

Abstract

L'analisi delle immagini mediche assume un ruolo sempre più cruciale nel migliorare l'individuazione, la diagnosi e il trattamento di malattie: in particolare, i progressi dell'*imaging* medico (dati da un continuo avanzamento nelle metodologie di acquisizione e nello sviluppo software) hanno permesso di superare i limiti delle valutazioni tradizionali, primo tra tutti la soggettività.

In particolare, in oftalmologia, sempre più studi evidenziano come l'analisi di determinate strutture oculari sia utile per recuperare informazioni sia sullo stato di salute dell'occhio stesso, sia sull'intero sistema del corpo umano. Le principali strutture oculari di interesse sono la retina, punto di accesso al sistema circolatorio, e la cornea, collegata al sistema nervoso.

Il mio progetto di ricerca si è concentrato sull'analisi delle immagini corneali, in particolare dello strato sub-basale.

Come anticipavo, malattie e infezioni (siano esse oculari o sistemiche) sembrano essere riconoscibili dall'osservazione delle strutture oculari: nello specifico, sembra che fibre nervose e cellule dendritiche della cornea modifichino la loro morfologia e densità in relazione alla presenza di stati patologici e infiammatori. Tali cambiamenti influenzano la vista in vari modi: nei casi più gravi, possono portare alla cecità, in altri casi, recano sensazioni di disagio e dolore ai pazienti.

Anche fattori come l'età, l'uso di lenti a contatto, e interventi chirurgici (LASIK, PRK o trapianto corneale) possono influenzare la morfologia e le altre caratteristiche corneali.

Storicamente, la cornea veniva analizzata e studiata *ex vivo*, tecnica non priva di inconvenienti (prima tra tutti la degenerazione, solita manifestarsi entro 14 ore dopo la morte).

Con l'introduzione della microscopia confocale *in vivo* (IVCM) è ora possibile osservare la cornea in modo non invasivo e rapido: aspetti importanti nel campo medico e che accrescono l'interesse per l'analisi delle immagini acquisite con tale tecnica.

Generalmente, l'analisi delle immagini del plesso sub-basale corneale affronta tre fasi:

1. Miglioramento della qualità dell'immagine

Tecniche di pre-elaborazione che puntano a ridurre il *rumore* dell'immagine, migliorando il contrasto e la nitidezza e correggendo le incongruenze di illuminazione.

2. Rilevamento delle strutture

Tecniche di segmentazione, descrizione e classificazione che mirano ad evidenziare le strutture chiave all'interno dello strato corneale analizzato, quali nervi e cellule dendritiche.

3. Estrazione delle caratteristiche diagnostiche

Tecniche che mirano ad estrarre parametri (come la numerosità nervosa, la densità cellulare e altri aspetti morfologici) che presentano una qualche rilevanza clinica. Questa fase è seguita

dalla vera fase clinica, quella, cioè, che evidenzia la correlazione tra stato patologico e l'analisi svolta.

Le analisi sopra descritte vengono eseguite manualmente o semi-automaticamente, comportando un impiego di elevate risorse (specialmente in termini di tempo) e risultati spesso inclini a soggettività e agli errori.

Su queste basi è evidente la necessità e l'interesse a sviluppare uno strumento automatico per la valutazione e l'analisi delle immagini di IVCN del plesso sub-basale, che dovrà superare i limiti sopra evidenziati, presentandosi come uno strumento rapido, oggettivo e preciso.

Da tali necessità nasce il mio progetto di dottorato.

Nella soluzione da me proposta, il miglioramento della qualità dell'immagine e il rilevamento delle strutture, ha utilizzato un unico passaggio: tale semplificazione è stata resa possibile dalle più moderne tecniche di intelligenza artificiale (IA).

La soluzione sviluppata consente di superare le limitazioni dei metodi presenti in letteratura e mai universalmente accettati, portando ad una riduzione del tempo richiesto per l'analisi e fornendo risultati più accurati e oggettivi.

Più nello specifico, per ottenere il miglior risultato, ho esaminato e sviluppato vari aspetti legati all'uso delle tecniche di IA per la segmentazione semantica, basata sulle reti neurali convoluzionali (*Convolutional Neural Network, CNN*).

Dapprima ho analizzato la possibilità di ottenere miglioramenti grazie ad una manipolazione di quello che viene definito "*Ground Truth*": le reti in analisi, infatti, vengono addestrate a svolgere un determinato compito e, maggiore è l'informazione da cui apprendere, migliore è il risultato.

