# POLITECNICO DI TORINO

Dipartimento di Ingegneria Meccanica e Aerospaziale

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica

Tesi di Laurea Magistrale

# Ultrasound-based carotid artery plaque segmentation: a 2D and 3D approach



# Relatori

prof. Molinari Filippo

prof. Meiburger Kristen Mariko

Candidato

Ballarin Riccardo

Luglio 2018

# Indice

Prefaz	ione	5
1.	Introduzione	
	1.1. Imaging quantitativo	7
	1.1.1. Tomografia computerizzata	8
	1.1.2. Risonanza magnetica	9
	1.1.3. Ultrasonografia	9
	1.1.4. Medicina Nucleare	10
	1.1.5. Fotoacustica	11
2.	Ultrasonografia	12
	2.1. Accenni di carattere generale	12
	2.2. Artefatti	16
	2.3. Mezzi di contrasto	17
3.	Vasi sanguigni	18
	3.1. Accenni di carattere generale	18
	3.2. Anatomia	18
	3.2.1. Meccanica dei vasi	20
	3.3. Patologie	20
	3.3.1. Aterosclerosi	22
	3.3.2. Reversibilità del processo	24
	3.4. Importanza dell'imaging	24
4.	Segmentazione della carotide comune (CCA)	26
	4.1. Spessore intima-media (IMT)	26
	4.2. Introduzione alla segmentazione	29
	4.2.1. Accenni storici: esempi di soluzioni proposte nel corso del tempo	30
	4.2.2. Problematiche comuni	33
	4.2.3. Conclusioni	34
5.	Materiali e metodi	36
	5.1. Acquisizione delle immagini	36
	5.2. Database	37
	5.2.1. Fattore di calibrazione	38
	5.3. Algoritmo di segmentazione	38
	5.3.1. Pre-processing	39
	5 3 2 Sten I	41

5.3.2.1. CAMES	42	
5.3.2.2. CULEX	45	
5.3.2.3. Step I - manuale	47	
5.3.3. Step II	47	
5.3.3.1. phasecongmono.m	48	
5.3.3.2. Segmentazione dell'interfaccia MA	50	
5.3.3.3. Segmentazione dell'interfaccia LI	53	
5.3.4. Differenze con GIMT	55	
5.4. Grado di stenosi	56	
6. Validazione	57	
7. Risultati	60	
7.1. Prestazioni dello stage I	60	
7.2. Prestazioni dello stage II – prestazioni complessive	60	
7.3. Discussione conclusiva	64	
8. Conclusioni prima parte	67	
9. Segmentazione di volumi	68	
9.1. RANSAC	69	
9.2. Risultati	71	
9.3. Discussione	76	
10. Conclusioni	78	
phasecongmono.m code	79	
Bibliografia		

### **Prefazione**

Lo scopo del lavoro qui presentato è quello di sviluppare due tecniche quantitative in grado di stimare correttamente i parametri morfologici necessari alla valutazione dell'ispessimento medio-intimale (IMT) o alla valutazione dimensionale della placca, a partire da immagini ad ultrasuoni B-mode. L'obbiettivo, correttamente portato a termine, è stato quello di sviluppare due algoritmi in grado di segmentare le pareti dell'arteria carotide comune, sia quella distale che quella prossimale, in modo tale da stimare l'interfaccia esistente tra lume e intima e quella presente tra media e avventizia. Nello specifico, partendo da un algoritmo già completamente sviluppato e funzionante come GIMT, elaborato da Molinari et al., in questo progetto è proposta una soluzione parzialmente differente che utilizza la funzione phasecongmono.m per migliorare il processo di individuazione delle interfacce LI, spesso più complesse da determinare per via del ridotto contrasto. Nella parte finale dell'elaborato è presentato il secondo algoritmo sviluppato, a partire questa volta da RANSAC, in grado di segmentare comunque le interfacce LI e MA ma, in questo caso, pensato e sviluppato per elaborare sezioni di un volume o "slices", anche grazie al supporto di una prima segmentazione della slice centrale fornita come conoscenza pregressa ed utile ad indirizzare l'intero processo.

L'elaborato è suddivisibile in 3 macro-aree: nella prima parte, costituita dai primi tre capitoli, è proposta una trattazione introduttiva che ha lo scopo di presentare il problema, il campo di appartenenza e i mezzi che saranno utilizzati nella risoluzione dello stesso, nella seconda parte, dal quarto capitolo fino all'ottavo, sarà analizzato nello specifico il percorso intrapreso e nell'ultima parte, composta esclusivamente dal nono capitolo, sarà presentata una soluzione alternativa, progettata esclusivamente per una specifica tipologia di database. Il decimo capitolo propone le conclusioni.

La prima sezione propone innanzitutto un capitolo introduttivo utile ad evidenziare la crescente importanza della tecnologia nella pratica medica odierna e a sottolineare come il ruolo dell'uomo non è e non sarà secondo a quello del computer nella formulazione di diagnosi. A partire da questo capitolo è possibile entrare in contatto con l'imaging quantitativo e alcune tra le sue numerose declinazioni: in questo elaborato saranno brevemente introdotte, nell'ordine, tomografia computerizzata, risonanza magnetica, ultrasonografia, medicina nucleare e fotoacustica. Questo capitolo ha l'obbiettivo di presentare il campo di appartenenza delle tecniche che saranno proposte nei capitoli successivi per poi descrivere come l'intera area dell'imaging quantitativo, attualmente, rivesta un ruolo di primaria importanza soprattutto nelle fasi di diagnosi e di elaborazione di una terapia. Considerato che in questo elaborato verrà utilizzata unicamente l'ultrasonografia, impiegata nella produzione delle immagini appartenenti al database, il secondo capitolo si propone di introdurre i principi fisici responsabili del fenomeno, così come le diverse modalità di utilizzo, gli artefatti più diffusi e i mezzi di contrasto più comuni, con un piccolo focus sull'immediato futuro. Il terzo capitolo ha una rilevanza maggiore ai fini dell'obbiettivo dell'elaborato: al suo interno è proposta una scorrevole trattazione sulla anatomia dei vasi sanguigni, sulla loro meccanica e soprattutto sulle patologie correlate, su tutte l'aterosclerosi. Questa disfunzione dell'apparato vascolare è correlata all'ispessimento medio-intimale e rappresenta ciò che ha spinto numerosi gruppi di ricerca a cimentarsi nello sviluppo di un metodo predittivo efficace, considerata l'altissima incidenza tra la popolazione mondiale.

Nella seconda sezione, costituita da cinque capitoli, è proposta innanzitutto la definizione di IMT, un biomarcatore riconosciuto dell'aterosclerosi: si analizza la correlazione, la sua importanza clinica, le cause e l'eziologia. All'interno della stessa sezione è proposta la soluzione individuata per stimare il marker appena introdotto, mediante un percorso che innanzitutto contestualizza storicamente gli algoritmi presentati in modo tale da evidenziare anche le difficoltà che la pratica comporta. Una volta esposto il database oggetto di studio, sono

descritte, nell'ordine, la iniziale fase di pre-elaborazione dell'immagine, utile a preparare una banca dati così eterogenea alla successiva fase di processing, e i due step necessari a finalizzare la segmentazione delle due interfacce LI e MA, necessarie alla stima dell'IMT. Il primo stadio è declinabile in tre diverse soluzioni, due automatizzate come CAMES e CULEX ed una manuale. Una volta presentati singolarmente i due algoritmi automatici è possibile, con il sotto capitolo successivo, accedere alla descrizione del vero oggetto di questo studio cioè il metodo sviluppato per migliorare la segmentazione delle interfacce. L'algoritmo sfrutta una funzione, phasecongmono.m, per completare il processo: è presente un capitolo dedicato ad essa, in modo tale da approfondire l'influenza di questo codice sulle prestazioni complessive. Una volta analizzate le differenze esistenti con l'originale algoritmo GIMT dal quale l'attuale deriva, è possibile analizzare le prestazioni del prodotto secondo alcuni parametri adeguatamente introdotti nello stesso capitolo.

Il nono capitolo propone una soluzione alternativa a quella appena presentata, sviluppata per un database differente costituito da slices ("fette") di due diversi volumi. L'obbiettivo di questo paragrafo, strutturato anch'esso come il precedente, è quello di valutare le prestazioni di RANSAC, un algoritmo in grado di segmentare le interfacce LI e MA similmente all'algoritmo GIMT ma dotato della capacità di usufruire dei tracciati della slice immediatamente precedente o successiva per migliorare la fase di detection della ROI. Questo algoritmo, a differenza del precedente, include una iniziale fase di segmentazione automatica o manuale della slice centrale, necessaria per indirizzare correttamente il processo per le slices successive e precedenti a quest'ultima.

Al termine dell'elaborato è riportato il codice originale della funzione phasecongmono.m.

# 1. Introduzione

A partire dagli anni '60, l'imaging medico ha subito una progressiva evoluzione, teorica e pratica, dettata dall'invenzione e dalla continua espansione delle nuove tecnologie e, soprattutto negli ultimi decenni, dalla sempre più completa digitalizzazione dei segnali e delle immagini mediche. Gli esperti del settore, a partire dalla seconda metà del '900, erano convinti che la rivoluzione tecnologica avrebbe cambiato radicalmente l'approccio obsoleto della medicina tradizionale nella analisi delle anomalie, quindi nella pratica dell'imaging, grazie ai nuovi super computer che avrebbero letteralmente rimpiazzato l'essere umano. Le enormi potenze di calcolo dei mezzi informatici e i nuovi dispositivi e strumenti che di li a breve sarebbero stati introdotti avevano convinto gli studiosi delle enormi potenzialità dei computer rispetto alle limitate capacità umane. Il pensiero comune, quindi, era concorde sulla figura del medico, la quale doveva progressivamente perdere di importanza, a favore di una più completa e oggettiva capacità delle macchine di svolgere il loro ruolo, così complesso e per molti aspetti rischioso. La realtà dei fatti, come è chiaro, è differente e, ad oggi, la comunità scientifica ha ormai orientato la propria attenzione verso un nuovo filone di pensiero, il CAD (computer-aided diagnosis), il quale ritiene che l'uomo debba rivestire un ruolo di assoluta rilevanza nelle decisioni sanitarie, accompagnato e, soprattutto, sostenuto e guidato dalla tecnologia. Con questa innovativa concezione, gli output dei computer sono considerati un secondo giudizio, complementare a quello espresso direttamente dal medico, comunque utile ma non indispensabile nella formulazione di una diagnosi completa. Il livello prestazionale della tecnologia non deve però superare o essere inferiore a quello del medico, in modo da non alterare l'equilibrio tra i pesi dei due pareri sulla produzione di una diagnosi finale.

Le motivazioni che hanno reso il CAD il filone di pensiero principale sono, tra le altre, storiche: intorno agli anni '60 i computer erano ancora parzialmente in fase di sviluppo e le loro potenzialità risultavano per lunghi tratti ancora inesplorate, per cui le previsioni future erano molto ottimistiche. Ad oggi, consci che le possibilità di sviluppo tecnologiche sono lungi dall'essere terminate, la comunità è stata anche in grado di apprezzare e allo stesso tempo rivalutare ciò che effettivamente un computer può fornire: l'uomo e la propria capacità decisionale, pur ricca di difetti, mantiene la propria assoluta rilevanza. Ad ogni modo è idea comune che la tecnologia rappresenti un importante vantaggio per la medicina e che quindi incrementi le possibilità di successo nella produzione di una diagnosi valida, garantendo alta specificità e alta sensibilità. <sup>1</sup>

### 1.1 Imaging quantitativo

In accordo con QIBA (Quantitative Imaging Biomarkers Alliance) l'imaging quantitativo (QI) può essere definito come:

"... l'estrazione di caratteristiche quantificabili da immagini mediche per la valutazione della normalità o della gravità, del grado di cambiamento o dello stato di una malattia, di un infortunio o di una condizione cronica rispetto alla norma. L'imaging quantitativo comprende lo sviluppo, la standardizzazione e l'ottimizzazione di protocolli di acquisizione di immagini anatomiche, funzionali e molecolari, analisi dei dati, metodi di visualizzazione e strutture di reporting. Queste caratteristiche consentono la convalida di metriche derivate da immagini accuratamente e precisamente ottenute con parametri anatomicamente e fisiologicamente rilevanti, tra cui la risposta alla terapia e l'esito, e l'uso di tali parametri nella ricerca e nella cura del paziente."

L'imaging quantitativo ha conosciuto, soprattutto negli ultimi decenni, una progressiva espansione, da studi di ricerca e sale di lettura clinica fino a pratiche mediche ormai consolidate: il cancro al colon, l'ischemia celebrale e la malattia polmonare interstiziale sono solo alcuni tra gli esempi di applicazioni pratiche del QI. Gli aspetti chiave che necessariamente appartengono a questa pratica sono l'accuratezza, la precisione e la validità clinica. Con il fine di declinare il loro significato in ambito medico, sono stati introdotti degli standard di riferimento che fungono da termine di confronto con le successive misurazioni. In questo modo l'accuratezza può essere definita come vicinanza della misura in essere con lo standard, la precisione, declinata in ripetibilità e riproducibilità della misura, come la capacità di produrre un valore che si mantiene costante nel corso del tempo e quindi in misurazioni successive e, la validità clinica come attinenza alla pratica in atto con il fine di incidere sui miglioramenti del paziente. <sup>2</sup> Dal punto di vista pratico l'imaging quantitativo è il grado di influenzare profondamente prima la diagnosi e la prognosi, poi la terapia da intraprendere, aumentando le possibilità di individuare fin da subito la soluzione corretta. Inoltre il QI viene abbondantemente utilizzato nel monitoraggio, in quanto spesso declinato in pratiche assolutamente non nocive alla salute del paziente.

Osservando le direttive fornite dal QIBA, fondato nel 2007 dalla società radiologica del nord America (RSNA), il QI viene declinato su tutte nella tomografia computerizzata, nella risonanza magnetica, nella medicina nucleare e nell'ultrasonografia anche se, almeno in via teorica, le sue possibilità sono ben maggiori. <sup>2-3</sup>

# 1.1.1 Tomografia computerizzata

La tomografia computerizzata (TC) è una tecnica di imaging non invasiva che sfrutta i raggi X, proiettati da diverse angolazioni, e una fase di post elaborazione per ottenere informazioni su interi organi, ossa, tessuti molli e vasi sanguigni. È una pratica rischiosa per la salute del paziente e dello stesso operatore che esegue il test, in quanto sfrutta una tipologia di radiazione ionizzante. <sup>7</sup> La TC, di base, è composta da un tubo a raggi X che produce radiazioni di energia modulabile in intensità e da un sistema di ricezione posto dal lato opposto della sorgente, in grado di valutare la radiazione residua ed elaborare i risultati. <sup>4</sup> Nello specifico lo step conclusivo è costituito dalla suddivisione della regione di interesse (ROI) in "slices" che a loro volta sono suddivise in prismi rettangolari o "voxel", unità fondamentale minima per la quale viene calcolata la densità apparente sulla base della radiazione residua giunta al rilevatore; la densità apparente sarà espressa nella scala Hounsfield Unit (HU). <sup>2</sup> A questo punto il procedimento si esaurisce con la ricostruzione digitale dell'area analizzata, voxel dopo voxel e slice dopo slice, ottenendo quella che è a tutti gli effetti una mappatura delle densità dell'immagine. <sup>4</sup>

Il funzionamento della tomografia computerizzata è basato sulla capacità delle radiazioni incidenti di produrre, nel contatto con i tessuti del paziente, un fotoelettrone che sarà registrato dal sistema di rilevazione. La produzione del fotoelettrone avviene poiché la radiazione incidente causa l'espulsione di un elettrone dal guscio più interno di un atomo: ne consegue che, dagli orbitali più esterni a maggiore energia, venga inviato un nuovo elettrone con il fine di colmare la lacuna, con conseguente emissione di energia data dal dislivello energetico presente tra i due orbitali. <sup>5</sup>

La tomografia computerizzata è la declinazione dell'imaging quantitativo più datata, considerando che i primi brevetti risalgono agli anni '60. Da quel momento in poi la TC ha subito dei miglioramenti rilevanti che hanno permesso delle risoluzioni sempre maggiori che ad oggi possono raggiungere picchi sub-millimetrici. Le componenti restanti del dispositivo, invece, sono di base rimaste inalterate nel corso del tempo. L'applicazione della tomografia computerizzata nell'imaging quantitativo ha permesso, tra le altre cose, di incrementare le

possibilità di produrre una diagnosi e quindi una terapia mirata in un lasso di tempo inferiore rispetto a quanto succedeva in precedenza. Inoltre, la TC viene spesso utilizzata come mezzo per effettuare un confronto tra la situazione antecedente la terapia e quella seguente, in modo da valutarne le conseguenze. <sup>4</sup>

La tomografia a doppia energia è, invece, una più recente evoluzione della pratica classica, introdotta per osservare la risposta dei tessuti oggetto di analisi percorsi da fasci energetici a diverse energie. Considerando che la risposta dello stesso tessuto è differente in base alla radiazione utilizzata, considerando la necessità di una maggiore risoluzione temporale e considerando l'annoso problema dei pazienti obesi o di grandi dimensioni, la tomografia a doppia energia propone una soluzione efficace per l'analisi selettiva di specifiche regioni del corpo umano, sfruttando un ampio range energetico che permette di utilizzare le diverse energie di legame per isolare specifici gruppi di atomi e studiarne, nel caso, la distribuzione. <sup>5-6</sup>

# 1.1.2 Risonanza magnetica

La risonanza magnetica (MRI) è una pratica non invasiva e non dannosa per la salute del paziente, in quanto non sfrutta alcun tipo di radiazione ionizzante: per questi motivi è ampiamente utilizzata nell'imaging quantitativo, anche se frenata dalla rilevanza dei costi associati. Dal punto di vista fisico, la risonanza magnetica sfrutta l'enorme diffusione dell'idrogeno all'interno del nostro corpo, attraverso la manipolazione dei momenti magnetici di questi nuclei mediante campi di radiofrequenza (RF). La produzione degli output è strettamente legata a tre parametri: densità di spin del protone, tempo di rilassamento longitudinale T1 e tempi di rilassamento trasversali T2 e T2\*. <sup>7</sup>

L'imaging quantitativo, in questo caso, raggiunge dei picchi di notevole efficienza: questa modalità di studio, grazie alla modulabilità delle sequenze di impulsi, alle molteplici tecniche di post-elaborazione delle immagini e agli agenti di contrasto vascolari e tissutali, è forse una delle pratiche più complete e con più possibilità applicative. Infatti, alterando sequenze, mezzi di contrasto e modificando la fase di elaborazione dei risultati, siamo in grado di enfatizzare selettivamente uno o più dei tre parametri precedentemente elencati. Una volta ottenuti i risultati, come avviene per la tomografia computerizzata, sarà possibile ottenere una mappatura della densità di spin, del tempo di rilassamento longitudinale o dei tempi di rilassamento trasversale della regione di interesse, in modo da ricostruire anatomicamente la zona, individuare specifici tessuti o studiare la distribuzione di alcuni composti. <sup>2</sup>

Alcuni tra gli esempi di applicazione più noti sono nell'imaging del fegato, sfruttando il calcolo del tempo di rilassamento T2\* come marker della presenza e gravità della deposizione del ferro a livello epatico, nello studio del coefficiente di diffusione apparente, sfruttando la MRI pesata in diffusione, e nella chirurgia per la rimozione di tumori celebrali, sfruttando la MRI nella quantificazione della sostanza bianca per una migliore definizione dei percorsi neurali. <sup>2-10</sup> La MRI comunque, a differenza di altre tipologie di studio, sta evolvendo in una direzione differente: da un imaging quantitativo anatomico o strutturale, la risonanza magnetica viene sempre più utilizzata per imaging dinamico, funzionale e metabolico. Un adeguato utilizzo dei mezzi di contrasto, inoltre, permette di valutare con buona approssimazione la ripartizione delle reti vascolari mentre la possibilità di osservare in modo continuativo la ROI senza danneggiare la salute del paziente aiuta a quantificare la risposta ai farmaci e a comprendere al meglio il loro meccanismo di diffusione. <sup>4</sup>

# 1.1.3 Ultrasonografia

L'ultrasonografia è basata sull'utilizzo di ultrasuoni che interagiscono con il tessuto, venendo riflessi e rifratti a causa della presenza di zone a diversa impedenza acustica poste a contatto tra loro. <sup>7</sup> Quest'ultima è definita come "il rapporto tra la pressione sonora e la velocità di vibrazione delle particelle in un punto". <sup>11</sup> Una volta recepiti gli echi di ritorno, così definite le onde ultrasonore riflesse dai tessuti grazie allo stesso sistema impiegato nella produzione dell'onda meccanica, l'ultrasonografia propone generalmente una mappatura anatomica o funzionale della regione indagata sfruttando la diversa profondità di generazione dell'eco, ricavata attraverso lo studio del tempo di volo dello stesso. <sup>7</sup>

È una pratica largamente utilizzata nel campo dell'imaging quantitativo che risulta essere perfettamente non invasiva e che soprattutto è in grado di restituire informazioni sul tessuto in modalità real time. <sup>2-7</sup> I pregi di questa tecnica sono davvero numerosi: non sfruttando radiazioni ionizzanti è molto meno rischiosa, se non priva di pericoli, di altre pratiche mediche, oltre che essere intrinsecamente economica. <sup>7</sup> Questi punti di forza sono evidenti se posti a confronto con tecniche quali, ad esempio, l'angiografia a raggi X o la risonanza magnetica con mezzo di contrasto, citando delle applicazioni che riguardano da vicino l'oggetto di studio di questa trattazione. Esistono, tuttavia, anche alcuni difetti: gli artefatti che affliggono le misurazioni realizzate mediante ultrasuoni hanno una maggiore incidenza rispetto a quelli riscontrabili con altre pratiche e, non da meno, alcuni tessuti diversi posti a contatto tra loro non sempre vengono riconosciuti come tali. <sup>8</sup> Ulteriori lacune sono sicuramente legate alla dipendenza dall'operatore, dal ridotto campo d'azione e dalla difficoltà dell'ultrasuono di attraversare tessuti come ossa o tessuti ricchi d'aria o altri gas.

Le declinazioni mediche dell'ultrasonografia sono molteplici: l'imaging ad ultrasuoni B-mode, l'imaging con mezzo di contrasto e l'imaging Doppler. I primi due casi sono, dal punto di vista fisico, legati dal fatto che la produzione di un eco di ritorno ultrasonoro avrà una ampiezza tanto maggiore quanto maggiore sarà la differenza tra impedenze acustiche di tessuti vicini. <sup>7</sup> L'imaging mediante effetto Doppler sfrutta, per l'appunto, un fenomeno fisico differente e farà gran uso della velocità del flusso ematico per le proprie misurazioni. Se con quest'ultimo siamo in grado di applicare il QI a molteplici malattie vascolari, in valutazioni della stenosi, della vascolarizzazione dei trapianti e sullo studio degli shunt vascolari, con i primi due metodi l'imaging quantitativo viene utilizzato per analisi dimensionali, delle distanze e in pratiche rapide di follow-up. <sup>2-7</sup> Grazie alla ultrasonografia siamo in grado di analizzare e riconoscere il fenomeno dell'aterosclerosi, oggetto di questo studio, grazie alla capacità di valutare lo spessore della parete arteriosa e il volume della placca. Infine, seguendo gli ultimi sviluppi scientifici, anche la capacità di distinguere tumori benigni da tumori maligni potrebbe a breve risultare possibile grazie all'utilizzo combinato di ultrasonografia e mezzo di contrasto.

#### 1.1.4 Medicina nucleare

La medicina nucleare, comprendente la scintigrafia, la tomografia ad emissione di positroni (PET) e la tomografia ad emissione di fotone singolo (SPECT), è una tecnica di imaging funzionale che produce immagini tridimensionali della distribuzione dei radioisotopi all'interno del corpo, il mezzo di contrasto necessario per avviare il processo. <sup>7</sup> L'imaging quantitativo, in questo caso, ha come obbiettivo quello di ricercare informazioni sullo status dei normali processi biologici, sfruttando dei traccianti, ossia dei radionuclidi, che emettono radiazioni gamma verso l'esterno e, allo stesso tempo, vengono impiegati dal nostro organismo nei classici processi biologici in sostitutiva agli isotopi non radioattivi. Come è possibile intuire dalla tipologia di radiazione emessa, questa tecnica è intrinsecamente rischiosa per la salute dell'individuo, il quale sarà esposto ad una radiazione ionizzante per tutto il tempo di

dimezzamento, ossia il tempo necessario affinché la metà degli atomi di un campione puro dell'isotopo decadano in un altro elemento. 4-12

Speciale menzione va alla PET poiché è la più utilizzata tra le tecniche di medina nucleare. Essa sfrutta l'annichilimento spontaneo del positrone emesso dalla decadenza dell'isotopo e di un elettrone, con conseguente produzione di due fotoni gamma gemelli, di pari energia equivalente a 511 keV ma emessi in direzioni opposte tra loro. <sup>13</sup> Tra gli esempi di applicazione della PET possono essere elencati soprattutto gli studi oncologici, nel tentativo di stabilire se un tessuto è maligno o benigno, le valutazioni delle risposte alle terapie e gli studi di predizione sulla natura aggressiva dei tumori. <sup>14</sup>

#### 1.1.5 Fotoacustica

Per ottenere informazioni sulla composizione, sulla funzionalità e sul metabolismo di un tessuto, è stato introdotto, in tempi più recenti, l'imaging fotoacustico (PA). Basato sull'illuminazione del tessuto mediante luce laser pulsata, spesso nella banda dell'infrarosso vicino (NIR), questa innovativa pratica di imaging permette la ricostruzione di immagini anatomiche della zona interessata mediante lo sfruttamento della risposta dei tessuti irradiati. <sup>7</sup> Dal punto di vista fisico si sfrutta l'emissione di onde acustiche a bassa ampiezza e dalla banda larga, recepite da una sonda ad ultrasuoni, naturalmente prodotte dai nostri tessuti che hanno subito una rapida espansione termoelastica a seguito dell'impatto della luce laser pulsata, mediante un fenomeno di conversione spontanea. 16-17 Spesso accoppiato all'utilizzo degli ultrasuoni, soprattutto nella pratica di ricostruzione della struttura anatomica, l'individuazione delle strutture e dei diversi tessuti avviene sulla base della loro diversa capacità di assorbimento a seguito di una stimolazione a diverse lunghezze d'onda. <sup>15</sup> In questo modo si abbinano i vantaggi del dispositivo ad ultrasuoni, come la portabilità, la capacità di produrre risultati realtime, l'alta risoluzione spaziale e l'ottima capacità penetrativa con le peculiarità proprie dall'imaging fotoacustico, come l'alto contrasto associato alle proprietà ottiche dei tessuti. <sup>16</sup> Il crescente interesse verso questa pratica è comunque ben motivato: essa è in grado di sfruttare il contrasto di assorbimento ottico fornendo al contempo un'elevata risoluzione ultrasonica nei tessuti profondi. L'imaging PA è stato applicato nello studio di tumori, del cervello, del cuore, degli occhi e negli animali di piccole dimensioni. <sup>16</sup> Grazie ad una risoluzione inferiore al millimetro e alla buona capacità penetrativa, questa tecnica è anche utilizzata nel monitoraggio della saturazione dell'ossigeno o delle anemie e nella valutazione della presenza di sangue in ischemie e nell'angiogenesi. 17

Con l'obbiettivo di migliorare sensibilità e specificità del rilevamento, sono stati introdotti dei mezzi di contrasto come i coloranti organici, tra i quali il blu di metilene e il verde indocianico, le nanostrutture in oro e le nanoparticelle organiche, alcuni di questi purtroppo non biodegradabili. Altri mezzi sono, invece, ancora in fase sperimentale: tra questi possono essere elencati il gas fluorato, usato nella mappatura del flusso di sangue nel cuore, nel fegato e nei reni, micro e nano bolle, nanoparticelle d'oro, siero di albumina umana, perfluorocarburi e molti altri. Questi ultimi sono inoltre utilizzati per l'imaging simultaneo US e PA. <sup>15-16</sup>

# 2. Ultrasonografia

# 2.1 Accenni di carattere generale

Gli ultrasuoni sono onde meccaniche capaci di trasmettere attraverso materiali fluidi, tessuti molli e tessuti solidi, a frequenza superiore rispetto a quella udibile dall'orecchio umano che si attesta, al massimo, attorno ai 20 KHz. <sup>19</sup> Questo significa che questa forma d'onda necessita di materia per potersi propagare: nulla può, di conseguenza, nel vuoto. <sup>22</sup> In ambito clinico, definita la frequenza degli ultrasuoni come numero di onde ultrasoniche al secondo, vengono sfruttate delle frequenze comprese tra 2 e 15 MHz. <sup>19–22</sup> Sono una pratica medica molto diffusa: essi vengono utilizzati in diagnostica, per il monitoraggio in quanto sono utili nelle esposizioni ripetute, e sono addirittura applicati su pazienti a rischio, come ad esempio su donne in gravidanza. <sup>22</sup> L'ultrasuono si propaga come un'onda longitudinale, producendo delle alternanze tra compressioni e rarefazioni. Dal punto di vista visivo, l'onda può essere rappresentata con una forma sinusoidale e può essere descritta da una pressione caratteristica P, una lunghezza d'onda λ, una frequenza f, un periodo T e una velocità del suono c, che all'interno dell'organismo è stata mediamente fissata a 1.540 m/s. <sup>21</sup> La velocità e la lunghezza d'onda sono fisicamente legate tra loro: la prima è infatti data dal prodotto tra la seconda e la frequenza. <sup>19</sup>

$$v = c = \lambda * f$$

In ambito medico le sonde, che costituiscono una delle componenti fondamentali del dispositivo, hanno il duplice compito di produrre l'onda ultrasonora e di ricevere gli echi riflessi originati, come anticipato nel capitolo precedente, da discontinuità tra le impedenze acustiche di tessuti adiacenti. <sup>19</sup> Sfruttando il fenomeno della riflessione, l'ultrasonografia si rivela essere una pratica complementare a quelle che invece sfruttano il fenomeno di assorbimento, da parte dei tessuti, di diverse forme d'energia. <sup>22</sup>

La formazione dell'onda ultrasonora è responsabilità dell'effetto piezoelettrico che agisce grazie alla presenza di appositi cristalli ai capi dei quali viene applicata una differenza di potenziale variabile a seconda della frequenza che si vuole fornire all'ultrasuono. <sup>19</sup> All'interno della sonda sono comunque presenti numerosi cristalli, disposti con configurazioni variabili a seconda della tipologia di sonda: ne consegue che saranno prodotte molteplici onde ultrasonore, affiancate tra loro a costituire un vero e proprio fascio. <sup>21</sup> L'effetto piezoelettrico agisce anche con ruolo inverso: il trasduttore ultrasonico, essenzialmente la sonda, recepisce gli echi ultrasonori di ritorno e li converte in segnali elettrici, elaborati poi dal dispositivo per realizzare l'immagine di output. <sup>19</sup> Questo effetto è originato dalla peculiarità di alcuni cristalli, a seguito di una deformazione meccanica, di polarizzarsi generando una differenza di potenziale e, inversamente, di deformarsi in maniera elastica se attraversati da corrente. <sup>20</sup> Questi cristalli, ad oggi, sono soprattutto PZT, un materiale ceramico. <sup>22</sup>

L'impedenza acustica è, come anticipato, definita come la resistenza impartita dal corpo attraversato alla propagazione dell'onda ultrasonora e dipende generalmente dalla densità del tessuto. L'unità di misura è il rayl, espresso come:

$$r = \frac{kg}{m^2 * s} * 10^6$$

Nel capitolo precedente è stata espressa la dipendenza dell'impedenza acustica dalla densità del tessuto: ciò si tramuta, in via pratica, in una maggiore resistenza alla propagazione

dell'ultrasuono, con conseguente maggior riflessione, nei materiali più densi e viceversa. <sup>21</sup> Per quantificare matematicamente l'onda riflessa e l'onda che invece prosegue verso l'interno del corpo si sfruttano rispettivamente un coefficiente di riflessione e uno di trasmissione, così concepiti:

$$R = (\frac{z_1 - z_2}{z_1 + z_2})^2 \qquad T = 1 - R$$

con z<sub>1</sub> e z<sub>2</sub> impedenze acustiche di tessuti adiacenti. <sup>22</sup> Come già anticipato aria e ossa rappresenteranno il principale ostacolo per la produzione di immagini ultrasonore, in quanto la prima ha una impedenza acustica molto bassa rispetto a quella degli altri tessuti, le seconde, invece, ne hanno una molto elevata. <sup>19</sup> Come si può notare, quindi, in entrambi i casi R tenderà ad 1 e T, di conseguenza, a 0, motivando matematicamente la riflessione della quasi totalità dell'onda incidente. Per questo motivo durante l'apposizione della sonda sulla cute del paziente viene utilizzato un gel, in modo tale da limitare l'aria interposta.

