

1. NEUROIMAGING

Lo scopo primario delle tecniche di neuroimmagine è quello di studiare la struttura e la funzione del sistema nervoso centrale. Queste tecniche in base al loro obiettivo si possono suddividere in due grandi categorie:

- tecniche statiche: che indagano la struttura dell'encefalo
- tecniche dinamiche: che studiano la funzione delle diverse aree cerebrali.

I metodi statici sono essenzialmente la radiografia, la tomografia assiale computerizzata (TAC) e la risonanza magnetica nucleare (NMR o MRI). I metodi dinamici invece, si possono ulteriormente classificare in tecniche a misura diretta -che valutano l'attività elettrica dei neuroni-: elettroencefalogramma (EEG), potenziali evocati (ERP) e tecniche a misura indiretta -che analizzano le variazioni del flusso sanguigno o dell'attività metabolica all'interno dell'encefalo-: tomografia ad emissione di positroni (PET), tomografia a emissione di fotone singolo (SPECT) e risonanza magnetica funzionale (fMRI).

Tabella 1: Classificazione delle tecniche di neuroimaging.

STATICHE	DINAMICHE
Radiografia TAC MRI	<u>Dirette</u> : EEG ERP
	<u>Indirette</u> : PET SPECT fMRI

TECNICHE DI NEUROIMAGING STATICHE.

Le tecniche statiche, indagando strutturalmente il sistema nervoso centrale, riuscendo ad individuare anche delle eventuali patologie.

L'ovvio problema che si pone nello studio del cervello, come per ogni altro organo d'altronde, è la collocazione all'interno del corpo, che rende assai difficoltoso lo studio con tecniche poco invasive. Questo problema è stato risolto a partire dal 1895 quando lo scienziato tedesco Roentgen scoprì i raggi X (prendendo poi il premio Nobel per la fisica nel 1901 grazie a questa scoperta).

I raggi X sono onde elettromagnetiche, esattamente come la luce ma, con una lunghezza d'onda piuttosto breve, questa caratteristica gli permette di penetrare più facilmente dentro gli oggetti. Tali raggi vengono comunque arrestati dagli oggetti su cui impattano ma, vengono

arrestati in modo diverso in base alla composizione chimica dell'oggetto che attraversano.

I raggi X esattamente come la luce, hanno la proprietà di imprimersi su una lastra fotografica e di renderla nera; se tra la sorgente dei raggi e la lastra si colloca un oggetto che assorbe in parte queste onde elettromagnetiche, sulla pellicola rimarrà impressa l'immagine in negativo dell'oggetto. Quindi una radiografia è sostanzialmente un' "ombra" dell'oggetto attraversato dai raggi X, dove le parti più chiare sono quelle in cui i raggi sono stati assorbiti, mentre quelle scure sono le zone in cui i raggi hanno trapassato l'oggetto, dove la densità chimica era minore.



Illustrazione 1: Prima radiografia eseguita da Roentgen alla mano sinistra di sua moglie.

La scoperta dei raggi X è stata fondamentale, perché ha dato l'avvio alla ricerca scientifica che ha portato al perfezionamento di queste tecniche, rendendole sempre meno invasive e maneggevoli.

La radiografia non è una tecnica molto utilizzata per indagare il sistema nervoso centrale, perché mette bene in evidenza i tessuti mineralizzati (ad esempio le ossa) che arrestano i raggi X, ma non i tessuti molli (come la materia grigia e bianca), che infatti non si distinguono in una radiografia ma che sono di fondamentale interesse nello studio dell'encefalo.

Ciononostante grazie a questa scoperta e più avanti con l'avvento dei computer si sono potute inventare tecniche di indagine molto più sofisticate in grado di indagare tutto il sistema nervoso centrale.

La TAC.

Il tomografo fu inventato all'inizio degli anni '70, grazie all'avvento dei microcomputer, dall'ingegnere inglese Hounsfield e dal fisico sudafricano Cormack, che vinsero poi il Nobel per la medicina nel 1979 grazie a questa invenzione. Venne ideato inizialmente per il solo studio delle strutture del cranio, ma successivamente



Illustrazione 2: Un tomografo.

l'utilizzo di questa tecnica fu allargato anche allo studio dell'addome e dell'intero corpo umano.

