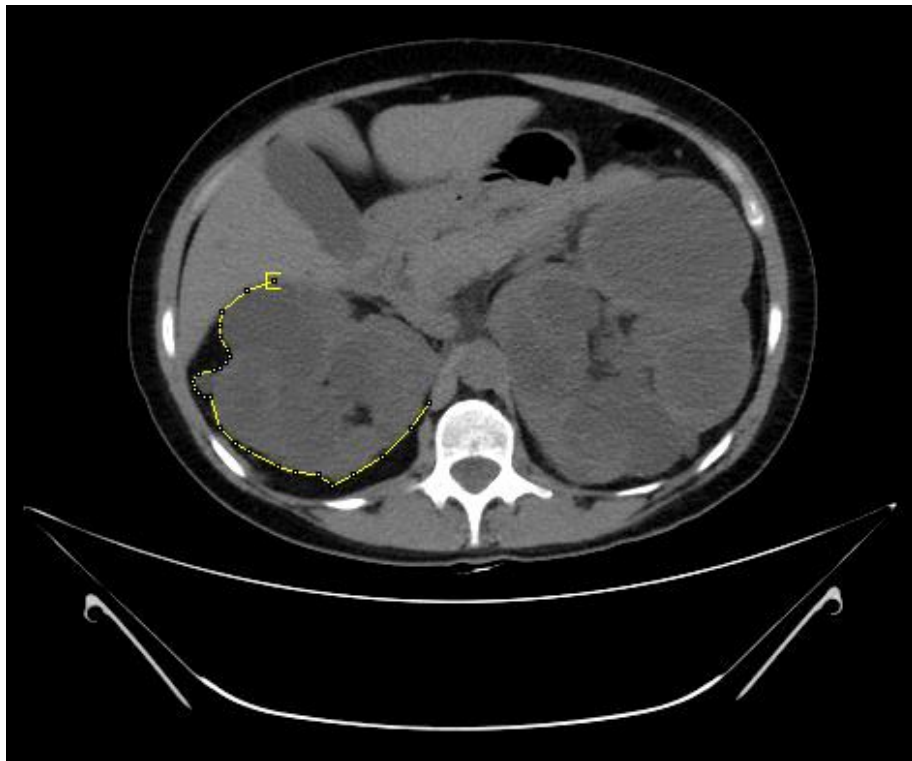
I softwares descritti nella sezione precedente sono alla base delle principali tecniche utilizzate per la quantificazione dei volumi renali ed epatici nell'ambito della malattia policistica renale, effettuata a partire da immagini di risonanza magnetica o da immagini TAC, con l'obiettivo di valutare la severità di malattia e di monitorarne la progressione nel tempo. Vi sono numerose tecniche disponibili per la quantificazione dei volumi renali ed epatici [19], tra cui il tracciamento manuale, la stereologia, e metodi semplificati che permettono di avere una stima dei volumi, come il metodo mid-slice e il metodo dell'ellissoide. Tra queste tecniche, quelle più utilizzate sono la segmentazione manuale e la stereologia poiché, nonostante richiedano tempo, garantiscono una buona accuratezza e riproducibilità. [12]

### 4.2.1 Segmentazione manuale

La segmentazione manuale consiste nel delineare il contorno dell'organo di interesse (in questo caso rene o fegato) su ciascuna sezione del volume di acquisizione [12].

Il contorno del rene o del fegato viene delineato su ciascuna fetta mediante una polilinea, utilizzando un apposito plugin (figura 35). Il volume dell'organo si ricava infine

sommando le aree delle regioni delineate e moltiplicando il tutto per lo spessore delle immagini.



*Figura 35: Segmentazione manuale del rene destro, mediante polilinea (in giallo), tracciata dall'utente con il software ImageJ, su un'immagine TAC.*

#### **4.2.2 Stereologia**

La stereologia, definita originariamente come ‘interpretazione spaziale delle sezioni’, è una tecnica per l’interpretazione 3D di sezioni planari (2D) di tessuti o materiali. La stereologia sfrutta un campionamento casuale e un approccio sistematico che permette l’acquisizione di dati minimizzando eventuali bias. Questa tecnica sfrutta il fatto che molte quantità, che si sviluppano in tre dimensioni, possano essere determinate anche senza una ricostruzione 3D, ma analizzando una situazione bidimensionale. Nella quantificazione del volume, infatti, la stereologia permette di calcolare il volume di un oggetto partendo dalle sezioni piane in due dimensioni dell’oggetto stesso. Analizzando situazioni bidimensionali, la stereologia risulta essere una tecnica molto più rapida rispetto allo studio delle situazioni tridimensionali, decisamente più complicate e lente da eseguire.

Per stimare il volume di una regione anatomica si sfrutta una tecnica, denominata ‘Point Counting Stereology’, che sfrutta il metodo di segmentazione di Cavalieri [20]. Tale metodo richiede, in primis, un campionamento sistematico e casuale (SRS: Systematic Random Sampling) della regione di interesse [21] (figura 36), che prevede la selezione delle fette sulla base di una frazione definita come  $f = 1/p$ , dove  $p$  indica la periodicità.

$$\begin{aligned} S_1 &= \{s_1, s_{p+1}, s_{2p+1}, \dots\} \\ S_2 &= \{s_2, s_{p+2}, s_{2p+2}, \dots\} \\ &\dots \\ S_p &= \{s_p, s_{2p}, s_{3p}, \dots\} \end{aligned}$$

Figura 36: Set di campionamento sistematico e casuale (SRS)

Per garantire la casualità della selezione, si sceglie un numero casuale da 1 a  $p$  per definire la slice iniziale dalla quale verranno poi selezionate le altre (figura 37). [22]

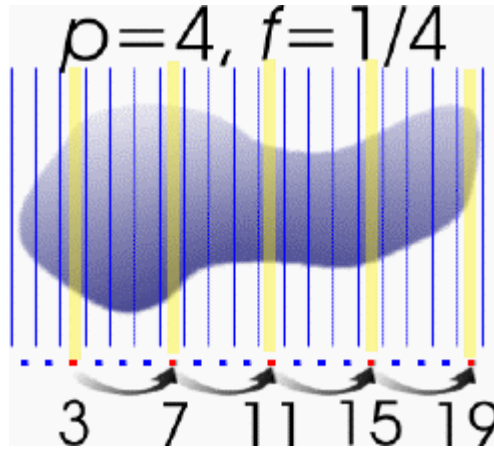


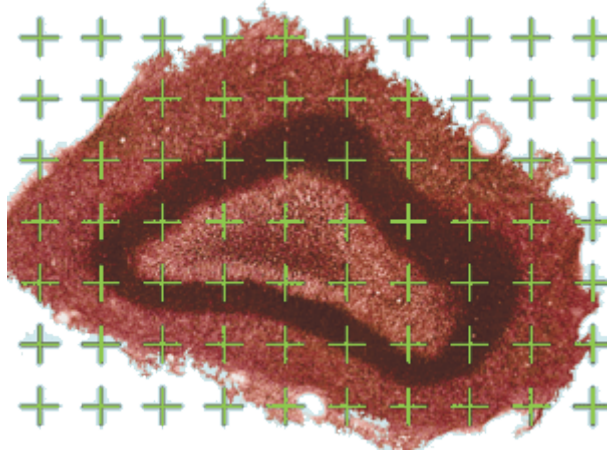
Figura 37: Rappresentazione schematica di un organo che è stato diviso in sezioni di distanza uniforme. In questo caso, la periodicità scelta è 4 e la frazione è di conseguenza ¼. È stato selezionato un numero casuale come punto di partenza, compreso tra 1 e 4, e pari a 3. I set di campionamento sono pertanto 3,7,11,15,19. Queste 5 sezioni rappresentano la frazione ¼ dell'oggetto originale.

Una volta definite le sezioni da selezionare, di spessore uniforme, si applica una griglia di punti su ciascuna fetta selezionata (figura 38). A questo vengono selezionati i punti che cadono all'interno della regione di interesse. Ogni punto ha una propria area associata a esso, per cui la stima dell'area della regione di interesse è data dall'area associata al numero di punti selezionati. Il volume può essere infine stimato considerando lo spessore delle fette e l'intervallo delle selezioni secondo la formula:

$$Volume = A_p m' t \left( \sum_{i=1}^n P_i \right)$$



Dove  $A_p$  è l'area associata al punto,  $m'$  l'intervallo di valutazione della sezione,  $t$  lo spessore medio delle slice,  $P_i$  i punti contrassegnati sulla griglia. [21]



*Figura 38: Griglia di punti sovrapposta a un tessuto*

Nel nostro caso, non dovremo definire il numero di fette da considerare, dal momento che le immagini ottenute mediante le tecniche di acquisizione MRI e TAC presentano già un determinato spessore uniforme per ciascuna fetta. Per calcolare il volume renale o epatico, è necessario quindi moltiplicare l'area associata a ciascun punto della griglia, per il numero di punti che sono all'interno o intersecano l'organo di interesse, per lo spessore della fetta. [12]

### **4.3 Quantificazione del volume delle cisti epatiche**

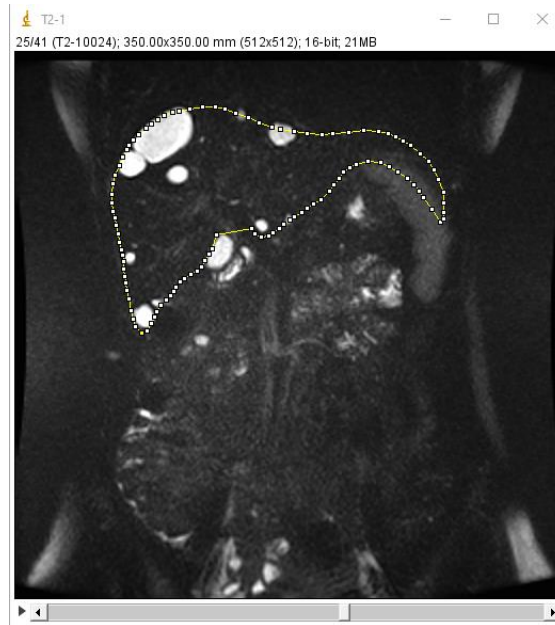
Poiché l'espansione dei volumi totali renali ed epatici nella malattia policistica è dovuta alla formazione e crescita di cisti, per monitorare l'evoluzione della malattia policistica è molto importante anche poter quantificazione, in modo accurato e riproducibile, i volumi occupati dalle cisti, sia nei reni che nel fegato. La quantificazione dei volumi cistici è molto più complessa della quantificazione dei volumi totali degli organi di interesse, e richiede pertanto tecniche sofisticate.

#### **4.3.1 Stereologia semi-automatica**

Presso l'Unità di Medical Imaging, la quantificazione dei volumi delle cisti epatiche viene effettuata mediante una tecnica di stereologia semi-automatica, sviluppata in ImageJ e utilizzabile mediante un'apposita macro, descritta di seguito, che ha costituito uno dei punti di partenza del lavoro di tesi.

### Step 1

Il primo passaggio è la segmentazione manuale del fegato mediante polilinea, sulle immagini di risonanza pesate in T1, con matrice di acquisizione pari a 512x512, in cui è ben visibile il contorno dell'organo di interesse (figura 39).



*Figura 39: Esempio di segmentazione del fegato su immagini di risonanza pesate in T2*

### Step 2

Successivamente viene caricata la sequenza di immagini MRI pesate in T2, con matrice di acquisizione pari a 256x256, su cui le cisti, in quanto piene di fluido, risultano ben evidenti (figura 40).

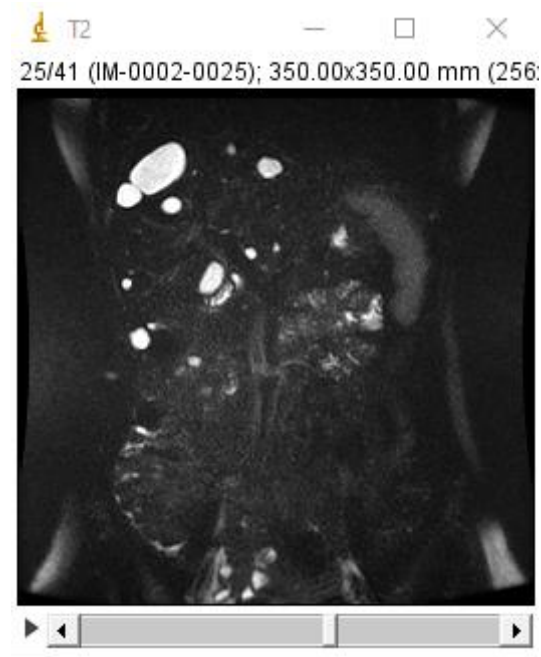


Figura 40: Immagine esemplificativa di risonanza pesata in T2

### Step 3

A questo punto, per poter restringere le immagini pesate in T2 alla regione di interesse, delineata sulle immagini pesate in T1, le immagini T2 vengono interpolate nel piano mediante interpolazione bicubica (figura 41), in modo da raddoppiare il numero di pixels negli assi x e y (ottenendone 512x512, come nelle immagini pesate in T1), lasciando invece inalterata la dimensione z.