Tessuto	Impedenza acustica (Rayls)	
Aria	0.0004	
Polmone	0.18	
Grasso	1.34	<i>Tab 2.1.</i> Esempi di tessuti e impedenze acustiche associate.
Fegato	1.65	
Sangue	1.65	
Rene	1.63	
Muscolo	1.71	
Osso	7.8	

Il fascio ultrasonoro, attraversando i differenti strati di tessuto, subisce delle attenuazioni tanto maggiori quanto maggiore è la profondità raggiunta. Queste perdite di energia, dovute alla combinazione di fenomeni quali assorbimento, riflessione e scattering, sono convertite per lo più in calore e sono valutate in decibel per centimetro di tessuto. Nel primo caso l'attenuazione varia a seconda del tessuto attraversato. Questo legame, espresso dal coefficiente di attenuazione, non è unico: infatti l'attenuazione dipende anche dalla frequenza dell'onda ultrasonora utilizzata. In via pratica un'onda ad alta frequenza subirà una maggiore attenuazione rispetto ad una a bassa frequenza. Ad incidere negativamente sul bilancio energetico sono presenti anche quei echi di ritorno che, a causa dell'angolo di riflessione inadeguato, non sono diretti alla sonda e risultano quindi dispersi. Per ridurre il fenomeno è preferibile utilizzare un angolo di incidenza che sia prossimo ai 90° rispetto alla superficie di contatto, poiché l'angolo di riflessione, come quello di rifrazione, saranno calcolati di conseguenza. Essendo però impossibile agire con perfetta precisione, la riflessione speculare, così definita l'assenza di echi dispersi, è impossibile da ottenere. Contemporaneamente a questo fenomeno, sempre per gli stessi motivi, si originerà anche lo scattering, cioè una dispersione diffusa. È importante comunque precisare che, se lo strumento è utilizzato correttamente, gli echi dispersi e gli ultrasuoni scatterati sono sempre inferiori agli echi che ritornano correttamente verso la sonda. Ciò che resta dell'onda ultrasonora inviata prosegue in profondità, generalmente modificando la propria direzione: questo fenomeno, detto di rifrazione, dipende dal già citato angolo di incidenza ma anche dalla variazione della velocità del suono nei due mezzi successivi. Anche se quest'ultima è generalmente considerata nulla, in presenza di tessuti quali grasso e ossa questa assunzione, in quanto non più veritiera, potrebbe causare distorsione nell'immagine di output. L'attenuazione, complessivamente, viene così calcolata:

$$A(z) = A_0 e^{-\alpha z}$$

con  $A_0$  ampiezza originale dell'onda ultrasonora, z profondità alla quale viene calcolata e  $\alpha$  coefficiente di attenuazione del tessuto. <sup>21</sup>

Come anticipato nel capitolo precedente, esistono tre declinazioni dell'ultrasonografia. La modalità più utilizzata è la B-mode, la quale permette di ottenere delle immagini bidimensionali in bianco e nero della struttura anatomica della sezione indagata. La regione di studio può essere di diversa forma, grazie alle grandi possibilità di manipolazione della sonda: si parla di sezioni sagittali, coronali, trasversali o oblique; saranno tutte di spessore inferiore al millimetro. <sup>19</sup> In questo caso si sfrutta generalmente un'onda ultrasonora pulsata. <sup>21</sup> La modalità M-mode, invece, sfrutta un'unica onda ultrasonora analizzata nel corso del tempo, in modo da recepire le eventuali modifiche conformazionali della regione che origina gli echi di ritorno. <sup>19</sup> La terza e ultima modalità è invece impiegata per lo più nello studio del flusso sanguigno e della sua velocità. Viene utilizzata un'onda ultrasonora continua e viene sfruttato l'effetto Doppler: si verifica che, in presenza di moto relativo tra una fonte come la parte corpuscolata (soprattutto i globuli rossi) e un elemento di ricezione come la sonda, quest'ultima recepisce una variazione della frequenza reale degli echi di ritorno. Questa alterazione può essere positiva, causando un incremento della frequenza dell'eco recepito, se il moto relativo è di avvicinamento o può essere negativa se il moto è di allontanamento. Questa pratica, chiamata anche color Doppler, associa generalmente un colore rosso al flusso in avvicinamento alla sonda e un colore blu al flusso in allontanamento. Per necessità puramente matematica l'angolo che si forma tra la direzione di propagazione dell'ultrasuono e l'asse del vaso deve essere il più possibile tendente a 0; se questo raggiunge i 90° l'effetto Doppler non risulta essere misurabile. Quest'ultimo concetto è espresso dalla seguente formula che permette di calcolare la cosiddetta frequenza Doppler:

$$f_D = \frac{2 * f_0 * v}{c} * \cos \vartheta$$

con  $f_0$  frequenza originaria dell'onda ultrasonora, v velocità del flusso sanguigno, c velocità della luce e  $\theta$  angolo di insonazione.

In questo studio, ai fini di ottenere le immagini contenute nel database, è stata utilizzata unicamente la modalità B-mode. Sono presenti alcuni parametri di fondamentale importanza: è possibile impostare manualmente il numero di cicli sonori, solitamente 2 o 3, che costituiscono il pacchetto ultrasonoro a frequenza costante inviato dalla sonda, la durata dell'impulso, cioè la distanza percorsa per impulso (PL) e la frequenza di ripetizione degli impulsi (PRF), cioè il numero di impulsi per unità di tempo. Ai fini di regolare la qualità dell'output, questo ultimo parametro assume speciale importanza: è necessario, infatti, che il PRF non sia troppo elevato, in modo tale da non produrre un nuovo impulso prima ancora che il precedente non sia ritornato alla sonda; questo parametro è generalmente settato da 1 a 10 kHz. Come è possibile intuire, quindi, al fine di costruire l'immagine di output, la sonda attenderà la ricezione dell'eco di ritorno dopo l'invio di ogni onda pulsata. <sup>21</sup>

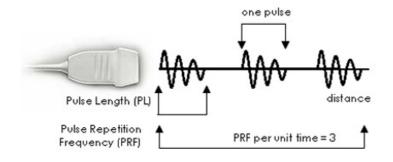


Fig 2.1. Rappresentazione di alcuni dei parametri citati. www.usra.ca

Intensità e frequenza sono invece parametri regolabili propri dell'onda ultrasonora. Agendo sul secondo parametro, soprattutto, è possibile alterare la capacità penetrativa dell'onda e, di conseguenza, la risoluzione: infatti, aumentando la frequenza aumenta la risoluzione ma diminuisce la capacità penetrativa. Ne consegue che verranno utilizzate sonde ad alta frequenza per indagare strutture superficiali e sonde a bassa frequenza per indagare strutture nel profondo.

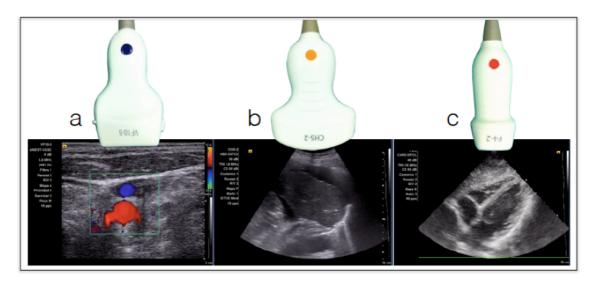


Fig 2.2. Alcuni esempi delle sonde citate: la figura A rappresenta una sonda utilizzata nel color Doppler, la figura B una sonda a bassa frequenza e la figura C una sonda ad alta frequenza.

Nella fase di post elaborazione è possibile, naturalmente, migliorare il risultato complessivo, ad esempio agendo sul guadagno. Aumentando lo stesso, infatti, siamo in grado di sbiancare l'immagine. È importante comunque ricordare che in questo caso l'azione sul guadagno non modificherà il principio proprio della rappresentazione ultrasonora, secondo il quale due strutture identiche, a diversa profondità, saranno comunque rappresentate allo stesso modo, indipendentemente dalla distanza dalla sonda. <sup>19</sup> Questo perché è presente un sistema, il cosiddetto "time gain compensation" in grado di utilizzare il tempo di volo dell'ultrasuono per valutare la profondità dalla quale è prodotto e modificare il guadagno a seconda delle esigenze.

L'ago della bilancia, indicatore dell'attendibilità della pratica medica, è come sempre la risoluzione: è la capacità di distinguere due strutture vicine tra loro come separate. La risoluzione spaziale è dipendente dalla risoluzione assiale e dalla risoluzione laterale. La prima è la capacità di distinguere due strutture contigue poste lungo l'asse del fascio ultrasonico, la seconda è la capacità di mantenere distinte due strutture poste perpendicolarmente al fascio. La prima è derivata dalla lunghezza dell'impulso, la seconda dalla larghezza del raggio del trasduttore che è a sua volta derivato direttamente della frequenza dell'ultrasuono. Una limitazione, in questo senso, è sicuramente rappresentata dall'attenuazione che è tanto maggiore quanto maggiore è la frequenza: ne consegue che, nella fase di inizializzazione dei parametri, è importante cercare un buon compromesso che possa permettere delle buone risoluzioni e, allo stesso tempo, una ridotta attenuazione. <sup>21</sup> Nel complesso la lunghezza del pacchetto ultrasonoro, quindi l'inverso della frequenza, permetterà di definire la risoluzione: due punti ad una distanza inferiore alla lunghezza del pacchetto non saranno distinguibili tra loro, se posti a distanza maggiore allora si. <sup>22</sup>

Le sonde sono comunque differenti le une dalle altre: a seconda della disposizione della matrice di cristalli piezoelettrici possiamo ottenere delle immagini rettangolari o più ampie e a maggior profondità. Nel primo caso sarà utilizzata una sonda con cristalli disposti linearmente,

utilizzata per analisi di superficie e sfruttanti delle frequenze più elevate, nel secondo caso otteniamo delle immagini che scandagliano il tessuto nel profondo, con la necessità di utilizzare una minore frequenza. <sup>19</sup>

Per concludere il dispositivo che sfrutterà l'ultrasuono sarà costituito da 5 componenti base:

- Il pulser, componente responsabile dell'applicazione della tensione ai cristalli piezoelettrici.
- Il trasduttore, in grado di convertire l'energia elettrica in meccanica e viceversa.
- Il ricevitore, che rileva e amplifica i segnali deboli.
- Il display, per visualizzare e modulare la rappresentazione dei segnali ultrasonori.
- La memoria, per salvare ciò che è stato mostrato a video. <sup>21</sup>

# 2.2 Artefatti

Le immagini prodotte mediante l'utilizzo di ultrasuoni possono risultare affette da artefatti: possono presentare distorsioni dimensionali, strutture traslate rispetto alla loro reale posizione e strutture non realmente esistenti. L'artefatto non è però sempre un fattore negativo ma, anzi, in alcuni casi può essere sfruttato a fini diagnostici. Un esempio di ciò è dato dalla diagnosi dei calcoli biliari, nella quale si sfrutta il cosiddetto "effetto ombra" per individuare una struttura solida, in questo caso per l'appunto i calcoli, che sarà necessariamente posta antecedente alla zona in cui viene riconosciuto l'artefatto. Focalizzando l'attenzione sulle immagini appartenenti al database parte del progetto, il cono d'ombra è spesso generato dalla presenza di calcificazioni, cioè zone iperecogene che possono causare eccessiva riflessione dell'onda ultrasonora. In altri casi è possibile riconoscere la presenza di liquido all'interno di organi e tessuti dal conseguente artefatto che viene a generarsi posteriormente alla zona stessa, visibile da un'alterazione della luce. La maggior parte degli artefatti, come la rifrazione, non possono essere sfruttati per alcun fine diagnostico. Alcuni di essi possono essere rimossi agendo sull'angolo di insonazione, quindi mediante una azione manuale da parte del tecnico, altri modificando i parametri, elencati nel paragrafo precedente, in maniera arbitraria. Alcuni tra gli artefatti più noti sono: l'artefatto dello specchio, causato da onde riflesse da un tessuto ad alta impedenza acustica che provocano la comparsa della struttura riflettente in posizione opposta rispetto a quella reale, l'artefatto di riverberazione, generato dal continuo rimbalzo delle onde ultrasonore tra superfici ad alta impedenza acustica che causerà la comparsa di alternanze di linee chiare e scure, e molti altri. 19-21 Alcuni artefatti possono essere originati dall'aria, che provocherà la comparsa di strutture a forma di "code di cometa" nell'immagine di output. <sup>21</sup>

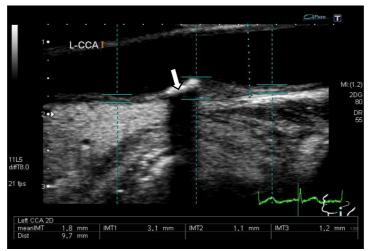


Fig 2.3. Esempio di artefatto: l'effetto ombra, indicato dalla freccia.

#### 2.3 Mezzi di contrasto

In ecografia il mezzo di contrasto è utilizzato per rappresentare quelle strutture o tessuti che altrimenti non genererebbero alcun eco di ritorno. Uno dei maggiori campi di utilizzo è nella rappresentazione del flusso sanguigno, possibile grazie all'iniezione via endovenosa del mezzo di contrasto, necessaria proprio perché il sangue è anecogeno. Dovendo garantire la comparsa di echi di riflessione, il mezzo di contrasto è dotato di una impedenza acustica profondamente differente da quella dei tessuti circostanti. Tra i mezzi più utilizzati è importante ricordare la soluzione composta da una parte d'aria o gas, una parte di soluzione salina e un'ultima parte di sangue del paziente stesso, miscelata con il fine di produrre microbolle di aria o gas in ridotta quantità. È un mezzo di contrasto non duraturo ed è utilizzabile unicamente per rappresentare la circolazione venosa, in quanto la tensione polmonare tende a distrugge le microbolle che lo compongono ancor prima che il mezzo raggiunga la circolazione arteriosa. Per rappresentare quest'ultima si ricorre, quindi, a mezzi di contrasto sintetici, in grado di resistere alla tensione polmonare pur venendo iniettati in via endovenosa. <sup>22</sup> È così possibile valutare il grado di stenosi, identificare ulcerazioni della placca carotidea, differenziare le occlusioni delle placche altamente stenotiche e identificare la dissezione carotidea. Questi mezzi di contrasto sono anche utilizzati per valutare il grado di neovascolarizzazione e l'infiammazione della parete carotidea. Sono inoltre sfruttati nelle pratiche di follow-up e in sostituzione dei precedenti mezzi nefrotossici nelle pratiche di intervento. <sup>23</sup>

# 3. Vasi sanguigni

# 3.1 Accenni di carattere generale

La meccanica dei vasi ha un ruolo fondamentale nell'ambito fisio-patologico. <sup>29</sup> Soprattutto le arterie di grandi dimensioni, oltre che quelle di medio e piccolo calibro, sono in grado di distendersi durante la fase sistolica e restringersi durante quella diastolica: ciò minimizza il lavoro del cuore nello spingere il sangue verso le regioni periferiche. Durante la fase di eiezione, con l'incremento della portata, queste arterie si allargano, incrementando la propria energia meccanica, per poi contrarsi, rilasciando quanto accumulato, per aiutare il flusso nello scorrere lontano dal cuore. <sup>34</sup> Nel momento in cui, a causa dell'invecchiamento che si traduce in irrigidimento delle pareti, viene a mancare la capacità contrattile dei grandi vasi, il cuore è lasciato solo nel compito di trasportare il fluido sanguigno, con un conseguente e crescente affaticamento dello stesso che si ripercuote sulla sua capacità di assolvere il compito per lungo tempo. <sup>32</sup> Inoltre, sempre per lo stesso motivo, anche la fluidodinamica del sangue varia, con un conseguente sforzo di taglio o shear stress esercitato sulla parete del vaso alterato che provoca una modifica conformazionale e dimensionale delle cellule direttamente a contatto con il flusso ematico. <sup>29-35</sup> Ciò è dovuto al fatto che queste ultime sono sensibili alla stimolazione esercitata dallo scorrere del sangue e, venendo a mancare quella fisiologica, anche il loro comportamento muta verso una condizione patologica. <sup>32-35-46</sup> La progressiva perdita delle capacità meccaniche ha, come prima conseguenza clinica registrabile, l'ipertensione, cioè un aumento considerevole della pressione sistemica. <sup>29-31</sup> Considerata attualmente una delle principali cause di morte a livello mondiale, questa patologia è, in realtà, correlata ad una serie di disfunzioni dell'apparato, tra le quali è possibile annoverare l'aterosclerosi. <sup>30</sup>

I vasi costituenti l'apparato cardiovascolare si dividono in arterie e vene. Focalizzando l'attenzione sulle arterie, vero oggetto dello studio qui proposto, possiamo realizzare una ulteriore suddivisione:

- Arterie maggiori o elastiche;
- Arterie di medio calibro;
- Piccole arterie;
- Capillari. <sup>33</sup>

#### 3.2 Anatomia

Le arterie sono caratterizzate da una struttura a strati: proseguendo dalla regione a contatto con il fluido sanguigno verso l'esterno del vaso è possibile individuare, nell'ordine, la tunica intima, quella media e quella avventizia. <sup>33</sup> Appartengono al primo strato soprattutto le cellule endoteliali, unica tipologia che può restare a contatto con il sangue senza causare la formazione di trombi, a differenza delle altre tipologie cellulari o delle proteine che costituiscono le arterie che sono appositamente trombogeniche, in modo da indurre la risposta delle piastrine nel caso in cui il vaso risultasse danneggiato. <sup>36</sup> L'endotelio, costituito da cellule di forma poligonale, ovale e fusiforme, è ricoperto, internamente, da glicocalici, ancorati alle cellule mediante delle catene proteiche; <sup>51</sup> sono dei meccanosensori in grado di recepire delle variazioni di tensione, conseguenti alla variazione del flusso sanguigno, e trasmetterle alle membrane alle quali sono legati. <sup>35</sup> Tra la tunica intima e la tunica media è presente una lamina costituita da tessuto connettivo e fibre elastiche, come anche tra la tunica media e l'avventizia. <sup>51</sup> In quest'ultima è presente un sistema di vitale importanza, cioè i "vasa vasorum", una serie di piccoli vasi che hanno il compito di nutrire le arterie. <sup>37</sup> Ad ogni modo ogni componente di questi vasi, con ruoli

differenti, partecipa attivamente alla capacità contrattile ed elastica del vaso. <sup>34</sup> Lo strato di cellule endoteliali, ad esempio, è di fondamentale importanza come barriera tra il fluido sanguigno e i tessuti trombogenici. Come anticipato, l'esposizione di questi ultimi provocherebbe un processo a catena che indurrebbe la formazione di coaguli e di nuovo tessuto cicatriziale, caratterizzato da una capacità meccanica non all'altezza di sostituire il tessuto preesistente. Ciò comporterebbe una riduzione della capacità elastica del vaso e una tensione del tessuto appena formatosi di intensità elevata. <sup>36</sup> L'equilibrio precario che garantisce al vaso proprietà contrattili può essere interrotto anche da una alterazione della disposizione dei principali gruppi cellulari, conseguenza dell'invecchiamento del vaso, che provoca una maggiore permeabilità dell'intima ad alcune componenti del fluido sanguigno. Ne consegue che potrebbero essere assunti all'interno della stratificazione arteriosa anche colesterolo e alcune proteine disciolte nel plasma. <sup>38</sup> L'integrità dell'endotelio, quindi, è fondamentale, in modo da evitare l'innesco di fenomeni aterogenici. Tra la tunica intima e quella media è presente, come anticipato, uno strato elastico chiamato lamina basale composto da collagene di tipo 4, proteoglicani, elastina e altre glicoproteine. <sup>33</sup> La sua funzione è quella strutturale ma anche di filtraggio tra i vasi e l'interstizio: è un sistema continuo atto al mantenimento della condizione fisiologica che evita una serie di reazioni a catena che indurrebbero una perdita di elasticità. <sup>36</sup> Tra le due tuniche è presente comunque anche una lamina finestrata, cioè non continua, costituita da strutture disposte longitudinalmente e interrotte da zone in cui è permesso l'interscambio controllato tra interno e esterno del vaso. <sup>33</sup> La tunica media è invece prevalentemente costituita da cellule muscolari lisce intervallate da fibre elastiche disposte trasversalmente, è una struttura poco vascolarizzata con il fine di contenere la perdita di proprietà meccaniche. <sup>33-51</sup> L'ossigenazione della regione, quindi, è affidata al fenomeno della diffusione dal lume del vaso e ai vasa vasorum presenti nello strato più esterno. <sup>37</sup> La tunica media è la principale responsabile della capacità contrattile del vaso in quanto è dedita al trasporto dell'impulso della fase sistolica. Questo strato è inoltre fondamentale nel garantire il fenomeno della vasocostrizione e il fenomeno della vasodilatazione ed è in grado di sintetizzare collagene, PGAG ed elastina. <sup>33</sup> La tunica media è anche la responsabile, in caso di condizione patologica, della produzione di cellule miointimali a partire dalle cellule muscolari lisce. Queste si spostano verso la tunica intima, diventando spugnose e favorendo l'aggancio alla parete di glicoproteine e di grassi, anche in questo caso causando una riduzione della contrattilità della parete. <sup>32</sup> La tunica avventizia, infine, è costituita prevalentemente da tessuto connettivo ma contiene anche fibroblasti, fibre elastiche e vasa vasorum. <sup>33</sup> Questi ultimi, in una condizione fisiologica, penetrano all'interno del vaso al massimo per un terzo dello spessore dell'avventizia. In una condizione patologica, invece, i vasa vasorum tendono a penetrare ulteriormente verso la tunica media, anche in questo caso con conseguente perdita di elasticità.

L'arteria carotide (CA) sarà l'oggetto di questo studio: nasce dall'arco aortico e si sviluppa per tutta la lunghezza del collo, a profondità variabile compresa tra i 2 e i 4 cm. Il tratto comune successivamente si separa, attraverso una biforcazione, in carotide interna ed esterna. L'utilizzo degli ultrasuoni nella valutazione della CA è molto comune: la posizione anatomica e il diametro di rilievo garantiscono una semplicità d'accesso agli ultrasuoni, tanto che la metodologia viene generalmente utilizzata come esame di routine e pratica di follow-up nelle prime fasi di individuazione della patologia. <sup>51</sup> Per ottenere delle buone acquisizioni di questa arteria i soggetti vengono generalmente disposti in posizione supina con la testa inclinata all'indietro. Vengono comunemente eseguite delle prime scansioni trasversali dell'area di interesse e, successivamente alla rotazione di 90° della sonda, vengono realizzate delle acquisizioni longitudinali, sia dalla parete anteriore che di quella posteriore. 57

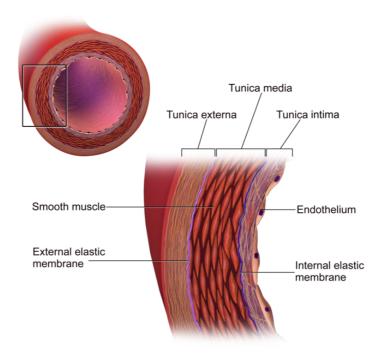


Fig 3.1. Questo diagramma mostra la struttura della parete di una arteria. Sono individuabili le tre tuniche e le due membrane elastiche.

#### 3.2.1 Meccanica dei vasi

Analizzando le forme d'onda principalmente di portata e pressione è possibile notare come la loro intensità è decrescente man mano che ci si allontana dal muscolo cardiaco, fino ad arrivare ai capillari, caratterizzati addirittura da flusso stazionario con portata e pressione costanti. <sup>48</sup> Il motivo è prettamente energetico: la portata, giunti alle zone periferiche del nostro corpo, è ridotta e, ne consegue, non è più necessaria la pulsatilità imposta a livello di sistema circolatorio centrale ma, piuttosto, è necessaria una più facile diffusione del contenuto del sangue. <sup>47</sup> Dal punto di vista strutturale, ciò si traduce con un maggiore contenuto di cellule muscolari lisce e, ne consegue, un minor contenuto di elastina per i vasi più piccoli, a differenza della inversa proporzione per i vasi maggiori. Ciò è dovuto per l'appunto al fatto che i vasi più piccoli non necessitano di grandi dilatazioni ma unicamente di mantenere la propria forma. A livello dei capillari, soprattutto per quelli più piccoli, addirittura il vaso risulta costituito unicamente dalla pavimentazione endoteliale più interna, in modo tale da favorire la diffusione dell'ossigeno a discapito della capacità contrattile. <sup>48</sup>

# 3.3 Patologie

La principale patologia che colpisce le arterie è sicuramente l'arteriosclerosi, cioè l'indurimento del tessuto con la conseguente perdita di elasticità della parete arteriosa causata da un accumulo di tessuto fibroso. <sup>32-40</sup> Essa si suddivide in:

- Aterosclerosi;
- Sclerosi calcificante della media di Monckeberg;
- Arteriolosclerosi.

La prima interessa le larghe e medie arterie come aorta, coronarie e molte altre, tra cui alcune dedite alla perfusione del sistema celebrale. <sup>41</sup> In caso di manifestazione di tale condizione patologica le conseguenze, ad esempio al sopracitato encefalo, possono condurre a ictus, mentre

possono portare a infarto del miocardio se le arterie interessate sono strettamente collegate al sistema cardiaco. L'aterosclerosi può causare anche cancrena, ischemia cardiaca cronica, encefalopatia, ischemia celebrale, aneurismi e stenosi. <sup>30</sup> Ad oggi questa patologia, direttamente o indirettamente, è la causa di almeno il 50% delle morti naturali. <sup>40</sup> L'elemento fondamentale che caratterizza la disfunzione è l'ateroma: è una lesione dell'arteria che appare come una placca rialzata rispetto al resto della parete vasale interna, costituita da un cuore lipidico, per lo più colesterolo esterificato, protetto da una capsula fibrosa. Il contenuto è comunque variabile: sono spesso presenti anche macrofagi, piastrine, fibroblasti e altre tipologie cellulari. Il principale rischio legato all'ateroma è collegato alla rottura della capsula protettiva che protegge il cuore lipidico: in questo caso si verrebbe a creare il rischio di formazione di trombi, visto che i lipidi sono trombogenici. <sup>42</sup> Questi sarebbero così in grado di ostruire il vaso in loco o potrebbero essere liberi di spostarsi seguendo il flusso sanguigno, causando ostruzione in altre zone. <sup>32</sup> Queste placche, essendo l'aterosclerosi un fenomeno focale, inizialmente si presentano molto sparse. Con il passare del tempo le lesioni si propagano, alterando il flusso che, prima e dopo la placca, modifica la conformazione del tappeto endoteliale locale. Queste ultime cellule, sensibili come anticipato alle variazioni dello sforzo di taglio, rispondono con una modifica conformazionale e dimensionale: ne consegue che la zona interessata sarà propriamente un nuovo punto focale utile alla crescita di una nuova placca. Il fenomeno, quindi, avanza e si moltiplica, arrivando a diffondersi su intere porzioni di vaso. 40-43 L'ateroma, aumentando di volume, invade la tunica media, alterando ulteriormente le proprietà meccaniche e indebolendo il vaso fino allo sfiancamento delle pareti, cioè causando la formazione di un aneurisma; il vaso, quindi, non è più in grado di mantenere la propria forma e inizia a subire passivamente lo scorrere del flusso sanguigno. 44

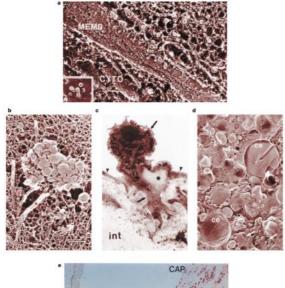
Le lesioni possono anche progredire senza compromettere il lume: esiste un meccanismo compensativo, definito rimodellamento positivo, che, a seguito della formazione dell'ateroma, dilata il vaso, in modo da limitare la riduzione del diametro del lume. A conferma di ciò spesso alcune lesioni ricche di lipidi risultano difficili da individuare per contrasto angiografico, pur essendo comunque presenti e rischiose per la possibile trombogenicità. A maggior ragione, quindi, è importante sviluppare altre tecniche di imaging per l'individuazione degli ateromi. <sup>49</sup>

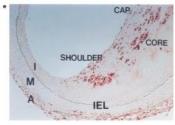
Questi fenomeni hanno una scala temporale lunghissima e il tutto può risultare asintomatico fino all'ultimo. Mediamente le tempistiche sono:

- 10 anni: si formano accumuli di grasso che però non hanno alcun effetto nefasto;
- 20 anni: si formano delle prime placche fibrose;
- 40 anni: le lesioni diventano sempre più complesse:
- Oltre: ci potrebbero essere degli effetti clinici registrabili. 41

L'aterosclerosi può causare ischemia acuta, cioè assenza totale di perfusione per un certo intervallo di tempo con conseguente perdita di funzionalità di una porzione di encefalo (ictus). Se l'ischemia non è prolungata nel tempo i danni potrebbero essere temporanei. L'ischemia cronica potrebbe causare demenza: ciò accade se la zona colpita è sede di funzionalità legate al ragionamento. Tra le zone più facilmente colpite da aterosclerosi ci sono soprattutto la biforcazione carotidea, le arterie vertebrali e quelle celebrali. Dalla biforcazione carotidea dipartono due arterie, la sinistra responsabile dell'approvvigionamento del cervello, la destra dei muscoli facciali. <sup>45</sup> Le complicanze possono essere anche renali: l'aterosclerosi può colpire sia arterie interne al rene che esterne. Ne consegue l'ovvia ipertensione, visto che il lume è parzialmente occluso, e un aumento della pressione dell'intero compartimento renale, per cercare di mantenere inalterata la portata totale. <sup>39</sup> L'aterosclerosi può causare anche danni a livello addominale: possono formarsi aneurismi fusiformi o sacculari, anche in questo caso con una patologia che si può rivelare asintomatica fino all'ultimo. <sup>44</sup> Altre zone che frequentemente sviluppano la patologia sono a livello femorale e a livello della poplitea, con conseguente

rischio di cancrena. <sup>39</sup> A livello cardiaco, tra le conseguenze, ci possono essere angina pectoris e infarto su tutti. <sup>38</sup>





*Fig 3.2.* Nell'ordine sono proposte alcune immagini dimostrative degli step evolutivi dell'aterosclerosi:

- a. Le lipoproteine vengono intrappolate nella matrice sub-endoteliale;
- b. Le lipoproteine iniziano ad aggregarsi all'interno della matrice, circondate da fibrille di collagene;
- c. I monociti iniziano a migrare verso la lesione, penetrando attraverso l'intima. Il monocita è indicato dalla freccia più lunga, quelle più corte indicano delle cellule endoteliali;
- d. Si formano delle cellule schiumose, evidenti soprattutto in basso a sinistra e in alto a destra;
- e. Si forma una lesione fibrosa.

Esistono ad ogni modo fattori reversibili o irreversibili alla base della patologia. I primi sono:

- Stress:
- Fumo;
- Contraccettivi orali;
- Diete sbilanciate;
- Ipertensione per vita sedentaria;
- Obesità.

Ouelli irreversibili sono invece:

- Età:
- Sesso;
- Patologie;
- Genetica: ipercolesterolemia, ipertensione e obesità possono avere origine genetica. La loro azione viene generalmente tenuta sotto controllo mediante cura farmacologica.

# 3.3.1 Aterosclerosi

L'aterosclerosi, oggetto di studio di questa trattazione, è un processo patologico che consiste innanzitutto nella formazione di ateromi in punti in cui il flusso sanguigno è disturbato, con i lipidi, principale componente delle lesioni, che rappresentano la conseguenza di un meccanismo sbilanciato tra prelievo e deposizione di colesterolo nel sangue, a favore del secondo. <sup>49-51</sup> La placca rappresenta una alterazione della parete mediale: è una lesione che può essere più o meno a forma di collina e che in genere entra nel lume arterioso di almeno 0,5 mm o del 50% del valore dello spessore intima-media circostante. Essa misura uno spessore almeno

pari a 1,5 mm, misurato a partire dall'interfaccia tra media e avventizia. <sup>51</sup> La comparsa delle prime lesioni costituisce un innesco di un processo a catena che finisce per accelerare la comparsa di nuovi accumuli a parete. Alla base di questo principio c'è la già citata alterazione dello sforzo di taglio o shear stress, che finirà per stimolare erroneamente la pavimentazione endoteliale, soprattutto nelle zone che precedono e seguono la lesione, spingendo queste cellule verso una condizione patologica. Il rischio, oltre al già citato disturbo del fisiologico flusso sanguigno, è legato alla rottura della capsula che protegge il cuore lipidico, nonché trombogenico, dell'ateroma, che può innescare quella che è definita "aterotrombosi". Per valutare il rischio di formazione di trombi è importante riuscire a discriminare le placche tra loro, valutando quella che è la loro composizione: con questo fine assumono sempre più importanza nuove forme di imaging, come la fotoacustica. Ai fini di questa trattazione è importante ricordare che l'obbiettivo è quello di valutare l'ispessimento dell'intima-media, quindi lo studio della composizione della lesione esula da ciò che sarà qui proposto. <sup>49</sup>



Fig 3.3. Esempio di ateroma nell'arteria coronaria discendente anteriore sinistra. I lipidi formano un nucleo che si sviluppa nello strato muscoloscheletrico, delimitato, fino all'endotelio, da macrofagi e cellule schiumose derivate da macrofagi che hanno inglobato del colesterolo. A indica l'avventizia e M la tunica media. <sup>32</sup>

Alcune regioni dell'apparato cardiovascolare saranno più propense allo sviluppo di ateromi rispetto ad altre, per via di una emodinamica complessa, spesso conseguenza di una geometria altrettanto articolata: si parla, per lo più, di ramificazioni e biforcazioni. La pavimentazione endoteliale, in queste regioni, sviluppa un comportamento duale, in entrambi i casi mirato al ripristino della condizione fisiologica. Il risultato, però, è ben diverso: l'endotelio, da un lato, sarà indotto a sintetizzare e produrre sostanze differenti rispetto a quelle che verrebbero prodotte in condizione fisiologica, come selectine e CAMs, proteine utili all'interiorizzazione dei monociti liberi che diventeranno poi macrofagi. Dall'altro la pavimentazione è anche indotta ad attivare, far aderire e aggregare le piastrine, le quali a loro volta esprimono una svariata rete di mediatori che possono coinvolgere anche leucociti originariamente liberi di scorrere in maniera solidale al flusso sanguigno. Inoltre, il già citato colesterolo, in queste fasi, inizia ad essere assunto nello spazio sub-endoteliale dove subisce un processo ossidativo, favorito da una maggiore permeabilità dell'endotelio. Da questo punto in poi il processo è autoindotto: l'assunzione alla parete di lipidi provoca una condizione infiammatoria che, a sua volta, finisce per incrementare il processo sopra citato. Nel caso in cui siano reclutate un numero massiccio di cellule deputate alla riduzione dell'infiammazione allora, secondo gli studi più recenti, è anche possibile ipotizzare una maggiore fragilità per la lesione: la maggiore vulnerabilità della placca sarà causata, innanzitutto, dai monociti che, una volta differenziati in macrofagi, tenderanno ad inglobare nuovo colesterolo, finendo per mutare in cellule schiumogene. A questo punto i macrofagi, causa l'alto quantitativo di colesterolo inglobato, subiranno apoptosi, finendo per liberare gli stessi lipidi precedentemente internalizzati e, inoltre, altre sostanze infiammatorie come le metalloproteasi, deputate alla degradazione della matrice della lesione stessa. <sup>49-51</sup>

In accordo con l'alta incidenza della patologia, il dispendio economico, secondo i principali organi di statistica, è molto elevato. Anche a fronte di una migliore conoscenza dell'eziologia della patologia, i costi associati all'aterosclerosi continuano a crescere, parallelamente alla sua crescente incidenza su scala globale. Le motivazioni sono, paradossalmente, legate anche ai miglioramenti riscontrabili in ambito medico che hanno permesso un aumento dell'età media della popolazione mondiale, accompagnate da un incremento dei casi di obesità e di diabete, conseguenza di abitudini non propriamente salutari. 49

# 3.3.2 Reversibilità del processo

Recentemente diversi studiosi su scala globale hanno avanzato l'ipotesi di rallentare, terminare o addirittura invertire l'aterosclerosi. Considerato che uno dei primi step di sviluppo della patologia coinvolge direttamente la pavimentazione endoteliale, gran parte degli studi hanno inizialmente concentrato le loro attenzioni sulla tunica intima e sulla sua struttura morfologica. La pavimentazione endoteliale è, in condizione fisiologica, integra e interconnessa, con lo scopo di mantenere il tono vascolare, regolare la permeabilità della parete e aiutare nella regolazione del flusso sanguigno. Il comportamento dell'endotelio, grazie anche ai glicocalici, è regolato da segnali emodinamici e umorali: nel caso questi vertano verso una condizione definibile patologica, l'endotelio ne subisce le conseguenze, alterando la struttura interconnessa con il fine di reclutare cellule infiammatorie alla parete e interiorizzando il colesterolo. Questo può essere definito come il primo vero e proprio step costitutivo l'aterosclerosi. Una prima soluzione, quindi, potrebbe essere ricercata nel tentativo di ricostruzione della parete endoteliale che ad oggi è noto essere eseguito sia dai tessuti circostanti che dalle cellule progenitrici delle stesse endoteliali, presenti all'interno del fluido sanguigno. Proprio queste ultime sono considerabili un vero e proprio biomarcatore indicativo della patologia vascolare, considerando che il loro incremento è direttamente collegato all'avanzamento della lesione.