La TAC è sostanzialmente una radiografia ripetuta molte volte; si posiziona il paziente all'interno del tomografo, tra la sorgente dei raggi X e i detettori. La sorgente dei raggi ed i detettori ruotano ripetutamente intorno al paziente effettuando numerose scansioni, i detettori rilevano i raggi X che hanno attraversato il paziente e ne misurano l'intensità.

Tutte queste rotazioni vengono effettuate intorno ad un piano, cioè viene fotografata ripetutamente una "fetta" di encefalo, dopo di che tutte queste rilevazioni della stessa porzione vengono analizzate dal computer, che ne fa una media ricostruendo un'immagine di densità.

Le parti più dense, cioè le ossa, vengono rappresentate in bianco, mentre le parti meno dense, cioè i tessuti molli, vengono rappresentate in scuro. In sostanza viene effettuata una media sulla radiopacità dell'encefalo effettuando scansioni tutto intorno all'encefalo stesso.

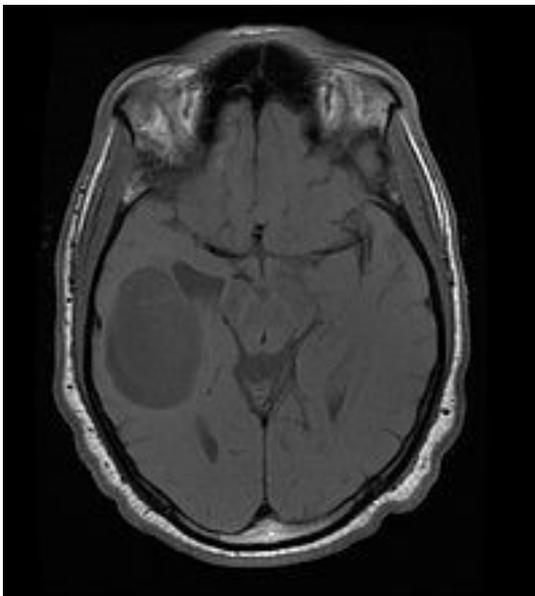


Illustrazione 3: Immagine realizzata grazie ad una scansione con la TAC.

Le immagini della TAC (come anche per la MRI) non sono immagini reali ma virtuali, ciò che noi vediamo è in realtà una matrice di pixel a ciascuno dei quali, il computer attribuisce un valore da 1 a 256 (perché siamo in grado di discriminare solo 256 tonalità di grigio).

Quindi noi non vediamo un'immagine reale come in una radiografia, ma vediamo un'immagine ricostruita su una matrice di punti che esprimono una diversa tonalità di grigio, in base alla densità media di quel tessuto.

Ciò che si può vedere grazie ad una TAC sono le ossa, i ventricoli ed il tessuto cerebrale, di conseguenza si possono distinguere masse e lesioni; ma non si riesce a distinguere tra sostanza bianca e sostanza grigia. Quindi grazie a queste caratteristiche la TAC può essere impiegata per cercare eventuali patologie del sistema nervoso centrale come emorragie o neoplasie.

La MRI.

L'invenzione della risonanza magnetica segnò una vera e propria rivoluzione non solo nel campo della ricerca medica ma, inizialmente, nel campo della chimica molecolare e della struttura dei materiali.

L'invenzione fu ad opera di due fisici Bloch e Purcell nel 1946, che vinsero poi il Nobel per la fisica nel 1952.

Soltanto poi dalla metà degli anni '70 la MRI fu impiegata per scopi

medici.

Il principio su cui si basa la risonanza magnetica è lo sfruttamento delle proprietà paramagnetiche di alcuni elementi. Questi elementi si comportano come delle calamite, costituiscono cioè un dipolo magnetico; uno dei più comuni è l'idrogeno, che si trova in quantità nei tessuti grassi (quindi anche nel tessuto cerebrale) ma anche il ferro ed il gadolinio hanno delle proprietà paramagnetiche. Quest'ultimo viene infatti utilizzato come mezzo di contrasto per ottenere un'immagine di qualità superiore.