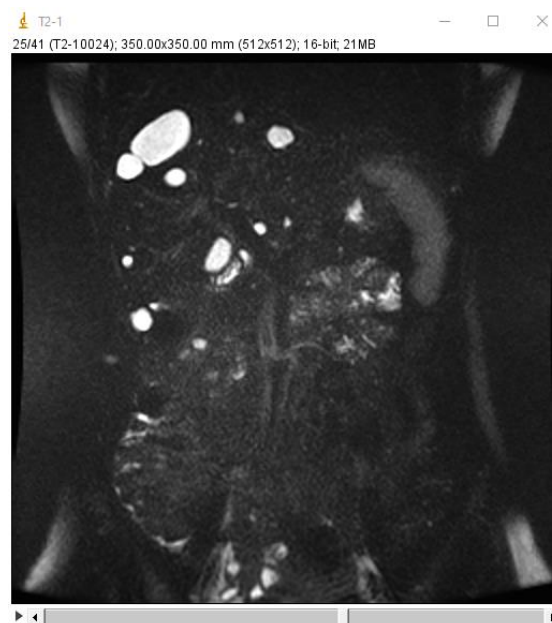


Figura 41: Esempio di immagine pesata in T2, di dimensione 512x512, ottenuta mediante interpolazione bicubica

L'interpolazione bicubica è un'estensione dell'interpolazione cubica per interpolare i punti di una matrice bidimensionale. Questo tipo di interpolazione considera i sedici pixel più vicini al punto considerato (figura 42). Il valore di intensità assegnato al punto  $(x, y)$  risulta essere una somma pesata dei 16 pixel vicini e si ottiene dall'espressione:  $v(x, y) = \sum_{i=0}^3 \sum_{j=0}^3 a_{ij} x^i y^j$ , dove i sedici coefficienti  $a_{ij}$  si possono determinare da sedici equazioni in sedici incognite, che possono essere scritte usando i sedici punti più vicini al punto  $(x, y)$ , valutando le derivate dei valori dei pixel e i valori d'intensità stessi.

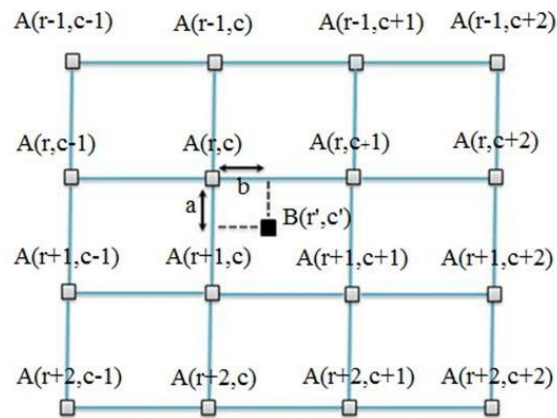


Figura 42: Diagramma che mostra l'applicazione dell'interpolazione bicubica; Il pixel B viene creato interpolando i 4x4 pixel più vicini ad esso, indicati con la lettera A

Dato che i pixel considerati sono posti a diverse distanze dal punto considerato, verranno assegnati pesi diversi in base alla distanza: un peso maggiore per i più vicini e minore per i più lontani. Generalmente l'interpolazione bicubica garantisce un risultato migliore rispetto ad altri tipi di interpolazione, come quella bilineare o alla 'Nearest-neighbor interpolation', perché garantisce minori artefatti e delle variazioni più regolari. [23][24][25]

#### Step 4

Sulle immagini interpolate viene applicata, mediante la funzione 'Grid' presente in Imagej e in modo casuale (random offset), una griglia con elementi di dimensione pari a  $64\text{mm}^2$ , le cui intersezioni vengono visualizzate come croci. La sequenza di immagini con la griglia viene salvata in formato .TIFF, e denominata 'RedGrid' (figura 43).

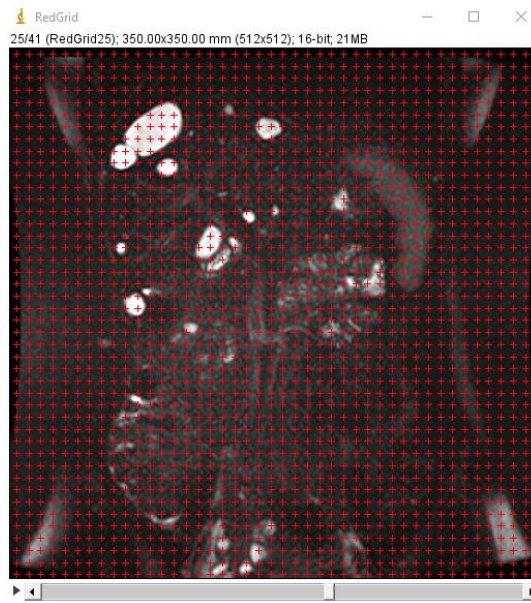


Figura 43: Immagini di risonanza pesate in T2 con sovrapposta la griglia ('RedGrid')

### Step 5

Le immagini T2 interpolate vengono quindi sogliate, ottenendo uno stack di maschere binarie, contenente tutte le regioni intense dell'immagine, a cui è applicata la griglia originata precedentemente, chiamato 'BlackGrid', volto a restringere l'identificazione dei punti della griglia successivamente valutati come cisti dal programma (figura 44). La sogliatura viene effettuata sfruttando il plugin 'Auto threshold' di Imagej, nella modalità 'Default', lavorando sull'intero stack di immagini.

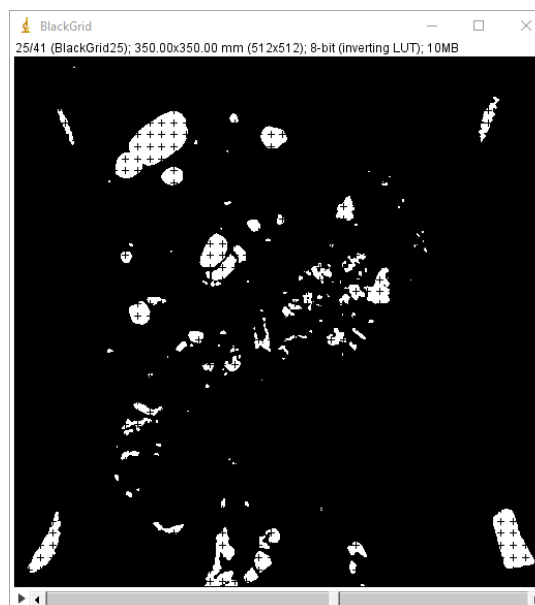


Figura 44: Stack di immagini 'BlackGrid'

## Step 6

Si procede infine alla selezione automatica delle croci della griglia localizzate nelle cisti epatiche, a partire dalla BlackGrid. Mediante la funzione ‘Analyze Particles’ viene acquisita una serie di parametri delle croci presenti all’interno di una ROI, per ciascuna slice (figura 45). Tutti i parametri attribuibili alle croci di una singola fetta vengono salvati all’interno di un file excel ‘.csv’ nella cartella ‘Measurements’, insieme agli altri file contenenti le informazioni delle croci delle altre slice.

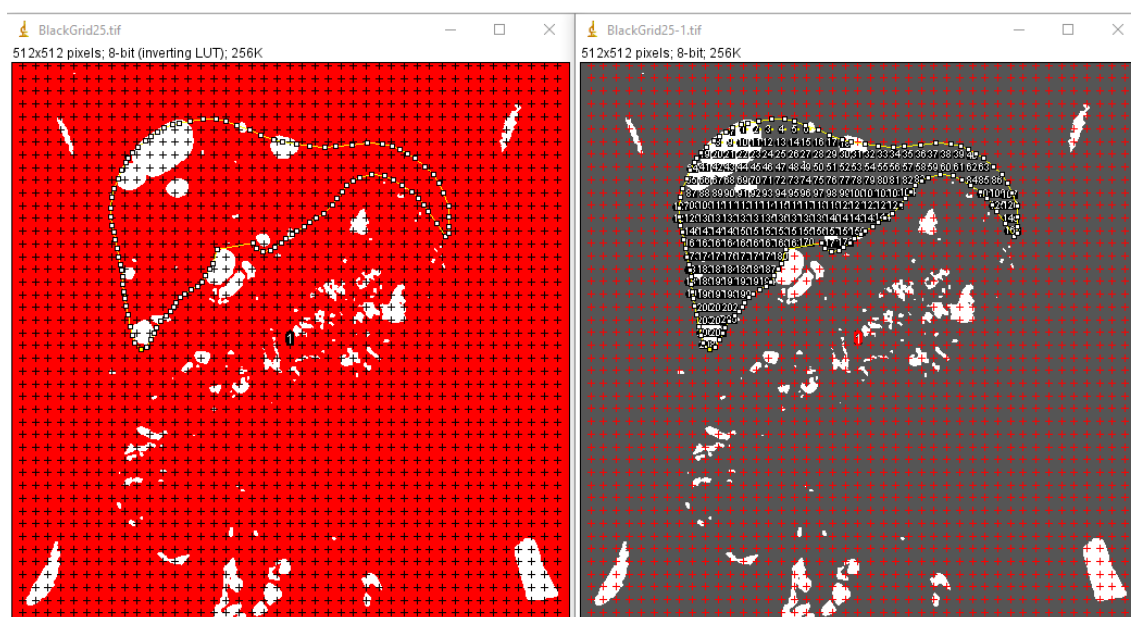


Figura 45: Immagine che mostra l’acquisizione delle informazioni relative alle croci mediante la funzione ‘Analyze Particles’. Il programma, selezionando in sequenza le slice contenenti una ROI (a sinistra), esamina tutte le croci che si collocano all’interno della regione di interesse (a destra), estrapolando una serie di parametri

## Step 7

Le croci identificate come appartenenti alle cisti vengono quindi caricate sullo stack ‘RedGrid’ (figura 46). L’utente è quindi in grado di procedere alla rimozione di eventuali punti selezionati erroneamente del programma, o all’aggiunta dei punti mancanti.



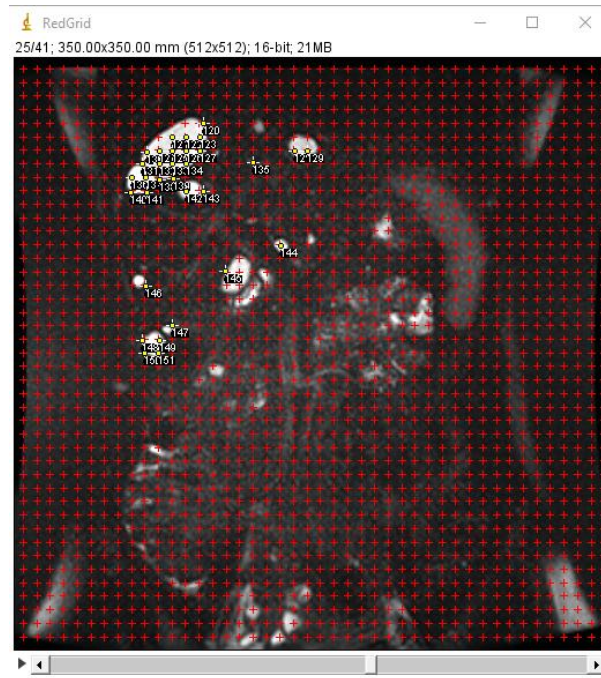


Figura 46: Immagine che raffigura il risultato finale dell'elaborazione. Si possono notare i punti, indicati mediante numerazione, che il programma ha identificato come cisti, sullo stack di immagini 'RedGrid'

## Step 8

L'ultimo passo consiste nell'effettiva quantificazione del volume delle cisti epatiche, ottenuto moltiplicando l'area del singolo punto della griglia per il numero di punti selezionati, per lo spessore della fetta.

### 4.4 Quantificazione semiautomatica del volume delle cisti renali

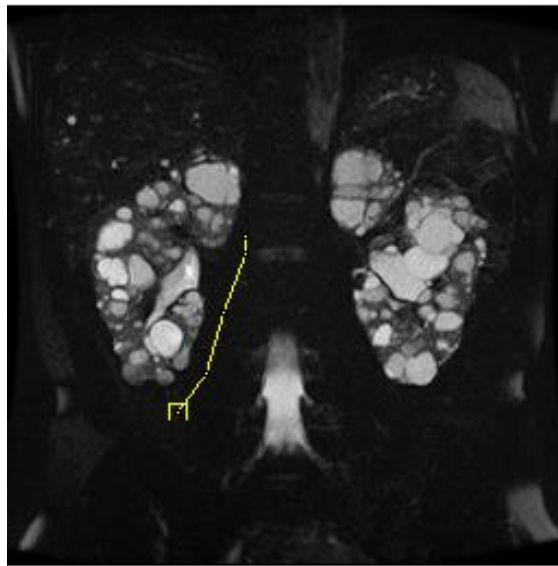
Presso l'Unità di Medical Imaging, la quantificazione dei volumi delle cisti renali viene effettuata mediante una tecnica di quantificazione semiautomatica, composta da una prima processazione automatica e da una correzione finale manuale sviluppata da parte dell'utente. Tale procedura, descritta in dettaglio di seguito, ha costituito un altro dei punti di partenza del lavoro di tesi.

#### 4.4.1 Procedura di elaborazione automatica

La procedura in uso è stata sviluppata nel linguaggio di programmazione C++, mediante l'utilizzo della libreria ITK specifica per l'elaborazione di immagini.

### Step 1 – creazione delle maschere renali

Il primo passaggio della procedura è il tracciamento manuale mediante polilinea dei reni policistici, a partire da immagini di risonanza pesate in T2. Il tracciamento deve essere effettuato separatamente per il rene destro e sinistro e deve essere grossolano (figura 14), onde evitare omissioni di cisti lungo la parte esterna del rene da parte dei successivi passi di selezione automatica, richiedendo pertanto un tempo limitato. Dai tracciamenti vengono generate le maschere del rene destro e sinistro, che possono essere visualizzate in visione assiale, coronale, sagittale o 3D mediante il software 3D-Slicer (figura 47).