Consci del fatto che il fegato, nei mammiferi, è l'unico organo deputo alla sintesi e alla metabolizzazione del colesterolo, i principali studi hanno concentrato la loro attenzione anche sulla possibilità di aumentare la concentrazione di HDL-C, cioè lipoproteine ad alta densità, che attraverso un complicato processo di maturazione sono in grado di prelevare il colesterolo dalle zone periferiche del nostro corpo per trasportarlo al fegato, dove verrà metabolizzato. <sup>49</sup> Ne consegue, a rimozione avvenuta mediata dall'HDL, una riduzione dei processi citotossici e una prevenzione della lipoapoptosi della parete arteriosa. Inoltre, considerato lo stress ossidativo come promotore dell'invecchiamento dell'apparato cardiovascolare, un incremento dell'HDL tende a diminuire il processo di ossidazione sia all'interno del plasma che per le cellule <sup>50</sup>

# 3.4 Importanza dell'imaging

Considerate le tematiche affrontate fino ad ora, è chiaro che l'imaging svolge un ruolo fondamentale sia nella prevenzione della patologia che nel trattamento. Un uso adeguato del QI garantisce, nell'ordine, la possibilità di individuare le regioni a maggior rischio, individuare gli ateromi se già presenti e discriminare la composizione delle lesioni. <sup>49</sup> Riuscire a caratterizzare in maniera completa gli ateromi è fondamentale, in quanto garantisce la possibilità di riconoscere per tempo quelle lesioni che presumibilmente saranno maggiormente a rischio rottura, con conseguente trombosi. L'eziologia di queste lesioni è già stata analizzata nel capitolo precedente: in questo capitolo l'obbiettivo è quello di evidenziare come l'imaging e soprattutto la sua recente evoluzione, garantiscano un fondamentale apporto alla prevenzione di fenomeni trombotici. In passato, ad esempio, si poteva sfruttare l'angiografia per valutare lo stadio di avanzamento della patologia ma, considerato che almeno inizialmente il flusso risulta scarsamente alterato e i danni riguardano più che altro la parete del vaso, è chiaro che questa pratica nelle prime fasi non garantiva alcuna capacità diagnostica. <sup>51</sup> Avere la possibilità di applicare un imaging efficace, garantisce quindi anche la possibilità di realizzare delle terapie ad personam, massimizzando efficienza e garantendo interventi tempestivi, abbinando il tutto alla possibilità di ridurre l'invasività del trattamento. L'ultrasonografia abbinata alla fotoacustica permette ad esempio di sostituire l'ecografia intravascolare, con risultati discreti ed evitando l'inserimento della sonda all'interno del vaso oggetto di studio. 49 Riassumendo, quindi, l'ultrasonografia offre grandi vantaggi: sono sfruttate radiazioni non ionizzanti, sono sicuri e rapidi nell'esecuzione, non producono effetti biologici rischiosi per la salute e i costi sono contenuti rispetto ad altre pratiche mediche. È importante ricordare che, essendo l'ultrasonografia adatta per le osservazioni ripetute, essa rappresenta un importante strumento di monitoraggio per la valutazione dell'efficacia di una terapia. <sup>51</sup> Anche la risonanza magnetica viene utilizzata in questo campo, in quanto garantisce la possibilità di valutare l'anatomia vascolare arteriosa con buona qualità, considerato che è in grado di enfatizzare le diverse componenti delle placche sfruttando le loro diversità biochimiche. Inoltre, abbina all'essere una metodologia non invasiva anche un'alta risoluzione spaziale, a discapito però dei costi, importanti, e della necessità di utilizzare del mezzo di contrasto. 49-51 Sono utilizzate anche metodologie che sfruttano radiazioni ionizzanti, come l'abbinata PET e TC e la TC multidetector; quest'ultima è molto utile nel discriminare i tessuti ad alto contenuto lipidico. Negli ultimi anni, inoltre, è stata ipotizzata la possibilità di ricorrere all'imaging molecolare, pratica che, targhettando cellule e molecole, migliorerebbe il segnale recepito all'esterno. Come agenti di target sono utilizzati soprattutto liposomi e emulsioni lipidiche. <sup>49</sup>

# 4. Segmentazione della carotide comune (CCA)

# 4.1 Spessore intima-media (IMT)

Per considerare un biomarcatore più affidabile nella valutazione dello stato della patologia è stato introdotto, in tempi recenti, l'IMT, cioè l'ispessimento intima-media. Questo parametro viene attualmente utilizzato su larga scala per valutare le variazioni volumetriche degli ateromi, considerato che è stato dimostrato, mediante studi epidemiologici, che lo spessore delle arterie principali è uno dei migliori marker per evidenziale l'eventuale insorgenza di patologie legate all'apparato cardiovascolare. <sup>49-51</sup> Come anticipato, nella valutazione dell'IMT viene sempre più spesso sfruttato l'imaging ad ultrasuoni poiché presenta dei vantaggi evidenti quali la risoluzione temporale real-time, i costi contenuti e l'elevata affidabilità. L'IMT, una volta consolidato che ha una rilevante importanza clinica, ha subito un importante incremento nella pratica medica in quanto garantisce di diagnosticare l'aterosclerosi in via precoce ed è una misura ripetibile. Grazie alla notevole documentazione raccolta nel corso degli anni, ad oggi è ormai consolidato che un aumento dell'IMT oltre i 0,9-1 mm in un campione di popolazione anziana è da considerare come una prima evidenza del rischio di insorgenza di una patologia cardiovascolare. Non è un caso che si parli di anziani: secondo i medesimi studi, consci del fatto che l'aterosclerosi si sviluppa su un arco temporale prolungato, è questa specifica parte della popolazione ad essere maggiormente a rischio. Questa considerazione deriva dal fatto che le variazioni dello spessore dell'intima-media possono essere verificate già in età precoce ma in questo caso la pavimentazione endoteliale tende a mantenere la propria struttura e le proprie proprietà. Negli anziani ciò non si verifica: a fronte di uno ispessimento è anche consolidata la comparsa di una serie di evidenti effetti collaterali, misurabili clinicamente. <sup>51</sup> Ad ogni modo, secondo recenti studi, l'IMT aumenta maggiormente nell'uomo piuttosto che nella donna e, mediamente, per i due sessi è possibile stimare un incremento di 0,04 mm ogni 10 anni. Le stime proposte sono comunque approssimative, considerato che, come già anticipato, l'ispessimento delle pareti vasali è naturalmente influenzato dallo stile di vita e dalla presenza di altre patologie. Il fumo, lo stress e l'indice di massa corporea sono dei contributi. È ancora in fase di studio la correlazione tra un incremento rilevante dell'IMT e la presenza in alcuni soggetti di una ridotta tolleranza al glucosio, soprattutto se questi sono affetti da diabete di tipo II. Anche la genetica ha la sua incidenza: è stata confermata una corrispondenza tra un maggiore IMT e la presenza, in pazienti giovani, di ipercolesterolemia familiare. Tra le altre cause genetiche l'ipertensione trova spesso corrispondenza, essendo una delle principali patologie correlate. Da questo punto di vista è molto interessante analizzare la condizione di alcuni bambini normotesi, figli di genitori ipertesi, che presentano un IMT in incremento addirittura antecedente l'effettiva comparsa di una condizione di ipertensione. Un IMT elevato è stato associato a lesioni della sostanza bianca celebrale e a danni di varia natura ad altri organi. <sup>60</sup>

Lo studio dell'IMT è necessario per classificare le lesioni in 5 differenti categorie, sulla base della ecogenicità e della tessitura:

- Placca omogenea, uniformemente ipoecogena;
- Placca eterogenea, prevalentemente ipoecogena;
- Placca eterogenea, prevalentemente ecogenica;
- Placca omogenea, uniformemente ecogenica;
- Placca non classificata. <sup>67</sup>

È stato dimostrato, seppur non pienamente confermato, che un incremento dell'IMT è correlabile anche ad insorgenza di ictus, infarto del miocardio e malattia delle arterie periferiche. <sup>52</sup> Grazie a de Simone et al. è stata inoltre riconosciuta una correlazione tra ipertrofia del ventricolo sinistro e ispessimento dell'intima-media, sia in soggetti affetti che non

da ipertensione. Questo studio è evidente conferma, come già espresso in precedenza, della necessaria ipertrofia della parete cardiaca in risposta ad una progressiva mancanza, dell'apparato vascolare, di contrattilità dovuta alla alterata struttura meccanica che segue di pari passo lo sviluppo di patologie vascolari quali l'aterosclerosi. Con il medesimo fine diagnostico, ad ogni modo, in tempi più recenti ha assunto importanza non solo il valore in sé dell'IMT ma anche la disomogeneità dello stesso in relazione a misure effettuate in diverse regioni della medesima carotide comune. In caso di stenosi multipla, infatti, la disomogeneità dell'IMT cresce vistosamente. <sup>54</sup> Allo stesso tempo, però, è importante evidenziare come un incremento del biomarcatore non sia obbligatoriamente relazionato ad una patologia, poiché sono stati documentati anche casi accertati di IMT elevati in risposta a iperplasie di cellule muscolari lisce. A questo, inoltre, si aggiunge una incompleta standardizzazione delle procedure di misura che hanno in parte frenato l'utilizzo del biomarcatore nella diagnosi medica. <sup>52</sup>

Assodato che, a prescindere dalle difficoltà di diffusione in ambito clinico del biomarcatore, l'IMT ha una notevole valenza nel campo della predizione di malattie cardiovascolari precoci, un nuovo dibattito ne ha rallentato la diffusione, legato alla perplessità che esso sia realmente in grado di migliorare la capacità predittiva dei fattori di rischio vascolare. Ciò significa che la comunità scientifica non è concorde sulla necessità di introdurre in uso clinico l'IMT come strumento, poiché l'entità di qualsiasi miglioramento che ne deriva non è considerata sufficiente a modificare gli sforzi clinici attuali messi in atto dalla salute pubblica. In realtà, secondo lo studio eseguito da D. Baldassarre, E. Tremoli, I. S. Group et al., i miglioramenti introdotti da questo biomarcatore, associato ad altri di cui si accennerà successivamente, potrebbero essere rilevanti su soggetti ad alto rischio vascolare ma soprattutto su individui di difficile classificazione. Ad oggi questi ultimi sono pericolosamente a rischio diagnosi tardiva, per via delle risposte, incerte, che gli attuali accertamenti clinici forniscono in condizioni di ambiguità. Per questi pazienti, quindi, si aprono ulteriori possibilità per via delle nuove capacità discriminatorie che possono garantire una diagnosi precoce con conseguente trattamento anticipato, atto a risparmiare un più duro percorso clinico che le patologie cardiovascolari comporterebbero se individuate in ritardo. A questo proposito l'IMT, associato al ICCAD (diametro dell'arteria carotide comune) misurato in aree prive di lesioni, subisce una oggettiva variazione durante l'aterogenesi: è evidente che, monitorando il loro valore, è possibile eseguire una diagnosi che anticipa la formazione di un ateroma, in genere asintomatico nelle prime fasi. <sup>61</sup> Inoltre, considerando che la disfunzione endoteliale precede l'ispessimento vero e proprio della parete carotidea, è possibile eseguire un'ulteriore valutazione, alla ricerca di nuovi biomarcatori che migliorino le capacità predittive. Il problema, in questo caso, è che questo studio è meno riproducibile rispetto a quello dell'IMT, perciò è meno prezioso. Sono state valutate altre diverse correlazioni possibili tra patologie quali la malattia occlusiva periferica arteriosa e la pressione brachiale della caviglia e l'insorgenza di altre patologie cardiovascolari ma, anche in questo caso, sono presenti dei limiti, il più importante dei quali è relativo alle tempistiche. Questi eventi, infatti, si verificano successivamente all'ispessimento mediointimale per cui non rappresentano più dei biomarcatori di aterosclerosi precoce ma, semmai, possono essere utili nella valutazione di uno stadio avanzato. <sup>60</sup> Un incremento dell'IMT è stato notato, inoltre, in individui, soprattutto bambini e donne, malati di diabete di tipo 1 e dotati quindi di alti valori di HbA1c, cioè emoglobina glicata. Questo, se adeguatamente analizzato, potrebbe diventare un nuovo fattore di rischio, associato alla diagnosi di eventuali malattie cardiovascolari tra le quali, ad esempio, la cardiopatite coronarica che colpisce soprattutto individui affetti da diabete di tipo 2. 57

Le critiche non si limitano alla controversa validità dell'IMT come biomarcatore ma riguardano, spesso, anche le numerose difficoltà che l'operatore deve affrontare nell'eseguirne la valutazione. Pur a fronte della consapevolezza che l'ispessimento medio-intimale può essere utilizzato per contrassegnare la progressione della malattia dell'arteria carotide (CCA),

rilevante tanto da indurre la scrittura di oltre 40 algoritmi differenti introdotti con lo scopo di accurare la misurazione, renderla indipendente dall'operatore e computazionalmente semplice, sono davvero numerosi gli ostacoli che devono essere superati per ottenere una misurazione valida. Essendo calcolato a partire da una immagine ecografica, l'IMT viene generalmente valutato a partire da una acquisizione rumorosa, satura soprattutto di "speckle", e ricca di artefatti, legati alla natura dell'arteria o allo stato di salute della stessa; un esempio di questi ultimi sono le calcificazioni, diffuse in vasi patologici. Non è inoltre da ignorare la complessità della morfologia e geometria carotidea, delle volte orizzontale, altre volte inclinata, qualche volta curva. Gli strumenti di acquisizione introducono ulteriore variabilità e quindi ulteriore complicanza, per via delle differenti risoluzioni e dinamiche. È condizione comune, ad esempio, elaborare immagini provenienti da dispositivi diversi, quindi di diverse dimensioni e di diversa luminosità. La già citata mancanza di standardizzazione sulle modalità di misura, quindi, completa il quadro. Gli algoritmi, sempre più innovativi, sono quindi pensati di volta in volta per bypassare questi limiti e funzionare in ogni condizione o stato di salute del paziente.

Un modello delle pareti dell'arteria carotide è necessario per valutare l'ispessimento della media-intima: è possibile utilizzare una tradizionale struttura a doppia linea per soggetti sani, dotati di un IMT nella norma, mentre in soggetti patologici il modello è alterato, per via degli accumuli lipidici presenti al di sotto della tunica intima. <sup>57</sup>

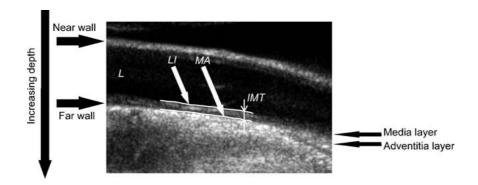


Fig. 4.1. Esempio di acquisizione ecografica di un'arteria carotide comune in proiezione longitudinale. La regione di colorazione scura corrisponde al lume dell'arteria, delimitata dalla parete prossimale in alto e da quella distale in basso. L'IMT è calcolato come la distanza tra le interfacce lumen-intima (LI) e media-avventizia (MA). <sup>51</sup>

Vista l'enorme mole di informazioni che possono essere ricavate dallo studio di questo biomarcatore, è chiaro che riuscire a produrre un algoritmo che sia realmente in grado di valutare l'IMT rappresenta quindi una necessità, soprattutto se completamente automatizzato, considerata l'enorme mole di immagini da analizzare e considerata la soggettività altrimenti introdotta dal ruolo attivo dell'operatore. Ovviamente anche utilizzando degli algoritmi automatizzati non è da ignorare la qualità della strumentazione che può essere l'ago della bilancia, per via del rumore introdotto, tra una buona segmentazione e una errata. Per questo è necessario che le immagini siano dotate di buona risoluzione spaziale, un'alta gamma dinamica, un rumore contenuto e un imaging composto e armonico, queste ultime generalmente possibili con una strumentazione più raffinata. Di conseguenza, se manca anche solo una di queste peculiarità, è chiaro che la fase di pre-elaborazione delle acquisizioni deve essere più corposa ed efficace. 55-56

Lo studio dell'IMT tiene conto di una valutazione media, sia per la parete prossimale che per quella distale, ma anche di una misurazione massima, ottenuta mediando i massimi ottenuti nella parete distale e nella parete prossimale, su un tratto lungo 1 cm. Naturalmente la misura

deve essere garantita come riproducibile, che si tratti di una misura di media o una misura di massimo, in modo tale da ridurre l'incidenza di errori. Una volta valutato l'IMT è inoltre importante classificare la misurazione, grazie a conoscenze pregresse, in modo tale da quantificare lo stadio della patologia vascolare e, di conseguenza, eseguire una diagnosi completa. <sup>59</sup>

Questo biomarcatore, comunque, deve essere calcolato preferibilmente per la CCA, come anticipato. Questo perché nelle misurazioni eseguite per la carotide interna si pongono non pochi problemi, poiché è complessa da raggiungere e la variabilità è molto elevata. Ciò che porta avanti ancora lo studio della ICA (carotide interna) e del suo IMT è che spesso le lesioni aterosclerotiche si formano prima in questa regione piuttosto che nella CCA. Per questo l'approccio più utilizzato è quello di valutazione dell'IMT per più siti carotidei, ove possibile: generalmente, per entrambi i lati, si valuta carotide interna, biforcazione e tratto comune. Si considera, come anticipato, l'IMT massimo e quello dato dalla media delle singole valutazioni. Tra l'altro queste ultime possono diventare davvero numerose: oltre ai tre punti di interesse le acquisizioni possono essere fatte in direzioni distinte, cioè antero-laterale, laterale, postero-laterale, e sia per la parete prossimale che per quella distale. In realtà, su quest'ultima affermazione, è necessario evidenziare come spesso le osservazioni vengono realizzate solo per la parete più lontana, poiché per la parete vicina è presente una maggiore variabilità, oltre che esserci elevata dipendenza dal guadagno.

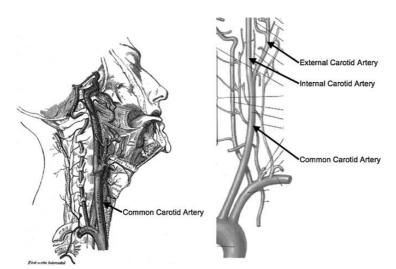


Fig 4.2. Nel primo disegno a sinistra è possibile vedere il corso dell'arteria carotide comune lungo il collo. A destra è rappresentata la circolazione sopraortica: dal basso verso l'alto è possibile individuare l'arco aortico, il tratto comune, la carotide esterna ed interna. <sup>51</sup>

Infine, la misurazione dell'IMT potrebbe aiutare a identificare nuovi fattori di rischio, ad oggi solamente ipotizzati, come il livello di lipoproteine, l'iperomocisteinemia e un marker di rischio trombotico. Anche in questo caso è necessario prima standardizzare la misurazione attuale e porre un limite certo ad un IMT considerabile fisiologico e, di conseguenza, ad uno, invece, considerabile patologico. <sup>60</sup>

# 4.2 Introduzione alla segmentazione

La segmentazione della carotide comune è oggetto di studio da diverso tempo ma, solo negli ultimi decenni, è stato possibile un vero e concreto progresso nella pratica, grazie a nuovi algoritmi, nuove conoscenze mediche e nuovi dispositivi. A conferma di ciò è evidente come in passato l'approccio consisteva nella semplice rilevazione dei bordi delle pareti vasali mentre ora siamo in grado di individuare la struttura a strati costitutiva la parete arteriosa, individuare e classificare le lesioni, individuare lo stato della patologia e elaborarne il decorso. Tutto ciò è

stato reso possibile grazie a pratiche che sfruttano contorni attivi, alla programmazione dinamica, ad approcci geometrici e di modellazione, alla statistica locale e ad approcci integrati.

L'obbiettivo dell'elaborato è presentare un metodo completamente automatizzato che possa garantire la corretta segmentazione delle pareti dell'arteria carotide comune. Lo scopo di ottenere un buon risultato è quello di ricavare, con un margine di errore ridotto, lo spessore intima-media, necessario per classificare lo stato e la progressione dell'aterosclerosi. L'IMT, come anticipato, è ricavato una volta individuati i profili di interfaccia tra lumen e tunica intima (LI) e di interfaccia tra tunica media e avventizia (MA). In questo studio vengono sfruttate delle immagini 2D con vista longitudinale, sia antero-laterale che postero-laterale, della CCA in modalità B-mode, ricavate mediante ultrasuoni. Le acquisizioni sono generalmente composte da una regione più scura, cioè il lume del vaso, e da regioni più chiare, rappresentate con diverse gradazioni di grigio e rappresentanti le pareti dell'arteria nella loro struttura stratificata. Riuscire a differenziare le tre tuniche rappresenta forse il compito più complesso degli algoritmi di segmentazione, per via dell'enorme quantitativo di rumore a cui sono soggette le immagini ecografiche: a causa della ridotta differenza di impedenza acustica tra intima, media e avventizia, riuscire a riconoscere le due interfacce utili al calcolo dell'IMT rappresenta il vero motivo per cui sono state sviluppate differenti tecniche di segmentazione. In via indicativa la tunica media è rappresentata da un grigio tendente al nero mentre l'avventizia ha un colore più brillante. Nel momento in cui l'algoritmo riesce correttamente ad individuare le diverse regioni allora è possibile non solo riconoscere l'IMT ma anche stimare lo spessore della tunica media, lo spessore della parete distale e di quella prossimale e valutare il diametro della carotide comune durante le fasi cardiache, con il fine di stimare la capacità elastica del vaso. Con il fine di ottenere dei risultati attendibili è comunque necessario che le acquisizioni siano eseguite da un operatore esperto, che sfrutti una sonda lineare ad alta frequenza diretta verso il tratto comune della carotide. Considerata l'alta incidenza di rumore è evidente che il ruolo dell'operatore risulta fondamentale al fine di limitare ciò che può essere l'errore umano, sfruttando anche adeguate impostazioni dello scanner e dell'intero sistema di post elaborazione. Dal punto di vista pratico, ai fini di rappresentare al meglio l'arteria carotide, si utilizza una rappresentazione orizzontale che evita l'altrimenti eccessiva attenuazione data dai muscoli del collo; è una pratica complessa poiché molti tratti della CCA sono spesso curvi o piegati, altri ancora possono non seguire perfettamente l'asse del collo. Inoltre, è necessario considerare che, in presenza di una condizione patologica, la morfologia del tratto oggetto di studio varia: ne consegue che l'operatore deve anche prestare attenzione nella modifica del piano di insonazione, in modo da compensare eventuali modifiche conformazionali. Ad una condizione già complessa si aggiunge che, nella stragrande maggioranza dei casi, gli algoritmi di segmentazione sono per lo più ottimizzati per vasi regolari, orizzontali e praticamente dritti. Ovviamente questo problema riguarda più che altro gli algoritmi completamente automatizzati poiché è evidente che, in caso di algoritmo semi-automatico, l'operatore è altrimenti in grado di scegliere autonomamente la regione dotata della morfologia più adatta. I vantaggi dei metodi semi-automatici sono in realtà molto più ampi: pur introducendo una maggiore variabilità, la presenza di un operatore garantisce un errore mediamente contenuto nel calcolo dell'IMT, rispetto ai corrispettivi metodi automatici. Si parla, rispettivamente, di un errore medio stimato attorno a 1 µm e di un errore di un ordine di grandezza superiore. <sup>51</sup>

# 4.2.1 Accenni storici: esempi di soluzioni proposte nel corso del tempo

Durante gli ultimi decenni sono molteplici le soluzioni che sono state sviluppate con il fine di ottenere un metodo valido di segmentazione del tratto comune dell'arteria carotide, relativamente tutti alla sola parete distale. In questo capitolo saranno accennate alcune di queste, focalizzando l'attenzione su quelle di maggiore rilevanza, secondo un criterio che premia il grado di progresso proposto o l'esclusività di un algoritmo distante dalle soluzioni più consuete.

Pignoli e Longo hanno sviluppato un algoritmo di rilevazione delle pareti dell'arteria basato sulla scansione delle diverse intensità luminose dei pixel. Il concetto espresso è già stato analizzato in precedenza: il lume è generalmente caratterizzato da una colorazione scura, le pareti da una colorazione più chiara. L'algoritmo propone una prima fase di filtraggio e una seconda fase di studio del profilo di intensità della sezione, ottenuto spostando lo sguardo dal centro del vaso ai confini dell'immagine. <sup>81</sup>

Liguori et al. hanno invece sviluppato una tecnica che sfrutta i gradienti del profilo di intensità dei pixel per individuare i bordi dell'arteria, a partire da una immagine B-mode con disposizione orizzontale della carotide. L'idea di base è comune al precedente gruppo di ricerca e consiste nell'analisi, a seguito di una prima fase di filtraggio, dell'intensità luminosa dei pixel, con l'aggiunta che, in questo caso, le pareti dell'arteria saranno individuate mediante transizioni di intensità di appositi gradienti. Il punto debole dell'algoritmo è rappresentato dalla mancanza di una procedura interamente automatizzata, poiché l'operatore deve attivamente intervenire nella selezione della regione di interesse. 82

Stein et al., in tempi più recenti, hanno scelto di riutilizzare dei gradienti per individuare le pareti vasali. Con l'obbiettivo di dimostrare l'ampia ripetibilità delle misurazioni mantenendo inalterata la precisione e l'accuratezza, hanno sviluppato un algoritmo completamente automatizzato, e quindi indipendente dall'operatore. È importante evidenziare anche la notevole velocità di esecuzione del loro prodotto. <sup>83</sup>

Sfruttando comunque i gradienti luminosi, questa volta coordinati ad un operatore di bordo di momento assoluto (FOAM), Faita et al. hanno prodotto un algoritmo per la segmentazione delle pareti della carotide comune caratterizzato dalla buona capacità di limitare il rumore sovrapposto che impedisce il corretto riconoscimento delle interfacce. L'operatore ha il compito di calcolare la dispersione media dei valori che l'immagine assume in un determinato dominio, rispetto al valore assunto dal punto centrale del medesimo dominio. Ciò garantisce delle prestazioni importanti e, complessivamente, una buona capacità di segmentazione anche per immagini particolarmente rumorose. È un algoritmo real-time ma, purtroppo, necessita di immagini in cui il vaso è disposto unicamente in direzione orizzontale, è semi-automatico poiché il posizionamento della ROI deve avvenire manualmente e, inoltre, è particolarmente dipendente dall'operatore per via della disomogeneità del rumore in funzione della diversa messa a fuoco. <sup>84</sup>

Wendelhag et al. hanno introdotto, invece, un algoritmo basato sulla programmazione dinamica, con l'obbiettivo di ridurre la variabilità delle misurazioni e garantire una minore dipendenza dall'operatore. La soluzione proposta è realizzata mediante un complesso intreccio di valutazioni dell'intensità degli echi, sfruttando anche alcuni gradienti, e della continuità dei confini, con l'obbiettivo di ricavare una funzione che associ ad ogni punto la probabilità che lo stesso appartenga ad una delle due interfacce utili al calcolo dell'IMT. È un algoritmo automatizzato che necessita però di una prima fase di apprendimento, realizzata mediante immagini segmentate manualmente. <sup>85</sup>

Seguendo lo stesso principio, anche Liang et al. hanno realizzato un algoritmo che sfrutta la programmazione dinamica; in questo caso è utilizzata una analisi multiscala, che sfrutta una prima fase di apprendimento mediante rappresentazioni che, progressivamente, diventano più raffinate, partendo da una base piuttosto grossolana. I costi computazionali sono ridotti. <sup>86</sup>

Un differente filone di algoritmi di segmentazione è rappresentato da quelli che sfruttano gli "snakes", un insieme di vertici collegati tra loro da segmenti lineari, ricavati in maniera tale da ricalcare con precisione i confini delle interfacce LI e MA. Essi sono delle strutture parametriche in grado di mutare la loro posizione adattandosi alla struttura del vaso, grazie al

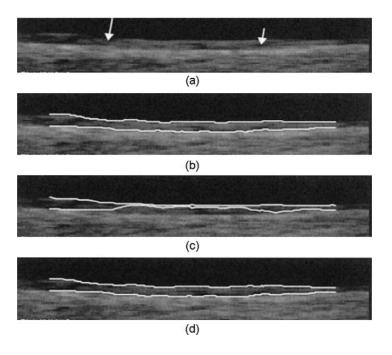
contributo di un numero di parametri variabile, e in grado di ricalcare la morfologia della CCA evitando torsioni e piegamenti eccessivi. I parametri devono essere scelti con cura: pur cercando di ridurre il fenomeno, gli "snakes" sono dipendenti dalla fase di inizializzazione, sono dipendenti dal rumore e, ovviamente, la loro abilità di svolgere il compito dipende anche dal numero di punti di cui sono costituiti. Appartengono a questa classe di algoritmi quelli proposti da Gutierrez et al., da Cheng et al. e da Loizou et al. <sup>87-88-89</sup>

Gli step successivi che hanno coinvolto gli algoritmi di segmentazione hanno più che altro riguardato il concetto di assimilare i pregi delle varie tecniche elencate fino ad ora per produrre un algoritmo che potesse riassumerle. Delsanto et al. ha proposto una soluzione che unisce alla statistica locale gli snakes con il fine di ricavare l'IMT. La prima viene utilizzata per individuare la regione contenente la carotide comune mentre gli "snakes" sono utilizzati per la successiva fase di segmentazione vera e propria. Per il primo step, grazie alla statistica locale, si calcolano valor medio e deviazione standard per ogni pixel relativo all'area che presumibilmente conterrà il vaso, in modo da individuare le regioni che conterranno delle transizioni luminose identificabili come le pareti vasali. Nel secondo step, invece, si sfruttano gli "snakes" per individuare le interfacce LI e MA. È una pratica completamente automatizzata e, inoltre, permette il processamento anche di arterie non propriamente orizzontali. Lo stesso gruppo ha successivamente perfezionato l'algoritmo sfruttando un classificatore fuzzy K-means, in grado di migliorare la suddivisione dei pixel eseguita nel primo step in tre regioni, corrispondenti a lume, intima-media e avventizia. 90

Golemati et al. hanno proposto una soluzione che sfrutta la trasformata di Hough, finendo per realizzare un algoritmo completamente automatizzato, funzionale anche nella segmentazione di lesioni di dimensioni modeste. <sup>91</sup>

Molinari et al. hanno sviluppato un algoritmo costituito da due step, uno iniziale atto al riconoscimento della regione di interesse, cioè la carotide comune, e in prima approssimazione dell'avventizia, sia distale che prossimale, e uno secondario che consiste nella vera e propria segmentazione della parete. <sup>92</sup> Nel primo step vengono utilizzati degli "seed points", cioè dei punti di massimo dell'intensità locale dei pixel, individuati analizzando l'immagine colonna per colonna, uniti tra loro mediante segmenti che abbozzano la struttura della CCA. Il secondo step è realizzato mediante classificatore fuzzy che, mediante ancora una volta una analisi colonna per colonna, scandaglia l'immagine per classificare, in base alla luminosità, i pixel in tre gruppi, cioè lumen, intima-media e avventizia. È una soluzione automatica che garantisce una segmentazione di ottimo livello, oltre che funzionare indistintamente per immagini appartenenti a scanner diversi. Una componente fondamentale dell'algoritmo proposto è sicuramente la prima fase di filtraggio, con il fine di ridurre l'incidenza del rumore, su tutti il "speckle", il più diffuso. Altre tipologie di rumore sono rappresentate da il "backscattering" del sangue, causato dall'aggregazione dei globuli rossi che regalano una maggiore luminosità al lume del vaso tanto da limitarne l'altrimenti importante differenza con le pareti, e dagli accumuli di calcio, dotati di un coefficiente di riflessione elevato che provoca una quasi nulla rifrazione dell'onda ultrasonora oltre che rendere le pareti discontinue, inducendo all'errore l'algoritmo di segmentazione. 51

Fig. 4.3. Alcuni esempi di precedenti tecniche di segmentazione. Nella figura A è proposta l'immagine originale, rappresentante la parete distale di un tratto di carotide comune. Le frecce bianche indicano le interfacce LI a sinistra e MA a destra. Nella figura B viene proposta la segmentazione mediante "snakes" di Cheng. Nella figura C è invece proposto il comportamento di una tecnica "snakes" più tradizionale: sono evidenti gli iniziali limiti, legati al fatto che lo "snake" che dovrebbe delineare l'interfaccia MA è attratto verso il lume del vaso. Nella figura D è invece proposto un esempio di segmentazione manuale. <sup>51</sup>



#### 4.2.2 Problematiche comuni

Gli algoritmi proposti nel capitolo precedente, ad esclusione del lavoro di Molinari et al., sono stati sviluppati con lo scopo di stimare le interfacce LI e MA unicamente per la parete distale e in assenza di placche. Lo studio della parete prossimale è più complesso rispetto allo studio della parete lontana, per via della diversa disposizione delle tuniche e del lume rispetto all'onda ultrasonora incidente. Se per la parete distale l'ultrasuono incontrerà prima il lume carotideo, poi la stratificazione di cui sono costituiti i vasi, nel caso della parete prossimale avverrà l'esatto opposto. L'onda ultrasonora, quindi, subirà ulteriore attenuazione e dispersione prima di arrivare al lume carotideo. I parametri scelti per la sonda, inoltre, sono spesso proposti in maniera tale da ottimizzare l'acquisizione della parete distale, visto che non è possibile selezionarne un set che sia adatto ad entrambe. Ne consegue che spesso le porzioni di acquisizione relative alla parete prossimale non saranno qualitativamente valide come quelle relative alla parete distale.

Un'altra condizione comune riscontrabile è legata alla assenza di metodi che siano in grado di segmentare le placche aterosclerotiche. La presenza di lesioni di questo tipo altera la normale struttura della parete carotidea, soprattutto a livello dell'intima-media, vista la formazione di un rigonfiamento che si espande verso l'asse del lume. Ciò rappresenta una deviazione rilevante rispetto ad una condizione fisiologica che normalmente gli algoritmi devono analizzare. Inoltre, la presenza di una placca spesso rende meno marcato il confine tra la parete vasale e il lume, poiché l'ultrasuono incidente viene scarsamente riflesso per via della particolare composizione della lesione. La placca, in questo caso, è definita ipoecogena. Nel caso in cui essa sia calcificata allora si parla di iperecogenicità: ciò comporta una eccessiva riflessione dell'onda incidente con conseguente formazione di un artefatto definito "cono d'ombra" che rende complesso il riconoscimento dell'interfaccia MA.

Esistono molteplici altre problematiche che rendono complesso il processo di segmentazione della parete carotidea: la risoluzione ridotta, la disposizione non orizzontale dell'arteria all'interno dell'immagine, carotidi convesse o concave o alta incidenza di rumore. Nell'immagine successiva ne sono proposti degli esempi.

