

ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI BOLOGNA

Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali
Corso di Laurea Specialistica in FISICA

**Sviluppo del metodo PERFIDI e sua verifica
sperimentale per il filtraggio del segnale NMR
in sistemi multicomponenti**

Candidato:
Giuseppe Rinaldin

Relatore:
Prof.ssa Paola Fantazzini

Correlatori:
Dr. Villiam Bortolotti
Dr. Mirko Gombia

Anno Accademico 2008/2009 - Sessione II

Indice

Elenco delle Figure	viii
Elenco delle Tabelle	ix
Introduzione	xi
Cos'è il metodo PERFIDI	xii
Scopo della Tesi	xii
Struttura della Tesi	xiv
1 Analisi Teorica	1
1.1 Formalismo	1
1.2 PERFIDI	2
1.3 PERFIDI a 2 impulsi, $d_2 = 0$	5
1.3.1 Passa Banda, $d_2 = 0$	6
1.3.2 Secondo delay	8
1.4 Altre possibilità	12
2 Cicli di Fase	13
2.1 Premessa	13
2.2 Cosa sono	14
2.3 Come si ricavano	15
2.3.1 S3P_Pedagogical	15
2.3.2 S4P_pedagogo	19
2.3.3 Esempi	24
2.4 Risultati	26

3	Materiali e Metodi	31
3.1	Rilassometri utilizzati	31
3.1.1	Set-Up	32
3.2	Caratteristiche dei Campioni	35
3.3	Software	36
3.3.1	Utilizzo del software di inversione UPEN	36
3.3.2	Scrittura di codici ad hoc: Totale.exe	40
3.3.3	Simulazione PERFIDI	41
4	Verifica Sperimentale	47
4.1	Fid	47
4.2	Phantom Multiesponenziale	51
4.2.1	Filtri Utilizzati	51
4.2.2	Confronto Simulazione-Esperimenti	53
4.3	Descrizione estesa dei Risultati Sperimentali	57
4.3.1	Rilassometro Full-Size	58
4.3.2	Rilassometro SpinMaster	74
4.4	Analisi Risultati	90
4.4.1	Intensità del Segnale	90
4.4.2	Posizione picchi	94
4.4.3	Efficienza di Inversione	95
	Conclusioni	97
A	Sequenze	101
B	Listato di Totale.exe	105
C	Tabella S4P_Pedagogo	115
	Bibliografia	118

Elenco delle figure

1.1	Effetto di un impulso di inversione π	2
1.2	Coppia di scansioni per PERFIDI a 2 impulsi	3
1.3	Filtri passa alto	4
1.4	Filtri passa banda	4
1.5	Attenuazione in funzione di k	8
1.6	Variazione di F_{picco} $k_2 \propto k$	10
1.7	Variazione di F_{picco} a k_2 costante	10
1.8	Filtro passa banda a k_2 crescente	11
2.1	Schema delle direttive di accumulo	16
2.2	Componenti del segnale NMR in sequenza a 3 impulsi	17
2.3	Sequenza di segnali generati da S3P_Pedagogical	20
2.4	Sequenza di segnali generati da S4P_pedagogo	20
2.5	Componenti del segnale NMR in sequenza a 4 impulsi	25
2.6	Particolare degli echi dopo FID ₄	25
2.7	Ciclo di fase IR su S4P_pedagogo	29
2.8	Ciclo di fase CPMG, particolare su E34 (5040)	29
3.1	Rilassometro SM	32
3.2	Tomografo Artoscan Esaote	33
3.3	Particolari dell'apparato Full-Size	33
3.4	Soluzione di acqua ed EDTA in provetta	35
3.5	Screenshot del programma Totale.exe	42
3.6	Filtraggio limite Passa Alto	44
3.7	Filtraggio limite Passa Basso	45
4.1	Schema di acquisizione del FID con preambolo PERFIDI	48
4.2	Attenuazioni di un segnale FID ottenute mediante preamboli PERFIDI	48
4.3	Fitting dei primi 200 punti dei FID	50
4.4	Fit dei segnali vs attenuazione	50
4.5	Schema della sequenza IR con preambolo PERFIDI	52
4.6	Schema della sequenza CPMG con preambolo PERFIDI	52