Sono quindi passata dal tracciamento della sola linea centrale della fibra nervosa al tracciamento dell'intera regione.

Il secondo aspetto indagato è stata la scelta e lo sviluppo della migliore architettura per il tracciamento: ad una *UNet* usata come base, ho aggiunto moduli e connessioni accuratamente definiti per il *task* specifico.

Infine, ho ricercato quale fosse la *Loss Function* adeguata. Questa funzione ha il compito di guidare l'apprendimento: generalmente quantifica la differenza tra le previsioni del modello e i valori effettivi e guida l'aggiornamento dei pesi in modo tale da ridurre le differenze. Ho analizzato le numerose *loss* presenti in letteratura e ne ho proposte due, che ho sviluppato *ad hoc* per l'obiettivo, definendolo matematicamente.

Dalla comparazione con l'analisi manuale, la migliore combinazione degli aspetti indagati ha raggiunto un elevato *global score* (94.79%), indice per la valutazione globale da me definito per confrontare la bontà dei metodi analizzati e basato su altri 2 indici: il *true positive rate* (92.75%) e il *false positive rate* (3.07%), entrambi calcolati con una soglia di tolleranza.

Su questa base solida ho potuto affrontare il terzo punto: l'estrazione dei parametri di rilevanza clinica.

La maggior parte dei parametri di interesse clinico è ben definita e quindi sufficientemente semplice da calcolare una volta ottenuto il tracciamento delle strutture.

Così non è per quanto riguarda la tortuosità nervosa: parametro di grande rilevanza clinica, di cui più volte è stata dimostrata la correlazione con un ampio gruppo di malattie; tuttavia, non esiste un metodo universalmente accettato per stimare questo parametro.

Dopo aver analizzato le forme proposte in letteratura, ne ho introdotta una nuova, basata sulla geometria frattale, e l'ho combinata con altre due metriche di tortuosità precedenti, che si sono dimostrate capaci di considerare aspetti importanti e rilevanti.

L'algoritmo sviluppato affronta in maniera innovativa aspetti fondamentali per l'analisi, quali:

- il problema delle biforcazioni (il metodo proposto individua la fibra nervosa principale e separa le secondarie);
- aspetti diversi della percezione umana di tortuosità (stima tre diversi indici: curvatura assoluta, densità di tortuosità e dimensione frattale)
- La necessità di ottenere un indice unico per l'immagine (o per il paziente) e non uno per ciascuna fibra. (La soluzione da me proposta aggrega le metriche stimate considerando la lunghezza ottimale e il valore di tortuosità di ciascuna fibra individuale).

La stima della tortuosità ottenuta mi ha permesso, tramite un semplice algoritmo di *linear discriminant analysis*, di classificare le singole immagini in bassa, media e alta tortuosità, raggiungendo un'accuratezza del 96.6% in termini di corrispondenza con l'analisi manuale.

Infine, il mio progetto di dottorato si è concentrato sull'applicabilità clinica di quanto studiato, considerando due limitazioni emerse durante gli studi: la limitazione del campo visivo di un'unica immagine e la compresenza di strutture corneali.

Ho proposto nuovi metodi per l'analisi di immagini di pazienti affetti da patologie (come la neuropatia diabetica, la neuropatia da chemioterapia e il Parkinson) e di pazienti sottoposti a interventi chirurgici di tipo LASIK.

Dopo aver dimostrato che una singola immagine non può essere rappresentativa di un soggetto, ho affrontato il problema proponendo due soluzioni:

- Analisi simultanea di più immagini per ciascun paziente;
- Analisi di mosaici (immagini ottenute ricostruendo la superficie corneale da numerose immagini).

Entrambi gli approcci mi hanno permesso di arrivare a risultati eccellenti: l'analisi di regioni corneali estese ha permesso di rivelare problemi in fasi iniziali della malattia, affermandosi come uno strumento utile a definire meglio le cure per ritardare o bloccare lo sviluppo della patologia.

Nel caso post-operatorio, l'attenzione si è concentrata sull'analisi delle cellule dendritiche, indicatori di stati infiammatori e del progresso della guarigione. Il metodo sviluppato ha migliorato l'identificazione e l'analisi, offrendo nuovi parametri per migliorare la precisione diagnostica e aprendo la strada ad applicazioni cliniche avanzate in oftalmologia.

Concludendo, credo che le soluzioni proposte siano applicabili in contesti clinici e di ricerca, e siano rilevanti in un contesto di innovazione sostenibile in ambito medico.