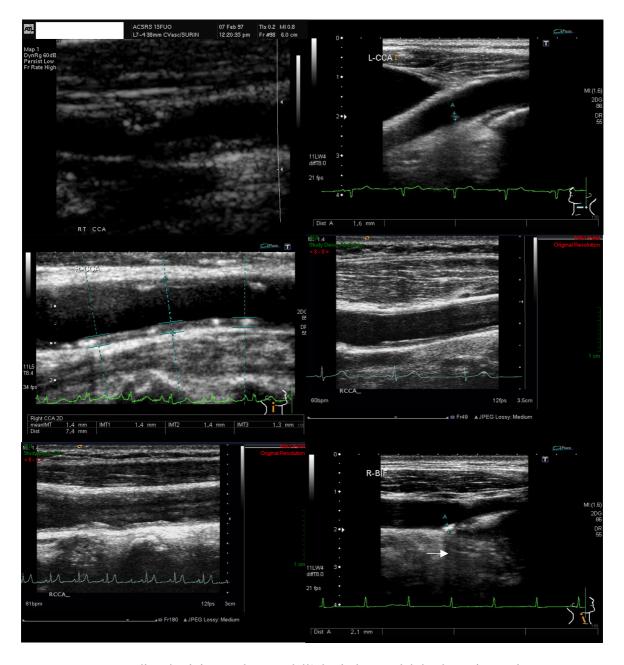


Fig 4.4. In ordine da sinistra a destra e dall'alto in basso, dal database: immagine a scarsa risoluzione, arteria disposta in obliquo, arteria concava, arteria convessa, immagine rumorosa, calcificazione a causare il cono d'ombra.

#### 4.2.3 Conclusioni

Al fine di ottenere una stima attendibile dell'IMT è fondamentale segmentare accuratamente la parete carotidea. Con questo obbiettivo sono stati proposti, nel corso del tempo, algoritmi completamente automatizzati e algoritmi a segmentazione semi-automatica o addirittura manuale. Ad oggi, a causa della presenza di limiti evidenti per i prodotti completamente automatici, le prestazioni migliori sono regalate da algoritmi semi-automatici che, quindi, hanno nel ruolo attivo dell'operatore un vero e proprio punto di forza: in maniera arbitraria, esso è in grado di scegliere la regione di interesse ottimale, considerando anche la distribuzione dell'errore e valutando, quindi, quali regioni hanno un maggiore SNR e CNR

(rapporto contrasto rumore). <sup>51-55</sup> Il ruolo attivo dell'operatore può sicuramente ovviare ad altre problematiche come la dimensione della parete carotidea, la morfologia dell'arteria, la presenza della giugulare e l'utilizzo, in alcuni casi limitativo, di immagini B-mode. <sup>55</sup> Il futuro è comunque roseo per gli algoritmi automatizzati: grazie alla possibilità di sfruttare reti neurali e logica fuzzy, tra le altre, è possibile incrementare le prestazioni a discapito, purtroppo, dei costi computazionali che in alcuni casi sono destinati a salire. Anche la versatilità deve migliorare, poiché ha un ruolo altrettanto importante.

Comprendendo i due gruppi, l'algoritmo più performante è quello di Faita et al., dotato di prestazioni tali da garantire, nel calcolo dello spessore intima-media, un errore contenuto al di sotto del micron. Grazie all'operatore FOAM la soluzione risulta particolarmente versatile, è robusta al rumore ed è rapida. <sup>51</sup>

# 5. Materiali e metodi

### 5.1 Acquisizione delle immagini

Per rappresentare la parete vasale viene utilizzato un modello a due linee non intersecabili tra loro che rappresenta il confine tra intima e lume e il confine tra media e avventizia: la distanza tra le due rappresenta l'IMT. <sup>55</sup> In presenza di una condizione patologica accertata le due linee si discostano, evidenziando uno spessore della parete di almeno 1,5 mm o mostrando un ispessimento di oltre il 50% rispetto a quello rilevabile nelle zone circostanti. In alternativa una condizione patologica può essere rilevata mediante una analisi del diametro del lume: infatti, soprattutto negli stadi più avanzati della patologia, la placca sarà in grado di invadere il lume del vaso per oltre la metà del diametro originale.

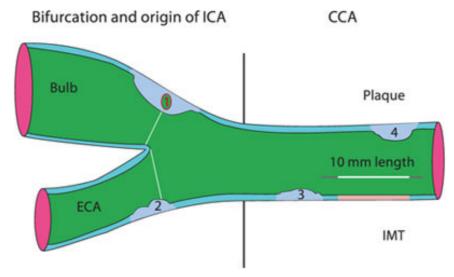


Fig 5.1. Rappresentazione della struttura carotidea. 1. Esempio di placca di spessore maggiore di 1,5 mm; 2. Esempio di placca di spessore maggiore di 0,5 mm; 3,4. Esempi di spessore dell'IMT maggiore del 50% del valore dello stesso nelle zone circostanti. È inoltre possibile vedere il tratto di 10 mm di lunghezza ricercato solitamente per ricavare le stime necessarie nello studio dell'ispessimento della parete vasale. <sup>52</sup>

Questo progetto propone una soluzione individuale al ricorrente problema di valutazione dell'IMT e quindi di segmentazione delle pareti vasali a livello della carotide comune, tratto di facile accesso e di omogenea geometria oltre che di omogenea emodinamica. La CCA può essere analizzata per qualsiasi paziente, una volta che è stato seguito l'iter di procedure necessarie per il prelievo: la disposizione della sonda deve essere accurata per individuare la regione di studio e i parametri devono essere scelti con attenzione per massimizzare il risultato. È consigliata una buona profondità di fuoco, generalmente compresa nel range di 30-40 mm, una frequenza di acquisizione adeguata, generalmente maggiore di 25 Hz, e delle ottimali impostazioni di guadagno, prossime ai 60 dB. Una adeguata impostazione della sonda, soprattutto nei termini di guadagno, garantisce una visualizzazione equa delle due pareti, in termini di luminosità, e, allo stesso tempo, una riduzione degli artefatti intra-luminari. <sup>52</sup> Per rendere la misura più affidabile è preferibile eseguire molteplici acquisizioni ad alta qualità, di una regione che se possibile deve essere prossima a 10 mm in lunghezza. Il posizionamento della sonda deve essere valutato ovviamente sulla base della regione di indagine ma anche sulla base del rischio di dispersione degli echi di ritorno. Con l'obbiettivo di limitare il fenomeno è necessario che il fascio sia il più possibile perpendicolare alle pareti arteriose. Per via della normale usura che coinvolge il dispositivo è naturalmente necessario eseguire la manutenzione dell'intero apparato, secondo le normative imposte dal costruttore: in questo modo è più semplice limitare gli errori. Con lo stesso obbiettivo si eseguono, in genere, misurazioni ripetute, affinché possa essere scongiurato il rischio di registrare eventi anomali. Naturalmente una condizione ottimale si otterrebbe omogenizzando le strutture adibite alle misurazioni, imponendo degli studi del design, delle procedure dei test, delle immagini prodotte, dei risultati, dei dati intermedi e della statistica degli esperimenti. Nella ricerca si tenta appunto di riprodurre questa condizione, vista la valenza dei risultati ottenuti nei centri adibiti. A ragione di ciò vengono eseguite valutazioni delle attrezzature, delle prestazioni dei sonografi, vengono richieste eventuali certificazioni, viene valutata la qualità generica e molto altro. <sup>52</sup>

## 5.2 Database

Il database utilizzato in questo progetto è costituito di 542 immagini, provenienti da diversi istituti, dotati quasi completamente di diverse apparecchiature. Rappresentano la sezione della carotide comune, in diversi tratti e posizioni, di cinque diverse popolazioni geografiche; sono prelevate in annate distinte. <sup>55-63</sup> Tra le diverse istituzioni è possibile evidenziare il Dipartimento di Neurologia di Torino e l'Istituto di Neurologia di Cipro, strutture che hanno fornito acquisizioni rispettivamente relative a pazienti asintomatici di età compresa tra i 53 e gli 85 anni e a pazienti sintomatici di età compresa tra i 25 e i 95 anni, sfruttando uno scanner a ultrasuoni Philips ATL HDI 3000 fornito di sonda lineare che lavora a frequenze comprese tra i 7 e i 10 MHz. <sup>70</sup> Gli unici tratti che accomunano le popolazioni indagate sono legati all'aumentato rischio cerebrovascolare e cardiovascolare. È chiaro, quindi, che le immagini non hanno subito alcuna standardizzazione prima di essere utilizzate per validare l'algoritmo qui proposto e, non meno importante, è chiaro che, al fine di rendere questo algoritmo il più competitivo possibile, la strumentazione utilizzata, oltre che essere differente, non è stata dotata di impostazioni comuni. <sup>55</sup>

	Torino (Italia)	Nicosia (Cipro)	Cagliari (Italia)	Porto (Portogallo)	Hong Kong (Cina)	Giappone
Numero di immagin i	3	3	8	25	6	492
CF (mm/px)	0.0625	0.0600	0.0789	0.0900	0.0585	Non pubblicat o
Età	$69 \pm 16$	$54 \pm 24$	$68 \pm 8$	Non pubblicato	$60 \pm 5$	$69 \pm 11$
Scanner	ATLHDI500 0	ATLHDI300 0	Esaote MyLab 70	ATLHDI500 0	Siemen s Antares	Aplio XV Aplio XG

La prassi giuridica è stata rispettata, poiché è stato chiesto il consenso informato ai pazienti, in precedenza allo studio stesso, e sia il protocollo sperimentale che la procedura di acquisizione hanno ricalcato le direttive imposte dagli enti locali adibiti. <sup>70-55-63</sup> Le immagini sono in forma digitale, sono discretizzate a 8 bit, con conseguenti 256 livelli di grigio, e sono tutte immagini ecografiche B-mode. Le acquisizioni, al fine di valutare le prestazioni dell'algoritmo, sono state

segmentate manualmente da diversi ecografisti esperti, corrispondenti ad un cardiologo, un chirurgo vascolare e un neurologo, del tutto in maniera indipendente l'uno dall'altro. <sup>55-63-70</sup> Queste ultime segmentazioni sono da considerare, ai fini di questo studio, come verità assoluta: ne consegue che esse rappresenteranno il metro di giudizio delle prestazioni degli algoritmi qui proposti. <sup>55-63</sup>

I fattori di conversione, cioè la dimensione fisica dei pixel, variano da 0,06 a 0,09 mm/pixel, diversi tra loro per via dei diversi scanner utilizzati e delle diverse impostazioni di acquisizione arbitrariamente scelte dagli operatori da paziente a paziente. A questo proposito per alcune immagini si è reso necessario un ricampionamento, con il fine di ottenere una migliore densità dei pixel. <sup>63</sup>

#### 5.2.1 Fattore di calibrazione

Ai fini di convertire le misurazioni in millimetri è stato utilizzato un fattore di calibrazione, espresso in mm/pixel. Essendo i pixel perfettamente quadrati, questo fattore è in grado di indicare completamente la loro dimensione fisica in mm, in modo tale da avere una corrispondenza tra le dimensioni nelle due unità di misura e, di conseguenza, garantire al medico dei dati interpretabili. L'inverso del fattore di calibrazione è definito come densità di pixel dell'immagine. La calibrazione dell'immagine avviene automaticamente o manualmente, a seconda del formato con la quale la stessa viene fornita all'algoritmo: se l'immagine è in formato DICOM, la calibrazione è spesso automatica, altrimenti è manuale. Nella valutazione manuale, il fattore di calibrazione viene ricavato anche grazie alle informazioni presenti sulle immagini restituite dai dispositivi di scansione ultrasonora: si preleva infatti la profondità di scansione, solitamente espressa in alto a destra nella cornice nera, e la si utilizza per dividere il numero di righe, solitamente calcolato sulla base dell'immagine già ritagliata, cioè senza la cornice. <sup>58</sup> Generalmente è possibile individuare un fattore di calibrazione diverso per ogni immagine ma, nel caso di una analisi di tipo volumetrico, essendo tante slices, quindi fette, della stessa regione, ovviamente il CF è costante.

### 5.3 Algoritmo di segmentazione

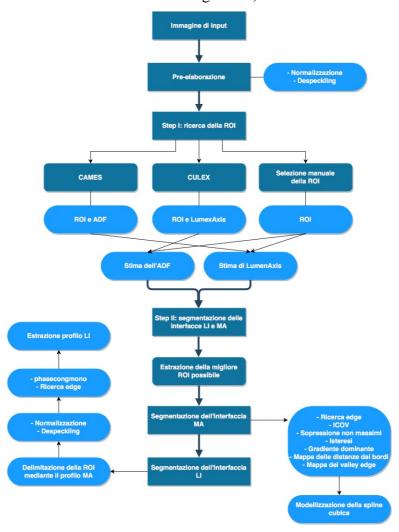
L'algoritmo è composto di una prima fase di pre-elaborazione delle immagini utile ad ottimizzare le acquisizioni in vista del vero e proprio primo step, volto alla ricerca della regione di interesse. In seguito sarà eseguito un secondo step, secondo un percorso a cascata che permetterà di segmentare le interfacce presenti tra lume e intima e tra media e avventizia. Nello specifico:

- Step I: può essere eseguito in maniera automatica o in maniera manuale. La prima modalità presenta una ulteriore scelta tra due algoritmi alternativi, entrambi adibiti ad individuare una regione di interesse, cioè l'arteria carotide comune. I due algoritmi sono CAMES e CULEX, rispettivamente in grado di ricavare una ROI attraverso l'individuazione dello strato di avventizia distale (ADF) e in grado di ricavare la regione di interesse ricercando l'asse del vaso. L'esecuzione del processo richiede una immagine B-mode convertita in livelli di grigio.
- Step II: si valutano i confini dell'interfaccia lumen-intima e dell'interfaccia media-avventizia, a partire dalla regione individuata dal primo step nella ricerca della CCA.

Il processo, come anticipato, è a cascata e ciò comporta che il secondo step può essere eseguito unicamente al completamento del primo. Ciò è dovuto alla necessità di individuare correttamente la regione della CCA per riuscire a indirizzare la ricerca delle interfacce LI e

MA. L'importanza del primo step è elevata: la corretta riuscita nella ricerca della ROI assume un significato talmente rilevante da essere spesso eseguita manualmente, per quelli che sono gli algoritmi semi-automatici, poiché l'intervento umano garantisce, attraverso l'indagine visiva, di selezionare correttamente la regione ricercando inoltre le porzioni di immagine a minor incidenza di artefatti. Per questo algoritmo si è scelto di implementare un metodo completamente automatizzando che, come sarà possibile intuire dai capitoli successivi, è dotato di buone prestazioni. Ad ogni modo, come anticipato, è anche possibile eseguire il primo step in via manuale, a discrezione dell'utente. Il ruolo dello stage I è tanto rilevante da influire nelle prestazioni dello stage II e, di conseguenza, nelle prestazioni complessive. <sup>65</sup> Per questo motivo spesso i due step sono progettati in simbiosi. <sup>58</sup>

L'immagine successiva presenta, sotto forma di flow chart, ciò che sarà proposto nei capitoli successivi e che descrive il funzionamento dell'algoritmo, in maniera concisa.



## 5.3.1 Pre-processing

Una volta realizzate le acquisizioni, tutte le immagini vengono elaborate in luminosità dall'algoritmo, in modo tale da normalizzare l'intera scala di pixel agevolando i successivi sviluppi del software. Questo step è fondamentale poiché garantisce una maggiore facilità di lettura da parte dell'algoritmo, riducendo la variabilità introdotta dalle soggettive impostazioni dei diversi sistemi di acquisizione che confluiscono nel database a disposizione. Viene eseguito un ridimensionamento algebrico lineare, sulla base di alcune conoscenze pregresse quali, ad

esempio, il livello medio di grigio del sangue e il livello medio di grigio dell'avventizia. La regolazione delle intensità avviene su una scala di valori variabile compresa tra 0 e 255, in modo da normalizzare l'intera immagine, pixel dopo pixel. <sup>64</sup>

Prima di iniziare il vero e proprio primo stadio viene analizzato il rumore "speckle", un artefatto diverso rispetto a quelli più classici perché moltiplicativo e sede di importanti informazioni sulla trama stessa dell'immagine. È un rumore di rilevante incidenza, limita la risoluzione del contrasto e, di conseguenza, la capacità di discretizzare le lesioni di piccole dimensioni. Le immagini contenenti elevato rumore, quindi dotate di un basso rapporto segnale rumore (SNR), risultano difficili da essere interpretate, se non da soggetti specializzati. Gli algoritmi di analisi ed elaborazione delle immagini non fanno eccezione e spesso lo "speckle" ne danneggia le prestazioni. La soluzione più diffusa è il filtraggio, eseguito mediante lo sfruttamento della statistica locale. <sup>65</sup> Calcolando, infatti, la media ponderata su finestre di pixel di dimensione variabile, è possibile rimuovere il rumore dai pixel in cui viene individuato, processo non complicato considerato che si presenta come una serie di macchioline. In questo è stato utilizzato un filtro delle statistiche del primo ordine che analizza la media e la varianza del vicinato del pixel in corso di studio, modellizzabile matematicamente come:

$$f_{i,i} = \bar{g} + k_{i,i}(g_{i,i} - \bar{g})$$

con  $f_{i,j}$  valore stimato del pixel privo di rumore,  $g_{i,j}$  valore del rumore nella finestra di studio,  $\bar{g}$  valor medio della regione di analisi,  $k_{i,j}$  coefficiente di ponderazione e i,j coordinate del pixel. Il coefficiente  $k_{i,j}$  è funzione delle statistiche locali all'interno della finestra di analisi:

$$k_{i,j} = \frac{1 - \bar{g}^2 \sigma^2}{\sigma^2 (1 + \sigma_n^2)}$$

$$k_{i,j} = \frac{\sigma^2}{\bar{g}^2 \sigma_n^2 + \sigma^2}$$

$$k_{i,j} = \frac{\sigma^2 - \sigma_n^2}{\sigma^2}$$

con  $\sigma^2$  indicante la varianza del vicinato e  $\sigma_n^2$  la varianza del rumore nell'intera immagine:

$$\sigma_n^2 = \sum_{i=1}^p \frac{\sigma_p^2}{\bar{g}_p}$$

con  $\sigma_p^2$  e  $\bar{g}_p$  che rappresentano la varianza e la media del rumore nelle finestre di studio e p che rappresenta l'indice relativo a tutte le finestre dell'immagine. Se il valore  $k_{i,j}$  è pari a 1 allora il pixel in analisi verrà sostituito con una media dell'intensità ottenuta dal vicinato. 65-66

La fase di pre-elaborazione dell'immagine, come è possibile intuire dall'attenzione dedicatagli, è fondamentale ai fini di uniformare gli oggetti di analisi e migliorarne la qualità, rispettivamente con la normalizzazione delle intensità e la rimozione del rumore "speckle". La validità di questi strumenti è piuttosto chiara: grazie ad essi sia gli algoritmi di segmentazione automatica che un operatore, sono in grado di procedere alla segmentazione. I miglioramenti sono visibili sia tramite indagine visiva che mediante analisi statistica eseguita sulle immagini: da questo punto di vista la qualità e la quantità di informazioni trasportate è superiore in seguito all'esecuzione di questa fase. L'ordine delle operazioni è rilevante: la normalizzazione deve

anticipare la riduzione del rumore speckle mediante filtraggio, altrimenti la qualità dell'immagine potrebbe addirittura peggiorare, soprattutto nei bordi che risulterebbero distorti.

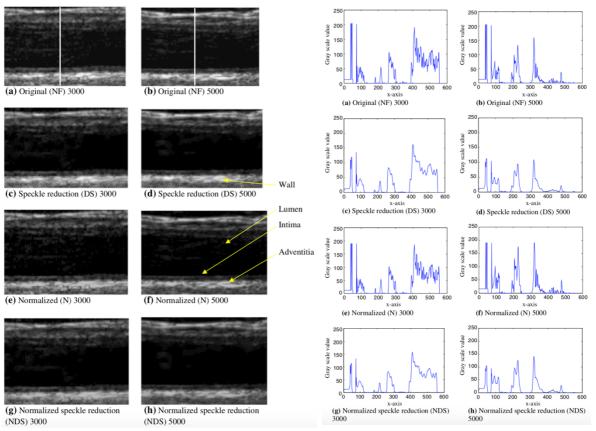


Fig 5.2. a,b) La stessa arteria carotide scansionata con due dispositivi diversi; a destra la loro distribuzione dei livelli di grigio. c,d) "Despeckling" eseguito per entrambe le immagini, a destra la nuova distribuzione dei livelli di grigio. e,f) Le stesse immagini a seguito della normalizzazione, con i corrispettivi nuovi istogrammi. g,h) Applicazione della normalizzazione e del "despeckling", con la distribuzione finale dei livelli di grigio sulla destra. <sup>66</sup>

### 5.3.2 Step I

L'obbiettivo di questo stadio, sia che si scelga di utilizzare CAMES o che si scelga di utilizzare CULEX, è individuare automaticamente l'arteria carotide all'interno delle immagini fornite come input. In alternativa, come anticipato, è possibile eseguire il primo step manualmente, posizionando un riquadro modellabile in dimensioni sull'area di interesse. <sup>63</sup> CAMES, acronimo corrispondente a Completely Automated Multiresolution Edge Snapper, è un algoritmo che ricerca la regione di interesse attraverso la discriminazione dell'avventizia distale, mediante una analisi multi-risoluzione e una analisi spazio-scala. <sup>69</sup> CULEX, acronimo corrispondente a Computed User Layered EXtraction using a Signal Analysis approach, è invece in grado di ricavare la regione di interesse mediante la ricerca dell'asse del lume, sfruttando le statistiche locali e la distribuzione e le caratteristiche dei pixel. <sup>70-71</sup>

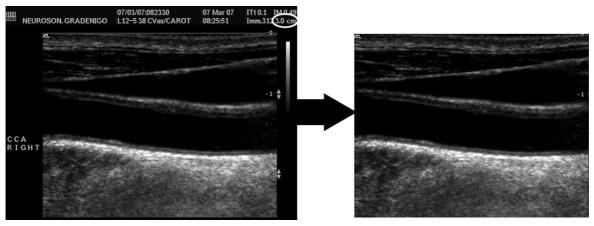
Lo step I è una porzione di algoritmo articolata poiché comprende, oltre le procedure utili a ricercare l'ADF o l'asse del lume, una consistente porzione di codice di controllo e sicurezza, utile ad evitare di confondere, ad esempio, la regione di interesse corretta con la vena giugulare, spesso troppo vicina.

### 5.3.2.1 CAMES

CAMES è un algoritmo in grado di ricavare l'avventizia distale (ADF) a partire dall'immagine di input e il suo fattore di calibrazione, sfruttando una ricerca dei pixel più luminosi, memore del fatto che solitamente l'avventizia è la regione a maggior evidenza. <sup>71</sup> È quindi un approccio di edge detection basato su un framework multi-risoluzione che, quindi, individua dei "seed points", cioè dei punti di intensità superiore alla media del vicinato, uniti tra loro da segmenti di linea. Verrà infine smussato il risultato limando le imperfezioni e addolcendo la curva complessiva. <sup>57</sup>

I passi che saranno eseguiti possono essere così riassunti:

- Sotto-campionatura;
- Filtraggio;
- Delineazione automatica dell'avventizia distale;
- Sovra-campionamento finale.



*Fig 5.3.* Esempio di ritaglio automatico eseguito su una immagine in formato DICOM. Il cerchio bianco evidenzia la profondità di scansione che, come anticipato nei capitoli precedenti, può essere utilizzata per ricavare il fattore di calibrazione. <sup>58</sup>

Prima di procedere con qualsiasi operazione, nello stage I vengono rimosse le informazioni non rilevanti, su tutte la cornice nera che generalmente circonda l'immagine, introdotta dai dispositivi ultrasonori per aggiungere un corredo di informazioni come il nome del paziente o indicazioni sulle impostazioni di acquisizione. <sup>55-58</sup> A seconda del formato, le immagini potrebbero già essere ritagliate, come spesso accade per il DICOM, altre, ad esempio in formato TIFF o JPEG, devono essere ritagliate mediante un semplice processo automatico basato sul gradiente. <sup>63</sup> Questa fase è quindi in grado di individuare la presenza di variazioni rilevanti di intensità in maniera tale da scartare le regioni che sono completamente nere, prive quindi di qualsiasi gradiente. <sup>57</sup> È a questo punto che viene eseguito il despeckling, già anticipato nel capitolo precedente, mediante il filtro che sfrutta la statistica locale detto "Ismv", che valuta la media e la deviazione standard. È un passaggio molto utile se si vogliono evitare picchi spuri durante il riconoscimento dell'avventizia e, allo stesso tempo, anche negli step successivi. <sup>63-64</sup>

A questo punto l'immagine viene convertita in tonalità di grigi, per poi proseguire mediante approccio multi-risoluzione nella struttura spazio-scala, nella ricerca dei pixel a maggiore intensità, mediante una indagine colonna per colonna che naturalmente procede pixel per pixel, singolarmente l'uno dall'altro. È inoltre presente un filtraggio gaussiano di ordine superiore, equivalente ad un filtro passa alto dal momento che la dimensione dello stesso è congruente alla dimensione della parete sotto-campionata, utile a migliorare la ricerca pur mantenendo una generale bassa complessità, con conseguenti ridotti costi computazionali.

Innanzitutto, si esegue un campionamento multiplo, da fine a grossolano: ciò significa che inizialmente il processo vede dimezzate il numero di righe e di colonne (fattore due), poi progressivamente si aumenta il fattore e si ripete il campionamento, con l'obbiettivo di implementare una interpolazione bi-cubica. La scelta della curva è dettata dal fatto che garantisce buone prestazioni e ridotti costi computazionali. <sup>71</sup> Questo processo avviene mediante lo sfruttamento di un vicinato di 16 pixel, selezionato ogni qual volta che si interpola un nuovo punto. Matematicamente questo concetto è espresso come:

$$J(x,y) = \sum_{m=l-1}^{l+2} \sum_{n=k-1}^{k+2} I(m,n) \cdot r(m-l-dx) \cdot (dy-n+k)$$

con I(x, y) immagine di input,  $l = \lfloor x \rfloor$ ,  $k = \lfloor y \rfloor$ , dx = x - l e dy = y - k. La funzione di ponderazione cubica è invece definita come:

$$r(x) = \frac{1}{6} [p(x+2)^3 - 4p(x+1)^3 + 6p(x)^3 - 4p(x-1)^3]$$

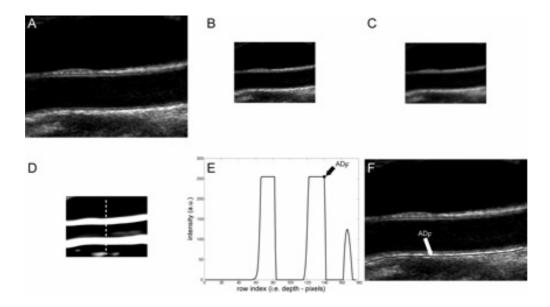
con la funzione p(x) espressa come:

$$p(x) = \begin{cases} x & x > 0 \\ 0 & x \le 0 \end{cases}$$

Questo step è fondamentale per preparare i bordi delle pareti in modo tale che gli spessori degli stessi siano poi paragonabili alla scala dei kernel gaussiani.

Completato il processo, viene eseguito un filtraggio mediante filtro derivato dal gaussiano di ordine superiore: si tratta di una derivata del primo ordine di un kernel di guesto tipo, scelta con il fine di enfatizzare le zone più chiare, con tutta probabilità sede delle due avventizie, per la regione distale e per la regione prossimale. <sup>63</sup> Successivamente al filtraggio le zone indicate dovrebbero essere le più luminose, con valori prossimi alla saturazione, cioè pari a 255. A questo punto si procede mediante una ricerca euristica, eseguita colonna per colonna, utile a individuare i punti più luminosi partendo dal basso dell'immagine; il tracciato dell'ADF sarà il risultato dell'affiancamento di quelli raccolti. La ricerca viene eseguita fissando anzitempo una soglia, scelta arbitrariamente, che rappresenta il valore di intensità oltre il quale si suppone di aver individuato il pixel appartenente all'avventizia, con conseguente terminazione della ricerca euristica per la colonna in analisi. La scelta della soglia è fondamentale: una troppo bassa potrebbe causare l'inclusione di punti non inerenti al vero tracciato dell'ADF, mentre una troppo elevata potrebbe limitare il riconoscimento di alcuni punti realmente appartenenti all'avventizia distale. Dal punto di vista pratico, nel primo caso è possibile che la ricerca euristica, nella colonna in analisi, possa terminare anticipatamente, in una regione più in basso rispetto a quella realmente contenente l'avventizia, nel secondo, invece, è possibile che alcune arterie di ridotto spessore non vengano riconosciute.

Fig 5.4. La figura rappresenta un esempio di procedura di tracciamento dell'ADF. A. La figura rappresenta l'immagine che verrà elaborata. B. Esempio della stessa immagine campionata. C. Immagine a seguito della rimozione del rumore "speckle". D. Immagine a seguito del filtraggio mediante derivato gaussiano di primo ordine. E. Profilo delle intensità. F. Risultato finale: all'immagine ritagliata viene sovrapposto il profilo dell'avventizia. 63



Il processo di riconoscimento dell'avventizia distale non è terminato: è presente, infatti, un'ultima fase di perfezionamento atta a rimuovere gli "spike", pixel erroneamente riconosciuti come appartenenti all'ADF che ne danneggiano il contenuto. Gli "spike" o punti spuri sono causati da motivi diversi:

- Variazioni di intensità causate dall'interfaccia sonda-pelle, dalla frequenza impostata, dalle impostazioni di guadagno;
- Spazi vuoti nelle pareti dei supporti non uniformi;
- Presenza della vena giugulare;
- Possibile presenza di calcio. <sup>63</sup>

Per questi motivi si rende necessario un processo di validazione finale, atto ad evitare di confondere il lume dell'arteria carotide comune con il lume della vena giugulare, spesso presente nelle acquisizioni in corso di studio, e atto a confermare l'omogeneità e l'integrità del margine di segmentazione. La rimozione degli "spike" è solo una parte del processo finale, il quale comprende anche una fase di perfezionamento mediata dalle conoscenze note a priori riguardanti l'anatomia della struttura del lume e della regione di indagine. Vengono rimossi pixel inizialmente inseriti nell'ADF che in realtà sporgono dal vaso verso il lume e oltre, evitando, con ciò, che l'avventizia indagata risulti fuori posizione poiché troppo vicina al centro del vaso. <sup>63-64</sup> Per riuscire in questo intento viene praticato un processo di classificazione, sulla base di 50 classi di intervallo pari a 0,02 (la scelta deriva dall'esperienza di Molinari et al., maturata durante lo sviluppo di CULEX), dei pixel, poiché la maggior parte di quelli che in realtà appartengono al lume sono contenuti alle prime classi. Ciò significa che, nella conclusiva fase di valutazione, si analizzano i pixel che sono stati classificati come appartenenti all'ADF e si confrontano con i pixel che, secondo la classificazione, dovrebbero appartenere al lume del vaso, rimuovendo quelli appartenenti ad entrambi i gruppi. Il processo di validazione viene eseguito singolarmente, punto per punto: è stimata la regione di interesse, considerando una sequenza di 30 pixel relativi all'area superiore rispetto alla posizione di quello indagato, cioè costituita da punti a indice di riga inferiore, ed è valutato se la stessa penetra all'interno del lume di almeno 12 pixel. Nel caso ciò non accada, il punto dell'ADF in corso di studio viene marcato con un valore pari a 1, nel caso il test sia superato, invece, il pixel viene marcato pari a 0. A questo punto vengono rimossi dall'ADF tutti i punti marcati a 0.

Nel completare la fase di validazione, la ricerca degli "spike" viene anche eseguita analizzando l'altezza, intesa in pixel, che intercorre tra due punti successivi classificati come appartenenti all'avventizia. Viene calcolata la derivata del primo ordine dell'ADF e si impone una soglia pari a 15 pixel, valore scelto empiricamente a seguito della valutazione della

risoluzione delle immagini parte del database, corrispondente a circa 1 mm di alterazione per immagini con risoluzione pari a circa 0,06 mm/pixel. Se tra un punto e il suo successivo, all'interno di un profilo continuo, viene individuata una altezza maggiore rispetto alla soglia fissata, allora il pixel in analisi viene considerato come "spike" o "glitch". Nel caso in cui il punto appartenga ad una delle prime o ultime 10 colonne, esso viene semplicemente rimosso, altrimenti viene sostituito con una media del vicinato.

Per riportare l'ADF così ricavato alla scala originale e per permettere di sovrapporre il risultato all'immagine finale, essendo stato eseguito un sotto-campionamento, è necessario eseguire un sovra-campionamento finale. <sup>7</sup> Nel complesso il confine dell'avventizia distale verrà calcolato in maniera tale da ottenere uno spessore prossimo alla scala del kernel gaussiano utilizzato, sfruttando il reverse engineering. <sup>63</sup> Questa affermazione è fondamentale per concepire il funzionamento del filtro: è grazie a ciò che il kernel è in grado di enfatizzare le transizioni di intensità nei pixel. <sup>7-63</sup>

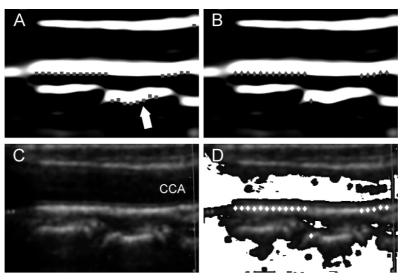


Fig 5.5. L'immagine proposta presenta alcune dimostrazioni pratiche degli step elencati in questo capitolo. A. Immagine sotto-campionata e filtrata mediante filtro gaussiano del primo ordine. I rettangoli di colore grigio rappresentano l'iniziale ipotesi di ADF. La freccia bianca indica alcuni "glitch" che dovranno essere rimossi. B. I rettangoli in figura indicano i punti che hanno superato il test. C. Immagine filtrata. D. Immagine elaborata con aggiunta di rombi bianchi, indicanti i punti che hanno concluso il test. <sup>63</sup>

L'individuazione dell'ADF, quindi dell'avventizia della parete prossimale, completa lo stage I, liberando la possibilità di iniziare il secondo stadio, vero e proprio step di segmentazione delle pareti vasali alla ricerca delle interfacce LI e MA, sia per la parete prossimale che per quella distale.