*Figura 47: Tracciamento manuale del rene destro mediante il software Imagej, su un'immagine di risonanza pesata in T2*

### Step 2 – miglioramento dell'omogeneità del segnale

Il passo successivo consiste nella correzione dell'omogeneità dell'intensità delle immagini T2: l'intensità di ciascun pixel viene riscalata in base a valori minimi e massimi ottimizzati, utilizzando la seguente equazione [26]:

$$outputPixel = (inputPixel - inputMin) \cdot \frac{outputMax - outputMin}{inputMax - inputMin} + outputMin$$



### Step 3 - smoothing

Si comincia quindi l'elaborazione delle immagini, fetta per fetta, applicando un filtro di tipo Gaussiano sia sull'asse X che sull'asse Y dell'immagine, in modo da diminuire il rumore dell'immagine e smussare variazioni di intensità (figura 48).

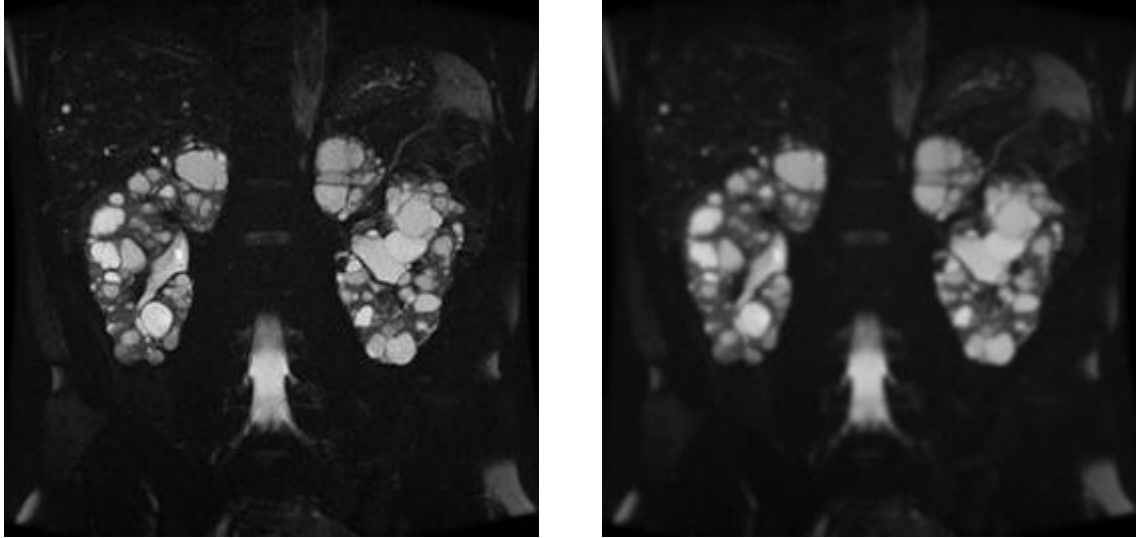


Figura 48: L'immagine di destra mostra l'applicazione di un filtro Gaussiano bidimensionale dell'immagine di sinistra. La deviazione standard applicato nel filtro è pari a 0,3

La funzione Gaussiana lungo l'asse X è data dalla formula:  $G(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} e^{-\frac{x^2}{2\sigma^2}}$  e si può ottenere l'analogia per l'asse Y, sostituendo le variabili. In due dimensioni, l'espressione Gaussiana ha la forma:  $G(x,y) = \frac{1}{2\pi\sigma^2} e^{-\frac{x^2+y^2}{2\sigma^2}}$

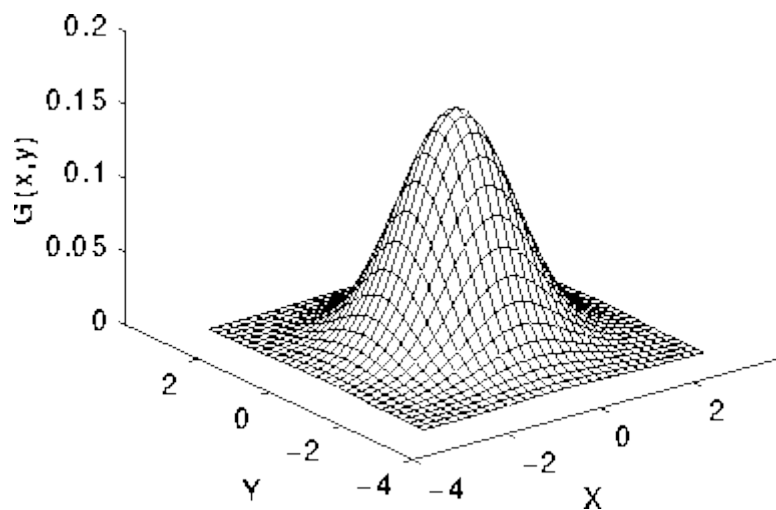
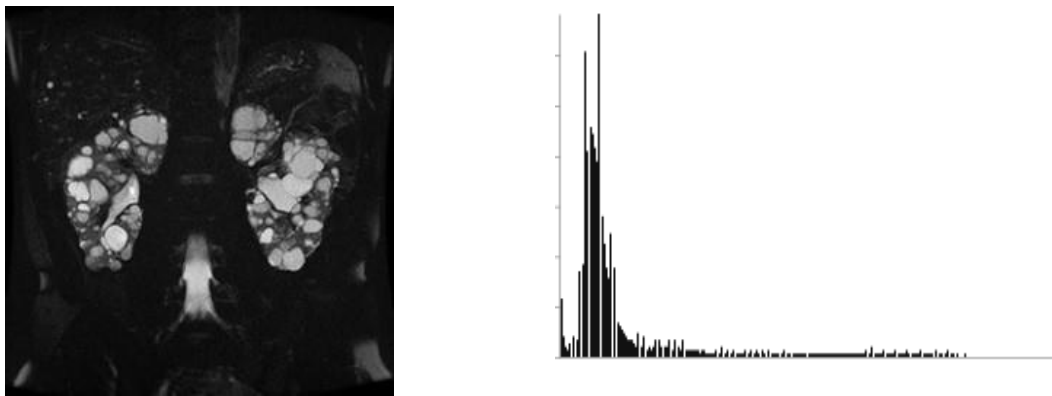


Figura 49: Distribuzione Gaussiana bidimensionale con media (0,0) e deviazione standard pari a 1

La funzione Gaussiana dipende dalla dispersione, ovvero dalla apertura della campana legata alla deviazione standard della distribuzione, e assume un peso diverso a seconda della distanza dal centro della distribuzione (figura 49).

Si procede quindi a normalizzare l'intensità di ciascuna immagine ottenuta, sulla base dell'istogramma delle intensità dei voxel contenuti nelle rispettive maschere renali. L'istogramma di un'immagine è la rappresentazione grafica del numero di pixel per ciascun livello tonale dell'immagine (figura 50). Sull'asse x vi sono i diversi valori d'intensità dei pixel, mentre sull'asse y il numero dei pixel per ciascun livello tonale. [27]



*Figura 50: L'immagine di destra rappresenta l'istogramma dell'immagine di sinistra*

#### Step 4 – applicazione di un filtro Laplaciano

Una volta ottimizzata l'intensità del segnale, si procede ad applicare un filtro Laplaciano che, in quanto funzione della variazione dell'intensità dell'immagine in base alla posizione, mette in evidenza le regioni che variano rapidamente d'intensità ed è usato, come nel nostro caso, per il rilevamento dei bordi di strutture all'interno dell'immagine (Figura 51).

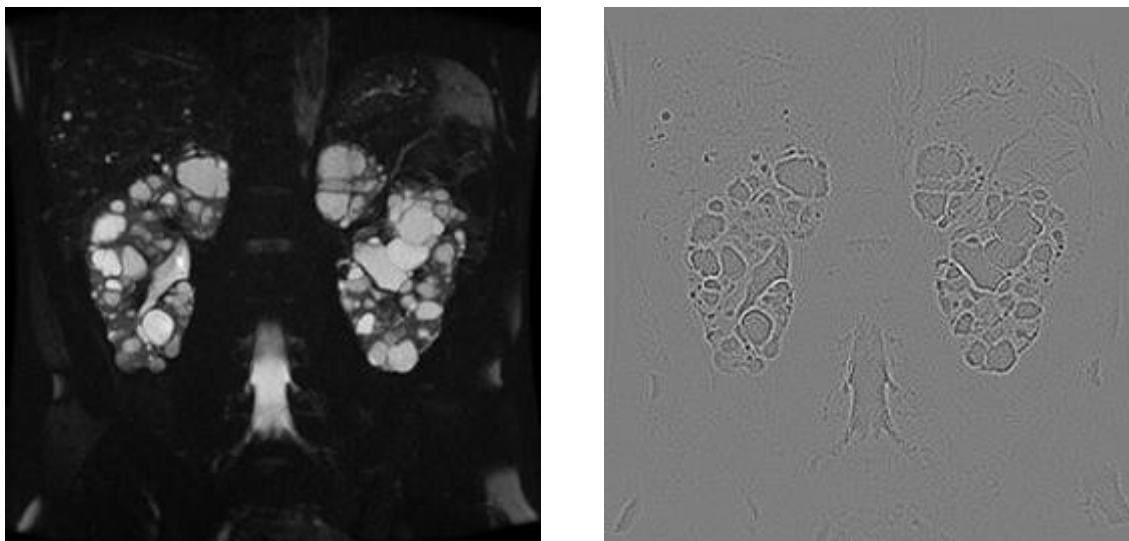


Figura 51: Esempio di applicazione di un filtro Laplaciano (destra) su un'immagine di risonanza renale pesata in T2

Il Laplaciano di un'immagine per un pixel in posizione  $(x, y)$  di intensità  $I(x, y)$  si può ottenere come funzione della derivata seconda spaziale:

$$L(x, y) = \frac{\partial^2 I}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 I}{\partial y^2}$$

Tale operazione può essere effettuata anche mediante la convoluzione di una maschera adatta. Dato che l'immagine è costituita da una serie discreta di pixel, è necessario usare una maschera di convoluzione che possa approssimare le derivate seconde nella definizione del Laplaciano. Due comuni maschere sono mostrate nella figura sottostante (figura 52):

0	-1	0
-1	4	-1
0	-1	0

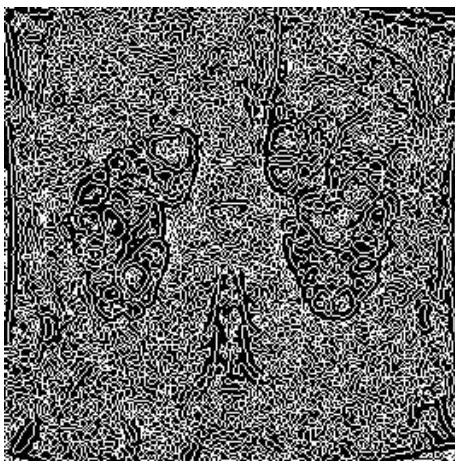
-1	-1	-1
-1	8	-1
-1	-1	-1

Figura 52: Due comuni maschere usate per l'applicazione del filtro Laplaciano

Poichè le maschere approssimano la derivata seconda dell'intensità dell'immagine, il filtro Laplaciano risulta molto sensibile al rumore. Pertanto, va utilizzato in combinazione con un filtro gaussiano o tecniche alternative di smoothing che riducano le componenti del rumore ad alta frequenza. Dal momento che la convoluzione è associativa, si può combinare la convoluzione del filtro Gaussiano con quello Laplaciano, ottenendo così un filtro 'ibrido', chiamato Laplacian of Gaussian (LoG). [28]

#### Step 5 – zero crossing detection

Una volta applicato il filtro Laplaciano si esegue l'algoritmo di 'zero crossing detection'. Questo algoritmo individua i punti dell'immagine in cui il Laplaciano cambia di segno. Spesso tali punti si trovano nei bordi dell'immagine, ma altre volte si trovano all'interno, definendo sempre dei contorni chiusi. Il risultato di questo passo sarà quindi un'immagine binaria che con linee bianche spesse un pixel mostra le posizioni in cui il Laplaciano si è annullato, evidenziando, nel caso di reni policistici caratterizzati da cisti intense su immagini pesate in T2, anche i contorni delle cisti stesse (figura 53). L'algoritmo di 'zero crossing detection' richiede sempre un'immagine precedentemente filtrata con un filtro 'Laplacian of Gaussian' (quindi Gaussiano e Laplaciano). I risultati di questo procedimento sono molto influenzati dall'entità del filtro gaussiano utilizzato: all'aumentare dello smoothing, vi saranno meno punti in cui il Laplaciano si annullerà e, quindi, verranno trovati meno contorni (solo quelli di dimensioni importanti e rilevanti nell'immagine). [29]

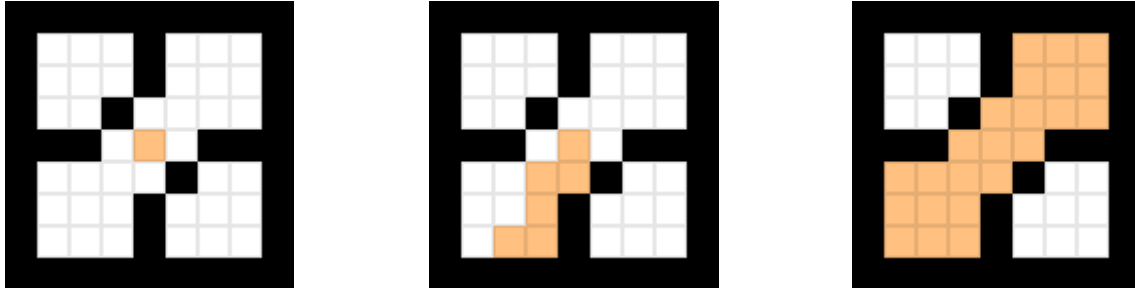


*Figura 53: Immagine che mostra il risultato dell'applicazione dell'algoritmo di 'Zero crossing' all'immagine di risonanza pesata in T2*

#### Step 6 – flood filling

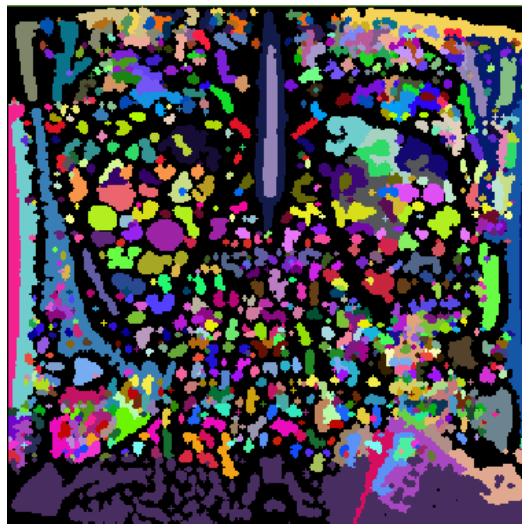
A questo punto, ad ogni regione chiusa identificata dal precedente passo di edge detection viene assegnato un valore intero (visualizzato come colore) differente mediante un algoritmo di 'flood filling': ai pixels adiacenti viene assegnato lo stesso valore fino al raggiungimento del bordo della regione (Figure 54). L'algoritmo necessita di tre parametri: un pixel da cui iniziare, il colore target da sostituire e il colore con cui

sostituire. L'algoritmo, una volta definito il pixel iniziale, verifica il valore di tutti i pixel connessi a quello iniziale da un percorso e, nel caso in cui abbiano lo stesso valore d'intensità, ne cambia il valore con quello sostitutivo definito [30].