4.7	IR - Full-Size	59
4.8	IR PassaAlto att 0.9 - Full-Size	62
4.9	IR PassaAlto att 0.5 - Full-Size	62
4.10	IR PassaBasso att 0.9 - Full-Size	63
4.11	IR PassaBasso att 0.5 - Full-Size	63
4.12	IR PassaBanda A att 0.9 - Full-Size	64
4.13	IR PassaBanda A att 0.5 - Full-Size	64
4.14	IR PassaBanda B att 0.9 - Full-Size	65
4.15	IR PassaBanda B att 0.5 - Full-Size	65
4.16	CPMG - Full-Size	67
4.17	CPMG PassaAlto att 0.9 - Full-Size	70
4.18	CPMG PassaAlto att 0.5 - Full-Size	70
4.19	CPMG PassaBasso att 0.9 - Full-Size	71
4.20	CPMG PassaBasso att 0.5 - Full-Size	71
4.21	CPMG PassaBanda A att 0.9 - Full-Size	72
4.22	CPMG PassaBanda A att 0.5 - Full-Size	72
4.23	CPMG PassaBanda B att 0.9 - Full-Size	73
4.24	CPMG PassaBanda B att 0.5 - Full-Size	73
4.25	IR - SpinMaster	75
4.26	IR PassaAlto att 0.9 - SpinMaster	78
4.27	IR PassaAlto att 0.5 - SpinMaster	78
4.28	IR PassaBasso att 0.9 - SpinMaster	79
4.29	IR PassaBasso att 0.5 - SpinMaster	79
4.30	IR PassaBanda A att 0.9 - SpinMaster	80
4.31	IR PassaBanda A att 0.5 - SpinMaster	80
4.32	IR PassaBanda B att 0.9 - SpinMaster	81
4.33	IR PassaBanda B att 0.5 - SpinMaster	81
4.34	CPMG - SpinMaster	83
4.35	CPMG PassaAlto att 0.9 - SpinMaster	86
4.36	CPMG PassaAlto att 0.5 - SpinMaster	86
4.37	CPMG PassaBasso att 0.9 - SpinMaster	87
4.38	CPMG PassaBasso att 0.5 - SpinMaster	87
4.39	CPMG PassaBanda A att 0.9 - SpinMaster	88
4.40	CPMG PassaBanda A att 0.5 - SpinMaster	88
4.41	CPMG PassaBanda B att 0.9 - SpinMaster	89
4.42	CPMG PassaBanda B att 0.5 - SpinMaster	89
4.43	Istogramma della variazione percentuale relativa	92
4.44	Curva cumulativa della variazione percentuale	92

Elenco delle tabelle

2.1	Orientazione degli stimoli e risposta degli echi	18
2.2	Formazione degli echi	24
2.3	Esempio di combinazione per ciclo di fase IR	27
2.4	Esempio di combinazione per ciclo di fase CPMG	28
4.1	Valori dei segnali di FID ottenuti dalla regressione lineare .	49
4.2	Tempi di rilassamento per i campioni utilizzati misurati con i due diversi rilassometri	52
4.3	Delay per SM	53
4.4	Delay per FS	54
4.5	Simulazione <i>vs</i> Misure: IR-Spinmaster	55
4.6	Simulazione <i>vs</i> Misure: CPMG-Spinmaster	55
4.7	Simulazione <i>vs</i> Misure: IR-Full-Size	56
4.8	Simulazione <i>vs</i> Misure: CPMG-Full-Size	56
4.9	Simulazioni <i>vs</i> Risultati IR	90
4.10	Simulazioni <i>vs</i> Risultati CPMG	91
4.11	Media delle Variazioni	91
4.12	Raffronto sequenze e attenuazioni (var %)	93
4.13	Posizione dei Picchi in ms	94

Introduzione

Questo lavoro ha per oggetto lo sviluppo e l'indagine su possibili applicazioni di un brevetto dell'Università di Bologna, inventori Paola Fantazzini e Stanislav Sykora [1]. La tesi è un'estensione dell'articolo [2] pubblicato nel 2007 da Stanislav Sykora, Villiam Bortolotti e Paola Fantazzini su *Magnetic Resonance Imaging* : 'PERFIDI: parametrically enabled relaxation filters with double and multiple inversion'; si tratta di uno studio concernente un'innovativa metodologia da applicare nel campo della Risonanza Magnetica Nucleare (NMR) per l'analisi di campioni con distribuzione multiesponenziale dei tempi di rilassamento. Con questa tecnica si misurano i tempi di rilassamento delle componenti longitudinale (T_1) e trasversale (T_2) della magnetizzazione nucleare: l'applicazione di una serie di impulsi a radiofrequenza — detta sequenza — modifica la magnetizzazione nucleare di una specie nucleare entro un campione immerso in un campo magnetico. La variazione di flusso concatenato con la bobina ricevente, generata dal ritorno all'equilibrio della magnetizzazione genera il Free Induction Decay (FID), segnale base della rilassometria NMR. In particolare l'obiettivo di PERFIDI è separare in fase di acquisizione il segnale NMR di una componente sulla base del suo rate longitudinale ($R_1 = 1/T_1$), direttamente in fase sperimentale e non, come generalmente accade, in fase di elaborazione dei dati. PERFIDI può quindi essere descritto come un preambolo, composto da una sequenza di impulsi a radiofrequenza, che può essere anteposto a una qualsiasi sequenza standard NMR/MRI (Magnetic Resonance Imaging) con l'obiettivo di ottenere un '*filtraggio a priori*' sulla base del valore di R_1 della componente di interesse. D'ora in avanti, mutuando il termine dall'elettronica, il filtraggio sarà denominato '*filtraggio in frequenza*'.