## 5.3.2.2 CULEX

L'alternativa, comunque automatizzata, a CAMES è CULEX, un algoritmo che propone un approccio di statistica locale basato sull'idea che la carotide comune può essere concepita come un insieme di diverse intensità, distribuite lungo tutto l'arco dell'immagine secondo una logica precisa. Anche in questo caso, come per la soluzione precedente, l'algoritmo presenta una iniziale fase di pre-elaborazione, ottenuta mediante la conversione dell'immagine in tonalità di grigi, il ritaglio della cornice tipicamente nera che circonda la maggior parte delle acquisizioni ottenute mediante i dispositivi ad ultrasuoni, la normalizzazione delle intensità dei pixel

all'interno della scala compresa tra 0 e 255, e la riduzione del rumore "speckle". Questi processi sono eseguiti nello stesso modo già presentato nel capitolo precedente, per questo motivo è possibile guardare al 5.3.1 per maggiori delucidazioni. Anche in questo caso è presente un filtraggio gaussiano di ordine superiore iniziale, per enfatizzare le regioni più luminose. Per questo algoritmo, inoltre, considerata la probabile posizione centrale del lume del vaso all'interno dell'immagine, è stata studiata la maschera migliore rimuovendo gli oggetti che risultano eccessivamente disposti verso i confini dell'immagine o gli oggetti di dimensione eccessivamente ridotta, considerato che il lume del vaso dovrebbe occupare gran parte dell'acquisizione. L'algoritmo è stato progettato secondo il concetto che i pixel del lume sono generalmente costituiti da una bassa intensità e una ridotta deviazione standard, a differenza degli altri strati, su tutti l'avventizia, caratterizzati, in genere, da altre intensità medie e altre deviazioni standard. Proprio quest'ultimo strato, noto per essere il più luminoso, viene difatti idealizzato come una regione ad alta intensità e con deviazione standard media o addirittura ridotta, mentre i restanti strati, cioè intima e media difficilmente distinguibili tra loro, dovrebbero essere in possesso di una intensità disposta nel mezzo tra le due analizzate finora e una deviazione standard elevata, considerando il range di grigi che quest'ultima regione comprende. Per modellizzare questa idea è stato creato un istogramma bidimensionale che posiziona nelle prime classi i pixel appartenenti al lume, nelle classi intermedie quelli di media e intima e nelle ultime quelli dell'avventizia. È un metodo comprovato da diversi studi ma, per modellizzare con errori contenuti quanto detto finora, richiede di essere curato nei dettagli, soprattutto per via dei numerosi artefatti e delle diverse intensità dei pixel legate alle impostazioni arbitrariamente scelte per i dispositivi di acquisizione dagli operatori. Per lavorare sulle intensità dei pixel sono stati seguiti alcuni step:

- Si traccia l'ADF, cioè si approssima l'avventizia della parete distale. Per far ciò, come anticipato, si considerano le immagini colonna per colonna e si ricercano i primi massimi di intensità con valore superiore al 90° percentile della distribuzione delle intensità della colonna di analisi, iniziando la ricerca dal punto più remoto quindi il più in basso. Trovato un candidato a rivestire il ruolo di pixel appartenente all'ADF per ogni colonna, si passa allo step successivo.
- Si traccia l'asse del lume della carotide comune: si stima, partendo da sinistra e in basso, cioè dalla posizione del primo punto appartenente all'ADF, il primo pixel candidato ad essere considerato parte dell'asse, mantenendo la colonna costante e variando il solo numero di riga, mediante le indicazioni fornite dall'istogramma. Una volta trovato il papabile, l'algoritmo procede in una analisi, anche in questo caso, punto per punto. Infatti, CULEX sposta l'attenzione verso l'alto, mantenendo la colonna costante, e studia con attenzione la possibile presenza di un punto più consono, analizzandone l'intensità e confrontandola con il vicinato volta per volta. Questa procedura è esercitata a partire da ogni punto dell'ADF. Ciò significa che, semplicemente riducendo il numero di riga e indagando mediante la statistica locale, CULEX è in grado, partendo dalle informazioni concepite dall'istogramma, di individuare il punto più consono, raccogliendo informazioni passo passo.

Una volta raccolti, i punti appartenenti all'asse del vaso sono proposti, come avveniva al termine di CAMES, sovrapposti all'immagine originale, per presentare il risultato. <sup>72</sup>

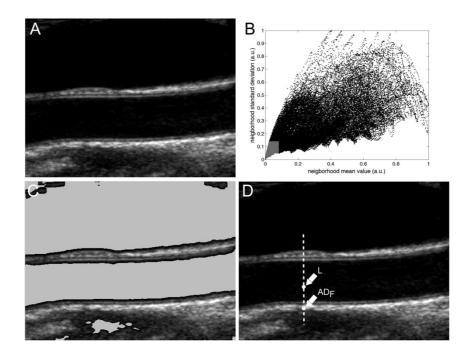


Fig 5.6. Esempio di esecuzione dell'algoritmo CULEX, applicato all'immagine presente in figura A. Nella figura B è presente un istogramma bidimensionale (2DH); la regione grigia indica la zona in cui si suppone di trovare unicamente pixel del lume. Nella figura C l'immagine originale con sovrapposti, in grigio, i pixel del lume. Nella figura D è selezionata una colonna e sono indicati il pixel relativo all'asse del lume e il pixel relativo all'avventizia della parete distale. <sup>7</sup>

# 5.3.2.3 Step I – manuale

Come anticipato il primo step può anche essere eseguito in maniera manuale, con l'utente che, grazie all'interfaccia proposta, ha la possibilità di selezionare una regione di interesse (ROI) caricandone una precedentemente ricavata o ritagliandone una nuova. Questa è la proposta alternativa agli algoritmi di segmentazione automatica, in grado comunque di fornire al secondo step la regione di interesse necessaria per avviare la ricerca delle interfacce LI e MA. <sup>55-58</sup>

#### 5.3.3 Step II

Una volta terminato il primo step, sia che esso sia stato eseguito mediante uno dei due algoritmi automatizzati, sia che esso sia stato completato mediante segmentazione manuale, l'algoritmo principale è in possesso della regione di interesse (ROI) all'interno della quale verranno ricercate le interfacce di media-avventizia e di lume-intima, oltre che dell'avventizia della parete distale (ADF) o dell'asse del lume (LumenAxis). Una volta recepite le informazioni necessarie, l'algoritmo principale è in grado di progredire nell'esecuzione del secondo step, superato il controllo che ne impedisce l'accesso in caso di mancata conclusione del primo. Lo stage II è rappresentato dalla recente evoluzione, vero oggetto di questo studio, dell'algoritmo GIMT, acronimo indicativo di Generalized IMT Measurement, già processo innovativo poiché in grado di valutare l'ispessimento medio-intimale anche in presenza di placche e in maniera del tutto automatizzata. <sup>73</sup> Il sostanziale cambiamento proposto da questo progetto è presentato dalla fase di individuazione dell'interfaccia LI, sia nella parete prossimale che nella parete distale, effettuata mediante l'ausilio della funzione phasecongmono.m, completamente inserita

e adattata nell'algoritmo originale in modo da potenziarne, come sarà possibile vedere dai risultati, le prestazioni e migliorarne, quindi, l'efficacia.

## 5.3.3.1 phasecongmono.m

phasecongmono.m è una funzione sviluppata da Peter Kovesi, professore associato aggiunto presso il gruppo di geofisica e analisi delle immagini del Center for Exploration Targeting dell'Università dell'Australia occidentale. <sup>77</sup> La funzione, riportata interamente nell'appendice di questa tesi, è stata sviluppata all'interno di un progetto mirato a rilevare feature mediante lo studio della fase e della congruenza della stessa, calcolata mediante l'utilizzo di filtri monogenici. La congruenza di fase è pensata come una misura, indipendente dal contrasto, del significato delle features e, differentemente da quanto accade con altri mezzi di rilevazione ad esempio basati su gradienti, questo metodo garantisce una possibilità di analisi garantita per ogni angolo. La velocità di esecuzione della funzione è inoltre elevata e richiede una occupazione della memoria ridotta rispetto ad altri processi simili. <sup>78</sup>

L'algoritmo necessita di molteplici argomenti di input, anche se in realtà può essere utilizzato in forma contratta fornendo unicamente l'immagine da segmentare, con i restanti parametri che, di conseguenza, saranno impostati di default. L'elenco di questi ultimi è comunque costituito da:

- nscale, cioè il numero di scale "wavelet" che saranno utilizzate nel processo; le "wavelet" sono segmenti di piccola dimensione. Tanto maggiore sarà il parametro, tanto più facile sarà che l'output vedrà evidenziate unicamente le caratteristiche più evidenti, al contrario saranno evidenziate anche le caratteristiche più fini.
- minWaveLength, cioè la lunghezza del segmento (wavelet) più piccolo.
- mult, fattore di scala tra filtri successivi.
- sigmaOnf, il rapporto della deviazione standard del gaussiano.
- k, numero delle deviazioni standard dell'energia del rumore.
- cutOff, misura frazionale della diffusione della frequenza, al di sotto della quale i valori di congruenza di fase vengono penalizzati.
- g, valore utilizzato per pesare la congruenza di fase.
- deviationGain, amplificazione da applicare alla fase.
- noiseMethod, parametro scelto per identificare il metodo più adatto a determinare le statistiche relative al rumore.

# I parametri di output saranno:

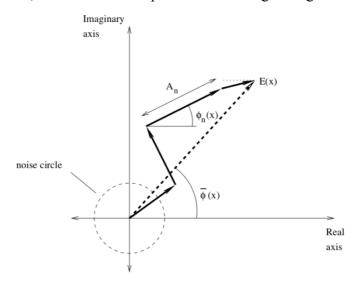
- PC, mappa delle congruenze di fase che pesano gli edge che costituiscono l'immagine originale.
- o, mappa dei gradi, espressi in senso orario da 0 a 180°, con 0 indicante un edge verticale, 90° orizzontale.
- ft, angolo di fase medio per ogni punto dell'immagine: un valore pari a  $\pi/2$  indica un'area luminosa dell'immagine,  $-\pi/2$  un'area scura.
- T, soglia del rumore.

Questo algoritmo, di base, sfrutta le informazioni ottenute mediante lo studio della fase e della sua congruenza con il fine di determinare il peso e la rilevanza delle strutture presenti nelle immagini analizzate. L'operatore risultante è altamente localizzato ed è in grado di fornire risposte affidabili e, soprattutto, indipendenti al variare o al decadere del contrasto delle immagini. Inoltre, essendo GIMT sviluppato per garantire uno studio delle interfacce LI e MA mediante realizzazione di mappe di edge, è da sottolineare come la mappa relativa alla congruenza delle fasi è un sottoinsieme della mappa precedente. Ciò comporta la possibilità di abbinare questa nuova funzione all'algoritmo originale.

phasecongmono.m è stato ideato secondo il concetto che le feature o caratteristiche di rilievo di una immagine siano accompagnate, di base, da componenti di Fourier in fase tra loro. Ciò significa che, in presenza di un oggetto ben definito, sarà possibile individuare una congruenza di fase tra tutte le componenti dello stesso, mentre l'angolo della fase, diverso a seconda dell'oggetto, sarà indicativo della tipologia di struttura delineata. Per riuscire a discriminare la presenza e la tipologia di feature, quindi, è importante valutare la fase e la congruenza della stessa per ogni punto dell'immagine: è per questo motivo che vengono analizzati tutti i componenti di Fourier, pixel per pixel, ricavandone l'ampiezza  $A_n(x)$  e la fase  $\phi_n(x)$ . Il passo successivo, a questo punto, è la valutazione della congruenza, mediante la seguente funzione:

$$PC_1(x) = \frac{|E(x)|}{\sum_n A_n(x)}$$

con E(x) energia locale, calcolata come espresso dall'immagine seguente:



La rappresentazione mostra un diagramma polare, costruito mediante la somma delle componenti di Fourier analizzate, tenendo conto della loro fase. L'energia locale è ottenuta come da grafico, congiungendo con una linea retta il primo contributo e l'ultimo. Come è possibile intuire dall'equazione precedente, la congruenza è ottenuta mediante il rapporto tra l'energia locale e la lunghezza complessiva del percorso seguito dai componenti di Fourier: ne consegue che se tutti i vettori complessi rappresentanti le componenti di Fourier fossero in fase e quindi perfettamente allineati tra loro, allora il rapporto risulterebbe pari a 1. Se ciò non accadesse il rapporto sarebbe inferiore, fino ad un minimo pari a 0. Dal punto di vista pratico questo concetto fornisce la possibilità di individuare tutte le caratteristiche dell'immagine coerenti tra loro in termini di luminosità, a prescindere dal contrasto o dalla qualità dell'immagine. Utilizzando delle soglie pre-impostate è inoltre possibile discriminare gli oggetti tra loro, a seconda della loro luminosità. Il limite di questa tecnica, così come è stata concepita fino a questo punto, è la sensibilità alla localizzazione del pixel all'interno dell'immagine e al rumore che lo affligge. Per questo motivo Kovesi ha modificato il concetto di congruenza di fase, introducendo la deviazione di fase, utile a rendere l'algoritmo più robusto al rumore oltre che alla localizzazione del punto. La nuova formulazione è la seguente:

$$PC_2(x) = \frac{\sum_n W(x) \left| A_n(x) (\cos \left( \phi_n(x) - \bar{\phi}(x) \right) - \left| \sin \left( \phi_n(x) - \bar{\phi}(x) \right) \right| - T \right|}{\sum_n A_n(x) + \varepsilon}$$

con W(x) che rappresenta un fattore di peso per lo spread di frequenza, utile a garantire una maggiore rilevanza alla congruenza di fase di un numero maggiore di frequenze rispetto alla congruenza di fase di un numero minore.  $\varepsilon$  è introdotta per evitare di incorrere nell'errore di ottenere una divisione per 0. T rappresenta l'influenza del rumore stimato, ricavato mediante le risposte di un apposito filtro applicato all'immagine. La presenza di  $\square$  indica che l'equazione contenuta sarà tale solo se positiva altrimenti sarà da considerare pari a 0.

Per la corretta esecuzione dell'equazione sono richieste altre tre funzioni, sviluppate dallo stesso Kovesi, corrispondenti a perfft.m, filtergrid.m e lowpassfilter.m. <sup>79</sup>

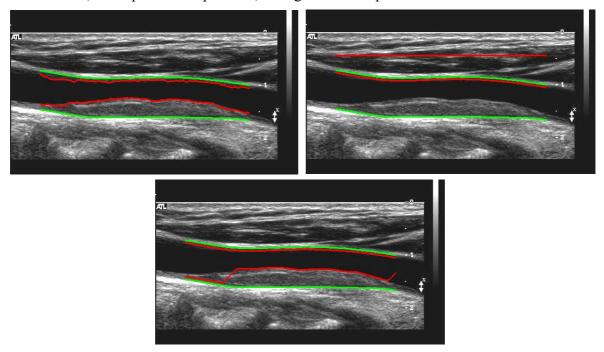


Fig 5.7. Importanza del tuning: in esempio la stessa immagine, segmentata più volte modificando il solo parametro nscale. In alto a sinistra la versione migliore (nscale = 6), ottenuta con i parametri scelti per lo studio, a destra alterando eccessivamente nscale (= 1) e in basso modificando il parametro verso l'alto (= 15).

## 5.3.3.2 Segmentazione dell'interfaccia MA

L'algoritmo è in grado di funzionare correttamente sia in presenza di una condizione fisiologica della parete carotidea, che patologica, intesa sia come primo ispessimento dell'intima media sia come vera e propria formazione di una lesione, con accumuli lipidici tali da causare una stenosi. <sup>73</sup>

Le prime fasi del processo sono direttamente derivate dall'algoritmo sviluppato da Rocha et al., evoluto in maniera tale da ottenere un programma completamente automatizzato. La versione originale era, infatti, semi-automatica, poiché richiedeva di inserire manualmente due punti che descrivessero parzialmente la regione di interesse, così che il programma riuscisse poi ad individuarla con precisione. Come è stato anticipato nei capitoli precedenti, il ruolo dell'operatore in questo algoritmo è davvero limitato a compiti che incidono relativamente sulle prestazioni dello stesso, considerato che egli ha unicamente la possibilità di avviare il primo ed

il secondo step e di selezionare l'algoritmo automatico (CAMES o CULEX) che intende utilizzare. Ne consegue che, all'attivazione del secondo stage, il programma è già in possesso della ROI, oltre che del tracciato dell'avventizia della parete distale o dell'asse del vaso, sia che si tratti dell'uno che dell'altro processo automatico. Prima di procedere con gli step successivi, viene eseguito un rapido controllo utile a ripulire i due vettori, ADF o LumenAxis, dalle informazioni ripetute. Viene inoltre eseguita una interpolazione dei risultati ottenuti, con il fine di ottenere delle nuove curve continue e, soprattutto, viene eseguito un primo ritaglio automatico dell'immagine, già completato nel caso in cui il primo step sia stato eseguito manualmente; è un procedimento utile ad ottenere una prima bozza della regione contenente esclusivamente il lume del vaso. A questo punto è presente una prima differenziazione dell'algoritmo, utile a ricercare la maschera adeguata a modellizzare il lume e le pareti della carotide, a seconda dello stage I eseguito, non prima di un tratto comune che ha l'obbiettivo di normalizzare ulteriormente i livelli di grigio dell'immagine ritagliata oltre che eseguire un nuovo "despeckling", in maniera del tutto identica a quanto presentato nei capitoli precedenti. In questo passo, quindi, viene realizzata una maschera della sola area relativa all'immagine ritagliata, seguendo gli stessi principi visti nei capitoli precedenti, che comprendono la suddivisione in classi dei pixel, adeguatamente filtrati per enfatizzare quelli più luminosi, secondo la media e la deviazione standard.

Nello step successivo il codice muta a seconda dell'algoritmo utilizzato nella prima fase mantenendo però un unico obbiettivo, cioè quello di riuscire ad estrapolare una maschera ed una ROI che possano essere delle dimensioni adatte a contenere unicamente il lume del vaso e le regioni delle pareti carotidee contenenti le interfacce LI e MA. Le due procedure, eseguite in via esclusiva, rispecchieranno lo stesso ideale, con la differenza che, ovviamente, saranno studiate per elaborare al meglio le informazioni restituite dal primo step, quindi o la variabile ADF o la variabile LumenAxis. Al termine di queste procedure saranno disponibili, in ogni caso, sia il tracciato dell'avventizia prossimale, sia il tracciato dell'asse del vaso, sia una prima ROI. Nel caso lo step I sia stato eseguito mediante CAMES, si procede considerando singolarmente ogni punto dell'ADF e analizzando la colonna di appartenenza, risalendo verso la regione del lume per una distanza generalmente pari a 6 mm. A questo punto viene eseguito un controllo utile a verificare la posizione raggiunta, in modo tale da scongiurare la possibilità di ottenere una ROI o troppo piccola o troppo ampia. Lo spostamento, infatti, non deve essere eccessivo poiché non è necessario raggiungere i pixel che eccedono oltre la parete prossimale, ad esempio appartenenti alla vena giugulare, e non deve essere ridotto, poiché verrebbero così esclusi i pixel appartenenti alla parete prossimale o, addirittura, parte del lume. In caso di errore l'algoritmo è in grado di modificare autonomamente lo spostamento, in modo tale da raggiungere il proprio obbiettivo. Nel caso in cui il primo step sia stato eseguito mediante CULEX, similmente a quanto visto per CAMES, la ricerca della regione di interesse procederà a partire dall'asse del lume, analizzando i pixel al di sopra e al di sotto di quello contenuto nella variabile LumenAxis, partendo dal primo e arrivando fino all'ultimo punto dell'asse. In entrambi i casi, inoltre, verrà stimata la variabile mancante, per CAMES l'asse del lume e per CULEX l'avventizia distale. Al termine di questa fase, di conseguenza, siamo in grado di elaborare la più piccola regione di interesse contenente tutti pixel compresi tra le due avventizie; sarà inoltre ritagliata anche la maschera precedentemente introdotta, in modo tale da ottenere congruenza dimensionale con la ROI. In precedenza l'asse del lume, nel caso in cui sia stato eseguito CAMES al primo step, è stato comunque ricavato mediante statistica locale come anche l'ADF nel caso in cui al primo stadio sia stato eseguito CULEX. È stata inoltre realizzata una stima del rumore presente nella regione di analisi. Nel caso in cui l'individuazione della ROI al primo stage sia stata eseguita in via manuale, l'algoritmo procede mediante una ricerca dell'asse del lume, possibile grazie all'analisi dei pixel centrali della ROI. Infine sarà, anche in questo caso, stimato l'ADF.

Una volta completato questo processo, l'algoritmo avanza verso la stima dell'interfaccia presente tra media e avventizia. Mediante l'utilizzo di un algoritmo di triangle thresholding è possibile ottenere una stima della regione del lume. A questo punto viene realizzata una mappa delle distanze dei singoli edge dai limiti del lume carotideo, matrice che sarà comprensiva di valori positivi e negativi e sarà dotata di buona resistenza al rumore, per via della presenza di un filtro di livellamento, della soppressione dei non massimi e delle soglie di isteresi; questi ultimi sono concetti importati dalla statistica e dalla teoria della variazione totale. Con l'obbiettivo di stimare la forza degli edge, viene sfruttato ICOV o coefficiente istantaneo di variazione, un rilevatore di edge che si adatta perfettamente alle immagini ultrasonore. Infine sono utilizzate la soppressione e l'isteresi per ripulire la mappa degli edge da quelli più deboli, mantenendo unicamente quelli più significativi. ICOV è matematicamente modellizzato come:

$$ICOV(x,y) = \sqrt{\frac{\left|\frac{1}{2}\|\nabla I(x,y)\|^2 - \frac{1}{16}(\nabla^2 I(x,y))^2\right|}{\left(I(x,y) + \frac{1}{4}\nabla^2 I(x,y)^2\right)^2}}$$

con I(x, y) indicante l'intensità dell'immagine nel punto (x, y),  $\nabla I(x, y)$  gradiente di intensità nello stesso punto,  $\|\nabla I(x,y)\|^2 = 0.5[\|\nabla_{-}I(x,y)\| + \|\nabla_{+}I(x,y)\|^2], \nabla_{-}I(x,y) = (I(x,y) - I(x,y))$  $I(x-1,y), I(x,y)-I(x,y-1), \nabla_+I(x,y)=(I(x+1,y)-I(x,y),I(x,y+1)-I(x,y)),$  $\nabla^2 I(x,y) = I(x+1,y) + I(x-1,y) + I(x,y+1) + I(x,y-1) - 4I(x,y)$  e,  $\|(u,v)\|$ , che rappresenta la norma del vettore (u,v) è corrispondente a  $\sqrt{u^2+v^2}$ . Questa procedura è innovativa, poiché introduce una soluzione efficiente ed interessante. È inibita la diffusione nei pixel dove l'ICOV associato è elevato e dove la curvatura è ridotta, in modo tale da attenuare il rumore sull'intera immagine. Inoltre, il calcolo della direzione del gradiente dominante locale limita gli errori relativi all'orientamento dei singoli gradienti. Gli edge vengono analizzati singolarmente, in maniera tale da mantenere unicamente coloro che sono associati a pixel identificati da un angolo compreso tra il gradiente di intensità e il gradiente della mappa delle distanze rispetto all'asse mediale che risulti essere inferiore a 30°. Vengono inoltre rimossi tutti gli edge che si trovano ad una distanza eccessiva dall'asse del lume, grazie all'apposizione di una soglia scelta, in precedenza, in maniera del tutto arbitraria. In questo modo è possibile ottenere quella che è una mappa degli edge finale ed è finalmente possibile ricavare il confine MA: utilizzando una spline cubica, determinata da 5 contributi, viene modellizzata l'interfaccia MA, adattata mediante un algoritmo di campionamento casuale chiamato RANSAC. Il processo prevede di estrarre di volta in volta un campione casuale, con l'obbiettivo di trovare il minor numero di punti necessari ad identificare i parametri del modello. Per valutare quando terminare il processo e quindi quando è possibile terminare la modellizzazione della spline, si utilizza una apposita funzione di guadagno, così definita:

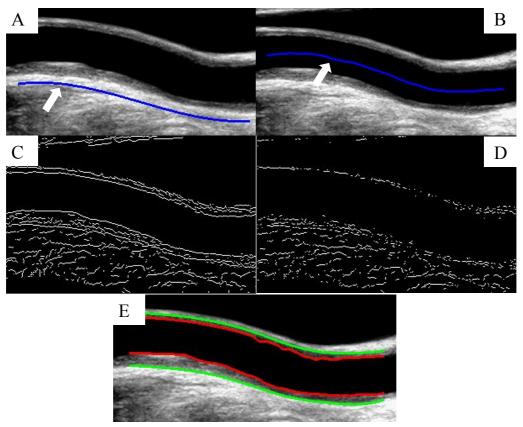
$$G = \frac{1}{2m} \sum_{k=1}^{m} [g_1(P_k) + g_2(P_k)] g_3(P_k) g_4(P_k)$$

con  $P_k$  punto ipoteticamente appartenente all'interfaccia MA, m numero di punti  $P_k$  e  $g_j(P_k) \le j \le 4$  funzione fuzzy rappresentante il contributo della funzione j in  $P_k$ . La funzione di guadagno, per fornire i risultati, tiene conto di diversi contributi quali:

- la coerenza presente tra l'orientamento del modello geometrico e il gradiente di intensità;
- la distanza dal lume stimata;
- la vicinanza tra la stima dell'interfaccia e altri edge;

la vicinanza con altri valley edge.

Grazie alla funzione di guadagno è possibile valutare la correttezza del modello sulla base della popolazione di edge rimanenti; una volta che il processo è terminato la spline cubica sarà il più possibile simile alla reale interfaccia tra media e avventizia. In questo step non viene valutato il confine tra lume e intima in quanto sarà un processo che verrà eseguito solo successivamente. Sono addirittura presenti delle misure di sicurezza introdotte con l'obbiettivo di evitare di confondere gli edge utili a definire l'interfaccia MA con quelli che, invece, appartengono alla LI: vengono infatti rimossi gli edge troppo vicini al lume. Ai fini di confermare la stima viene infine valutata la distanza tra i punti candidati e il tracciato dell'ADF, in modo tale da rimuovere quelli eccessivamente distanti poiché probabilmente appartenenti all'interfaccia errata.



*Fig 5.8.* A. Immagine originale con, sovrapposto, il tracciato ADF; B. La regione di interesse indagata, con sovrapposta la variabile LumenAxis; C. Mappa finale degli edge; D. Mappa complessiva dei valley edge; E. ROI con stima del tracciato LI e MA per la parete distale e per quella prossimale.

# 5.3.3.3 Segmentazione dell'interfaccia LI

Una volta ricavati i pixel appartenenti all'interfaccia MA, l'algoritmo procede nella ricerca dei punti appartenenti all'interfaccia LI. In precedenza, GIMT progrediva nella ricerca mediante unicamente la programmazione dinamica ma ora, a seguito delle modifiche effettuate che hanno visto l'introduzione della funzione phasecongmono.m (vedi capitolo 5.3.3.1) la struttura dell'algoritmo è differente, pur mantenendo diversi tratti comuni. La ricerca degli edge appartenenti all'interfaccia LI, rispetto a quelli appartenenti all'interfaccia MA, è sicuramente più complessa, per via della possibile presenza di placche ipoecogene o, in generale, di regioni ad alta incidenza di artefatti che limitano il contrasto. Per questo motivo, parallelamente a quanto accade in GIMT, anche in questo caso viene avviato un processo di analisi

dell'immagine, atto a valutarne la possibile ipoecogenicità, non prima di aver ulteriormente ridotto dimensionalmente la stessa escludendo le regioni presenti oltre l'interfaccia MA appena rilevata. In caso di risposta affermativa l'immagine viene elaborata in maniera tale da accentuare il contrasto, mediante una nuova normalizzazione dei pixel ed una recidiva enfatizzazione di quelli più luminosi, oltre che una conclusiva nuova fase di "despeckling" di 3 iterazioni. <sup>65-66</sup> Nel caso in cui la risposta sia, invece, negativa, verrà effettuata una semplice normalizzazione e una fase di "despeckling" che tiene conto di un vicinato ridotto rispetto alla precedente. È a questo punto che i due algoritmi, quello attuale e l'originale GIMT, elaborano un percorso diverso, poiché quello in analisi procede mediante l'applicazione della funzione phasecongmono.m, dotata dei seguenti parametri:

- nscale = 6 se l'immagine viene valutata ipoecogena, altrimenti sarà impostato pari a 3;
- minWaveLength = 2;
- mult = 2,1;
- sigmaOnf = 0.62;
- k = 3;
- cutOff = 0.5;
- g = 13;
- deviationGain = 1.5;
- noiseMethod = -1.

Questi parametri sono stati ottenuti a seguito di un percorso di tuning, eseguito con il fine di ottenere i risultati migliori per il set di immagini a disposizione presentate nei capitoli precedenti.

Una volta conseguiti i parametri di output, presentati nel capitolo 5.3.3.1, è stato possibile ricollegarsi all'algoritmo principale, ricavando innanzitutto una matrice di edge dalla quale estrarre quelli utili a modellizzare il confine presente tra lumen e intima. Suddivisa la mappa degli edge in due mappe distinte, una per la parete prossimale ed una per la parete distale, sono stati ricercati, in maniera indipendente l'uno dall'altro, i due migliori tracciati che potessero modellizzare l'interfaccia LI delle due pareti. Per fare ciò è stata utilizzata, anche in questo caso, la programmazione dinamica, sfruttando una funzione di costo che, similmente a quanto visto nella ricerca dell'interfaccia MA, minimizzata offre il miglior percorso possibile nella matrice di edge, dalla prima all'ultima colonna della stessa, che riesca ad abbozzare correttamente l'interfaccia LI. La funzione è matematicamente espressa come:

$$C_t = \sum_{j=1}^N \psi(x_j, y_j)$$

con  $\psi(x_j, y_j) = 1 - ICOV^*(x_j, y_j)$  se  $E(x_j, y_j) = 1$  o  $\psi(x_j, y_j) = 1$  nel caso in cui la precedente affermazione sia falsa. N è il numero di colonne della ROI. <sup>7</sup>

A questo punto l'algoritmo termina la propria esecuzione con una conclusiva fase di pulizia dagli "spike" presenti sia nel tracciato LI che nel tracciato MA, similmente a quanto visto per il calcolo dell'ADF o dell'asse del vaso nello stage I, e con una conclusiva interpolazione delle curve ottenute, in maniera tale da addolcire i risultati. È inoltre presente un conclusivo step di controllo, introdotto con l'obbiettivo di evitare che i profili LI e MA si sovrappongano tra loro o si avvicinino troppo. Questa porzione di codice prevede di adattare ad una misura minima, scelta sulla base di conoscenze derivate dall'anatomia, la distanza tra le due interfacce, regolando il profilo LI di conseguenza e mantenendo inalterato il profilo MA nel caso in cui tale distanza sia inferiore alla soglia.

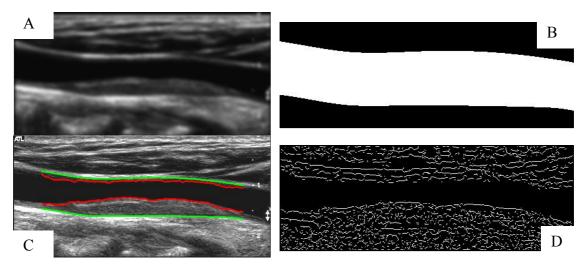


Fig 5.9. A. Immagine originale filtrata; B. Maschera della ROI delimitata dai confini delle due interfacce MA, prossimale e distale; C. Parete distale e prossimale dell'immagine originale con sovrapposte le interfacce LI e MA, rispettivamente in rosso e in verde; D. Mappa degli edge della parete distale e prossimale.

# 5.3.4 Differenze con GIMT

Le differenze presenti tra i due algoritmi si manifestano una volta terminata la segmentazione dell'interfaccia MA. La stima dell'interfaccia LI viene, infatti, effettuata con due approcci differenti: il nuovo algoritmo calcola una mappa degli edge mediante lo studio della fase e della congruenza della stessa, grazie a phasecongmono.m, GIMT valuta la edge map sfruttando il metodo di Canny, con soppressione di non massimi, soglie di isteresi e assottigliamento. Questo algoritmo sfrutta un calcolo multi-stadio per individuare i contorni delle strutture presenti nelle immagini reali. Da un lato, inoltre, la edge map risulta completa, pronta all'utilizzo, con GIMT, invece, l'immagine dovrà seguire un progressivo affinamento prima di assumere la forma finale. Come nel caso dello studio dell'interfaccia MA, viene calcolato il coefficiente di variazione istantanea ICOV, per poi proseguire nella rimozione degli edge presenti al di sopra del profilo MA e al di sopra dell'asse del vaso. <sup>75</sup> In seguito inizia un approccio di programmazione dinamica che può essere espresso in questo modo:

- $E_{all}(x,y)$ , mappa complessiva degli edge, viene impostata per il punto (x,y) pari a 1 se lo stesso è un massimo locale secondo l'ICOV, nella direzione  $\nabla I(x,y)$ . In caso contrario viene posta uguale a 0;
- $E_{strong}(x, y)$ , mappa degli edge più forti, registra il valore  $E_{all}(x, y)$  nella medesima posizione se il valore dell'ICOV in quel punto è maggiore di T, con T soglia calcolata automaticamente dalla statistica. In alternativa  $E_{strong}(x, y) = 0$ ; <sup>76</sup>
- $E(x,y) = E_{all}(x,y)$  se il punto appartiene a omega, cioè la regione delimitata dall'interfaccia MA e l'asse del lume. Se così non fosse si imposta a 0;
- E(x,y) = 0 e  $E_{strong}(x,y) = 0$  se l'angolo compreso tra  $\nabla I(x,y)$  e  $\nabla D(x,y)$  è maggiore o uguale di 90°, con D che rappresenta la mappa delle distanze dall'asse del lume. Grazie a ciò l'algoritmo è in grado di rimuovere gli edge che puntano verso l'interno dell'arteria;
- Se E(x, y) = 1 allora è necessario procedere al calcolo di

$$ICOV^*(x, y) = \frac{ICOV(x, y)}{\max(ICOV(x, y))}$$

cioè la normale di ICOV lungo la direzione verticale. Ciò è utile a fornire nuove opportunità agli edge più deboli nei confronti dei più forti nella competizione a rappresentare LI;

- E(x,y) = 1 se  $E_{strong}(x,y) = 1$  e non sono presenti altri edge in  $E_{strong}$  tra il punto in analisi e l'asse del lume, lungo la verticale. Si imposta  $ICOV^*(x,y) = 1$  per questi edge;
- A conclusione di ciò si sfrutta la programmazione dinamica. Mediante l'equazione di costo proposta, è possibile adattare la spline al profilo reale dell'interfaccia lume-intima.