*Figura 54: Algoritmo 'Flood filling' in quattro direzioni*

La sequenza di immagini risultanti appare quindi come una mappa colorimetrica, in cui ogni regione chiusa è caratterizzata da un colore (e valore) differente (figura 55).



*Figura 55: Esempio di immagine ottenuta dopo l'applicazione dell'algoritmo di flood filling, in cui ogni regione chiusa è caratterizzata da un valore/colore differente*

### Step 7 – selezione delle regioni

Il passo successivo è la selezione delle cisti tra tutte le regioni precedentemente identificate. Per prima cosa è necessario applicare la maschera renale (creata nello step 1), all'immagine ottenuta dopo l'applicazione del floodfilling, in modo da restringere la selezione ai due reni. Per la selezione delle regioni si applica una variante dell'algoritmo di 'KMeans Clustering'.

L'algoritmo 'KMeans Clustering' è un algoritmo di analisi dei gruppi, atto a trovare un numero fisso  $k$  di clusters (raggruppamento di elementi omogenei) a partire da un insieme di dati. Questo algoritmo va a minimizzare la varianza totale intra-gruppo per ciascun cluster, ovvero la distanza Euclidea al quadrato. In questo tipo di algoritmo, per ogni cluster si definisce un centroide, ovvero un punto situato al centro del cluster.

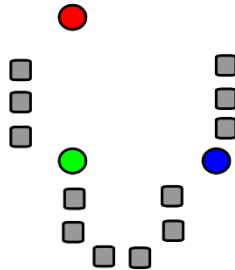


Figura 56: Generazione casuale dei  $K$  centroidi iniziali dell'algoritmo KMeans Clustering. In questo caso sono stati generati 3 centroidi

Si tratta di un algoritmo iterativo, che prevede come inizializzazione la definizione di  $k$  clusters iniziali con i rispettivi centroidi disposti in maniera casuale (figura 56). Si procede poi con la fase di raggruppamento: l'algoritmo analizza ciascun dato e lo assegna al centroide più vicino, ovvero quello con la distanza Euclidea quadratica minore (figura 57). In termini matematici:  $\arg\_min_{c_i \in C} dist(c_i, x)^2$ , dove  $c_i$  è un centroide generico dell'insieme  $C$ , che include tutte i centroidi,  $x$  sono la serie di dati e  $dist(...)^2$  è la distanza Euclidea al quadrato.

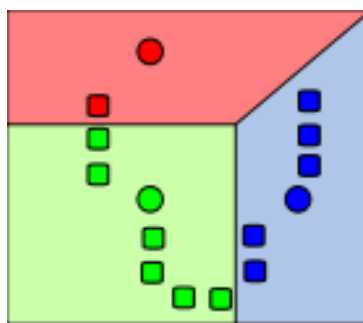


Figura 57: Creazione dei  $K$  clusters, associando ciascun dato al centroide più vicino

A causa del possibile riarrangiamento dei clusters viene aggiornata la posizione di ciascun centroide, definita come media di tutti i dati assegnati a tale cluster (figura 58). In termini matematici si ha:  $c_i = \frac{1}{|S_i|} \sum_{x_i \in S_i} x_i$ , dove  $S_i$  rappresenta l'insieme di dati appartenente al cluster i-esimo.

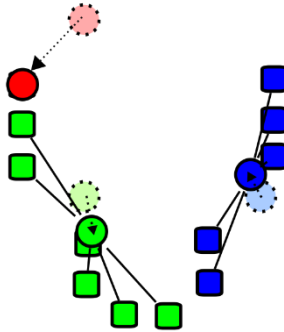


Figura 58: Aggiornamento della posizione dei centroidi a seguito del riarrangiamento dei clusters

Si ripetono ora le fasi di assegnazione e di aggiornamento della posizione dei centroidi finché non si raggiunge una delle seguenti condizioni:

- Nessun dato cambia appartenenza rispetto a un cluster
- La somma delle distanze Euclidee quadratiche è ridotta al minimo
- Si raggiunge il numero massimo di iterazioni definito dall'utente

(figura 59) [31][32].

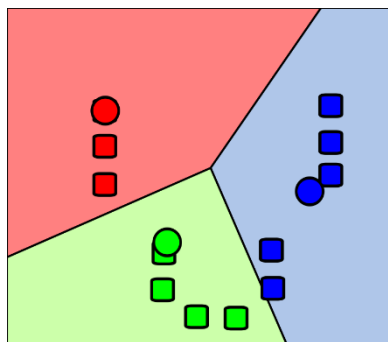


Figura 59: Risultato finale dell'algoritmo "K-Means clustering"

Nella procedura di selezione delle cisti viene usata una variante dell'algoritmo 'KMeans clustering' caratterizzata da una complessità computazionale inferiore, basato su una struttura di tipo 'K-d tree', un albero binario in cui ciascun nodo divide lo spazio in due parti, definiti semispazi. I punti a sinistra di questo spazio sono rappresentati dalla sottostruttura di sinistra del nodo, mentre i punti di destra dello spazio sono rappresentati dalla sottostruttura di destra del nodo. Ogni nodo dell'albero è associato a una dimensione

k dello spazio con i relativi sottospazi disposti in maniera perpendicolare all'asse di tale direzione. In questo modo, ad esempio, se in un nodo si considera di dividere i dati secondo l'asse X, tutti i punti aventi un valore di 'x' inferiore, per cui è stata effettuata la separazione dei dati, saranno collocati nella sottostruttura di sinistra, mentre quelli con un valore maggiore nella sottostruttura di destra. Vi sono diversi metodi per costruire l'albero binario, ma il metodo più comune è il seguente:

- Man mano ci si sposta verso il basso, lungo l'albero, si effettua una partizione ciclica dello spazio lungo i suoi assi. Per esempio, in uno spazio tridimensionale, per la radice (primo nodo) si effettuerà una partizione lungo l'asse X, per i due nodi successivi generati si effettuerà una partizione lungo l'asse Y e, analogamente, per quelli successivi lungo Z, per poi reiterare il procedimento.
- Per partizionare i dati in due semispazi si usa il valore mediano dei punti rispetto a una coordinata dell'asse considerato, lungo il quale si vuole partizionare.

Per esempio, supponendo di avere un set di dati come il seguente (2,3), (5,4), (9,6), (4,7), (8,1), (7,2) in uno spazio bidimensionale, si otterrà il seguente "K-d tree" (figura 60, 61) [33]:

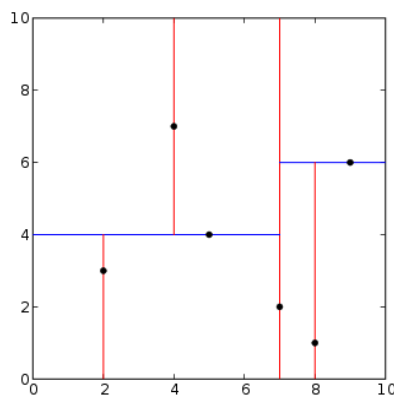


Figura 60: Rappresentazione del set di dati nello spazio con le annesso linee di partizione per la realizzazione del 'K-d tree'

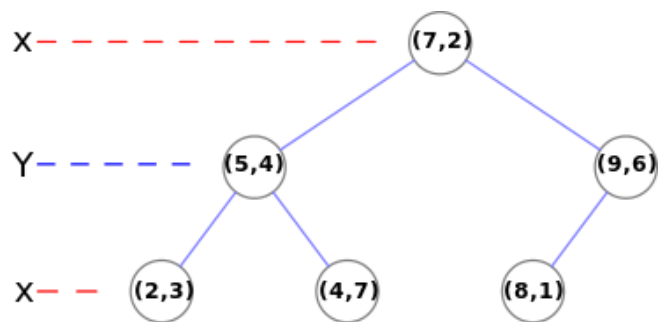


Figura 61: 'K-d tree' del set di dati definito

Grazie alle informazioni aggiuntive associate alla struttura 'K-d tree' si è in grado di ridurre i tempi e la complessità computazionale del programma. Invece di creare un certo numero di k-clusters e calcolare di ciascuno la media ('K-mean'), per posizionare il centroide, si procede solo a ottenere la media stimata per ciascun k-cluster [34]. La



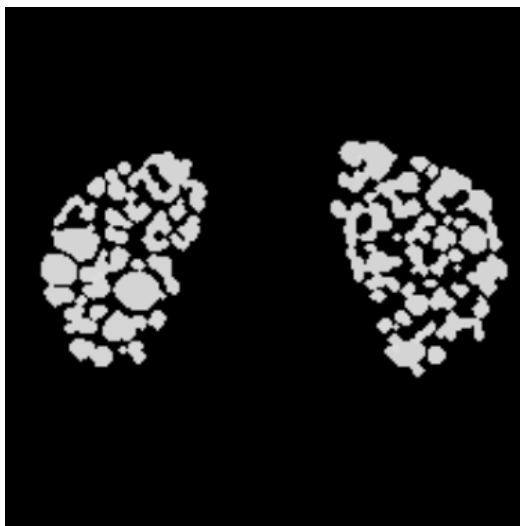
funzione di ITK 'KdTreeBasedKmeansEstimator' consente una rapida implementazione dell'algoritmo di 'KMeans Clustering' usando una struttura 'K-d tree'.

La funzione ritorna la media dei 'K-mean vectors', che sono i centroidi dei K-clusters, usando il 'K-d tree' precedentemente generato, mediante la funzione 'WeightedCentroidKdTreeGenerator', che genera un 'K-d tree' che può contenere informazioni riguardo ai centroidi. [35]

In questo modo, invece di riassegnare a ogni vettore misura il centroide del cluster più vicino e ricalcolare il centroide, si mantiene un set di centroidi di cluster candidati e si eliminano i rami irrilevanti dell'albero, aggiornando solo la media dei candidati rilevanti ad ogni iterazione. [36]

#### Step 8 – calcolo del volume delle cisti renali

Mediante questa tecnica il programma identifica quali regioni, all'interno della maschera dei reni, siano cisti e quali no. Alle regioni non identificate come cisti viene assegnato un valore pari a 0, ottenendo infine la segmentazione delle cisti renali sull'intera sequenza di immagini (Figure 62).



*Figura 62: segmentazione delle cisti renali ottenuta al termine della procedura di selezione delle regioni*

Dopo l'applicazione di un'eventuale correzione manuale (descritta di seguito), dalla segmentazione delle cisti è possibile calcolare il volume complessivo delle cisti renali, ottenuto come prodotto del numero di voxel identificati come cisti per l'area del singolo pixel per lo spessore della fetta.