Cos'è il metodo PERFIDI?

La struttura base di PERFIDI è relativamente semplice: ad una sequenza standard viene anteposto un preambolo formato da uno o più impulsi di inversione — che invertono la magnetizzazione nucleare di π — l'acquisizione è ripetuta variando i parametri che caratterizzano tale preambolo e le diverse acquisizioni sono poi combinate per ottenere il risultato finale. La differenziazione tra i preamboli si realizza variando la distanza temporale tra i diversi impulsi di inversione e tra gli stessi e l'inizio della sequenza standard; la combinazione più semplice che si può ottenere è la sottrazione tra due sequenze con preambolo PERFIDI a due impulsi.

Scopo della Tesi

Un'applicazione specifica della Risonanza Magnetica Nucleare in campo medico è la misura o l'utilizzo della variazione del tempo di rilassamento longitudinale e/o trasversale come indicatore di un possibile stato patologico; il valore di riferimento può essere fornito in letteratura o può derivare dal confronto con tessuto ritenuto sano (questo approccio richiede l'individuazione di ROI ¹ da parte di un anatomopatologo). L'applicazione di un 'filtro in frequenza' permetterebbe di selezionare il segnale con tempi di rilassamento entro un range ritenuto indicativo di un'anomalia e individuare così solo le zone di tessuto considerate a rischio, o mirare con accuratezza un prelievo dirimente, quale può essere una biopsia. Tre esempi concreti ricavati dalla letteratura medica sono:

- Variazioni della struttura cartilaginea del ginocchio in seguito a stress gravi dell'articolazione comportano un aumento del tempo di rilassamento trasversale, dall'intervallo caratteristico di $20 \div 70$ ms fino a un valore medio superiore ai 110 ms [3];
- Il tumore alla prostata può essere identificato dalla diminuzione del tempo di rilassamento trasversale, che scende dai 193 ± 49 ms ai 100 ± 26 ms [4];

¹Region Of Interest

- L'adenoma pleomorfo alla ghiandola parotide si caratterizza per l'aumento dei tempi di rilassamento trasversali; l'articolo che descrive gli effetti della patologia riporta due diverse indicazioni: la prima ottenuta con un fit mono-esponenziale che restituisce un tempo medio di rilassamento, la seconda con un fit bi-esponenziale che fornisce una componente a tempo breve e una a tempo più lungo [5].

In questi casi l'applicazione di un filtro in frequenza, sia esso un passa-basso, un passa-alto o un passa banda permetterebbe, tramite l'MRI di individuare le zone maggiormente in sofferenza o più ragionevolmente imputabili di essere sede di sviluppo tumorale.

Le indicazioni fin qui riportate riguardano il tempo di rilassamento trasversale (T_2); non mancano studi anche sulla variazione del T_1 dovuta a condizioni patologiche, sono però generalmente pochi di indicazioni quantitative affidabili. L'alterazione del tempo di rilassamento longitudinale del tessuto cerebrale è presente, ad esempio, nella sclerosi multipla 'relapsing-remitting' [6]; nei casi di anemia falciforme si può correlare la variazione del T_1 con un ritardo nello sviluppo della materia grigia e bianca [7]. Non si può escludere inoltre che sia presente, in alcune di queste situazioni, un legame tra i due tempi di rilassamento: la scelta di analizzare quello trasversale piuttosto che quello longitudinale dipende spesso dai tempi più lunghi che richiede una sequenza IR (e le sequenze da essa derivate) rispetto alla sequenza CPMG. Un esempio di questa dualità è riportato in '*Differential Diagnosis of Intracranial Lesions with High Signal on T1 or Low Signal on T2-weighted MRI*' [8], in cui si dimostra come sia possibile individuare le caratteristiche che identificano la tipologia di lesione sulla base del contributo al segnale delle loro componenti: la ferritina, il rame e la melanina danno contributo maggiore nelle immagini pesate in T_1 ; la metemoglobina extracellulare è presente in entrambe le acquisizioni, mentre quella intracellulare è rilevabile solo col rilassamento longitudinale.