#### 5.4 Grado di stenosi

L'interfaccia dell'algoritmo sviluppata, una volta terminata l'esecuzione dello step II, fornisce all'utente la possibilità di un rapido calcolo relativo al grado di stenosi, espresso in forma percentuale a partire dal diametro minimo e dal diametro massimo, misurati in millimetri. L'algoritmo che ne permette la valutazione è in realtà molto semplice e sfrutta la distanza Polyline (PDM, Polyline Distance Method), la quale sarà presentata nei capitoli successivi. Le ridotte stringhe di codice prevedono, quindi, di calcolare la PDM tra i profili delle interfacce lume-intima delle pareti prossimale e distale e, una volta ricavati i due vettori contenenti le distanze di tutti i vertici del primo profilo dal secondo e viceversa (distanze di tutti i vertici del secondo profilo dal primo), vengono calcolati diametro minimo e diametro massimo, rispettivamente come media dei 5° percentili e media dei 95° percentili dei due vettori. Il grado di stenosi, infine, è calcolato come:

$$StenosisDegree = \frac{1 - minDiameter}{maxDiameter} \times 100$$

### 6. Validazione

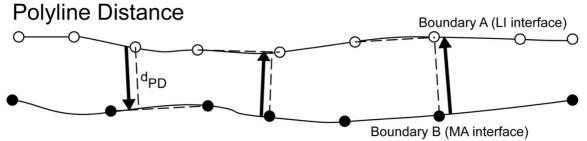
L'obbiettivo che ha spinto numerosi gruppi di ricerca a concentrare i propri sforzi nella segmentazione carotidea è stato principalmente quello di sviluppare un algoritmo che garantisse di poter valutare l'ispessimento dell'intima-media in maniera automatizzata, con costi computazionalmente ridotti, con buone prestazioni e, ovviamente, con risultati validi tanto da poter essere utilizzati in clinica. L'algoritmo proposto in questo progetto è riuscito discretamente in questi compiti e ha, inoltre, introdotto la possibilità di valutare l'IMT anche in presenza di placche aterosclerotiche, una innovazione rispetto a molti dei metodi presentati nel capitolo 4.2.1. L'algoritmo esaurisce la propria funzione nel momento in cui ricava i profili delle interfacce LI e MA sia per la parete prossimale che per quella distale o, eventualmente, con il calcolo del grado di stenosi, come trattato nel capitolo 5.4. A questo punto, quindi, per ottenere una stima dell'ispessimento dell'intima-media, è necessario calcolare la distanza presente tra il vettore LI e il vettore MA, possibilmente per entrambe le pareti carotidee ma, prima di ciò, è importante che sia stata eseguita la fase di rimozione degli "spike" e la fase di interpolazione, presentate al termine del capitolo 5.3.3.3. I picchi spuri sono stati ricercati tra i punti che fossero superiori alla metà della dimensione media delle pareti arteriose di una soglia scelta arbitrariamente, cioè sono stati eliminati tutti quei punti che ad esempio, considerando lo spessore medio delle pareti in condizione fisiologica pari a 1 mm, si discostavano dalla media di circa 0.625 mm. Gli "spike" individuati sono stati rimossi e sostituiti con la media del loro vicinato, per poi interpolare i vettori ottenuti mediante spline cubiche.

Una volta terminata questa fase è finalmente possibile calcolare l'IMT, mediante l'utilizzo della distanza Polyline (PDM), ottimale in questo caso poiché garantisce delle valutazioni indipendenti dal numero di punti di cui sono costituiti i profili; è inoltre una modalità semplice e diretta. Al termine del secondo step vengono utilizzati i profili delle variabili LI e MA, sia per la parete prossimale che per quella distale, come argomenti di input per la funzione PolyDistMethod, ad ottenere 3 variabili di output che saranno oggetto di confronto con gli output ottenuti dalla stessa funzione applicata, però, sui profili LI e MA segmentati manualmente in precedenza da personale qualificato. In questo modo sarà possibile ottenere non solo una stima dell'IMT ma, allo stesso tempo, un confronto con il gold standard utile a valutare le prestazioni dell'algoritmo. <sup>55</sup>

Il Polyline Distance Method lavora calcolando la distanza presente tra due curve, ad esempio rispettivamente  $B_1$  e  $B_2$ , che devono essere fornite come input. Considerando la prima curva  $B_1$  e i punti di cui è composta, il PDM calcolerà la distanza minima di ognuno di essi dalla seconda curva  $B_2$ , ottenendo in questo modo un primo output, ad esempio  $d(B_1, B_2)$ . Ne consegue che la distanza tra i vertici di  $B_1$  e i segmenti di  $B_2$  è quindi definita come la somma delle distanze dai vertici di  $B_1$  al segmento più vicino di  $B_2$ . Allo stesso modo il PDM calcolerà la distanza a ruoli inversi, cioè da ogni punto appartenente a  $B_2$  al vettore  $B_1$ , rispettivamente  $d(B_2, B_1)$ . La distanza Polyline produce un terzo parametro di output, descritto matematicamente come: <sup>56</sup>

$$D(B_1, B_2) = \frac{d(B_1, B_2) + d(B_2, B_1)}{(\# of \ vertices \ of \ B_1 + \# \ of \ vertices \ of \ B_2)}$$

che sarà il termine di paragone che permetterà di valutare le prestazioni dell'algoritmo, poiché rappresenta la vera variabile di interesse, cioè l'IMT.



*Fig 6.1.* Immagine esplicativa del funzionamento della distanza Polyline: la PDM è calcolata come la distanza perpendicolare presente tra un punto di una interfaccia, ad esempio la A in figura, e il segmento più vicino appartenente ad una seconda curva, ad esempio la B in figura. <sup>7</sup>

Mediante lo sfruttamento delle interfacce LI e MA, ottenute mediante segmentazione manuale grazie al lavoro di alcuni ecografisti esperti, è stato possibile quantificare le prestazioni del nuovo algoritmo e, secondariamente, eseguire un confronto con le prestazioni dell'originale GIMT. Con questo obbiettivo saranno proposti alcuni parametri di valutazione come:

• l'errore, assoluto e non, corrispondente al modulo della differenza tra l'IMT misurato manualmente e quello misurato automaticamente, anche definito bias della misura.  $IMT_{AUTO}$  rappresenta il valore dell'IMT calcolato dall'algoritmo,  $IMT_{MAN}$  quello calcolato dai profili segmentati dall'operatore.

$$Errore = IMT_{BIAS} = IMT_{AUTO} - IMT_{MAN}$$
 
$$Errore \ assoluto = |IMT_{BIAS}| = |IMT_{AUTO} - IMT_{MAN}|$$

• l'accuratezza percentuale, assoluta e non, calcolata come:

$$Accuratezza\ percentuale = \frac{IMT_{AUTO} - IMT_{MAN}}{IMT_{MAN}} \cdot 100$$
 
$$Accuratezza\ percentuale\ assoluta = \left|\frac{IMT_{AUTO} - IMT_{MAN}}{IMT_{MAN}} \cdot 100\right|$$

• il coefficiente di Dice, calcolato come:

$$DC = \frac{2VP}{2VP + FP + FN}$$

con, in presenza di due maschere, una ottenuta dalla segmentazione manuale e una ottenuta dalla segmentazione automatica:

- VP o vero positivo. Dato un pixel (x, y) esso è pari a 1 sia per la maschera manuale che per la maschera automatica;
- FP o falso positivo. Dato un pixel (x, y) esso è pari a 0 per la maschera manuale ed è pari a 1 per la maschera automatica;
- VN o vero negativo. Dato un pixel (x, y) esso è pari a 0 sia per la maschera manuale che per la maschera automatica;
- FN o falso negativo. Dato un pixel (x, y) esso è pari a 1 per la maschera manuale ed è pari a 0 per la maschera automatica.
- la differenza tra il grado di stenosi calcolato a partire dai profili segmentati manualmente e quelli segmentati automaticamente.  $d_{MIN}$  rappresenta il diametro minimo del vaso,  $d_{MAX}$  quello massimo:

$$Grado\ di\ stenosi = \frac{1-d_{MIN}}{d_{MAX}}*100$$

Il coefficiente di Dice è di particolare importanza: considerando che l'IMT rappresenta una misura di distanza, può essere considerato per certi versi limitativo se l'obbiettivo è quello di valutare la corrispondenza, intesa come capacità di replicazione, tra le interfacce LI e MA segmentate automaticamente e quelle segmentate manualmente, cioè il gold standard. Il coefficiente di Dice, invece, è portato ad una valutazione di questo tipo, considerando che esso esprime una misura della somiglianza tra le due regioni sottese dalle interfacce (quella ottenuta manualmente e quella ottenuta automaticamente). Ne consegue, quindi, che in questo caso l'utente è in possesso di uno strumento in grado di rapportare delle aree che, per confermare la bontà dell'algoritmo, devono essere il più possibile sovrapposte. Inoltre, ai fini della valutazione delle prestazioni, sono stati prodotti alcuni grafici di correlazione: un istogramma degli errori che rapporta gli errori nella misura dell'IMT in millimetri (bias della misura) alle frequenze cumulative, rispettivamente nell'asse x e nell'asse y, e il grafico di Bland-Altman, che rapporta la media degli IMT misurati con metodo manuale e metodo automatico alla loro differenza.

A concludere, per riassumere le prestazioni dell'algoritmo, verranno valutate, per ogni variabile, media totale e deviazione standard, così da ottenere dei parametri generali e oggettivi di confronto; il calcolo medio, infatti, costituisce una misura della precisione, la deviazione standard ne costituisce la riproducibilità. <sup>55-69</sup> Per contestualizzare i risultati prodotti, nel capitolo successivo sarà inoltre possibile confrontare le prestazioni dell'algoritmo attuale con quelle di GIMT. In questo modo la fase di validazione può dirsi completa.

### 7. Risultati

# 7.1 Prestazioni dello stage I

Focalizzando l'attenzione sul primo stadio, per valutare le prestazioni dei due algoritmi automatizzati CAMES e CULEX, si è deciso di usufruire delle valutazioni ottenute dagli sviluppatori del precedente GIMT, poiché in questo progetto l'attenzione è rivolta ad una modifica del secondo stage. L'avventizia della parete distale è stata riconosciuta in ogni caso proposto, più o meno correttamente per via della variabilità anatomica e qualitativa delle immagini contenute nel database. L'ADF è riconosciuta meglio nel caso in cui si analizzino delle immagini in cui la carotide è disposta il più possibile orizzontalmente ed è il più possibile tendente a mantenere una anatomia semplice e regolare. Considerando un valore limite, in pixel, pari a 60, l'altezza massima di una zona di guida correttamente supportata per l'analisi più o meno corretta delle interfacce lume-intima e media-avventizia, è pari a 3,6 mm. La precisione di identificazione dell'avventizia nella parete distale è, per CAMES, pari al 95% mentre per CULEX è pari al 90,9%. Ciò evidenzia una più accurata capacità di valutazione da parte del primo algoritmo: ne consegue che, considerata l'importanza di questo step nell'effettiva realizzazione del secondo e l'influenza delle prestazioni del primo nelle prestazioni complessive, che CAMES garantirà risultati migliori nella segmentazione delle interfacce LI e MA e, di conseguenza, nella stima dell'IMT. <sup>7</sup>

In alcuni casi, grazie all'utilizzo di un test delle statistiche percentuali, è risultato che le prestazioni di CAMES sono paragonabili a quelle realizzabili mediante la segmentazione manuale, in quanto discordanti dal gold standard allo stesso modo in cui una seconda segmentazione manuale discosta da esso. A riconferma della bontà delle prestazioni proposte da questi due algoritmi, è necessario ricordare che parte del margine d'errore individuato in questa trattazione è da assegnare alla presenza, contemporanea, di individui sani e individui malati nello stesso database. <sup>63</sup>

#### 7.2 Prestazioni dello stage II – prestazioni complessive

I risultati presentati in questo capitolo sono ottenuti elaborando la variegata tipologia di immagini che compongono il database presentato nel capitolo 5.2. Questa precisazione è necessaria a pesare adeguatamente i risultati e, in questo modo, comprendere al meglio con quali algoritmi è consono realizzare un confronto. Questo metodo analizza carotidi comuni di ogni genere, fisiologiche o patologiche, disposte orizzontalmente o inclinate, in presenza di calcificazioni o prive, capacità che non sempre sono condivise dagli altri metodi proposti nel corso del tempo. Il database è composto di 542 immagini, di diversa provenienza, con diversi fattori di calibrazione e ottenute con diverse apparecchiature, oltre che parametri di acquisizione. Sulla totalità delle immagini a disposizione soltanto 14 non sono state processate, per cause differenti che vanno da una post-elaborazione delle acquisizioni che ha alterato la normale distribuzione delle intensità dei pixel (lume bianco), ad una qualità dell'immagine davvero scarsa. Nel mezzo è stato possibile individuare altre cause, tra cui la presenza di calcificazioni, che hanno provocato la formazione di LI discontinui, e immagini in cui l'incidenza del rumore era eccessiva, sintomo che probabilmente l'acquisizione andava ripetuta. Ai fini di confrontare le effettive prestazioni dell'algoritmo è necessario spiegare che GIMT, in precedenza, sulla base dello stesso database forniva un numero di immagini non processate pari a 29. Ne consegue che da un lato, per l'algoritmo attuale, è possibile affermare che solo il 2,58% delle immagini non vengono processate, mentre dall'altro, per GIMT, l'errore sale al 5,35%, cioè circa il doppio.

Ai fini di ottenere le seguenti prestazioni è stato necessario un tuning dei parametri di input della funzione phasecongmono.m, elencati nel capitolo 5.3.3.1, che è stato utile ad affinare le prestazioni. È importante precisare che in alcuni casi è stato necessario scegliere tra una maggiore qualità di segmentazione della parete distale o una maggiore qualità per la parete prossimale: spesso, in questi casi, è stato scelto un compromesso.

Di seguito è proposta una tabella (Tab 7.2) riassuntiva che evidenzia, nei parametri di valutazione scelti, le prestazioni del nuovo algoritmo:

	Algoritmo con pl	hasecongmono.m	GIMT		
	PARETE PROSSIMALE	PARETE DISTALE	PARETE PROSSIMALE	PARETE DISTALE	
MEDIA ASSOLUTA DEI BIAS DELL'IMT (in mm)	$0.577 \pm 0.861$	$0.296 \pm 0.547$	$0.596 \pm 0.923$	$0.245 \pm 0.471$	
MEDIA DEI BIAS DELL'IMT (in mm)	$0.255 \pm 1.005$	$0.009 \pm 0.622$	$0.308 \pm 1.055$	$-0.010 \pm 0.530$	
MEDIA ASSOLUTA DELLE ACCURATEZZE PERCENTUALI	71.213 ± 117.541	29.067 ± 61.524	77.489 ± 171.252	23.640 ± 46.849	
MEDIA DELLE ACCURATEZZE PERCENTUALI	$55.560 \pm 125.700$	$8.071 \pm 67.565$	63.434 ± 176.941	$5.370 \pm 52.200$	
MEDIA DEI COEFFICIENTI DI DICE	$0.520 \pm 0.287$	$0.734 \pm 0.278$	$0.559 \pm 0.290$	$0.760 \pm 0.264$	
MEDIA DEI BIAS DEL GRADO DI STENOSI	14.901 ± 22.670		$18.705 \pm 21.216$		

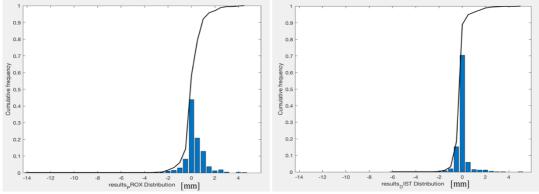
Tab 7.1. Questa tabella propone, per la prima riga, la media dei valori assoluti dei bias dell'IMT, per la seconda, la media dei bias dell'IMT, per la terza, la media delle accuratezze percentuali calcolate in modulo assoluto, per la quarta, la media delle accuratezze percentuali e, per la quinta, la media dei coefficienti di Dice. Nella parte destra sono presenti gli stessi parametri, calcolati con GIMT per agevolare un rapido confronto.

I risultati migliori, ovviamente, sono registrabili per la parete distale. Il motivo è semplice: la possibile placca di questa regione è direttamente irradiata dall'onda ultrasonora mentre quella prossimale sarà coperta dalla presenza della struttura stratificata della parete. In questo ultimo caso l'ultrasuono dovrà attraversare il vaso prima di irradiare l'eventuale lesione, venendo quindi attenuato. Osservando soprattutto la media delle differenze tra l'IMT segmentato automaticamente e quello segmentato manualmente, chiamato bias dell'IMT, è chiaro che il valore registrato per la parete distale è di assoluta rilevanza:  $0.009 \pm 0.6217$  mm. In realtà è molto buono anche il valore fatto registrare per la parete prossimale, pari a  $0.255 \pm 1.0048$  mm. È interessante anche analizzare le deviazioni standard di queste due misure: è evidente che, a

fronte di un errore medio così contenuto, sono anche presenti dei singoli casi in cui le differenze tra l'IMT manuale e l'IMT automatico sono davvero molto rilevanti, oltre il millimetro per la parete prossimale e prossimo a 0,5 millimetri per la parete distale. Altro parametro importante è la media dell'accuratezza percentuale pari a 8,071  $\pm$  67,5649 e 55,560  $\pm$  125,6997, rispettivamente per la parete distale e la parete prossimale. Anche in questo caso le deviazioni standard elevate confermano la presenza di alcune segmentazioni delle interfacce LI e MA, che conducono al calcolo dell'IMT, davvero errate. La media delle accuratezze percentuali è molto buona per la parete distale, chiara indicazione della qualità della misura e della vicinanza tra la valutazione automatica e quella reale. Nel caso della parete prossimale, è chiaro che la distanza tra le due stime, quella manuale e quella automatica, è molto importante, sintomo che in questo caso la misura è molto meno accurata per via della presenza, probabile, di numerosi errori sistematici oltre che casuali. Infine, vista l'importanza del coefficiente di Dice, sono apprezzabili entrambi i valori ottenuti, sia per la parete distale che per quella prossimale, in genere meno prestazionale. Per la parete distale è notevole il risultato ottenuto, considerato che, in alcuni casi, sono stati registrati dei coefficienti di Dice prossimi a 0,90.

Con l'obbiettivo di permettere un paragone tra le prestazioni dei due algoritmi presentati in questo progetto, è possibile analizzare anche i risultati ottenuti mediante GIMT, osservando gli stessi parametri presentati nella tabella precedente nelle colonne di destra. Come è possibile intuire dal confronto tra le due tabelle è chiaro che il nuovo algoritmo è prestazionalmente simile al precedente, migliore nella valutazione dell'IMT ma parzialmente peggiore nella stima del coefficiente di Dice. Analizzando, ad esempio, la media del bias del valore IMT è chiaro che, oltre a presentare un errore contenuto per entrambe le pareti rispetto al GIMT, il nuovo algoritmo tende a ridurre il numero di segmentazioni eccessivamente distanti dal ground-truth, grazie ad una deviazione standard contenuta per questa misura nella parete distale. Per la parete prossimale, invece, la deviazione standard è pressoché identica. La media delle accuratezze percentuali è superiore per GIMT nella parete prossimale, mentre la deviazione di standard, per entrambe le pareti, conferma l'andamento visto con il parametro precedente, a conferma della bontà di phasecongmono.m. Evidente è, invece, il miglioramento introdotto per la parete prossimale, per la quale le misurazioni risultano ora essere molto più accurate. Infine, analizzando il coefficiente di Dice, l'algoritmo originale sembra mostrare delle prestazioni leggermente superiori, accompagnato da una deviazione standard che risulta pressoché identica per entrambi gli algoritmi. Ciò conferma l'evidente validità del primo processo ma, allo stesso tempo, evidenzia le altrettanto ottime prestazioni del nuovo algoritmo. Complessivamente l'ago della bilancia potrebbe comunque pendere vero il nuovo, poiché dotato di prestazioni superiori o tutt'al più uguali al precedente ma con un errore di processamento inferiore, come evidenziato all'inizio del capitolo. Inoltre anche la media dei bias delle misure del grado di stenosi sono inferiori, a dimostrazione di una grande vicinanza dei tracciati LI ricavati con phasecongmono.m ai tracciati LI segmentati manualmente.

Per completare l'analisi delle prestazioni dell'algoritmo è possibile fornire gli istogrammi del bias della misura dell'IMT relativi alle pareti prossimali e distali della carotide.



# Fig 7.1. A sinistra istogramma relativo alla parete prossimale, a destra relativo alla parete distale.

Per completezza, successivamente saranno riportati gli stessi istogrammi realizzati per l'algoritmo originale GIMT.

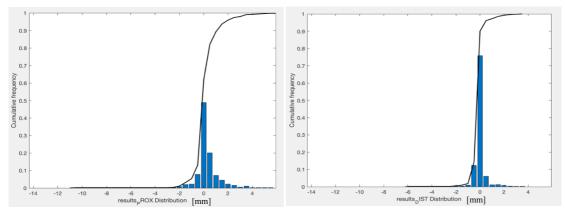


Fig 7.2. A sinistra istogramma relativo alla parete prossimale, a destra relativo alla parete distale.

Di seguito sono proposti di diagrammi di Bland-Altman, prima per il nuovo algoritmo, poi GIMT.

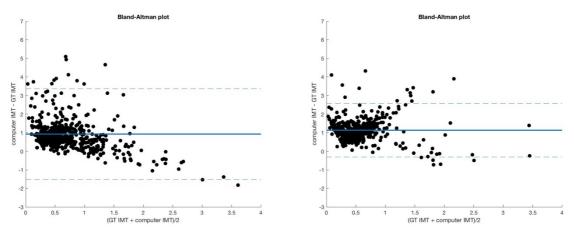


Fig 7.3. A sinistra è proposto il diagramma di Bland-Altman per la parete prossimale, a destra per la parete distale.

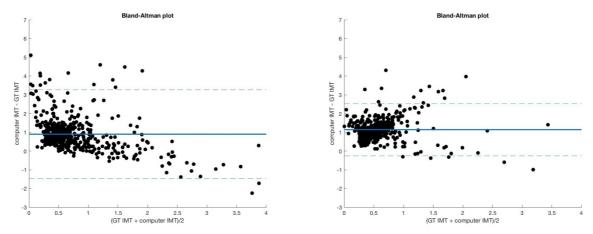


Fig 7.4. A sinistra è proposto il diagramma di Bland-Altman per la parete prossimale, a destra per la parete distale.



Fig 7.5. Nella figura è presente un esempio di segmentazione automatica delle interfacce di LI, in rosso, e di MA, in verde, confrontate con le corrispettive, in giallo, segmentazioni manuali. La posizione degli asterischi indica i singoli punti posizionati dall'operatore nell'individuare l'interfaccia. Come è possibile vedere i tracciati sono pressoché sovrapposti, a conferma delle ottime prestazioni dell'algoritmo.

### 7.3 Discussione conclusiva

L'aspettativa legata all'ispezione visiva di alcuni esempi di segmentazione è pressoché concorde con le valutazioni statistiche che sono state ottenute mediante lo studio dei parametri introdotti in questi ultimi capitoli. I valori anomali riscontrati sono fortunatamente contenuti, poiché nella quasi totalità dei casi l'algoritmo individua correttamente la zona di interesse e, più o meno coerentemente, è in grado di individuare le due interfacce per parete utili a ricavare l'IMT. I risicati casi in cui l'algoritmo sceglie la ROI errata sono per lo più conseguenza di una incidenza esagerata di artefatti e rumore, a corrodere completamente l'immagine, o conseguenza di una distribuzione dei livelli di grigio diversa da quella comune alle restanti immagini del database, che complica il compito dell'algoritmo fin dai primi step. In questi casi, infatti, è addirittura difficile il riconoscimento della cornice nera che circonda la vera acquisizione, per via della presenza di gradienti di intensità importanti che limitano l'azione del filtro. In alcuni casi il riconoscimento della regione del lume è complesso, poiché colorato di bianco o per via di eccessivo rumore o per via dell'azione dell'operatore che modifica l'acquisizione a seconda delle proprie esigenze.

La tendenza generale è comunque evidente e, che si parli di GIMT o dell'algoritmo attuale, è chiaro l'IMT sia per lo più sovrastimato per via di un eccesso di rumore o di un eccesso di artefatti. All'interno del database sono presenti immagini con depositi di calcio e con interruzioni dello strato dell'intima, anche a causa di angoli di insonazione errati, che inducono gli algoritmi all'errore. Analizzando i parametri prestazionali è evidente come CAMES sia più sensibile di CULEX ma allo stesso tempo sia più specifico. CAMES, inoltre, genera profili molto regolari ma generalmente distorti nella parte inferiore dell'immagine. Ovviamente l'ideale sarebbe ottenere un algoritmo dotato di elevata specificità e meno sensibile all'enorme variabilità delle diverse acquisizioni ma, nella realtà, è molto più apprezzata la prima rispetto alla seconda, per via del conseguente utilizzo clinico che si suppone per questi algoritmi. È ipotizzabile che entrambi i processi analizzati in questo progetto, una volta migliorati, siano usufruibili nella valutazione del rischio cardiovascolare in ambito clinico, poiché sono dotati di alta specificità, superiore al 90%; ciò è estremamente utile nell'isolamento dei pazienti a basso rischio.

Gli errori introdotti potrebbero avere diverse cause: GIMT sembra sviluppare una maggiore difficoltà nell'individuazione dell'avventizia con CAMES e nel secondo step, per via dei bassi

gradienti che rendono complesso il riconoscimento del profilo LI, mentre il più recente algoritmo sembra sviluppare maggiori difficoltà nella prima fase di pre-elaborazione dell'immagine. In questo ultimo caso è probabile che, migliorando o modificando il filtraggio e il "despeckling" sulla base del nuovo phasecongmono.m e sulla base delle sue esigenze, sia possibile attenuare gli errori. Considerate le numerose tipologie di immagini presenti nel database, potrebbe essere migliorato anche lo step di cropping della cornice, con eliminazione delle informazioni superflue, poiché spesso l'attuale soluzione manca nell'individuarne i confini o lasciandone una porzione o finendo per eliminare anche parti rilevanti dell'immagine. Come anticipato, a condizionare l'effettiva capacità discriminatoria dell'attuale soluzione, è la spesso mancata standardizzazione dei livelli di luminosità dei pixel, come dimostrato nella segmentazione di immagini come "study 501.bmp".

Altre considerazioni possono essere fatte sui diversi risultati che comportano algoritmi diversi al primo step applicati alla stessa acquisizione. La regione di interesse, ad esempio, varia in dimensione per la stessa immagine nel caso in cui siano utilizzati CAMES o CULEX. Alla base di ciò è presente la diversa formulazione attraverso la quale viene ricavata la ROI e, prima ancora, l'avventizia della parete distale. Ne consegue, quindi, anche una diversa lunghezza dei profili di media-avventizia e lume-intima, ricavati comunque real-time. La stessa situazione è analizzabile nel caso in cui la segmentazione sia manuale al primo stage: in questo caso è possibile scegliere in maniera del tutto arbitraria la dimensione della ROI e, di conseguenza, la lunghezza dei profili di LI e MA. La segmentazione manuale regala, spesso, dei risultati stabili e coerenti in ogni condizione: ciò conferma quanto affermato in precedenza sui metodi semiautomatici, quindi l'ottima accuratezza e l'ottima ripetibilità. Il motivo delle prestazioni spesso superiori è da ricercare nel ruolo attivo dell'utente che, in base alla propria esperienza e in base ad una precisa indagine visiva, ha la possibilità di scegliere e dimensionare la migliore ROI possibile, ricavata nelle regioni in cui il rumore e gli artefatti locali hanno una minore incidenza. L'operatore, in genere, individuerà la regione di interesse in una zona in cui i confini delle due interfacce sono netti o comunque più evidenti che nelle regioni circostanti, in modo tale che l'algoritmo edge-detector sia in grado di fare al meglio il proprio lavoro. <sup>56</sup> Assimilato l'importante ruolo che appartiene al primo step, è necessario evidenziare come CAMES sia l'algoritmo che, in assoluto, ha mostrato le migliori capacità di individuazione della regione di interesse e, di conseguenza, del tracciato dell'avventizia distale, abbinato a ridotti costi computazionali e alla completa automazione. Questo algoritmo, quindi, è evidentemente tra i leader delle tecniche di individuazione della carotide comune sfruttate con l'obbiettivo di valutare l'ispessimento medio-intimale. <sup>7</sup>

CAMES e CULEX si sono dimostrati sufficientemente robusti al backscattering del sangue ma, come spesso accade con questi artefatti, anche questi algoritmi hanno prodotto segmentazioni di interfacce LI discontinue, evidenza di come l'instabilità registrata in queste condizioni difficilmente può essere risolta da metodi euristici di rimozione dei picchi spuri. <sup>56</sup> CAMES e CULEX possono soffrire altre problematiche, ad esempio legate alla conformazione anatomica dei vasi o alla presenza di placche calcificate che provocano la comparsa di ombre acustiche. <sup>7</sup>

Uno dei problemi più interessanti affrontati nello sviluppo dell'algoritmo è relativo alla diversa provenienza delle immagini poiché, con ogni probabilità, esse saranno dotate di diversa risoluzione. Ad ogni modo, qualsiasi sia il processo eseguito al primo step, l'algoritmo sembra produrre ottimi risultati qualsiasi sia la risoluzione delle acquisizioni, con poche eccezioni rappresentate dalle immagini di scarsa qualità. Un diverso discorso può essere fatto sui diametri delle arterie che, pur non essendo standardizzati, non hanno provocato alcun errore in fase di segmentazione.

I risultati sono comunque promettenti: il bias dell'IMT è generalmente paragonabile, come anticipato nei capitoli precedenti, a quello ottenibile mediante tecniche semi-automatiche,

mentre il coefficiente di Dice è in realtà generalmente inferiore a quello di queste ultime. Come già anticipato è comunque difficile realizzare dei confronti poiché in questo caso vengono segmentate automaticamente anche regioni di interesse dotate di placche: la presenza di una di esse può alterare la singola prestazione, soprattutto se questa sporge esageratamente verso l'interno del lume o è ipoecogena, quindi a basso contrasto. Il database a disposizione è costituito da tutte immagini di tratti di carotidi comuni provviste di placche e ciò comporta una decisa influenza sulle prestazioni complessive.

Per concludere è consigliabile ipotizzare la creazione di un algoritmo ibrido che possa coniugare le migliori caratteristiche di ogni tecnica, in modo da colmare i difetti delle stesse considerate singolarmente. Tale ibrido dovrà necessariamente essere versatile, dotato di ridotti costi computazioni e di facilità di approccio alla segmentazione di ampi database di immagini; i risultati dovranno essere riproducibili. <sup>56</sup> L'obbiettivo è sempre quello di produrre un algoritmo automatizzato che possa essere utilizzato in ambito clinico, ad esempio in studi epidemiologici, anche con immagini a basso contrasto e bassa risoluzione. È volontà comune realizzare un prodotto che possa confermare che la misurazione IMT automatizzata deve essere considerata un parametro affidabile nella valutazione dello status delle malattie cardiovascolari.

# 8. Conclusioni prima parte

Le immagini longitudinali ad ultrasuoni B-mode hanno rivelato la loro importante utilità come mezzo in grado di fornire i parametri morfologici vascolari adatti a diagnosticare alcune malattie dell'apparato cardiovascolare, su tutte l'aterosclerosi in via precoce. Analizzando il primo step siamo in grado di affermare che CAMES risulta essere il metodo migliore per individuare la carotide comune, nel confronto eseguito con l'alternativa CULEX, oltre che candidarsi come uno tra i migliori algoritmi utili al fine di segmentare le pareti carotidee per valutare l'ispessimento dell'intima-media. Spostando l'attenzione al secondo step, è chiaro che i risultati preliminari proposti mostrano una maggiore capacità del nuovo algoritmo di individuare accuratamente le interfacce presenti tra le diverse tuniche e il lume, a discapito dei costi computazionali che risulteranno necessariamente più elevati. L'algoritmo è comunque completamente automatizzato e non richiede alcuna inizializzazione, esattamente come GIMT, mantenendo quindi inalterati certi punti di forza introdotti dal precedente. Ricavare l'IMT non rappresenta, quindi, un problema, anche in presenza di lesioni tali da invadere il lume del vaso.

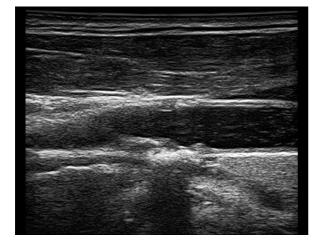
È naturalmente necessario procedere con ulteriori fasi di test e verifica dell'algoritmo proposto ma, preliminarmente, i risultati sono brillanti e di assoluto interesse. A fronte di qualche errore sporadico, il nuovo algoritmo ha mostrato di saper svolgere il proprio compito nelle situazioni più disparate, in presenza di condizione fisiologica o patologica, in presenza di CCA dritte ed orizzontali o vasi di complessa geometria e obliqui. Gran parte del merito dell'effettiva riuscita di ciò è da assegnare ad un'ottima fase di pre-elaborazione delle immagini, ereditata in toto da GIMT, senza la quale difficilmente sarebbe stato possibile giungere a questi risultati: grazie ad essa anche artefatti come calcificazioni o complicazioni quali lesioni ipoecogene non rappresentano più un problema.

L'introduzione di ottimi strumenti di valutazione e confronto quali, ad esempio, il coefficiente di Dice, garantiscono la possibilità di comprendere al meglio le reali potenzialità, oltre che i punti deboli, dell'algoritmo, così da poter intervenire per correggere o limitare alcuni di essi, come la recidiva sovrastima che affligge le misurazioni con conseguente aumento del numero di falsi negativi.

È possibile concludere, quindi, ribadendo la bontà del progetto svolto finora che ha condotto verso la possibilità di sviluppare un prodotto completamente automatizzato, adatto a segmentare anche in presenza di lesioni e pressoché real-time. I costi computazionali sono cresciuti, come anticipato, rispetto al codice originale ma è anche necessario precisare che il nuovo algoritmo è sprovvisto di un code raffinato, perciò è oggettivo affermare che una azione di rifinitura e miglioria dello stesso possa portare notevoli vantaggi.

# 9. Segmentazione di volumi

In questo capitolo è proposto un nuovo metodo per la segmentazione semiautomatica delle interfacce lume-intima e media-avventizia, a partire da immagini longitudinali B-mode della carotide comune. 80 Il nuovo algoritmo è necessario per via della particolarità del database, diverso dal precedente, costituito questa volta da due volumi suddivisi in slices prelevate spostando la sonda sul collo del paziente, in modo che dalle prime alle ultime acquisizioni si possa vedere interamente lo svolgersi dell'arteria. In questo caso, ovviamente, i coefficienti di calibrazione saranno costanti per ogni slice dello stesso volume. La particolarità del database ha reso difficile la possibilità di applicare l'algoritmo precedentemente proposto alla segmentazione di queste immagini, per via della loro varietà che, soprattutto per le prime slices e per le ultime, impedisce una discriminazione anche solo visiva della regione di interesse. Per questo motivo si è scelto di intervenire mediante la realizzazione di un nuovo algoritmo che implementi una soluzione automatica, a partire da una prima segmentazione eseguita a parte sulla slice centrale, scelta arbitrariamente, cioè quella in cui è più facile individuare il tratto di carotide comune. In questo modo è stato possibile indirizzare l'algoritmo verso la regione di interesse corretta delle slices successive e antecedenti, sfruttando una conoscenza pregressa che funge da guida per l'intero processo. Grazie a questa iniziale informazione, l'algoritmo è in grado di procedere con la segmentazione della slice immediatamente successiva a quella centrale e con quella immediatamente precedente, per poi continuare l'esecuzione inizialmente verso la slice finale, poi dal centro verso quella iniziale. Ad ogni segmentazione di una nuova immagine, l'algoritmo procederà innanzitutto mediante il caricamento dei tracciati della slice antecedente/successiva, a seconda che si parli di procedere verso la slice finale o verso quella iniziale, che sono stati in precedenza salvati automaticamente una volta ricavati. Ne consegue, quindi, che solamente la prima slice analizzata, cioè quella centrale, sarà segmentata a parte mentre le successive saranno segmentate automaticamente a partire dai tracciati salvati di volta in volta della precedente o antecedente slice. Quindi, sulla base del concetto che immagini immediatamente successive saranno molto simili tra loro, con lievi differenze dovute al leggero avanzamento della sonda lungo la superficie del collo, è possibile restringere l'area di ricerca degli edge ad una porzione ridotta di immagine, delimitata dai tracciati ricavati iterazione dopo iterazione.