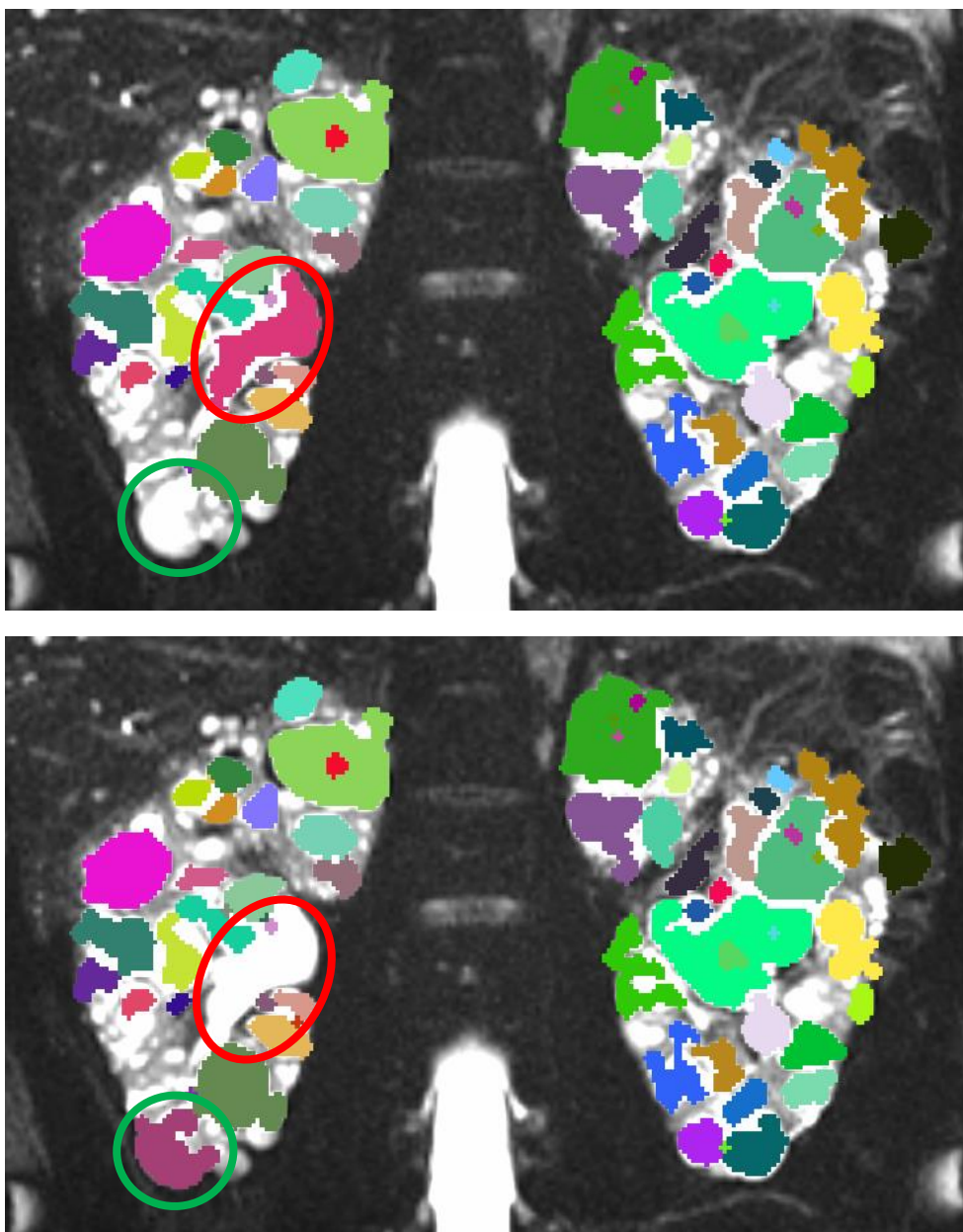
#### **4.4.2 Correzione manuale**

Per ovviare a possibili errori o omissioni commessi dall'elaborazione automatica, la procedura richiede un accurato controllo da parte dell'utente e consente una correzione manuale della segmentazione delle cisti ottenuta. L'utente può selezionare eventuali cisti non rilevate dal programma e può eliminare le regioni erroneamente considerate dal programma come cisti, usando un'estensione del programma Slicer-3D chiamata 'pkdCystSelection', sviluppata in Python.

Dopo aver caricato le immagini ottenute dall'algoritmo di flood filling e la segmentazione ottenuta al termine della procedura automatica, utilizzando l'estensione l'utente può aggiungere o rimuovere le diverse regioni in modo interattivo (figura 63).

L'utente può infine ulteriormente correggere la segmentazione mediante l'utilizzo di un editor manuale.

Terminata la correzione manuale, si salva il file modificato e si procede con la quantificazione del volume delle cisti, come descritto sopra.



*Figura 63: Esempio di correzione manuale della segmentazione delle cisti, utilizzando 3D-Slicer. L'utente può aggiungere cisti non identificate dal software (area verde) ed eliminare regioni che sono state identificate come cisti per errore (area rossa)*

## Capitolo V. Risultati

Il risultato principale di questo progetto di tesi è stato l'ottimizzazione delle procedure in uso per la quantificazione dei volumi delle cisti renali ed epatiche. Di seguito vengono descritti in dettaglio i miglioramenti apportati.

### 5.1 Ottimizzazione della procedura di quantificazione del volume delle cisti epatiche

La prima modifica apportata al programma di quantificazione semiautomatica del volume delle cisti epatiche, mediante la tecnica della stereologia, è stata la correzione di un errore identificato all'interno del codice, che comportava la selezione e l'identificazione di cisti al di fuori dell'area di interesse, ovvero al di fuori dei tracciamenti manuali effettuati su ciascuna fetta del volume epatico. Il bug era dovuto al fatto che le misure effettuate mediante la funzione 'Analyze particles' di ImageJ non venivano associate alla fetta corretta, ma a quella precedente, a causa di un errore nella definizione di un ciclo iterativo. Risolto il problema, i punti identificati come cisti dal programma appartengono ora alla fetta corretta e sono quindi contenuti all'interno della rispettiva maschera epatica (figura 64).

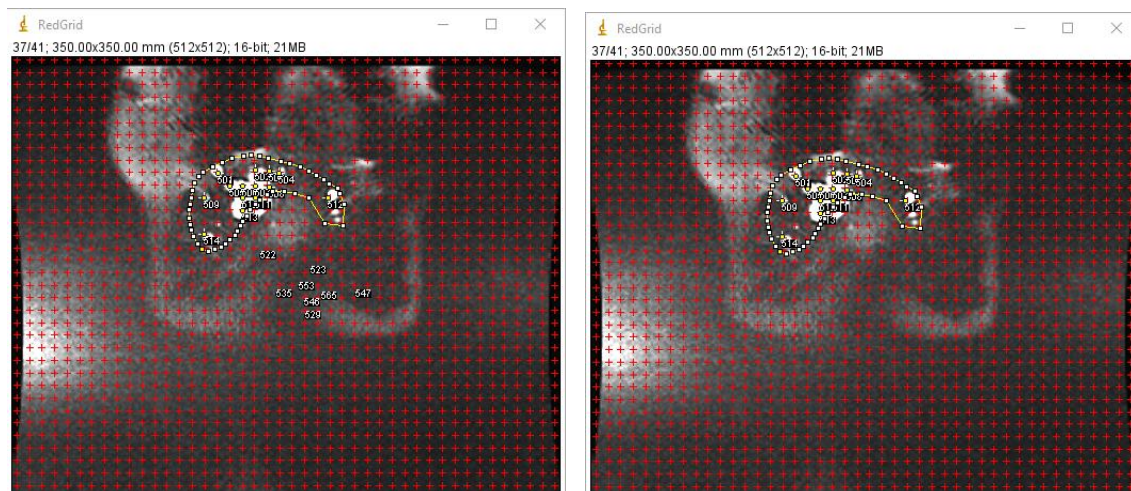
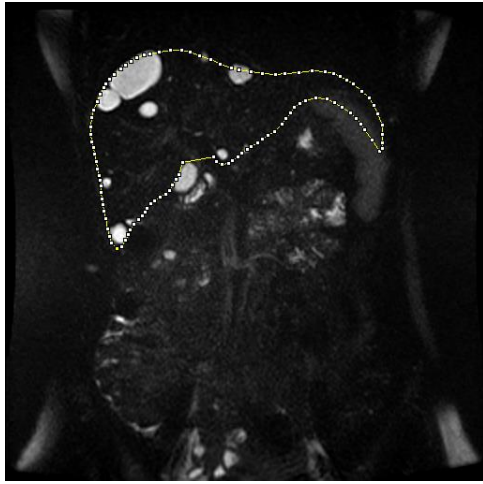


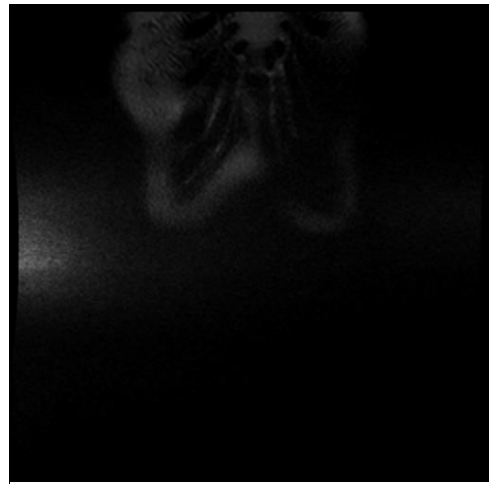
Figura 64: Immagine esemplificativa di risonanza magnetica pesata in T2 di un fegato policistico, che raffigura a sinistra la situazione precedente alla modifica del codice, con l'errata identificazione di punti all'esterno della maschera epatica. A destra, è raffigurato il risultato ottenuto in seguito alla correzione del bug, dove tutti i punti sono contenuti nella maschera epatica.

Una volta corretti gli errori all'interno del codice, si è proceduti alla vera e propria ottimizzazione del programma. Il programma, ora, mediante un ciclo iterativo è in grado di riconoscere in modo automatico le fette che presentano o meno una ROI (Region of interest), tracciata manualmente (figura 65, 66). Tale procedura, nella precedente

versione, doveva essere effettuata manualmente dall'utente, che doveva inserire il numero della prima e dell'ultima fetta contenente l'area di interesse, il che comportava una maggiore perdita di tempo e la possibilità di errore nell'effettuare tale inserimento.

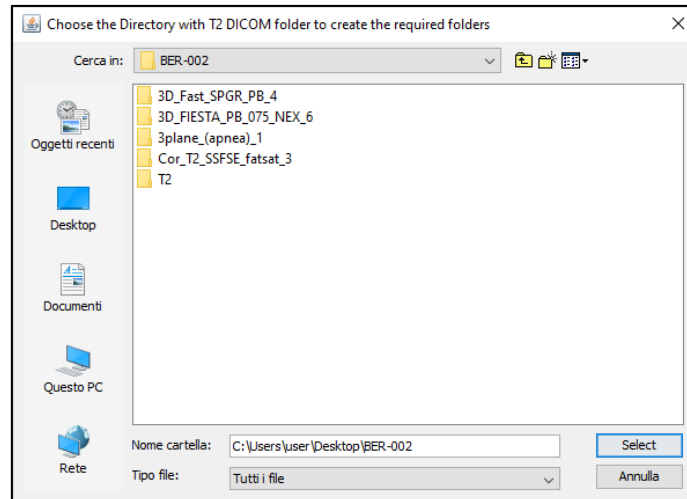


*Figura 65: Immagine di risonanza pesata in T2 che raffigura una fetta su cui compare il fegato, con relativo tracciamento*



*Figura 66: Immagine di risonanza pesata in T2 che raffigura una fetta su cui non compare il fegato e non è presente quindi alcuna ROI*

Si è poi proceduti a garantire una maggiore automazione dell'intero programma, rendendo automatici una serie di passaggi fino ad ora eseguiti dall'utente. In primo luogo, si è garantita la creazione automatica delle cartelle necessarie al funzionamento del programma, ovvero le cartelle dove vengono salvate le sequenze di immagini pesate in T2, le sequenze 'RedGrid', 'BlackGrid', la 'ROI sequence' e i file '.csv', contenenti le misure ottenute dall'analisi delle croci, nella cartella 'Measurements'. La nuova versione del codice fa sì che sia solo necessario specificare il percorso dove è contenuta la cartella con le immagini T2 (figura 67): il programma identifica automaticamente la cartella contenente le immagini T2 e procede con la generazione automatica delle altre cartelle necessarie.



*Figura 67: Finestra di selezione della cartella contenente lo stack di immagini T2, necessario al funzionamento*

In seguito, si è automatizzata l'apertura e il salvataggio delle sequenze di immagini generate, così come la loro stessa creazione: lo scaling delle immagini T2 e la generazione della sequenza 'RedGrid', con annesso salvataggio nelle cartelle, sono stati implementati nel codice stesso, riducendo il tempo di esecuzione dell'intera procedura.

Sono stati poi rivisti i criteri di selezione delle cisti epatiche, per garantire un risultato ottimale e permettere una minima correzione manuale da parte dell'utente.

E' stata dapprima rivista la tecnica di creazione della sequenza binaria 'BlackGrid', nella quale le aree bianche identificano le zone che possono essere selezionate come cisti.

Poiché la sequenza 'BlackGrid' viene ottenuta mediante un processo di sogliatura, sono state testate le diverse tecniche di sogliatura disponibili nell'applicativo ImageJ.

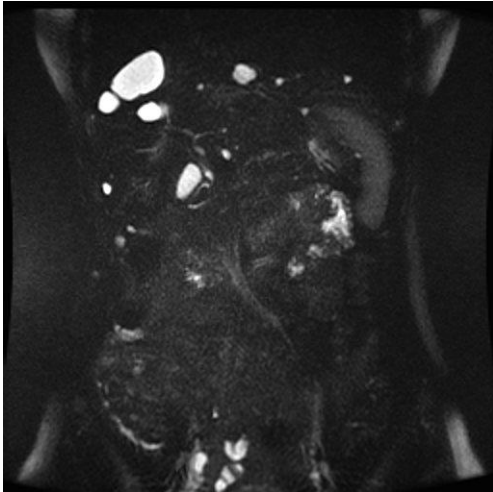
Il plugin 'Auto threshold', sfruttato nella precedente versione del programma presente in ImageJ, che consente di effettuare una sogliatura globale sulla base dell'istogramma delle intensità di tutte le immagini, non ha dato risultati soddisfacenti: questo tipo di segmentazione perde infatti i piccoli dettagli dell'immagine, che tuttavia nel caso della segmentazione di cisti di dimensioni anche ridotte, non possono essere trascurati.