Gli atomi di idrogeno (dipoli) hanno un orientamento casuale nel cervello in condizioni normali, ma se noi poniamo il soggetto all'interno di un campo magnetico con un preciso orientamento, questi atomi si orienteranno nella stessa direzione del campo magnetico a loro imposto. Quando il soggetto si trova quindi sottoposto a questo campo magnetico gli si dà uno stimolo di radiofrequenze, ossia onde radio. Le onde radio eccitano i dipoli, che assorbono l'energia e iniziano a ruotare secondo un'asse ben preciso, questo fenomeno prende il nome di precessione.

Durante la precessione l'impulso di onde radio si interrompe ed i dipoli si rilassano rilasciando l'energia che avevano assorbito durante la fase di eccitamento, quest'energia è una radiazione che viene captata dai sensori e viene utilizzata per costruire l'immagine. Viene quindi effettuata una misurazione della radiofrequenza emessa dal tessuto, e non emessa dalla macchina come avveniva per la TAC.

La sorgente ed i detettori ruotano intorno al corpo del paziente effettuando numerose scansioni di "fette" di encefalo come per la TAC, ma a differenza di quest'ultima l'immagine è molto più sofisticata e particolareggiata.

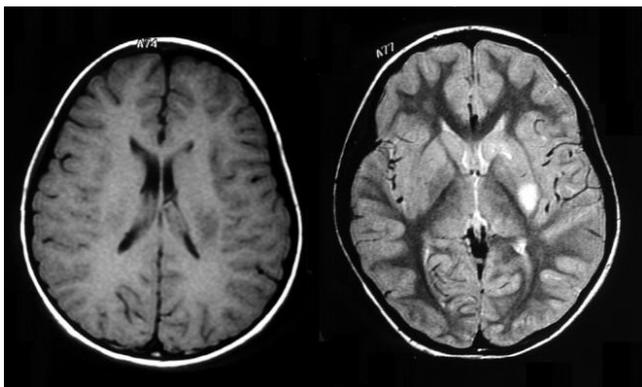


Illustrazione 4: Immagine alla MRI: a sinistra T1 e a destra T2 in diverse sezioni dell'encefalo.

L'alta qualità dell'immagine è dovuta al movimento tipico dei dipoli che è molto complesso, ma misurabile e che condiziona poi le modalità di rilassamento: si possono misurare quindi diverse componenti sia del movimento che del rilassamento dei dipoli, sono semplicemente diversi modi di leggere il segnale che permettono di dare immagini molto informative.

T1 e T2 sono diversi modi di leggere il segnale a radiofrequenze di rilassamento emesso dal tessuto.

T1 è simile all'immagine della TAC: le parti più dense sono chiare mentre le meno dense sono scure ed è un segnale di misura di rotazione.

T2 è l'opposto: le parti dense sono scure e le parti meno dense come liquor e sostanza grigia sono chiare. T2 misura l'angolazione dell'asse per tornare nella posizione di riposo iniziale.

La MRI effettua 64 sezioni dell'encefalo partendo dal vertice della testa fino alla base, da queste 64 sezioni orizzontali si possono ricostruire le sezioni sagittali e frontali oppure delle ricostruzioni in 3d dell'encefalo.

Grazie all'utilizzo dei mezzi di contrasto, come il gadolinio o il ferro, si possono marcare dei singoli gruppi di cellule (50-100 cellule) e nelle ultime ricerche l'obiettivo è quello di utilizzare dei marker che non vengano trasportati dal flusso ematico ma, che entrando nel neurone vengano trasportati dagli assoni, per evidenziare dei tratti assonali.

La risoluzione spaziale della MRI è elevatissima, al di sotto del millimetro, che è molto utile a scopo diagnostico, ma questa elevata risoluzione spaziale va a scapito della risoluzione temporale (cioè l'immagine arriva un po' in ritardo rispetto alla rilevazione). Il tempo quindi, non viene considerato come parametro nella risonanza magnetica strutturale, dato che non è informativo per i suoi scopi, è invece fondamentale nella risonanza magnetica funzionale, tanto che in quest'ultima viene privilegiato a scapito della risoluzione spaziale.

2. APPLICAZIONE CLINICA

Grazie alle tecniche statiche di neuroimaging descritte nel precedente capitolo è possibile individuare lesioni cerebrali a livello corticale e sottocorticale.