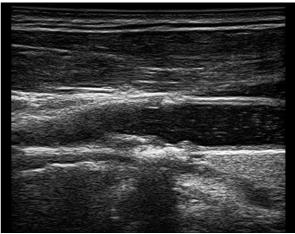


Fig 9.1. In esempio sono riportate due slices successive tra loro relative al primo volume parte del database. Come è possibile notare la differenza tra le due è assolutamente ridotta perciò, avendo a disposizione i trattati LI e MA della prima slice, è semplice ricavare quelli della seconda.

Nello specifico i tracciati saranno utilizzati con l'obbiettivo di ottenere delle maschere poligonali della regione di interesse, mediante la funzione roipoly.m, utili per ricercare le nuove interfacce LI e MA della slice in analisi. Le maschere ricavate saranno tre per parete, una relativa all'intera regione, una relativa alla posizione in cui sarà presente la prima interfaccia, una relativa alla posizione della seconda.

Anche in questo caso, a precedere il vero svolgimento dell'algoritmo, sono presenti degli step già visti per quello precedente quali: interpolazione e adattamento allo stesso supporto dei tracciati di LI e MA segmentati manualmente per la slice centrale, aggiustamento delle tonalità di grigio, quindi normalizzazione delle intensità, e "despeckling", sfruttando un vicinato ridotto 3x3 e due sole iterazioni.

### 9.1 RANSAC

Una volta terminata la fase di pre-elaborazione delle immagini, l'algoritmo, mediante RANSAC, procederà nella ricerca delle interfacce LI e MA, a partire dalle maschere ricavate nello step precedente, non prima di aver eseguito alcuni step comuni con l'originale algoritmo GIMT. RANSAC, cioè il processo di campionamento casuale, è già stato introdotto nel capitolo 5.3.3.2. Similmente a quanto accaduto in quel caso, l'algoritmo viene utilizzato per ricercare la migliore spline cubica che modellizzi l'interfaccia MA soltanto che, questa volta, lo stesso processo viene eseguito anche con il fine di modellizzare l'interfaccia LI. La scelta di utilizzare questo algoritmo è dettata da alcune peculiarità che lo contraddistinguono: esso risulta robusto al rumore "speckle" e ad altri artefatti, è in grado di adattarsi a morfologie articolate come quelle vasali, è in grado di monitorare l'uniformità globale e richiede una interazione minima da parte dell'operatore. Ovviamente, anche in questo caso, RANSAC è stato modificato affinché completi la ricerca della ROI senza necessità di intervento umano, utilizzando unicamente le maschere ricavate in precedenza. L'algoritmo presenta molti punti in comune con GIMT: a conferma di ciò viene eseguita una conversione in livelli di grigio della slice in analisi per poi implementare un approccio multi-scala che ne normalizza la dimensione. L'immagine viene filtrata con l'obbiettivo di enfatizzare i pixel più luminosi in modo tale da realizzare una loro suddivisione in classi secondo media e deviazione standard. La ROI viene estratta sulla base delle maschere precedentemente ricavate, ricercando per la slice in analisi una regione di dimensione simile, il tutto separatamente per la parete distale e per quella prossimale. Mediante l'algoritmo di triangle thresholding, già introdotto nei capitoli precedenti, è possibile ottenere una stima della regione del lume e, a partire da quest'ultima, ricavare una mappa delle distanze, detta SDL, di ogni pixel dai confini del lume carotideo. La ricerca delle interfacce media-avventizia e lume-intima passa dallo sfruttamento, nuovamente, di un filtro non lineare, abbinato ad una soglia di isteresi e una soppressione dei non massimi. Anche in questo caso, con l'obbiettivo di ridurre l'errore nel calcolo della direzione del gradiente degli edge, si utilizza una stima della direzione del gradiente dominante locale. Sfruttando questa valutazione, abbinata all'utilizzo di una soglia dmax e all'utilizzo della matrice SDL, è possibile preparare il terreno utile alla ricerca delle interfacce di interesse, non prima di aver nuovamente ricavato la mappa degli edge. dmax, che rappresenta la distanza massima che può intercorrere tra un edge e il confine del lume carotideo, sarà stimato sulla base dell'esperienza e sulla base del maggior diametro riscontrabile nelle immagini del database. Infine, dopo un attento studio della valley edge map è possibile delineare i due profili, mediante RANSAC e spline cubiche.

Affinché possa verificarsi una stima corretta delle interfacce, l'obbiettivo principale è quello di ottenere una mappa dei pixel le cui proprietà siano congruenti con la definizione di tracciato LI e tracciato MA. Si rende, quindi, complessivamente necessaria una prima fase di ricerca degli edge, una seconda fase di definizione del gradiente dominante, una scrematura

degli edge e una conclusiva fase di ricerca della valley edge map. Le proprietà che saranno valutate saranno: la magnitudo del bordo, l'orientamento del gradiente e il profilo di intensità. Per ottenere una edge map si utilizza, come per GIMT, un apposito filtro derivato dal modello di Tauber; è utilizzato ICOV, ovvero il coefficiente istantaneo di variazione, già introdotto e matematicamente definito nel capitolo 5.3.3.2. Come in precedenza, i pixel appartenenti a regioni omogenee saranno caratterizzati da valori di ICOV contenuti, mentre i confini tra diverse regioni, essendo zone eterogenee tra loro, saranno dotati di ICOV elevati. Il filtro, come accade per GIMT, utilizza statistiche affidabili per promuovere la diffusione dove necessario e per inibirla altrimenti. Il coefficiente di diffusione è matematicamente espresso come:

$$c(x, y; t) = \begin{cases} \frac{1}{2} \left[ 1 - \left( \frac{ICOV(x, y; t)}{\sigma_s(t)} \right)^2 \right]^2 & ICOV < \sigma_s \\ 0 & ICOV \ge \sigma_s \end{cases}$$

con (x, y) pixel, t tempo e  $\sigma_s = \sqrt{5}\sigma_e$ , con  $\sigma_e$  scala dell'immagine costituita da edge, stimata a partire dalla deviazione assoluta mediana dell'ICOV (MAD), a sua volta calcolata come (equazione 3):

$$\sigma_e = CMAD(ICOV) + med(ICOV) = Cmed|ICOV - med(ICOV)| + med(ICOV)$$

con med(r) media di r sul dominio dell'immagine e C una costante, pari a 1,4826. Questo modello presenta alcune limitazioni, legate ad una ripetuta eliminazione di regioni a basso contrasto, dotate di conseguenza di ridotto ICOV. Per fare in modo di contrastare il problema, il modello è stato modificato aggiungendo delle informazioni tratte dalla teoria della variazione totale:

$$\begin{cases} \frac{\partial I(x,y;t)}{\partial t} = c(x,y;t)\kappa(x,y;t) \|\nabla I(x,y;t)\| \\ I(x,y;0) = I_0(x,y) \\ \frac{\partial I(x,y;t)}{\partial \vec{n}} = 0 \quad \forall (x,y) \in \partial \Omega \end{cases}$$

con curvatura media espressa come:

$$\kappa(x,y) = div(\frac{\nabla I(x,y)}{\|\nabla I(x,y)\|})$$

così da garantire una inibizione della diffusione non solo dove l'ICOV è elevato ma anche nelle regioni in cui la curvatura è ridotta, rispettando quello che è il reale andamento anatomico della carotide. Inoltre, grazie a questo nuovo modello, anche il rumore è attenuato, considerato che è generalmente modellizzato con un basso ICOV ed una elevata curvatura. Una volta concluso il processo di elaborazione della ROI è finalmente possibile procedere con la ricerca della mappa degli edge mediante il coefficiente di variazione istantaneo, la soppressione dei non massimi e l'isteresi. Quest'ultima necessita di due soglie per l'ICOV, chiamate  $T_1$  e  $T_2$ , una calcolata a partire dell'equazione 3 e dalla ROI appena filtrata, l'altra, minore della prima, generalmente impostata pari a  $0.4 * T_1$ . La mappa verrà alla fine elaborata in maniera tale da assottigliare ogni edge affinché sia contenuto in un unico pixel.

Lo step successivo prevede il calcolo della direzione del gradiente dominante poiché in genere, come anticipato, il calcolo del gradiente locale produce errori di assoluta rilevanza,

dovuti alla presenza di artefatti e rumore. La ricerca degli edge dipende da quest'ultimo passaggio: la composizione della mappa è dipendente dal processo iterativo necessario per stimare il gradiente, quindi varierà in funzione dell'evoluzione della ricerca. Affinché si possa definire la mappa degli edge complessiva è necessario superare un criterio di arresto, legato al raggiungimento di uno stato di stabilità della stessa, con gli edge che devono quindi mantenere il loro orientamento, e legato al raggiungimento di una condizione minima, definita dal superamento di una soglia angolare impostata a priori. Alcuni errori che è possibile riscontrare in questa fase sono legati alla capacità di alcuni edge di attirarne altri. Per ovviare a ciò e a molte altre incongruenze, si tende a mantenere unicamente gli edge che rispettano delle rigide norme relative ad orientamento del gradiente, distanza dall'asse del lume in precedenza stimato e valore all'interno della mappa SDL. Verranno rimossi, ad esempio, tutti gli edge in possesso di un orientamento tale da essere rivolti verso l'interno dell'arteria o gli edge eccessivamente distanti dal confine del lume carotideo, secondo la distanza dmax introdotta in precedenza.

Infine, si ricava una mappa di valley edge, ottenuta mediante la ricerca di un massimo di intensità locale lungo entrambe le direzioni definite dall'edge e dal suo gradiente di intensità, fino ad una distanza L scelta in precedenza. Ogni profilo di intensità di un valley edge è costituito da due picchi ma, a causa del rumore, possono essercene alcuni composti diversamente, costituiti da un solo picco o da due di cui uno veramente debole. In queste condizioni l'algoritmo riconosce una situazione d'errore e, di conseguenza, elimina gli edge tacciati di incongruenza. I picchi vengono valutati secondo un principio simile a quello applicato dal filtraggio mediante ICOV nello studio della diffusione degli edge.

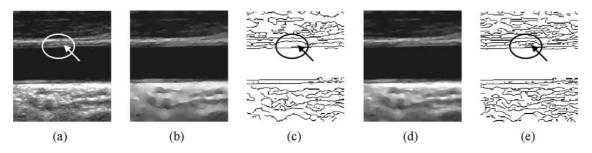


Fig 9.2. (a) Sezione longitudinale di una CCA non filtrata. La freccia indica alcuni valley edge deboli; (b) immagine ottenuta dall'applicazione del filtro di Tauber; (c) edge map relativa all'immagine filtrata (b); (d) immagine elaborata mediante il filtro presentato in questa trattazione: è già possibile individuare le differenze con (b) soprattutto relativamente alla regione indicata in (a); (e) edge map relativa all'immagine filtrata (d). In questo esempio è ancora più semplice visualizzare le differenze che intercorrono con il filtraggio eseguito in (b). I valley edge deboli, in questo caso, sono mantenuti.

Terminato anche questo step, grazie alle informazioni ricavate, è possibile modellizzare l'interfaccia MA mediante spline cubica e funzione di guadagno, seguendo gli stessi principi elencati per il precedente algoritmo. L'interfaccia LI, come è avvenuto per la precedente, è riconosciuta e segmentata sfruttando gli stessi step utilizzati da GIMT. A differenza della scelta fatta per l'interfaccia MA, per la quale sono stati elencati i passaggi eseguiti che hanno permesso di modellizzare il tracciato, in questo caso si invita il lettore ad approfondire la questione relativa alla segmentazione LI nel capitolo 5.3.4.

Per concludere, è degna di nota la fase di rimozione degli "spike" finale e di riassetto dei profili LI e MA individuati, con una smussatura delle irregolarità utile a produrre dei profili filanti e puliti. <sup>80</sup>

### 9.2 Risultati

I risultati presentati in questo capitolo sono ottenuti elaborando parte delle slices costitutive il database, per la precisione quelle che occupano una posizione centrale e che, di conseguenza, mostrano con maggior chiarezza il tratto di carotide comune di due soggetti patologici. La banca dati è composta di due diversi volumi acquisiti da due diversi operatori, rispettivamente costituiti di 176 e 177 immagini, per un totale di 353 slices. Considerando unicamente le regioni centrali dei due volumi, rappresentate dalle slices comprese tra la numero 88 e la numero 120, per ognuno di essi sono state processate 33 immagini. Le uniche slices segmentate manualmente, cioè quelle che occupano una posizione più o meno mediana all'interno dell'intervallo proposto, sono rispettivamente la 103 e la 96, scelte sulla base della chiarezza di esposizione della ROI. I fattori di calibrazione sono uguali per entrambi i volumi e pari a 0,057, anche se in realtà i due gruppi sono stati prelevati mediante parametri di acquisizione differenti. Sulla totalità delle immagini processate è stato riscontrato un errore nullo, poiché tutte le slices selezionate sono state analizzate e segmentate. Le rimanenti immagini non sono state incluse quindi testate con questo algoritmo.

Con l'obbiettivo di valutare le prestazioni generali è stato scelto di utilizzare gli stessi parametri presentati per GIMT e per l'algoritmo modificato con phasecongmono.m, in modo tale da consentire un ulteriore confronto con i risultati dei capitoli precedenti. Di seguito è proposta una tabella (Tab 9.1) riassuntiva che evidenzia le prestazioni del nuovo algoritmo per il primo volume (Bmode post1):

	PARETE PROSSIMALE	PARETE DISTALE
MEDIA ASSOLUTA DEI BIAS DELL'IMT (in mm)	0.191 ± 0.082	$0.384 \pm 0.356$
MEDIA DEI BIAS DELL'IMT (in mm)	$0.057 \pm 0.200$	$0.329 \pm 0.408$
MEDIA ASSOLUTA DELLE ACCURATEZZE PERCENTUALI	31.681 ± 12.198	80.969 ± 93.556
MEDIA DELLE ACCURATEZZE PERCENTUALI	$17.583 \pm 29.068$	$75.532 \pm 97.998$
MEDIA DEI COEFFICIENTI DI DICE	$0.548 \pm 0.101$	$0.660 \pm 0.239$

*Tab 9.1.* La tabella proposta è sviluppata allo stesso modo della Tab 7.2 poiché sono stati utilizzati gli stessi strumenti di valutazione delle prestazioni. In questo modo è anche possibile agevolare un confronto.

Allo stesso modo, la tabella 9.2 evidenzia le prestazioni dell'algoritmo per il secondo volume (Bmode\_post2):

PARETE	PARETE DISTALE
PROSSIMALE	

MEDIA ASSOLUTA DEI BIAS DELL'IMT (in mm)	$0.472 \pm 0.287$	$0.134 \pm 0.132$
MEDIA DEI BIAS DELL'IMT (in mm)	$0.403 \pm 0.378$	$0.076 \pm 0.172$
MEDIA ASSOLUTA DELLE ACCURATEZZE PERCENTUALI	$32.977 \pm 25.770$	$24.835 \pm 39.312$
MEDIA DELLE ACCURATEZZE PERCENTUALI	$29.755 \pm 29.431$	$18.546 \pm 42.641$
MEDIA DEI COEFFICIENTI DI DICE	$0.709 \pm 0.218$	$0.639 \pm 0.195$

Tab 9.2. Prestazioni relativi al secondo volume.

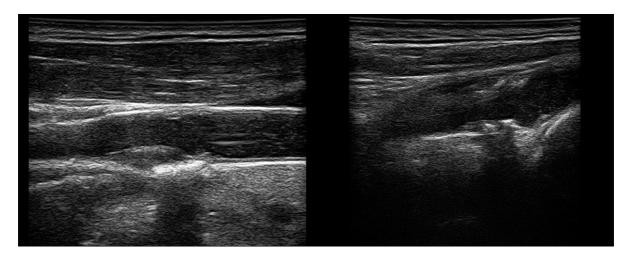


Fig 9.3. A sinistra è proposta la slice 103, centrale al primo volume. A destra è presente la slice 96, centrale al secondo volume.

Contrariamente a quanto verificato per l'algoritmo presentato nei capitoli precedenti, in questo caso non è sempre la parete distale ad esibire le migliori prestazioni. Osservando i risultati relativi al primo volume è chiaro che, ad esclusione del coefficiente di Dice, i migliori si ottengono per la parete prossimale, cioè la regione che, come visibile dall'immagine 9.3, risulta priva di placca. Per il secondo volume è possibile registrare una ripresa del trend precedente, poiché, ancora una volta ad esclusione del coefficiente di Dice, le migliori prestazioni tornano ad essere prerogativa della parete distale. Degni di nota sono, comunque, i risultati complessivi offerti dall'algoritmo per entrambi i volumi, ad esclusione dell'accuratezza percentuale fatta registrare dal primo per la parete distale, che si discosta dal positivo trend generale. Entrando nello specifico, colpisce il risultato fatto registrare nella misura della media del bias dell'IMT per la parete prossimale del primo volume, pari a 0,057 mm, accompagnato da una deviazione standard davvero contenuta, pari a 0,199664 mm, che evidenzia come l'algoritmo, oltre che essere nella maggior parte dei casi accurato, non presenta delle segmentazioni della pareti prossimali carotidee particolarmente distanti dai tracciati reali, a

differenza di quanto accade per la parete distale per la quale sono registrati dei bias dell'IMT che si avvicinano al millimetro. Per il secondo volume, analizzando lo stesso parametro, è la parete distale a mostrare i migliori risultati, con un ottimo valore di 0,076 ± 0,171963 mm, replica di quanto affermato nel caso precedente per la parete prossimale. La grande capacità di segmentare le slices del primo volume, per la parete prossimale, è confermata anche dall'accuratezza percentuale, pari a 17.583 ± 29.067709, rispetto ad un valore di 75.532 ± 97,998064 fatto registrare per la parete distale. Per quest'ultima è evidente la presenza di un errore sistemico che danneggia le misurazioni. Per il secondo volume le prestazioni sono opposte: è confermata l'accuratezza nella segmentazione della parete distale, meno quella della parete prossimale, con valori rispettivamente pari a  $18.54 \pm 42.641017$  e  $29.755 \pm 29.431859$ ; è comunque positiva anche quest'ultima misura, seppur peggiore della precedente. Infine il coefficiente di Dice, espressione della congruenza tra la superficie contenuta tra i profili LI e MA segmentati manualmente e la superficie contenuta tra gli stessi profili ottenuti automaticamente, calcolato per entrambe le pareti di entrambi i volumi è dimostrazione dell'ottima efficienza dell'intero algoritmo, poiché presenta dei buoni risultati in qualsiasi condizione. Spicca, su tutti, il valore fatto registrare per questo parametro nella parete distale del secondo volume, pari a  $0.709 \pm 0.218$ .

Considerando la totalità delle acquisizioni e l'angolo coperto, pari a 45°, sfruttando la profondità di scansione e la larghezza di ogni acquisizione, è stato possibile stimare innazitutto il volume totale acquisito, poi, il volume della placca. Per quanto riguarda il primo set di immagini è disponibile una profondità di scansione pari a 616 pixel e una larghezza delle acquisizioni pari a 480 pixel. A fronte di un fattore di conversione pari a 0,057 mm/px, le due misure risultano rispettivamente pari a 35,11 mm e 27,36 mm. Ne consegue che la stima del volume totale acquisito è pari a 11,924 cm<sup>3</sup>. Essendo prevista la stessa profondità di scansione e larghezza dell'acquisizione per il secondo set di immagini, anche in questo caso è registrabile un volume totale pari a 11,924 cm<sup>3</sup>. In pixel entrambi i volumi occupano una regione discriminata da circa 64 388 757 pixel. Il volume della placca presente nel primo set di immagini prevede la presenza di una placca nella parete distale: considerata una superficie equivalente a 5251 pixel, il volume totale della lesione stimato dall'algoritmo è di 214 534 pixel circa (per la segmentazione manuale sono stati registrati 2894 pixel, quindi 118 237 totali). Il secondo volume è caratterizzato da un volume relativo all'ispessimento della parete distale pari a 159 420 pixel, e da uno relativo alla parete prossimale pari a 394 505 pixel (la misurazione manuale presentava una stima approssimativa rispettivamente pari a 201 174 e 244 768 pixel). Grazie al fattore di conversione noto a partire dal rapporto tra il volume totale in pixel e il volume totale in mm, è possibile affermare che il primo volume presenta una placca dimensionalmente pari a 39,729 mm<sup>3</sup> (la segmentazione manuale restituisce un valore pari a 21,896 mm<sup>3</sup>), il secondo, per parete prossimale e parete distale, presenta rispettivamente un volume pari a 73,057 mm<sup>3</sup> e 29,522 mm<sup>3</sup> (manualmente sono pari rispettivamente a 45,328 mm<sup>3</sup> e 37,255 mm<sup>3</sup>).

Per completare l'analisi delle prestazioni dell'algoritmo è possibile fornire, anche in questo caso, gli istogrammi del bias della misura dell'IMT relativi alle pareti prossimali e distali della carotide, per il primo e per il secondo volume. L'asse orizzontale mostra le classi di errore in millimetri, mentre l'asse verticale mostra la frequenza cumulativa.

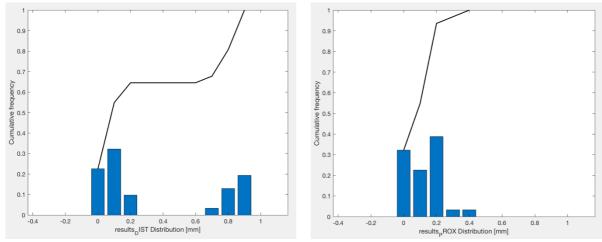


Fig 9.4. Primo volume. A sinistra istogramma relativo alla parete distale, a destra relativo alla parete prossimale.

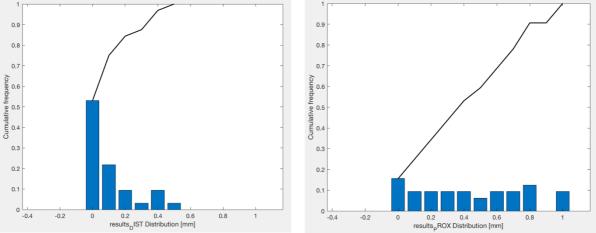


Fig 9.5. Secondo volume. A sinistra istogramma relative alla parete distale, a destra relative alla parete prossimale.

Anche in questo caso sono proposti i diagrammi di Bland-Altman, prima per il primo volume, poi per il secondo.

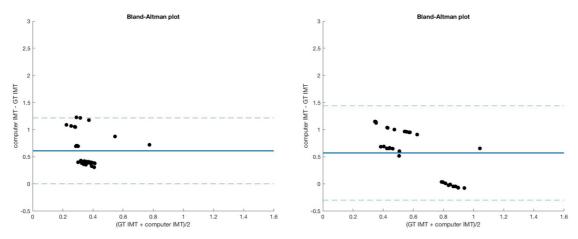


Fig 9.6. A sinistra il diagramma di Bland-Altman per la parete prossimale, a destra quello per la parete distale.

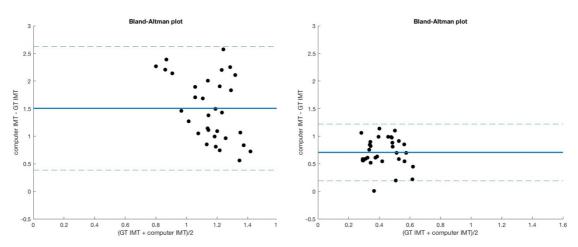


Fig 9.7. A sinistra il diagramma di Bland-Altman per la parete prossimale, a destra quello per la parete distale.

## 9.3 Discussione

La presenza di grossi errori di segmentazione, certificata da deviazioni standard in alcuni casi rilevanti, è la prova della complessità dell'obbiettivo perseguito da questo algoritmo. RANSAC non è esente dalle problematiche rilevate nei capitoli precedenti, come ad esempio la scarsa definizione delle immagini e l'ambiguità, spesso recepita anche ad occhio nudo, dei reali confini tra le tuniche e il lume carotideo. I valori medi spesso contenuti, ad esclusione di quelli relativi alla parete distale per il primo volume, allo stesso tempo rappresentano la conferma della validità del progetto, evidenziata soprattutto dagli ottimi risultati proposti dall'analisi del coefficiente di Dice. La costante, anche in questo caso, è rappresentata dalla sovrastima delle misure dell'IMT, coerentemente con quanto accaduto con GIMT e la sua evoluzione dotata di phasecongmono.m.

Le prestazioni ottenute sono, con ogni probabilità, imputabili alla grandissima variabilità presente all'interno di una acquisizione di tipo volumetrico, conseguenza del fatto che la sonda, spostandosi lungo il collo dell'individuo, acquisisce informazioni che non riguardano esclusivamente la migliore regione utile a descrivere con chiarezza la struttura della parete vasale ma anche parte dei tessuti circostanti, rumore e artefatti di ogni tipo. L'alta incidenza di questi elementi, soprattutto per le slices più lontane dalla regione centrale, condiziona

irrimediabilmente le prestazioni finali. Ciò comporta la formazione di regioni particolarmente luminose che possono confondere l'algoritmo, provocando errori nella ricerca dell'interfaccia di conseguenza dislocata rispetto alla posizione ottimale. Non è un errore che si verifica spesso ma, ad ogni modo, introduce variabilità ed è uno dei fattori che contribuisce all'incremento della deviazione standard nelle misure. Non sono presenti errori collegabili all'errata selezione della regione di interesse, considerato che questa viene rilevata a partire dai tracciati di LI e MA della slice precedente o successiva, riconducibili, nel complesso, alla prima segmentazione eseguita sulla slice centrale. A differenza di quanto accade per l'algoritmo precedente, non sono riscontrabili significative imprecisioni legate alla fase di pre-elaborazione dell'immagine se non che, per le slice più lontane dalla zona centrale, potrebbe rendersi utile un più corposo filtraggio atto a ridurre l'alta incidenza di rumore. In alternativa, una nuova soluzione potrebbe considerare la riduzione della dimensione della ROI come mezzo di esclusione delle regioni in cui non è più possibile riconoscere un tratto di carotide comune. Infine, la fase di rimozione dei picchi spuri eseguita al termine del processo è apparsa piuttosto efficiente per le slices considerate; la valutazione è stata eseguita mediante semplice ispezione visiva. Pur essendo stato utilizzato un database ridotto, non per numero di immagini ma per numero di volumi, l'algoritmo non sembra soffrire particolarmente le diverse risoluzioni o i diversi parametri utilizzati durante la fase di acquisizione. Ad ogni modo, per confermare questa affermazione, si renderà necessaria una successiva fase di valutazione che utilizzi un database di dimensioni maggiori. Nell'eseguire questa operazione futura è comunque necessario ricordare che la banca dati attualmente utilizzata è composta di immagini dotate interamente di placche che ovviamente introducono un maggiore livello di difficoltà, legato alla crisi del modello a doppia linea o alla possibile presenza di zone ipoecogene.

L'approccio proposto mostra risultati promettenti e potenzialmente migliorabili, considerata la possibilità di modificare la funzione di costo includendo una analisi delle intensità o uno studio delle distribuzioni spaziali degli edge. Ad ogni modo le prestazioni sono interessanti, anche grazie all'utilizzo delle spline cubiche. Queste ultime sono modellizzate per rispecchiare le interfacce LI e MA mediante 5 parametri di controllo, efficaci anche in presenza di rumore eccessivo, il quale è fonte di attrazione per i tracciati del modello a doppia linea. In generale è possibile definire l'approccio robusto verso artefatti di vario genere, dal semplice rumore a segni grafici inseriti dell'operatore che esegue l'acquisizione, verso dati mancanti e verso la presenza di placche. Un ulteriore miglioramento potrebbe essere ottenuto dalla sostituzione del filtro non lineare proposto. Quanto espresso per il precedente algoritmo è verificato anche con RANSAC: considerate le prestazioni ottenute nei parametri analizzati è possibile affermare che la variabilità di questo processo è paragonabile a quella che si otterrebbe dalla segmentazione manuale di una stessa immagine eseguita da diversi operatori.

La fase di segmentazione della slice centrale che permette all'algoritmo di processare le immagini successive può essere modificata introducendo una segmentazione manuale più accurata. La volontà di produrre un processo automatizzato è legata ai grandi vantaggi che ne derivano, ad esempio, nel momento in cui è necessario analizzare un ampio database di immagini. L'obbiettivo finale, anche in questo caso, è stato quello di realizzare un algoritmo che stimasse correttamente l'IMT in acquisizioni volumetriche, non più singole immagini. Grazie a questo progetto è chiaro che, a prescindere dalle non esaustive prestazioni, quella proposta è una strada percorribile poiché anche in questo caso è stato possibile estrarre i parametri morfologici utili a diagnosticare una condizione patologica dell'apparato cardiovascolare quale, ad esempio, l'aterosclerosi precoce.

## 10. Conclusioni

Sono stati proposti due nuovi metodi di segmentazione delle pareti carotidee, pensati per stimare l'ispessimento medio-intimale o lo spessore della placca, nel caso in cui essa sia presente. I due diversi algoritmi, pur avendo molti punti in comune come analizzato soprattutto nell'ultimo capitolo, sono stati progettati in maniera tale da poter lavorare su due database concettualmente differenti: il primo è stato pensato per segmentare qualsiasi immagine dell'arteria carotide comune, il secondo è stato studiato e ottimizzato per elaborare al meglio delle slices di un volume, sfruttando la segmentazione eseguita a parte e fornita come conoscenza pregressa di quella centrale. I due metodi proposti sono in grado di elaborare qualsiasi CCA, sia in termini di disposizione che in termini di qualità complessiva. Se per il secondo algoritmo è più facile ottenere una stima della ROI pronta all'utilizzo, per il primo algoritmo sono stati realizzati dei vincoli di uniformità globale con l'obbiettivo di perfezionare e validare la posizione e la dimensione della stessa. Una volta stimata la regione di interesse, entrambi gli algoritmi sono stati in grado di ricavare le segmentazioni di entrambe le pareti carotidee, ulteriore passo in avanti rispetto a quanto proposto dagli algoritmi introdotti in precedenza, che limitavano il loro compito alla parete distale. I risultati presentati nel corso dell'elaborato hanno mostrato che entrambi gli approcci sono stati in grado di produrre dei tracciati assolutamente validi e accurati, in alcuni casi addirittura paragonabili a quelli ottenibili mediante segmentazione manuale eseguita da operatori esperti. La variabilità è presente, soprattutto per via di immagini a bassa risoluzione, acquisizioni particolarmente rumorose o placche particolarmente inclini a confondere i loro limiti con le regioni circostanti, soprattutto verso il lume del vaso.

Ovviamente le prestazioni proposte non sono migliori di quelle ottenute mediante segmentazione manuale, per via della maggiore capacità discriminatoria dell'operatore che sarà sempre in grado di scegliere le migliori regioni per individuare i confini tra lume e intima e tra media e avventizia. Congruentemente a quanto presentato negli scorsi capitoli, uno degli obbiettivi di questi algoritmi era quello di ottenere buone prestazioni accompagnate da una bassa se non nulla dipendenza dall'operatore. Da questo punto di vista è possibile affermare che le soluzioni proposte hanno pienamente rispettato le consegne.

Per concludere è necessario evidenziare come, in tutta onestà, non sempre i tracciati ricavati automaticamente con queste procedure siano corretti ma non è da escludere che, nel tempo, questi algoritmi non possano essere soggetti ad ulteriore revisione, finalizzata ad un incremento delle prestazioni. A giustificazione dei risultati ottenuti, è necessario considerare che, ad ogni modo, il database è stato selezionato per l'alta variabilità e questo ha ovviamente influito sulle prestazioni complessive. Non è da escludere la possibilità di revisionare i progetti includendo nuove conoscenze derivate da altre tecniche alternative all'ultrasonografia B-mode, un po' come avviene nel momento in cui l'operatore esperto deve segmentare manualmente alcune lesioni di difficile comprensione. Senza ricorrere a queste soluzioni è, comunque, presumibilmente possibile migliorare le prestazioni modificando il codice già a disposizione, ottimizzando alcuni parametri e procedure. In ottica futura è possibile prevedere l'introduzione di un sistema di controllo che termini l'esecuzione del processo, in ambito di segmentazione 3D, nel momento in cui l'immagine perde di significato per via della lontananza dalla posizione centrale. L'introduzione di un meccanismo simile potrebbe rivelarsi estremamente interessante anche ai fini della valutazione delle prestazioni, poiché i risultati ottenuti sono profondamente influenzati dalla scarsa qualità della segmentazione delle acquisizioni distanti dalla zona centrale, quindi prive della ROI oggetto di studio.