Si è quindi cercata una tecnica di sogliatura adeguata, in cui la soglia venga definita su un'immagine della sequenza in cui le cisti epatiche sono ben identificabili (ad esempio la fetta centrale) e possa essere applicata con successo a tutte le fette della sequenza. Per fare ciò, ci si posiziona sull'immagine centrale della sequenza di immagini pesate in T2 e si sfrutta la funzionalità 'Threshold', presente all'interno del programma Imagej,



selezionando uno dei 16 metodi di sogliatura disponibili, basati sull'istogramma delle intensità dell'immagine considerata. [37]

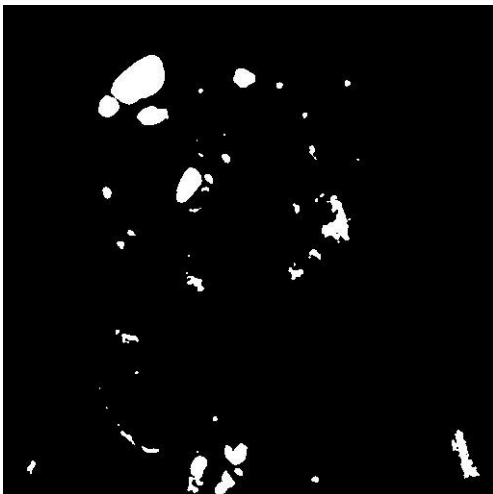
Tra i diversi metodi di sogliatura, il metodo 'Triangle' ha dato i risultati migliori (esempio in figura 68, 69, 70, 71).



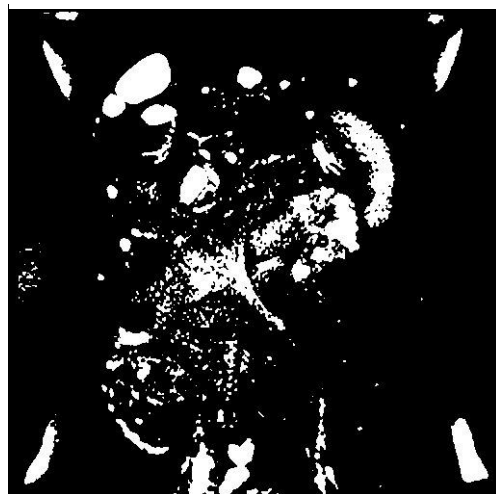
*Figura 68: Immagine pesata in T2 raffigurante un fegato policistico*



*Figura 69: Sogliazione effettuata col metodo 'Minimum'. Rispetto alla figura 70 e 71 si colgono molti meno dettagli*



*Figura 70: Sogliazione effettuata col metodo 'Otsu'. Rispetto alla figura 71 si colgono molti meno dettagli*



*Figura 71: Sogliazione effettuata col metodo 'Triangle'. Rispetto agli altri tipi di threshold considerati è in grado distinguere anche le più piccole regioni*

Questa tecnica presuppone un istogramma caratterizzato da un picco e che termina con una coda lunga e bassa [38]. Si costruisce a questo punto un triangolo rettangolo considerando l'ipotenusa come la linea che congiunge il picco alla coda dell'istogramma e due cateti come nella figura seguente (figura 72).

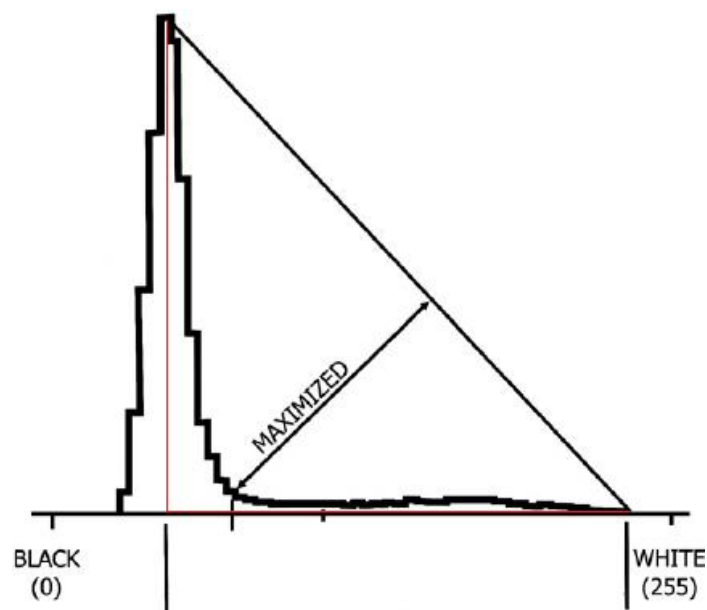


Figura 72: Determinazione del valore di threshold mediante il metodo 'Triangle'. In rosso si possono distinguere i cateti del triangolo costruito, avente come ipotenusa la linea che congiunge il picco di sinistra con la coda di destra. La soglia viene definita in modo tale da massimizzare la distanza dell'ipotenusa dalla sommità della barra

L'obiettivo di questo metodo è trovare il livello di grigio che consenta di massimizzare la distanza tra l'ipotenusa e la sommità della barra dell'istogramma per tale livello di grigio. Tale livello di grigio sarà utilizzato come soglia, permettendo di creare così un'immagine binaria mediante la funzione "Make Binary" di Imagej [39][40]. In questo caso, ai pixel delle regioni che possono essere identificate come cisti viene assegnato il valore d'intensità 0, identificabile col colore bianco, mentre agli altri 255, identificabile col colore nero.

Dopo aver ottimizzato la creazione della maschera BlackGrid, è stata ottimizzata la fase di selezione dei punti della griglia identificati come cisti. La selezione avviene utilizzando la funzione 'Analyze particles', sulla base di una serie di parametri associati ad ogni regione chiusa dell'immagine binaria, come l'intensità media dei pixel. Il programma provvede quindi a caricare sulla 'RedGrid' finale le croci della griglia che cadono nelle regioni selezionate mediante confronto tra il valore medio d'intensità dei pixel della regione e il valore soglia.

Il valore soglia prima dell'ottimizzazione era 153, selezionato in base al valore d'intensità dei pixel posizionati ai bordi delle cisti in un'immagine di risonanza pesata in T2 a 8-bit (figura 73). Tuttavia, il valore definito dava problemi nell'identificare le cisti più scure, caratterizzate da valori d'intensità media superiore a 153.



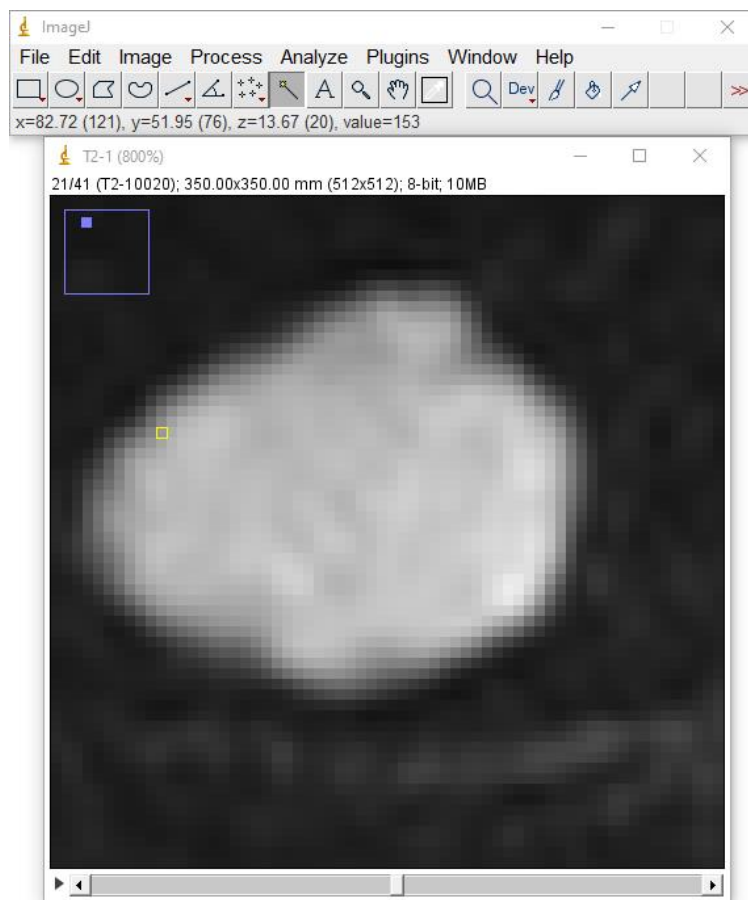


Figura 73: Immagine T2, in formato 8-bit, raffigurante la selezione di un pixel, situato sul bordo delle cisti (in bianco), avente valore pari a 153

E' stata quindi fatta una media tra il valore 153 e il valore massimo assunto dalle cisti (pari a 254), ed il valore ottenuto, approssimabile a 210, è risultato migliore, ed è stato utilizzato come nuova soglia. La nuova soglia permette di selezionare molte più cisti, tra cui quelle più piccole e scure, anche se potrebbe generare qualche problema in pazienti dove i vasi epatici risultano essere numerosi ed evidenti, dato che questi verrebbero erroneamente identificati dal programma come cisti (figura 74, 75).

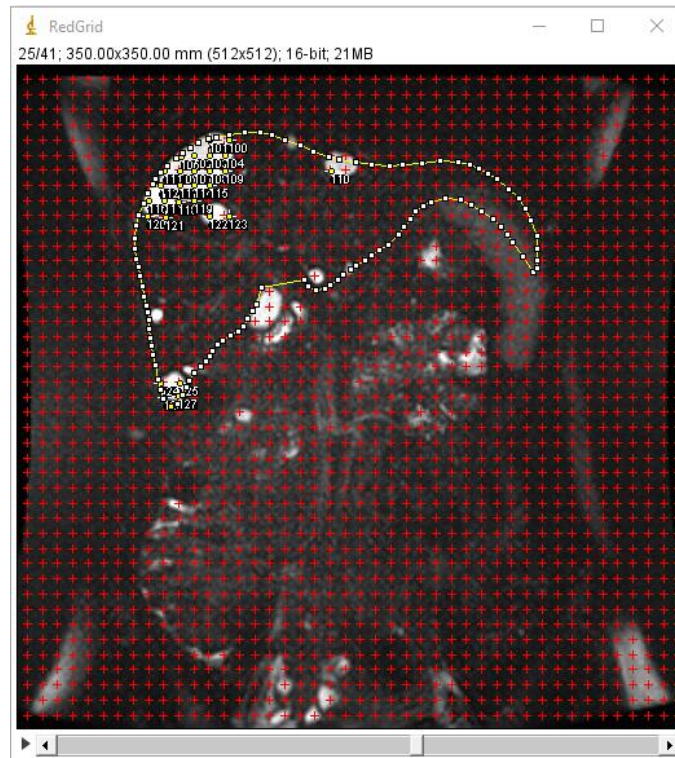


Figura 74: Risultato dell'elaborazione con soglia pari a 153

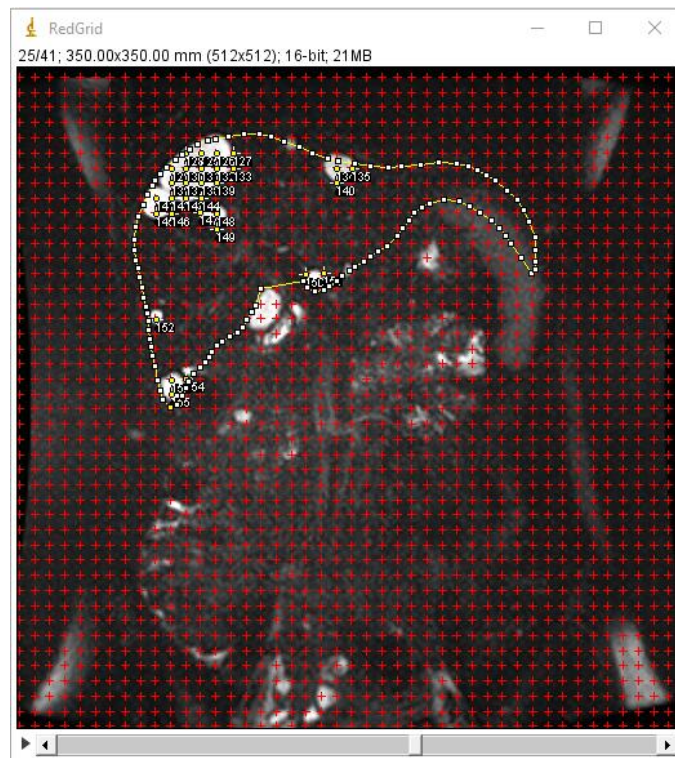


Figura 75: Risultato dell'elaborazione con soglia pari a 210, sulla medesima immagine della figura 12. Con una soglia più elevata vengono identificate anche le cisti più piccole

## **5.2 Ottimizzazione della procedura di quantificazione del volume delle cisti renali**

### **5.2.1 Compatibilità**

Per garantire la portabilità della procedura su sistemi operativi differenti è stato dapprima necessario garantire la compilazione del programma, scritto in C++, su un sistema operativo basato su architettura Windows. La procedura in uso era stata scritta per un sistema MacOS, usando una libreria ITK oramai obsoleta, il software CMake per la creazione dell'ambiente di lavoro e il compilatore nativo integrato nel sistema operativo. Apple, infatti, fornisce agli utenti un ambiente di sviluppo integrato (IDE) con una serie di strumenti per lo sviluppo di software, denominata XCode, a volte già presente nel sistema operativo oppure disponibile per il download dallo store online [41]. In ambiente Windows, invece, dove non esiste alcun compilatore integrato nel sistema operativo per poter compilare il codice in C++, è stato necessario identificare un compilatore adeguato da installare su questo sistema operativo.

Non tutte le versioni disponibili delle librerie ITK risultano essere supportate da alcune tipologie di compilatori, per cui c'è la necessità di individuare la combinazione adatta tra compilatore e la libreria di ITK più aggiornata, affinché il codice possa essere eseguito in ambiente Windows. La libreria ITK selezionata è la versione 5.1 beta, rilasciata oramai nella sua versione stabile 5.1, che risulta essere compatibile con Microsoft Visual Studio 2019, che permette, mediante l'installazione di un modulo dedicato, di compilare il linguaggio di programmazione C++ e, di conseguenza, di costruire la libreria ITK e il codice, sfruttando il software CMake, precedentemente installato sul calcolatore. In ambiente MacOS, invece, per compilare il tutto basta usare la medesima versione di ITK e sfruttare il compilatore integrato, sempre mediante CMake.