Per osservare un esempio di un' applicazione clinica di queste tecniche analizziamo le mappe corticali, che ci permettono di individuare le sedi lesionali, di due gruppi di pazienti sottoposti a MRI: il primo composto da pazienti affetti da anosognosia per l'emiplegia con neglect mentre il secondo da pazienti con negligenza spaziale unilaterale.

L'*anosognosia per l'emiplegia* è un disordine piuttosto frequente nelle casistiche dei pazienti cerebrolesi destri, mentre non si hanno ancora dati certi sulla presenza e incidenza di anosognosia conseguenti a lesioni dell'emisfero sinistro. Questo potrebbe significare che:

l'anosognosia è strettamente legata a lesioni dell'emisfero destro oppure potrebbe semplicemente essere la conseguenza del fatto che dopo lesioni sinistre i pazienti sono spesso afasici e quindi il rilevamento dell'anosognosia attraverso resoconto verbale del paziente sarebbe pressoché impossibile.

Secondo alcuni autori, la lesione che produce anosognosia è localizzata a livello della parte posteriore del lobo parietale in particolare nel lobulo parietale inferiore. Tuttavia in questi ultimi anni prevale la visione che l'anosognosia per l'emiplegia non sia necessariamente associata a danni del lobulo parietale inferiore ma a lesioni che coinvolgono strutture e circuiti sia cortico che sottocorticali, strettamente coinvolti nella programmazione e pianificazione motoria. Nei casi conclamati di anosognosia per il disturbo motorio, il paziente appare completamente non consapevole della plegia.

La *negligenza spaziale unilaterale*, invece, consiste in un disturbo dell'attenzione selettiva spaziale. Nella maggioranza dei casi il neglect si manifesta dopo lesioni del lobo parietale più precisamente del lobulo parietale inferiore. Tuttavia sono stati descritti casi in cui la lesione è circoscritta ad altri ristretti come il lobo frontale e le strutture sottocorticali.

Per individuare l'area della lesione che causa l'anosognosia per l'emiplegia si può fare un confronto fra, le mappe delle lesioni medie dei soggetti con l'emiplegia più neglect e dei soggetti con solo neglect. Se dalle immagini medie delle prime sottraiamo le immagini medie delle seconde otteniamo l'area lesionata tipica dell'emiplegia, la corteccia premotoria dorsale che corrisponde all'area 6 di Broadmann.

Questi confronti nelle ricerche scientifiche vengono eseguiti attraverso software complessi e sofisticati, tuttavia possiamo provare a riprodurre l'esperimento in maniera più grossolana utilizzando MRicro, programma di back-engineering cerebrale.

3. MRICro

MRICro è un programma che consente ai computer Windows e Linux di visualizzare immagini cerebrali, sulle quali è possibile identificare regioni di interesse particolari (ROI). Attraverso il formato Analyze MRICro permette l'esportazione di immagini cerebrali da altre piattaforme.

Come si installa (per Windows)

- Con il computer collegato al web scaricare 5.9 Mb installer program.
- Fare doppio click sull'icona "mrinstall". Il programma di installazione darà la possibilità di installare le istruzioni, un esempio di immagine MRI e altri file.
- Per impostazione predefinita i file verranno installati in "C:\Program Files\MRICro"
- Per aprire il programma fare click su menu "Start", selezionare "programmi" scegliere la cartella "MRICro" e fare click sull'icona "MRICro".

Caricamento immagini

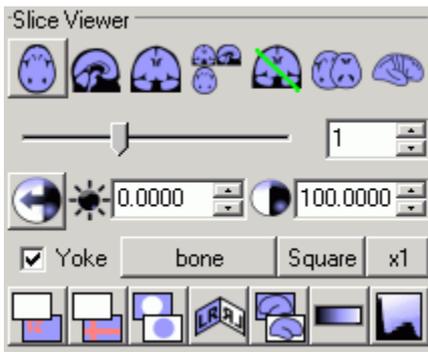
Se non si possiedono immagini MRI tra i propri file cliccare su "File", "open picture" e selezionare quella più adatta su cui lavorare.

MRICro può visualizzare diversi formati di immagini cerebrali, tra cui L'Analyze utilizzato da SPM. Le immagini in formato Analyze hanno due componenti, il file immagine (*.img) che contiene i dati dell'immagine RAW e un file di intestazione (*.hdr) che descrive le dimensioni dell'immagine, il formato dei dati e i commenti.