## phasecongmono.m code

```
\mbox{\%} PHASECONGMONO - phase congruency of an image using monogenic filters
function [PC, or, ft, T] = phasecongmono(varargin)
    % Get arguments and/or default values
    [im, nscale, minWaveLength, mult, sigmaOnf, k, ...
     noiseMethod, cutOff, g, deviationGain] = checkargs(varargin(:));
    epsilon = .0001;
                                     % Used to prevent division by zero.
    [rows,cols] = size(im);
    IM = perfft2(im);
                                     % Periodic Fourier transform of image
    suman = zeros(rows,cols);
                                     % Matrix for accumulating filter response
                                      % amplitude values.
    Sumf = zeros(rows,cols);
    sumh1 = zeros(rows,cols);
    sumh2 = zeros(rows,cols);
    % Generate grid data for constructing filters in the frequency domain
    [radius, u1, u2] = filtergrid(rows, cols);
    % Get rid of the 0 radius value in the middle (at top left corner after
    % fftshifting) so that taking the log of the radius, or dividing by the
    % radius, will not cause trouble.
    radius(1,1) = 1;
    % Construct the monogenic filters in the frequency domain. The two
    % filters would normally be constructed as follows
         H1 = i*u1./radius;
         H2 = i*u2./radius;
    % However the two filters can be packed together as a complex valued
    % matrix, one in the real part and one in the imaginary part. Do this by
    % multiplying H2 by i and then adding it to H1 (note the subtraction
    % because i*i = -1). When the convolution is performed via the fft the
    % real part of the result will correspond to the convolution with H1 and % the imaginary part with H2. This allows the two convolutions to be
    % done as one in the frequency domain, saving time and memory.
    H = (1i*u1 - u2)./radius;
    % The two monogenic filters H1 and H2 are not selective in terms of the
    % magnitudes of the frequencies. The code below generates bandpass
    % log-Gabor filters which are point-wise multiplied by IM to produce
    % different bandpass versions of the image before being convolved with H1
    % and H2
    % First construct a low-pass filter that is as large as possible, yet falls
    % away to zero at the boundaries. All filters are multiplied by
    % this to ensure no extra frequencies at the 'corners' of the FFT are
    % incorporated as this can upset the normalisation process when
    % calculating phase congruency
    lp = lowpassfilter([rows,cols],.45,15);
                                               % Radius .4, 'sharpness' 15
    for s = 1:nscale
        wavelength = minWaveLength*mult^(s-1);
                                               % Centre frequency of filter.
        fo = 1.0/wavelength;
        logGabor = exp((-(log(radius/fo)).^2) / (2 * log(sigmaOnf)^2));
        logGabor = logGabor.*lp;
                                               % Apply low-pass filter
        logGabor(1,1) = 0;
                                               \mbox{\%} Set the value at the 0 frequency
point of the
                                               % filter back to zero (undo the
radius fudge).
        IMF = IM.*logGabor;
                                   % Bandpassed image in the frequency domain.
        f = real(ifft2(IMF));
                                   % Bandpassed image in spatial domain.
        h = ifft2(IMF.*H);
                                   % Bandpassed monogenic filtering, real part of h
contains
                                   % convolution result with h1, imaginary part
                                   % contains convolution result with h2.
        h1 = real(h);
        h2 = imag(h);
        An = sqrt(f.^2 + h1.^2 + h2.^2); % Amplitude of this scale component.
        sumAn = sumAn + An;
                                         % Sum of component amplitudes over scale.
```

```
sumf = sumf + f;
    sumh1 = sumh1 + h1;
    sumh2 = sumh2 + h2;
    % At the smallest scale estimate noise characteristics from the
    % distribution of the filter amplitude responses stored in sumAn.
    % tau is the Rayleigh parameter that is used to describe the
    % distribution.
    if s == 1
        if noiseMethod == -1
                                 % Use median to estimate noise statistics
            tau = median(sumAn(:))/sqrt(log(4));
        elseif noiseMethod == -2 % Use mode to estimate noise statistics
            tau = rayleighmode(sumAn(:));
        maxAn = An;
    else
        % Record maximum amplitude of components across scales. This is needed
        % to determine the frequency spread weighting.
        maxAn = max(maxAn,An);
end % For each scale
% Form weighting that penalizes frequency distributions that are
% particularly narrow. Calculate fractional 'width' of the frequencies
% present by taking the sum of the filter response amplitudes and dividing
% by the maximum component amplitude at each point on the image. If
% there is only one non-zero component width takes on a value of 0, if
% all components are equal width is 1.
width = (sumAn./(maxAn + epsilon) - 1) / (nscale-1);
% Now calculate the sigmoidal weighting function.
weight = 1.0./(1 + \exp((\text{cutOff} - \text{width})*g));
% Automatically determine noise threshold
% Assuming the noise is Gaussian the response of the filters to noise will
% form Rayleigh distribution. We use the filter responses at the smallest
% scale as a guide to the underlying noise level because the smallest scale
% filters spend most of their time responding to noise, and only
% occasionally responding to features. Either the median, or the mode, of
% the distribution of filter responses can be used as a robust statistic to
% estimate the distribution mean and standard deviation as these are related
% to the median or mode by fixed constants. The response of the larger
% scale filters to noise can then be estimated from the smallest scale
% filter response according to their relative bandwidths.
% This code assumes that the expected reponse to noise on the phase
% congruency calculation is simply the sum of the expected noise responses
% of each of the filters. This is a simplistic overestimate, however these
% two quantities should be related by some constant that will depend on the
% filter bank being used. Appropriate tuning of the parameter 'k' will
% = 1000 \text{ you to produce the desired output.} (though the value of k seems to
% be not at all critical)
if noiseMethod >= 0
                        % We are using a fixed noise threshold
    T = noiseMethod;
                        % use supplied noiseMethod value as the threshold
else
    \ \mbox{\ensuremath{\mbox{\$}}} Estimate the effect of noise on the sum of the filter responses as
    % the sum of estimated individual responses (this is a simplistic
    % overestimate). As the estimated noise response at succesive scales
    % is scaled inversely proportional to bandwidth we have a simple
    % geometric sum.
    totalTau = tau * (1 - (1/mult)^nscale)/(1-(1/mult));
    % Calculate mean and std dev from tau using fixed relationship
    % between these parameters and tau. See
    % http://mathworld.wolfram.com/RayleighDistribution.html
    EstNoiseEnergyMean = totalTau*sqrt(pi/2);
                                                     % Expected mean and std
    EstNoiseEnergySigma = totalTau*sqrt((4-pi)/2); % values of noise energy
```

```
T = EstNoiseEnergyMean + k*EstNoiseEnergySigma; % Noise threshold
    end
    %----- Final computation of key quantities -----
   or = atan(-sumh2./sumh1); % Orientation - this varies +/- pi/2
   or(or<0) = or(or<0)+pi;
                               % Add pi to -ve orientation value so that all
                               % orientation values now range 0 - pi
   or = fix(or/pi*180);
                                % Quantize to 0 - 180 degrees (for NONMAXSUP)
    ft = atan2(sumf,sqrt(sumh1.^2+sumh2.^2)); % Feature type - a phase angle
                                              % -pi/2 to pi/2.
    energy = sqrt(sumf.^2 + sumh1.^2 + sumh2.^2); % Overall energy
    % Compute phase congruency. The original measure,
    % PC = energy/sumAn
    % is proportional to the weighted cos(phasedeviation). This is not very
    % localised so this was modified to
    % PC = cos(phasedeviation) - |sin(phasedeviation)|
    % (Note this was actually calculated via dot and cross products.) This measure
    % approximates
    % PC = 1 - phasedeviation.
    % However, rather than use dot and cross products it is simpler and more
    % efficient to simply use acos(energy/sumAn) to obtain the weighted phase
    % deviation directly. Note, in the expression below the noise threshold is
    % not subtracted from energy immediately as this would interfere with the
    % phase deviation computation. Instead it is applied as a weighting as a
    % fraction by which energy exceeds the noise threshold. This weighting is
    % applied in addition to the weighting for frequency spread. Note also the
    % phase deviation gain factor which acts to sharpen up the edge response. A
    % value of 1.5 seems to work well. Sensible values are from 1 to about 2.
   PC = weight.*max(1 - deviationGain*acos(energy./(sumAn + epsilon)),0) ...
          .* max(energy-T,0)./(energy+epsilon);
% CHECKARGS
% Function to process the arguments that have been supplied, assign
% default values as needed and perform basic checks.
function [im, nscale, minWaveLength, mult, sigmaOnf, ...
         k, noiseMethod, cutOff, g, deviationGain] = checkargs(arg)
    nargs = length(arg);
    if nargs < 1
       error('No image supplied as an argument');
    % Set up default values for all arguments and then overwrite them
    % with with any new values that may be supplied
    Im = [];
                               % Number of wavelet scales.
   nscale = 4;
   minWaveLength = 3;
                               % Wavelength of smallest scale filter.
                              % Scaling factor between successive filters.
   mult = 2.1;
                              % Ratio of the standard deviation of the
   sigmaOnf = 0.5;
                               % Gaussian describing the log Gabor filter's
                               % transfer function in the frequency domain
                               % to the filter center frequency.
   K = 3.0:
                               % No of standard deviations of the noise
                              % energy beyond the mean at which we set the
                              % noise threshold point.
   noiseMethod = -1;
                              % Use the median response of smallest scale
                              % filter to estimate noise statistics
   cutOff = 0.5;
    g = 10;
    deviationGain = 1.5;
    % Allowed argument reading states
    allnumeric = 1;
                            % Numeric argument values in predefined order
                              % Arguments in the form of string keyword
    keywordvalue = 2;
                              % followed by numeric value
   readstate = allnumeric;
                              % Start in the allnumeric state
```

```
if readstate == allnumeric
           for n = 1:nargs
                if isa(arg{n}, 'char')
                      readstate = keywordvalue;
                     break;
                else
                     if    n == 1, im = arg{n};
elseif n == 2, nscale = arg{n};
                      elseif n == 3, minWaveLength = arg{n};
                      elseif n == 4, mult = arg{n};
                     elseif n == 5, sigmaOnf = arg{n};
elseif n == 6, k = arg{n};
                      elseif n == 7, cutOff = arg{n};
                      elseif n == 8, g = arg\{n\};
                      elseif n == 9, deviationGain = arg{n};
                      elseif n == 10, noiseMethod = arg{n};
                      end
                end
          end
     end
     % Code to handle parameter name - value pairs
     if readstate == keywordvalue
           while n < nargs</pre>
                if ~isa(arg{n},'char') || ~isa(arg{n+1}, 'double')
                      error('There should be a parameter name - value pair');
                if strncmpi(arg{n},'im',2), im = arg{n+1};
elseif strncmpi(arg{n},'nscale',2), nscale = arg{n+1};
elseif strncmpi(arg{n},'minWaveLength',2), minWaveLength = arg{n+1};
elseif strncmpi(arg{n},'mult',2), mult = arg{n+1};
                elseif strncmpi(arg{n}, mult ,2), mult - arg{n+1};
elseif strncmpi(arg{n}, 'sigmaOnf',2), sigmaOnf = arg{n+1};
elseif strncmpi(arg{n}, 'k',1), k = arg{n+1};
elseif strncmpi(arg{n}, 'cutOff',2), cutOff = arg{n+1};
elseif strncmpi(arg{n}, 'g',1), g = arg{n+1};
elseif strncmpi(arg{n}, 'deviation',3), deviationGain = arg{n+1};
                elseif strncmpi(arg{n}, 'noisemethod', 3), noiseMethod = arg{n+1};
                        error('Unrecognised parameter name');
                else
                end
                n = n+2;
                if n == nargs
                     error('Unmatched parameter name - value pair');
                end
          end
     end
     if isempty(im)
           error('No image argument supplied');
     end
     if ndims(im) == 3
           warning('Colour image supplied: converting image to greyscale...')
           im = double(rgb2gray(im));
     end
     if ~isa(im, 'double')
           im = double(im);
     end
     if nscale < 1
           error('nscale must be an integer >= 1');
     if minWaveLength < 2</pre>
           error('It makes little sense to have a wavelength < 2');</pre>
% RAYLEIGHMODE
% Computes mode of a vector/matrix of data that is assumed to come from a
% Rayleigh distribution.
% Usage: rmode = rayleighmode(data, nbins)
```

```
% Arguments: data - data assumed to come from a Rayleigh distribution
               nbins - Optional number of bins to use when forming histogram
용
                        of the data to determine the mode.
% Mode is computed by forming a histogram of the data over 50 bins and then
% finding the maximum value in the histogram. Mean and standard deviation
\ensuremath{\text{\upshape \ensuremath{\text{\$}}}} can then be calculated from the mode as they are related by fixed
% constants.
% mean = mode * sqrt(pi/2)
% std dev = mode * sqrt((4-pi)/2)
% See
% http://mathworld.wolfram.com/RayleighDistribution.html
% http://en.wikipedia.org/wiki/Rayleigh_distribution
function rmode = rayleighmode(data, nbins)
   if nargin == 1
        nbins = 50;
                                  % Default number of histogram bins to use
    end
    mx = max(data(:));
    edges = 0:mx/nbins:mx;
    n = histc(data(:),edges);
    [dum,ind] = max(n);
                                  % Find maximum and index of maximum in histogram
    rmode = (edges(ind)+edges(ind+1))/2;
```

## **Bibliografia**

- 1 Kunio Doi. «Computer-Aided Diagnosis in Medical Imaging: Historical Review, Current Status and Future Potential». In: *Comput Med Imaging Graph* 31.4-5 (2007), pp. 198–211.
- 2 Andrew B Rosenkrantz, Mishal Mendiratta-Lala, Brian J. Bartholmai, Dhakshinamoorthy Ganeshan, Richard G. Abramson, Kirsteen R. Burton, John-Paul J. Yu, Ernest M. Scalzetti, Thomas E. Yankeelow, Rathan M. Subramaniam, Leon Lenchik. «Clinical Utility of Quantitative Imaging». In: *Acad Radiol* Jan 2015, pp. 33-49.
- 3 R.S. of North America. Quantitative Imaging Biomarkers Alliance. 2014. url: http://www.rsna.org/QIBA.aspx (visited on 26/05/2018).
- 4 Brenda F. Kurland, Elizabeth R. Gerstner, James M. Mountz, Lawrence H. Schwartz, Christopher W. Ryan, Michael M. Graham, John M. Buatti, Fiona M. Fennessy, Edward A. Eikman, Virendra Kumar, Kenneth M. Forster, Richard L. Wahl, Frank S. Liebermanc. «QIN. Promise and pitfalls of quantitative imaging in oncology clinical trials». In: *Magn Reson Imaging* Nov 2012, pp. 1301-1312.
- 5 Courtney A. Coursey, Rendon C. Nelson, Daniel T. Boll, Erik K. Paulson, Lisa M. Ho, Amy M. Neville, Daniele Marin, Rajan T. Gupta, Sebastian T. Schindera. «Dual-Energy Multidetector CT: How Does It Work, What Can It Tell Us, and When Can We Use It in Abdominopelvic Imaging?». In: *RSNA RadioGraphics* July 2010, Volume 30, Issue 4.
- 6 Daniel T. Boll, Neil A. Patil, Erik K. Paulson, Elmar M. Merkle, W. Neal Simmons, Sean A. Pierre, Glenn M. Preminger. «Renal Stone Assessment with Dual-Energy Multidetector CT and Advanced Postprocessing Techniques: Improved Characterization of Renal Stone Composition—Pilot Study». In: *RSNA Radiology* March 2009, Volume 250, Issue 3.
- 7 Kristen Mariko Meiburger, «Quantitative Imaging US-PA».
- 8 Rui Rocha, Aurélio Campilho, Jorge Silva, Elsa Azevedo, Rosa Santos. «Segmentation of the carotid intima-media region in B-mode ultrasound images». In: *Image and Vision Computing* 28.4 (2010), pp. 614–625.
- 9 Christos P. Loizou, Constantinos S. Pattichis, Andrew N. Nicolaides, Marios Pantziaris. «Manual and Automated Media and Intima Thickness Measurements of the Common Carotid Artery». In: *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency control* May 2009, Volume 56, no 5.
- 10 Hersh Chandarana, Ruth P. Lim, Jens H. Jensen, Cristina H. Hajdu, Mariela Losada, James S. Babb, Steve Huffman, Bachir Taouli. «Hepatic Iron Deposition in Patients With Liver Disease: Preliminary Experience With Breath-Hold Multiecho T2\*-Weighted Sequence». In: *American Journal of Roentgenology* November 2009, Volume 193, Issue 5.
- 11 Kinsler Lawrence, Frey Austin, Coppens Alan, Sanders James. «Fundamentals of Acoustics». In: *New York: John Wiley & Sons* 2000.
- 12 A. D. McNaught, A. Wilkinson. «IUPAC. Compendium of Chemical Terminology». 2nd ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford 1997.
- 13 Peter E. Valk, Dominique Delbeke, Dale L. Bailey, David W. Townsend, Michael N. Maisey. «Positron Emission Tomography». Springer-Verlag London Limited, 2006.
- 14 M.M Graham, L.M Peterson, R.M Hayward. «Comparison of simplified quantitative analyses of FDG uptake». In: *Nuclear Medicine and Biology* October 2000, Volume 27, Issue 7, pp 647-655.

- 15 Mansik Jeon, Wentao Song, Elizabeth Huynh, Jungho Kim, Jeesu Kim, Brandon L. Helfield, Ben Y. C. Leung, David E. Goertz, Gang Zheng, Jungtaek Oh, Jonathan F. Lovell, Chulhong Kim. «Methylene blue microbubbles as a model dual-modality contrast agent for ultrasound and activatable photoacoustic imaging». In: *Journal of Biomedical Optics* January 2014.
- 16 Gwangseong Kim, Sheng-Wen Huang, Kathleen C. Day, Matthew O'Donnell, Rodney R. Agayan, Mark A. Day, Raoul Kopelman, Shai Ashkenazi. «Indocyanine-greenembedded PEBBLEs as a contrastagent for photoacoustic imaging». In: *Journal of Biomedical Optics* July/August 2007.
- 17 Srivalleesha Mallidi, Geoffrey P. Luke, and Stanislav Emelianov. «Photoacoustic imaging in cancer detection, diagnosis, and treatment guidance». In: *Trends Biotechnol* May 2011, pp. 213-221.
- 18 Bouchard R, Sahin O, Emelianov S. «Ultrasound-guided photoacoustic imaging: current state and future development». In: *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* Mar 2014, pp. 61-66.
- 19 Fikri M Abu-Zidan, Ashraf F Hefny, Peter Corrl. «Clinical ultrasound physics». In: *Journal List* Oct-Dec 2011.
- 20 Treccani. La cultura italiana. Url: http://www.treccani.it/enciclopedia/piezoelettricita/ (visited on 23/08/2018).
- 21 USRA: Advancing the Science of Ultrasound Guided Regional Anesthesia and Pain Medicine. Url: http://www.usra.ca/regional-anesthesia/introduction/basic.php#ultrasoundwave (visited on 23/08/2018).
- 22 Valli e Coppini. «Bioimmagini». Collana di Ingegneria Biomedica, Pàtron Editore.
- 23 Vasileios Rafailidis, Afroditi Charitanti, Thomas Tegos, Evangelos Destanis, Ioannis Chryssogonidis. «Contrast-enhanced ultrasound of the carotid system: a review of the current literature». In: *Journal of Ultrasound* June 2017, Volume 20, Issue 2, pp. 97-109.
- 24 J. Powers, M. Averkiou, M. Bruce. «Principles of Cerebral Ultrasound Contrast Imaging». In: *Cerebrovasc Dis* 2009, pp. 14-24.
- 25 Paul Beard. «Biomedical photoacoustic imaging». In: *The Royal Society publishing* June 2011.
- 26 Jun Xia, Junjie Yao, Lihong V. Wang. «Photoacoustic tomography: principles and advances». In: *Electromagn Waves (Camb)* 2014, pp. 1-22.
- 27 Sungjo Park, Changho Lee, Jeesu Kim, Chulhong Kim. «Acoustic resolution photoacoustic microscopy». In: *Biomedical Engineering Letters* September 2014, Volume 4, Issue 3, pp. 213-222.
- 28 Joon-Mo Yang, Konstantin Maslov, Hao-Chung Yang, Qifa Zhou, K. Kirk Shung, Lihong V. Wang. «Photoacoustic Endoscopy». In: *PMC*, Sep 2009, pp. 1591-1593.
- 29 National Heart, Lung, and Blood Istitute. Url: https://www.nhlbi.nih.gov/health-topics/high-blood-pressure (visited on 30/08/2018).
- 30 Kwok Leung Ong, Bernard M.Y. Cheung, Yu Bun Man, Chu Pak Lau, Karen S.L. Lam. «Prevalence, Awareness, Treatment, and Control of Hypertension Among United States Adults 1999–2004». In: *Hypertension* January 2007, Volume 49, Issue 1.
- 31 James R. Sowers, Murray Epstein, Edward D. Frohlich. «Diabetes, Hypertension, and Cardiovascular Disease». In: *Hypertension* April 2001, Volume 37, Issue 4.
- 32 Herbert C. Stary, A. Bleakley Chandler, Robert E. Dinsmore, Valentin Fuster, Seymour Glagov, William Insull, Michael E. Rosenfeld, Colin J. Schwartz, William D. Wagner, Robert W. Wissler. «A Definition of Advanced Types of Atherosclerotic Lesions and a Histological Classification of Atherosclerosis». In: *Circulation* September 1, 1995, Volume 92, Issue 5.

- 33 Lumen: Boundless Anatomy and Physiology. Url: https://courses.lumenlearning.com/boundless-ap/chapter/blood-vessel-structure-and-function/ (visited on 30/08/2018).
- 34 «Anatomy and Physiology». OpenStax. Url: https://opentextbc.ca/anatomyandphysiology/chapter/20-1-structure-and-function-of-blood-vessels/ (visited on 30/08/2018).
- 35 Sietze Reitsma, Dick W. Slaaf, Hans Vink, Marc A. M. J. van Zandvoort, Mirjam G. A. oude Egbrink. «The endothelial glycocalyx: composition, functions, and visualization». In: *Pflugers Arch.* Jun 2007, pp. 345-359.
- 36 Andrew J. Gale. «Current Understanding of Hemostasis». In: *Toxicol Pathol* 2011, pp. 273-280.
- 37 Heistad DD, Marcus ML. «Role of vasa vasorum in nourishment of the aorta». In: *Blood Vessels* 1979, pp. 225-38.
- 38 MedlinePlus: Trusted Health Information for You. Url: https://medlineplus.gov/ency/article/004006.htm (visited on 30/08/2018).
- 39 NIH: National Heart, Lung and Blood Institute. Url: https://www.nhlbi.nih.gov/health-topics/atherosclerosis (visited on 30/08/2018).
- 40 Aldons J. Lusis. «Atherosclerosis». In: *Nature* Sep 2000, pp. 233-241.
- 41 Dorland's Medical Dictionary for Healthcare Consumers. Url: https://web.archive.org/web/20100221223633/http://www.mercksource.com/pp/us/cns/cns\_hl\_dorlands\_split.jsp?pg=%2Fppdocs%2Fus%2Fcommon%2Fdorlands%2Fdorlands%2Fone%2F000008408.htm (visited on 30/08/2018).
- 42 Badimon L, Vilahur G. «Thrombosis formation on atherosclerotic lesions and plaque rupture». In: *J Intern Med* Dec 2014, pp. 618-632.
- 43 Myriam Cilla, Estefanía Peña, Miguel A. Martínez. «Mathematical modelling of atheroma plaque formation and development in coronary arteries». In: *The Royal Society publishing* January 2014, Volume 11, issue 90.
- 44 American Hearth Association. Url: http://www.heart.org/HEARTORG/Conditions/VascularHealth/AorticAneurysm/What -is-an-Aneurysm UCM 454435 Article.jsp#.Ww3byi9aZmB (visited on 30/08/2018).
- 45 NIH: National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Url: https://www.ninds.nih.gov/disorders/all-disorders/cerebral-arteriosclerosis-information-page (visited on 30/08/2018).
- 46 S. Glagov, C. Zarins, Don P. Giddens, D. N. Ku. «Hemodynamics and Atherosclerosis». In: *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* October 1988, Volume 112.
- 47 A.K. Abbas, J.C. Aster, V. Kumar. «Robbins Fondamenti di Patologia e di Fisiopatologia». Edra Masson editore.
- 48 I. Battistoni, M. Marini, A. Lavorgna, F. Vagnarelli, F. Lucà, E. Biscottini, G. Caretta, V. Procaccini, L. Riva, G. Vianello, M. Iacoviello, R. De Maria, A. Navazio, N. Aspromonte, A. Di Lenarda, M. Gulizia, S. Valente. «Cardiogenic shock: from pharmacological treatment to mechanical circulatory support». In: *G Ital Cardiol (Rome)* Oct 2017, pp. 708-718.
- 49 Juan José Badimón, Borja Ibáñez, Giovanni Cimmino. «Genesis and Dynamics of Atherosclerotic Lesions: Implications for Early Detection». In: *Cerebrovascular Diseases* Feb 2009, pp. 38-47.
- 50 Michael Walter. «Interrelationships Among HDL Metabolism, Aging, and Atherosclerosis». In: *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* September 2009, Volume 29, Issue 9.

- 51 F. Molinari, G. Zeng, JS Suri. «A state of the art review on intima-media thickness (IMT) measurement and wall segmentation techniques for carotid ultrasound». In: *Comput Methods Programs Biomed* Dec 2010, pp. 201-221.
- 52 P. Touboul et al. «Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004 –2006). An up- date on behalf of the Advisory Board of the 3rd and 4th Watching the Risk Symposium, 13th and 15th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, and Brussels, Belgium, 2006». In: *Cerebrovascular Diseases* 2007, pp. 75-80.
- 53 P.-J. Touboul, A. Elbaz, C. Koller, C. Lucas, V. Adraï, F. Chédru, P. Amarenco, G. Investigators, et al. «Common Carotid Artery Intima-Media Thickness and Brain Infarction The Étude du Profil Génétique de l'Infarctus Cérébral (GÉNIC) Case-Control Study». In: *Circulation 102.3* 2000, pp. 313-318.
- 54 I. M. Graf, F. H. Schreuder, J. M. Hameleers, W. H. Mess, R. S. Reneman, and A. P. Hoeks. «Wall irregularity rather than intima-media thickness is associated with nearby atherosclero- sis». In: *Ultrasound Med Biol* 35.6 2009, pp. 955-961.
- 55 F. Molinari, K. M. Meiburger, L. Saba, U. R. Acharya, G. Ledda, G. Zeng, S. Y. S. Ho, A. T. Ahuja, S. C. Ho, A. Nicolaides, J. S. Suri. «Ultrasound IMT measurement on a multi-ethnic and multi-institutional database: Our review and experience using four fully automated and one semi-automated methods». In: *Computer methods and programs in biomedicine 108* 2012, pp. 946-960.
- 56 F. Molinari, K. M. Meiburger, G. Zeng, L. Saba, U. R. Acharya, L. Famiglietti, N. Georgiou, A. Nicolaides, R. S. Mamidi, H. Kuper, J. S. Suri. «Automated carotid IMT measurement and its validation in low contrast ultrasound database of 885 patient indian population epidemiological study: results of AtheroEdge™ Software». In: *Europe PMC Author Manuscripts* Feb 2012, pp. 42-53.
- 57 L. Saba, N. Ikeda, M. Deidda, T. Araki, F. Molinari, K. M. Meiburger, U. R. Acharya, Y. Nagashima, G. Mercuro, M. Nakano, A. Nicolaides, J. S. Suri. «Association of automated carotid IMT measurement and HbA1c in Japanese patients with coronary artery disease». In: *Diabetes research and clinical practice* 2013, pp. 348-353.
- 58 F. Molinari, K. M. Meiburger, G. Zeng, U. R. Acharya, W. Liboni, A. Nicolaides, J. S. Suri. «Carotid artery recognition system: A comparison of three automated paradigms for ultrasound images». In: *Med. Phys.* 39 January 2012.
- 59 I. M. van der Meer, M. L. Bots, A. Hofman, A. I. del Sol, D. A.M. van der Kuip, J. C.M. Witteman. «Predictive Value of Noninvasive Measures of Atherosclerosis for Incident Myocardial Infarction». In: *Circulation* 2004, pp. 1089-1094.
- 60 P. Poredos. «Intima-media thickness: indicator of cardiovascular risk and measure of the extent of atherosclerosis». In: *Vascular Medicine* 2004, pp. 46-54.
- 61 D. Baldassarre, A. Hamsten, F. Veglia, U. de Faire, S. E. Humphries, A. J. Smit, P. Giral, S. Kurl, R. Rauramaa, E. Mannarino, E. Grossi, R. Paoletti, E. Tremoli, IMPROVE Study Group. «Measurements of Carotid Intima-Media Thickness and of Interadventitia Common Carotid Diameter Improve Prediction of Cardiovascular Events: Results of the IMPROVE (Carotid Intima Media Thickness [IMT] and IMT-Progression as Predictors of Vascular Events in a High Risk European Population) Study». In: Journal of the American College of Cardiology Oct 2012, pp. 1489-1499.
- 62 M. W. Lorenz, H. Bickel, M. L. Bots, M. M.B. Breteler, A. L. Catapano, M. Desvarieux, B. Hedblad, B. Iglseder, S. H. Johnsen, M. Juraska, S. Kiechl, E. B. Mathiesen, G. D. Norata, L. Grigore, J. Polak, H. Poppert, M. Rosvall, T. Rundek, R. L. Sacco, D. Sander, M. Sitzer, H. Steinmetz, E. Stensland, J. Willeit, J. Witteman, D. Yanez, S. G. Thompson. «Individual progression of carotid intima media thickness as a surrogate for vascular risk (PROG-IMT): Rationale and design of a meta-analysis project». In: American heart journal May 2010, pp 730-736.

- 63 F. Molinari, C. Pattichis, G. Zeng, L. Saba, U. Acharya, R. Sanfilippo, A. Nicolaides, J. S. Suri. «Completely Automated Multi-resolution Edge Snapper (CAMES) A New Technique for an Accurate Carotid Ultrasound IMT Measurement: Clinical Validation and Benchmarking on a Multi-Institutional Database». In: *IEEE TRANSACTIONS ON IMAGE PROCESSING* 2012, pp. 1211-1222.
- 64 F. Molinari, G. Zeng, J. S. Suri. «An Integrated Approach to Computer-Based Automated Tracing and Its Validation for 200 Common Carotid Arterial Wall Ultrasound Images». In: *Ultrasound* 2010, pp. 399-418.
- 65 C. P. Loizou, C. S. Pattichis, C. I. Christodoulou, R. S. H. Istepanian, M. Pantziaris, A. Nicolaides. «Comparative Evaluation of Despeckle Filtering In Ultrasound Imaging of the Carotid Artery». In: *ieee transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* oct 2005, pp. 1653-1669.
- 66 C. P. Loizou, C. S. Pattichis, M. Pantziaris, T. Tyllis, A. Nicolaides. «Quality evaluation of ultrasound imaging in the carotid artery based on normalization and speckle reduction filtering». In: *Med Biol Eng Comput* 2006, pp. 414-426.
- 67 F. Molinari, U. R. Acharya, G. Zeng, K. M. Meiburger, J. S. Suri. «Completely automated robust edge snapper for carotid ultrasound IMT measurement on a multi-institutional database of 300 images». In: *Medical & Biological Engineering & Computing* 2011.
- 68 R. Rocha, A. Campilho, J. Silva, E. Azevedo, R. Santos. «Segmentation of ultrasound images of the carotid using RANSAC and cubic splines». In: *Comput Methods Programs Biomed* Jan 2011, pp. 94-106.
- 69 F. Destrempes, J. Meunier, M. F. Giroux, G. Soulez, and G. Cloutier. «Segmentation in ultrasonic B-mode images of healthy carotid arteries using mixtures of Nakagami distributions and stochastic optimization». In: *IEEE Trans Med Imaging* 2009, pp. 215-29
- 70 Y. Zhen, S. Jasjit, S. Yajie, R. Janer. «Four image interpolation techniques for ultrasound breast phantom data acquired using Fischer's full field digital mammography and ultrasound system (FFDMUS): a comparative approach». In: *Image Processing* 2005, pp. 1238-41.
- 71 F. Molinari, W. Liboni, P. Giustetto, S. Badalamenti, J. S. Suri. «Automatic computer-based tracings (ACT) in longitudinal 2-D ultrasound images using different scanners». In: *Journal of Mechanics in Medicine and Biology* 2009, pp. 481-505.
- 72 K. M. Meiburger, F. Molinari, U. R. Acharya, L. Saba, P. S. Rodrigues, W. Liboni, A. Nicolaides, J. S. Suri. «Automated carotid artery intima layer regional segmentation». In: *Physics in Medicine and Biology* 2011, pp. 4073-4090.
- 73 F. Molinari, U. R. Acharya, G. Zeng, K. M. Meiburger, J. S. Suri. «Completely automated robust edge snapper for carotid ultrasound IMT measurement on a multi-institutional database of 300 images». In: *Medical & Biological Engineering & Computing* 2011, pp. 935-945.
- 74 R. Rocha, A. Campilho, J. Silva, E. Azevedo, R. Santos. «Segmentation of the carotid intima-media region in B-Mode ultrasound images». In: *Image and Vision Computing* 2010, pp. 614-625.
- 75 R. Rocha. «Image Segmentation and Reconstruction of 3D Surfaces from Carotid Ultrasound Images». *Thesis. Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto* July 2007.
- 76 M. Griffin, E. Kyriacou, C. Pattichis, D. Bond, S. Kakkos, M. Sabetai, G. Geroulakos, N. Georgiou, C. Doré, A. Nicolaides. «Juxtaluminal hypoechoic area in ultrasonic images of carotid plaques and hemispheric symptoms». In: *Journal of Vascular Surgery* 2010, p. 7.

- 77 Peter Kovesi. URL: https://www.peterkovesi.com/about.html (visited on 04/07/2018)
- 78 Peter Kovesi, MATLAB and Octave Functions for Computer Vision and Image Processing. URL: https://www.peterkovesi.com/matlabfns/index.html (visited on 04/07/2018)
- 79 P. Kovesi. «Phase Congruency Detects Corners and Edges». School of Computer Science & Software Engineering, The University of Western Australia Dec 2013.
- 80 R. Rocha, A. Campilho, J. Silva, E. Azevedo, R. Santos. «Segmentation of ultrasound images of the carotid using RANSAC and cubic splines». In: Computer methods and programs in biomedicine 101, 2011, pp. 94-106.
- 81 P. Pignoli, T. Longo. «Evaluation of atherosclerosis with B-mode ultrasound imaging». In: *J. Nucl. Med. Allied Sci.* 32, 1988, pp. 166-173.
- 82 C. Liguori, A. Paolillo, A. Pietrosanto. «An automatic measurement system for the evaluation of carotid intima-media thickness». In: *IEEE Trans. Instrum. Meas.* 50, 2001, pp. 1684-1691.
- 83 J.H. Stein, C.E. Korcarz, M.E. Mays, P.S. Douglas, M. Palta, H. Zhang, T. Lecaire, D. Paine, D. Gustafson, L. Fan. «A semiautomated ultrasound border detection program that facilitates clinical measurement of ultrasound carotid intima-media thickness». In: *J. Am. Soc. Echocardiogr.* 18, 2005, pp. 244-251.
- 84 F. Faita, V. Gemignani, E. Bianchini, C. Giannarelli, L. Ghiadoni, M. Demi. «Real-time measurement system for evaluation of the carotid intima-media thickness with a robust edge operator». In: *J. Ultrasound Med.* 27, 2008, pp. 1353-1361.
- 85 I. Wendelhag, Q. Liang, T. Gustavsson, J. Wikstrand. «A new automated computerized analyzing system simplifies readings and reduces the variability in ultrasound measurement of intima-media thickness». In: *Stroke 28*, 1997, pp. 2195-2200.
- 86 Q. Liang, I. Wendelhag, J. Wikstrand, T. Gustavsson. «A multiscale dynamic programming procedure for boundary detection in ultrasonic artery images». In: *IEEE Trans. Med. Imaging 19*, 2000, pp. 127-142.
- 87 M.A. Gutierrez, P.E. Pilon, S.G. Lage, L. Kopel, R.T. Carvalho, S.S. Furuie. «Automatic measurement of carotid diameter and wall thickness in ultrasound images». In: *Comput. Cardiol.* 29, 2002, pp. 359-362.
- 88 D.C. Cheng, A. Schmidt-Trucksass, K.S. Cheng, H. Burkhardt. «Using snakes to detect the intimal and adventitial layers of the common carotid artery wall in sonographic images». In: *Comput. Methods Prog. Biomed.* 67, 2002, pp. 27-37.
- 89 C.P. Loizou, C.S. Pattichis, M. Pantziaris, T. Tyllis, A. Nicolaides. «Snakes based segmentation of the common carotid artery intima media». In: *Med. Biol. Eng. Comput.* 45, 2007, pp. 35-49.
- 90 S. Delsanto, F. Molinari, P. Giustetto, W. Liboni, S. Badalamenti. «CULEX-completely user-independent layers extraction: ultrasonic carotid artery images segmentation». In: *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* 6, 2005, pp. 6468-6471.
- 91 S. Golemati, J. Stoitsis, T. Balkizas, K. Nikita. «Comparison of B-mode, M-mode and Hough transform methods for measurement of arterial diastolic and systolic diameters». In: *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* 2, 2005, pp. 1758-1761.
- 92 F. Molinari, G. Zeng, J.S. Suri. «An integrated approach to computer-based automated tracing and its validation for 200 common carotid arterial wall ultrasound images: a new technique». In: *J. Ultrasound Med.* 29, 2010, pp. 399-418.