### **5.2.2 Codice sorgente**

Una volta garantita la possibilità di esecuzione del codice sui diversi sistemi operativi, è stato necessario modificarlo, sostituendo tutte quelle funzioni implementate per la precedente versione di ITK che non erano più compatibili con la versione più aggiornata.

E' stato dapprima necessario correggere e aggiungere alcuni header files, contenenti la dichiarazione di funzioni e macro che vengono condivise tra diversi file sorgente [42].

Nel corso della procedura viene utilizzata la funzione 'ExtractImageFilter', che permette di restringere l'immagine alla regione di interesse definita dall'utente, e di collassare le

dimensioni di un'immagine, in modo che si sviluppi su una dimensione in meno (permettendo in questo caso di estrarre ciascuna fetta 2D dall'immagine volumetrica). Per collassare l'immagine lungo una sua dimensione è necessario specificare la dimensione selezionata e, nella versione 5.1 beta di ITK, anche la strategia da utilizzare, che può essere di due tipi:

1. `DirectionCollapseToIdentity()`: la direzione dell'output è identica
2. `DirectionCollapseToSubmatrix()`: la direzione dell'output è quella della sottomatrice, se definita positiva, altrimenti si genera un'eccezione [43]

Nel codice aggiornato, quindi, è stata scelta e specificata la prima strategia.

Nel passo di normalizzazione dell'intensità delle immagini, basata sulla valutazione dell'intensità degli istogrammi, è stato necessario modificare una serie di funzioni che consentono la creazione e la definizione dell'istogramma stesso, a causa dell'aggiornamento della libreria ITK. Una serie di funzioni legate alla classe `'itk::Statistics::Histogram<TMeasurement, TFrequencyContainer>'`, che permette di memorizzare una serie di vettori di misurazione nella valutazione dell'istogramma di un'immagine, sono state cambiate e adattate a nuovo codice. Per la funzione `'SizeType'` è stato necessario aggiungere la dimensione su cui si sviluppa l'istogramma considerato. È stato poi necessario dichiarare la dimensione dei vettori misura `'lowerBound'` e `'upperBound'`, che contengono informazioni riguardo i valori dei livelli di grigio dell'istogramma, e del vettore di tipo `'MeasurementVectorType'` contenente le informazioni riguardo alle misure dell'istogramma. E' stata inoltre sostituita la funzione `'IncreaseFrequency'`, che permette di incrementare la frequenza di una misura di un valore definito, con la funzione `'IncreaseFrequencyOfMeasurement'`. [44]

Sono state poi modificate e aggiunte una serie di istruzioni dell'algoritmo di `'K-Means Clustering'`, con l'aggiunta di funzioni di tipo `'MembershipFunctionType'`, che provvedono a costruire una mappa da un dominio arbitrario a un set di numeri reali. Le `'Membership function'` sono tipicamente usate per modellizzare e approssimare funzioni di verosimiglianza, ovvero la probabilità di una certa misura di appartenere a una certa classe, e risultano essere molto efficaci per l'esecuzione di questo algoritmo. [45]

Sono stati quindi semplificati i comandi da inserire nel prompt dei comandi o nella shell dedicata per l'esecuzione dei quattro diversi programmi che costituiscono la procedura. Per fare ciò è stata modificata la valutazione delle righe di comando inserite dall'utente: col nuovo codice l'utente deve solo inserire il percorso della cartella contenente i file necessari per eseguire la procedura o il percorso del file stesso, nel caso si volesse effettuare la quantificazione del volume delle cisti su immagini già processate.

Per garantire una facilitata visualizzazione dei risultati ottenuti dalla procedura è stata infine introdotta la visualizzazione del volume calcolato in *ml*, oltre che in *mm<sup>3</sup>* come già fatto nella vecchia procedura.

### 5.2.3 Modulo di Slicer

Per garantire la possibilità di correzione automatica da parte dell'utente poiché l'estensione in uso (denominata 'pkdCystSelection') era stata sviluppata per una versione ormai obsoleta di Slicer 3D (3.6), è stato necessario modificare anche tale estensione modificandone il codice sorgente '.py', scritto in Python. E' stato necessario dapprima importare la libreria 'Numpy', libreria scientifica per Python, che possiede un'elevata quantità di funzioni matematiche e di gestione delle matrici e vettori, per poter gestire le vettorizzazioni all'interno del codice e adattare l'inizializzazione del codice alla nuova versione, data la diversa sequenza di esecuzione. [46]

Una volta definita l'inizializzazione del codice, importando librerie e collocando le funzioni necessario al funzionamento nelle classi adatte, è stata modificata l'interfaccia grafica dell'applicativo. È stata modificata la definizione di pulsanti e combobox secondo le linee guida della libreria Qt, usata nella versione 4.10.2 di Slicer (figura 76).

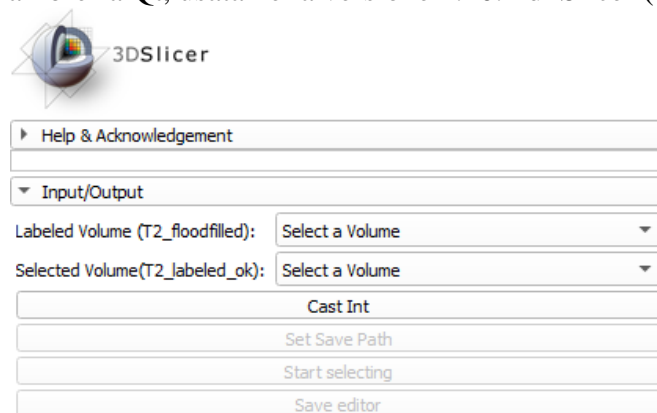


Figura 76: Pannello contenente i pulsanti e le aree di selezione interattive dell'estensione di Slicer 3D per la selezione delle cisti. I pulsanti non evidenziati non possono essere premuti dall'utente, ma si sbloccheranno dopo aver eseguito i passaggi della procedura

E' stata quindi modificata la parte logica del programma, ed ogni pulsante e combobox interattiva è stata interconnessa a una serie di istruzioni.

È stata modificata la serie di istruzioni che esegue il pulsante 'Set Save Path', che permette ora di creare un nuovo file in cui verrà salvato il risultato o di selezionare il file su cui verrà sovrascritto. Tale pulsante poi si colora di verde una volta effettuata la selezione del percorso dove verrà salvata la procedura e abilita la selezione dei pulsanti 'Start selecting', che permette la selezione semi-automatica delle cisti, e 'Save editor', che permette di salvare il risultato in seguito a modifiche effettuate manualmente dall'utente, senza l'ausilio del supporto dei file creati in precedenza dalla procedura.

Premendo il pulsante 'Start selecting', l'utente è in grado di aggiungere cisti sull'immagine risultante dall'elaborazione automatica, effettuando un click col tasto sinistro sulla 'Red Slice' di Slicer-3D, o di rimuoverle, premendo il tasto 'Ctrl' della tastiera mentre si effettua il click del mouse.

Per consentire questa procedura, nella nuova versione dell'estensione, è stato necessario modificare una serie di istruzioni per quanto riguarda l'interactor, che si occupa di controllare la posizione del punto dove viene effettuato il click del mouse, controllando allo stesso tempo quali azioni l'utente sta svolgendo sulla tastiera, e per quanto riguarda la conversione delle coordinate del punto ottenuto in base a due diversi sistemi di coordinate (figura 77):

- RAS (Right, Anterior, Superior): è il sistema di coordinate usato in 3D Slicer e consiste in  $\begin{cases} R: da sinistra verso destra \\ A: da dietro verso davanti \\ S: dal basso verso l'alto \end{cases}$
- IJK: sistema di coordinate presente nei file '.mha' ottenuti dalla procedura, che consiste in  $\begin{cases} i: da sinistra verso destra \\ j: dall'alto verso il basso \\ k: da davanti verso dietro \end{cases}$

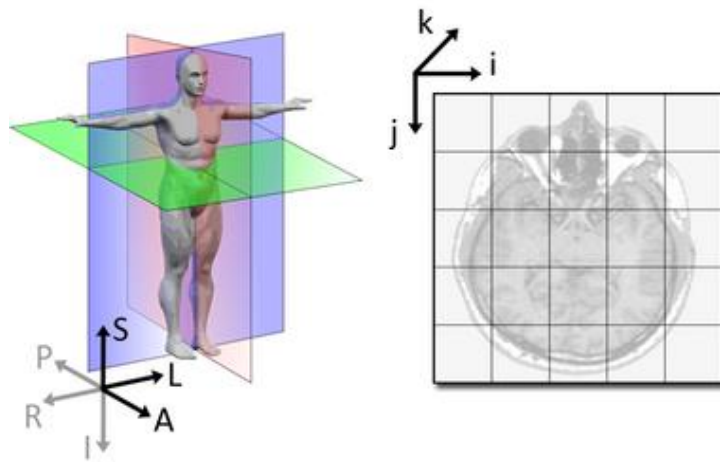


Figura 77: Rappresentazione dei diversi sistemi coordinate. A sinistra si può vedere quello RAS, mentre a destra quello IJK

Durante la procedura, le coordinate del punto selezionato mediante il click del mouse sull'immagine 'T2\_labeled.mha', nel sistema di riferimento RAS, vengono convertite in quello IJK, affinché possa essere effettuato il confronto con l'immagine 'T2\_floodfilled.mha'. Il programma valuta, infatti, le coordinate del punto selezionato e aggiunge o toglie sull'immagine 'label' la regione corrispondente a tal punto dell'immagine 'T2\_floodfilled.mha'.

È stata infine aggiunta una serie di istruzioni che permette il salvataggio automatico del file 'T2\_labeled.mha', modificato, ogni qual volta l'utente effettui una selezione. [47]

## **Capitolo VI. Conclusioni e sviluppi futuri**

### **6.1 Conclusioni**

Mediante l'ottimizzazione di codici, questo progetto di tesi ha dato un importante contributo al miglioramento delle tecniche in uso presso l'Unità di Medical Imaging per l'elaborazione di immagini di risonanza di pazienti affetti da rene policistico, che sta assumendo un ruolo sempre più che assume un ruolo importante nel monitoraggio della progressione della malattia. L'ottimizzazione effettuata consente di ridurre l'intervento dell'operatore che, oltre a comportare un notevole dispendio di tempo, può anche causare la dipendenza dei risultati dall'esperienza dell'operatore, permettendo quindi una quantificazione più accurata. L'aggiornamento effettuato sui codici sorgente consente inoltre di aumentare la portabilità delle procedure su sistemi di ultima generazione, e dà la possibilità di implementare funzioni aggiuntive.

### **6.2 Sviluppi futuri**

I risultati di questo progetto di tesi aprono la strada a numerosi sviluppi futuri. Un interessante sviluppo è costituito dalla traslazione della procedura di quantificazione semi-automatica delle cisti renali in un linguaggio di programmazione diverso da C++, come ad esempio Python, in modo da facilitare l'installazione delle librerie in uso per eseguire la procedura, su qualsiasi sistema operativo, e da permettere lo sviluppo di un'interfaccia utente più accessibile anche ad utenti meno esperti, mediante l'importazione di moduli esterni. Poiché questo andrebbe a scapito della rapidità di esecuzione dei processi, si potrebbe pensare di traslare solo le procedure computazionalmente meno dispendiose. L'utilizzo di Python consentirebbe inoltre di integrare una serie di librerie esterne per la gestione di dati, come 'Pandas', e una serie di pacchetti per l'esecuzione di procedure matematiche e scientifiche, come 'SciPy', grazie ai quali si potrebbero introdurre altre molteplici funzioni.

Ad oggi, tuttavia, non tutte le funzioni necessarie per eseguire la procedura di quantificazione delle cisti renali sono state integrate nella libreria ITK per Python, per cui sarà necessario attendere ulteriori aggiornamenti della libreria per poter completare l'operazione.