Sulla barra a sinistra si trova una tabellina all'interno della quale si possono modificare i valori dei parametri x, y, z, al fine di cambiare le dimensioni dell'immagine.



Slice viewer



Il pannello visualizzatore consente di modificare la prospettiva dell'immagine caricata; il cursore seleziona quale slice viene visualizzata: quella coronale, sagittale o tutte e due contemporaneamente, inoltre permette anche, tramite l'apertura di una finestra a parte, di selezionare i gradi della rotazione da applicare all'immagine. Premendo F1 e F2 è possibile vedere aree più o meno sottocorticali.

Si può modificare la luminosità e controllare il contrasto dell'immagine cambiando i valori situati vicino al simbolo del "sole" (luminosità) e vicino al simbolo del contrasto.

Cliccando il tasto "contrasto auto" (freccia nera su cerchio bianco) il programma fissa automaticamente il contrasto dell'immagine all'1% nera e all'1% bianca. L'autobilanciamento funziona bene per le scansioni MRI.

E' possibile regolare il contrasto per una regione specifica trascinando il cursore del mouse e premendo il pulsante destro.

Il pulsante di istogramma, situato sulla barra sinistra, mostra la distribuzione voxel della luminosità dell'immagine attualmente aperta.

In basso a destra del pannello visualizzatore della slice si trova un menu a tendina dal quale si possono scegliere i colori dell'immagine (es. "black and white") e un tasto per impostare il livello di scala dell'immagine, che regola lo zoom da x1 a x6.

Region of interest



MRIcro permette di disegnare le regioni tridimensionali di interesse (ROI), questo consente di illustrare le regioni del cervello che hanno subito danni, inoltre il volume del ROI è calcolato dal programma. ROI di individui diversi possono essere sovrapposti su immagini del cervello che

sono state normalizzate, ciò permette di valutare aree comuni delle lesioni cerebrali.

MRICro fornisce una serie di strumenti per la creazione e visualizzazione di ROI, questi sono visualizzati attraverso una serie di pulsanti nella region of interest.

Il pulsante open ROI (cartella aperta) consente di selezionare il ROI di interesse.

Il pulsante "information" permette la generazione di un istogramma di intensità del ROI simile all'istogramma che si ottiene per l'immagine intera.

Con il pulsante "salvataggio ROI", la lesione disegnata può essere salvata e con il pulsante "delete" la lesione viene eliminata dall'immagine.

Ci sono poi una serie di tasti "penna":

- penna chiusa per disegnare aree lesionate circoscritte.
- penna aperta per disegnare segmenti che delimitano aree diverse.

Il pulsante Momentarily hide ROI (cappello) consente di nascondere e visualizzare rapidamente il ROI. Questa funzione permette di vedere se il ROI disegnato coincida con le mappe delle regioni di interesse.

Con il pulsante "lente di ingrandimento" possiamo effettuare degli ingrandimenti localizzati nelle varie aree.

Fonti:

Illustrazione 1: www.famaf.unc.edu.ar

Illustrazione 2: www.sangavinomonreale.net

Illustrazione 3: www.upload.wikimedia.org

Illustrazione 4: www.hawaii.edu

Per gli studenti:

Ai fini dell'esame queste istruzioni sono sufficienti, se volete approfondire potete consultare i tutorial e le guide online.

Domande teoriche

Che cos'è MRicro?

MRicro è un programma che consente ai sistemi operativi Windows e Linux di visualizzare immagini cerebrali, sulle quali è possibile identificare regioni di interesse particolari (ROI). Attraverso il formato Analyze MRicro permette l'esportazione di immagini cerebrali da altre piattaforme.

Che cos'è un ROI?

In MRicro la ROI indica una "region of interest", un'area circoscritta dell'immagine cerebrale, che corrisponde solitamente alla lesione. Su quest'ultima è possibile effettuare una serie di modifiche utilizzando i comandi della barra in basso a sinistra "region of interest".

Quali sono le funzioni dei tasti F1 e F2?

F1 e F2 permettono di visualizzare più o meno in profondità le aree cerebrali, con F1 per scendere in profondità, F2 per ritornare in superficie.

Task pratici

- 1)** Installa MRicro.
- 2)** Apri un file, disegna una ROI e poi cancellala.