## Bibliografia e sitografia

1. <https://www.humanitas.it/enciclopedia/anatomia/apparato-urinario/reni>
2. <https://www.fondazioneeserono.org/oncologia/cancro-rene-oncologia/anatomia-fisiologia-rene/>
3. <https://www.renepolicistico.it/il-rene-policistico/>
4. Grantham, J. J., Chapman, A. B., Torres, V. E. [2006], Volume Progression in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease: The Major Factor Determining Clinical Outcomes, in “Clin J Am Soc Nephrol”; 1(1):148-157
5. Grantham, J. J., Torres, V. E. [2016], The importance of total kidney volume in evaluating progression of polycystic kidney disease, in “Nature Reviews”, XII: 667-677
6. <https://www.renepolicistico.it/manifestazioni-renali-in-corso-di-rene-policistico-autosomico-dominante-adpkd/>
7. Churchill, D.N., Bear, J.C., Morgan, J., Payne, R.H., McManamon, P.J., Gault, M.H. [1984], Prognosis of adult onset polycystic kidney disease re-evaluated, in “Kidney int”, 26: 190-193
8. <https://www.webmd.com/digestive-disorders/polycystic-liver-disease-causes-symptoms-treatment#1>
9. Caroli, A., Antiga, L., Cafaro, M., Fasolini, G., Remuzzi, A., Remuzzi, G., Ruggerenti, P. [2010], Reducing Polycystic Liver Volume in ADPKD: Effects of Somatostatin Analogue Octreotide, in “CJASN ePress”
10. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK373392/>
11. <https://www.startradiology.com/the-basics/mri-technique/index.html>
12. Magistroni, M., Corsi, C., Martì, T., Torra, R. [2018], A Review of the Imaging Techniques for Measuring Kidney and Cyst Volume in Establishing Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease Progression, in “Am J Nephrol”, 48:67-78
13. <http://www.otebac.it/index.php?it/112/open-source>
14. <https://imagej.nih.gov/ij/docs/intro.html>
15. [https://en.wikipedia.org/wiki/Insight\\_Segmentation\\_and\\_Registration\\_Toolkit](https://en.wikipedia.org/wiki/Insight_Segmentation_and_Registration_Toolkit)
16. <https://cmake.org/>
17. <https://www.slicer.org/wiki/Documentation/4.10/Announcements>

18. [https://it.wikipedia.org/wiki/3D\\_Slicer](https://it.wikipedia.org/wiki/3D_Slicer)
19. Sharma, K., Caroli, A., Quach, LV, Petzold, K., Bozzetto, M., Serra, AL., Remuzzi, G, Remuzzi, A. [2017], Kidney volume measurement methods for clinical studies on autosomal dominant polycystic kidney disease, in “PLoS ONE”, 12(5): e0178488
20. [https://bio3d.colorado.edu/imod/doc/3dmodHelp/plughelp/stereology\\_help.html](https://bio3d.colorado.edu/imod/doc/3dmodHelp/plughelp/stereology_help.html)
21. <https://www.stereology.info/volume/>
22. <https://www.stereology.info/sampling/>
23. <https://pdfs.semanticscholar.org/40d7/9b4251167362dad5bdd7bc9dd078997e76a6.pdf>
24. [https://en.wikipedia.org/wiki/Bicubic\\_interpolation](https://en.wikipedia.org/wiki/Bicubic_interpolation)
25. <https://www.cambridgeincolour.com/tutorials/image-interpolation.htm>
26. [https://itk.org/Doxygen/html/classitk\\_1\\_1RescaleIntensityImageFilter.html](https://itk.org/Doxygen/html/classitk_1_1RescaleIntensityImageFilter.html)
27. <https://homepages.inf.ed.ac.uk/rbf/HIPR2/histogram.htm>
28. <https://homepages.inf.ed.ac.uk/rbf/HIPR2/log.htm>
29. <https://homepages.inf.ed.ac.uk/rbf/HIPR2/zeros.htm>
30. [https://en.wikipedia.org/wiki/Flood\\_fill](https://en.wikipedia.org/wiki/Flood_fill)
31. [https://en.wikipedia.org/wiki/K-means\\_clustering](https://en.wikipedia.org/wiki/K-means_clustering)
32. <https://lorenzogovoni.com/algoritmo-k-means-cose-e-come-funziona/>
33. [https://en.wikipedia.org/wiki/K-d\\_tree](https://en.wikipedia.org/wiki/K-d_tree)
34. [https://itk.org/Doxygen/html/Examples\\_2Statistics\\_2KdTreeBasedKMeansClustering\\_8cxx-example.html](https://itk.org/Doxygen/html/Examples_2Statistics_2KdTreeBasedKMeansClustering_8cxx-example.html)
35. [https://itk.org/Doxygen/html/classitk\\_1\\_1Statistics\\_1\\_1WeightedCentroidKdTreeGenerator.html](https://itk.org/Doxygen/html/classitk_1_1Statistics_1_1WeightedCentroidKdTreeGenerator.html)
36. [https://itk.org/Doxygen/html/classitk\\_1\\_1Statistics\\_1\\_1KdTreeBasedKmeansEstimator.html](https://itk.org/Doxygen/html/classitk_1_1Statistics_1_1KdTreeBasedKmeansEstimator.html)
37. <https://imagej.net/docs/guide/146-28.html#sub:Threshold...%5BT%5D>
38. [https://www.researchgate.net/publication/236881522\\_A\\_Novel\\_Tracking\\_Tool\\_for\\_Analysis\\_and\\_Quantification\\_of\\_Plant\\_Root\\_Tip\\_Movements](https://www.researchgate.net/publication/236881522_A_Novel_Tracking_Tool_for_Analysis_and_Quantification_of_Plant_Root_Tip_Movements)
39. <https://blog.kitware.com/histogram-based-thresholding/>
40. <https://forum.image.sc/t/understanding-imagej-implementation-of-the-triangle-algorithm-for-threshold/752>

41. <https://www.alessandrobarazzuol.com/2019/01/29/c-con-mac/>
42. [https://www.tutorialspoint.com/cprogramming/c\\_header\\_files.htm](https://www.tutorialspoint.com/cprogramming/c_header_files.htm)
43. [https://itk.org/Doxygen/html/classitk\\_1\\_1ExtractImageFilter.html](https://itk.org/Doxygen/html/classitk_1_1ExtractImageFilter.html)
44. [https://itk.org/Doxygen/html/classitk\\_1\\_1Statistics\\_1\\_1Histogram.html](https://itk.org/Doxygen/html/classitk_1_1Statistics_1_1Histogram.html)
45. [https://itk.org/Doxygen/html/classitk\\_1\\_1Statistics\\_1\\_1MembershipFunctionBase.html](https://itk.org/Doxygen/html/classitk_1_1Statistics_1_1MembershipFunctionBase.html)
46. <https://numpy.org/>
47. [https://www.slicer.org/wiki/Coordinate\\_systems](https://www.slicer.org/wiki/Coordinate_systems)

## Sitografia delle figure

1. <https://www.urologyhealth.org/Images/Conditions/Kidney-CROSSSECTION.jpg>
2. [https://s3.eu-central-1.amazonaws.com/pazienti-platform/contents/pictures/000/004/368/original/capsula\\_di\\_bowman.jpg?1506347993](https://s3.eu-central-1.amazonaws.com/pazienti-platform/contents/pictures/000/004/368/original/capsula_di_bowman.jpg?1506347993)
3. [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/2/2c/Polycystic\\_kidneys%2C\\_gross\\_pathology\\_CDC\\_PHIL.png/300px-Polycystic\\_kidneys%2C\\_gross\\_pathology\\_CDC\\_PHIL.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/2/2c/Polycystic_kidneys%2C_gross_pathology_CDC_PHIL.png/300px-Polycystic_kidneys%2C_gross_pathology_CDC_PHIL.png)
4. <https://www.researchgate.net/publication/309263118/figure/fig3/AS:429682333097985@1479455659230/The-formation-and-expansion-of-a-tubule-cyst-a-Germline-mutations-in-PKD1-or-PKD2-do.png>
5. <https://i.pinimg.com/originals/08/28/4c/08284c84ba1abffdd755335228720dfc.jpg>
6. <https://d3i71xaburhd42.cloudfront.net/958bc57b4cd38216c939063cffc00a8a34c6b358/12-Figure1-1.png>
7. <https://www.startradiology.com/uploads/images/english-class-mri-technique-fig3-mri-scanner.jpg>
8. <https://www.startradiology.com/uploads/images/english-class-mri-technique-fig2-spinning-proton-larmor-frequency-dyn.gif>
9. <https://www.startradiology.com/uploads/images/english-class-mri-technique-fig4-excitation-dyn.gif>
10. <https://www.startradiology.com/uploads/images/english-class-mri-technique-fig4-excitation-dyn.gif>
11. [https://mri-q.com/uploads/3/4/5/7/34572113/112784\\_orig.gif](https://mri-q.com/uploads/3/4/5/7/34572113/112784_orig.gif)
12. <https://www.startradiology.com/uploads/images/english-class-mri-technique-fig7-transversal-plane-in-phase-dyn.gif>
13. <https://d3i71xaburhd42.cloudfront.net/ce33b42376c72f4a341ed58ded7e9b3ebfd9595f/39-Figure17-1.png>
14. [https://mriquestions.com/uploads/3/4/5/7/34572113/4743239\\_orig.gif](https://mriquestions.com/uploads/3/4/5/7/34572113/4743239_orig.gif)
15. [https://elearning15.unibg.it/pluginfile.php/152306/mod\\_resource/content/1/11%20MRI.pdf](https://elearning15.unibg.it/pluginfile.php/152306/mod_resource/content/1/11%20MRI.pdf) pp.30

16. [https://static.cambridge.org/binary/version/id/urn:cambridge.org:id:binary:20170614045535012-0877:9781107706958:64323fig8\\_6.png?pub-status=live](https://static.cambridge.org/binary/version/id/urn:cambridge.org:id:binary:20170614045535012-0877:9781107706958:64323fig8_6.png?pub-status=live)
17. [https://elearning15.unibg.it/pluginfile.php/152306/mod\\_resource/content/1/11%20MRI.pdf](https://elearning15.unibg.it/pluginfile.php/152306/mod_resource/content/1/11%20MRI.pdf) pp.33
18. [https://elearning15.unibg.it/pluginfile.php/152306/mod\\_resource/content/1/11%20MRI.pdf](https://elearning15.unibg.it/pluginfile.php/152306/mod_resource/content/1/11%20MRI.pdf) pp.35
19. [https://elearning15.unibg.it/pluginfile.php/152306/mod\\_resource/content/1/11%20MRI.pdf](https://elearning15.unibg.it/pluginfile.php/152306/mod_resource/content/1/11%20MRI.pdf) pp.38
20. [http://mri-q.com/uploads/3/4/5/7/34572113/\\_1921037.jpg](http://mri-q.com/uploads/3/4/5/7/34572113/_1921037.jpg)
22. [http://mri-q.com/uploads/3/4/5/7/34572113/\\_8598409\\_orig.gif](http://mri-q.com/uploads/3/4/5/7/34572113/_8598409_orig.gif)
23. [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/1/11/Proton\\_spin\\_MRI.webm/800px--Proton\\_spin\\_MRI.webm.jpg](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/1/11/Proton_spin_MRI.webm/800px--Proton_spin_MRI.webm.jpg)
24. <https://i.ya-webdesign.com/images/magnetization-vector-longitudinal-9.gif>
25. <https://www.startradiology.com/uploads/images/english-class-mri-technique-fig6-t1-relaxtion-times-fa-water.jpg>
26. [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/3/35/T2\\_relaxation.svg/1200px-T2\\_relaxation.svg.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/3/35/T2_relaxation.svg/1200px-T2_relaxation.svg.png)
27. <https://www.startradiology.com/uploads/images/english-class-mri-technique-fig9-t2-relaxtion-time-fat-water.jpg>
28. [https://mri-q.com/uploads/3/4/5/7/34572113/molecular-tumbling-rate\\_1\\_orig.png](https://mri-q.com/uploads/3/4/5/7/34572113/molecular-tumbling-rate_1_orig.png)
30. <https://www.startradiology.com/uploads/images/english-class-mri-technique-fig11-t1-intensities.jpg>
31. <https://www.startradiology.com/uploads/images/english-class-mri-technique-fig16-t2-intensities.jpg>
33. <https://discourse.itk.org/uploads/default/original/1X/901a2a36bed0df6f9a90f66097efde4e7845d856.png>
36. <http://www.stereology.info/images/96t.gif>
37. [www.stereology.info/images/63t.gif](http://www.stereology.info/images/63t.gif)
38. <http://www.stereology.info/images/485.gif>

42. [https://www.researchgate.net/profile/Badrul\\_Mohamad2/publication/308980343/figure/fig3/AS:415833164664834@1476153760287/Diagram-for-Bicubic-Interpolation-In-above-figure-an-intermediate-pixel-i-ii-i.png](https://www.researchgate.net/profile/Badrul_Mohamad2/publication/308980343/figure/fig3/AS:415833164664834@1476153760287/Diagram-for-Bicubic-Interpolation-In-above-figure-an-intermediate-pixel-i-ii-i.png)
49. <https://homepages.inf.ed.ac.uk/rbf/HIPR2/figs/gauss2.gif>
52. <https://homepages.inf.ed.ac.uk/rbf/HIPR2/figs/lapmask2.gif>
54. [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7e/Recursive\\_Flood\\_Fill\\_4\\_%28aka%29.gif](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7e/Recursive_Flood_Fill_4_%28aka%29.gif)
56. [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/5/5e/K\\_Means\\_Example\\_Step\\_1.svg/800px-K\\_Means\\_Example\\_Step\\_1.svg.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/5/5e/K_Means_Example_Step_1.svg/800px-K_Means_Example_Step_1.svg.png)
57. [https://en.wikipedia.org/wiki/K-means\\_clustering#/media/File:K\\_Means\\_Example\\_Step\\_2.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/K-means_clustering#/media/File:K_Means_Example_Step_2.svg)
58. [https://en.wikipedia.org/wiki/K-means\\_clustering#/media/File:K\\_Means\\_Example\\_Step\\_3.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/K-means_clustering#/media/File:K_Means_Example_Step_3.svg)
59. [https://en.wikipedia.org/wiki/K-means\\_clustering#/media/File:K\\_Means\\_Example\\_Step\\_4.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/K-means_clustering#/media/File:K_Means_Example_Step_4.svg)
60. [https://en.wikipedia.org/wiki/K-d\\_tree#/media/File:Kdtree\\_2d.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/K-d_tree#/media/File:Kdtree_2d.svg)
61. [https://en.wikipedia.org/wiki/K-d\\_tree#/media/File:Tree\\_0001.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/K-d_tree#/media/File:Tree_0001.svg)
72. [https://www.researchgate.net/profile/Stefano\\_Mancuso/publication/236881522/figure/fig4/AS:299527274811399@1448424275725/Figure-A1-Determination-of-the-global-threshold-with-the-triangle-algorithm-The.png](https://www.researchgate.net/profile/Stefano_Mancuso/publication/236881522/figure/fig4/AS:299527274811399@1448424275725/Figure-A1-Determination-of-the-global-threshold-with-the-triangle-algorithm-The.png)
77. [https://www.slicer.org/w/img\\_auth.php/thumb/2/22/Coordinate\\_sytems.png/600px-Coordinate\\_sytems.png](https://www.slicer.org/w/img_auth.php/thumb/2/22/Coordinate_sytems.png/600px-Coordinate_sytems.png)