Risulta utile, a questo fine, conoscere a fondo le caratteristiche della funzione filtro che si viene a comporre dalla combinazione delle successive acquisizioni con diversi preamboli PERFIDI; successivamente sarà necessario simulare mediante la scrittura di un opportuno codice il comportamento dei

filtri e infine verificare sperimentalmente la resa del metodo (se gli impulsi aggiunti aumentano o meno il rumore presente nell'acquisizione, se oltre al filtraggio sono presenti distorsioni del segnale, ecc.).

Struttura della Tesi

La tesi si sviluppa in 4 capitoli:

- 1 - Analisi Teorica** : presenta il formalismo utilizzato per le equazioni della rilassometria NMR e, tramite l'introduzione di due nuovi parametri, lo utilizza per descrivere l'azione del preambolo PERFIDI a due impulsi su una qualsiasi sequenza di misura del tempo di rilassamento;
- 2 - Cicli di Fase** : affronta la problematica dei '*cicli di fase*', ovvero come migliorare la qualità del segnale acquisito intervenendo sulle direttive di accumulo; partendo dall'esempio di una sequenza a 3 impulsi implementa un metodo generale applicabile a una qualsiasi sequenza a 4 impulsi;
- 3 - Materiali e Metodi** : descrive gli apparati di misura utilizzati per la parte sperimentale, la preparazione dei campioni, indica le componenti della catena di acquisizione su cui è stato possibile intervenire direttamente, riporta la descrizione e le funzionalità del software sviluppato e utilizzato ai fini del lavoro di tesi, con particolare riferimento al software sviluppato per simulare l'effetto dei preamboli PERFIDI;
- 4 - Verifica Sperimentale** : nella prima sezione riporta una basilare verifica di funzionamento del metodo PERFIDI, nella seconda sezione la prassi di svolgimento degli esperimenti, nella terza i risultati delle misure, nella quarta la discussione dei dati sperimentali.

Oltre a ciò è presente, in appendice, il listato di un eseguibile (`totale.exe`) appositamente creato per trattare i file generati dall'apparato di acquisizione.

Capitolo 1

Analisi Teorica

1.1 Formalismo

Prima di procedere con la presentazione del metodo PERFIDI è utile un breve richiamo del formalismo utilizzato per la rilassometria NMR; innanzitutto le *Equazioni di Bloch*:

$$\frac{dM_z(t)}{dt} = -\frac{(M_z(t) - M_0)}{T_1} \implies M_z(t) = M_z(0)e^{-t/T_1} + M_0(1 - e^{-t/T_1}) \quad (1.1)$$

$$\frac{dM_{x,y}(t)}{dt} = -\frac{M_{x,y}(t)}{T_2} \implies M_{x,y}(t) = M_{x,y}(0)e^{-t/T_2} \quad (1.2)$$

Dove l'equazione 1.1 fa riferimento al rilassamento longitudinale e l'equazione 1.2 al rilassamento trasversale. Da qui si può già intuire quale sarà l'effetto di un impulso di inversione (rappresentato con π) sulla magnetizzazione di un campione, rappresentato pittoricamente in Fig.: 1.1:

$$m_f(d) = 1 - (1 + \eta m_i)e^{-rd} \quad (1.3)$$

dove m_i indica la magnetizzazione longitudinale iniziale, m_f quella finale, η l'efficienza di inversione dell'impulso (compresa tra 0 e 1) e dove si assume che le magnetizzazioni siano normalizzate rispetto alla magnetizzazione di equilibrio cosicchè questa risulta $m_0 = 1$; nell'equazione 1.3 troviamo anche d ad indicare il tempo di evoluzione (precedentemente indicato con t) e il

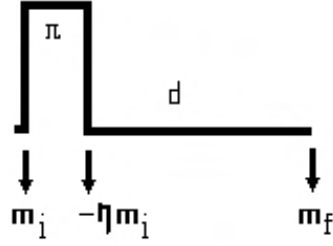


Figura 1.1: Effetto di un impulso di inversione π

rate r al posto del tempo di rilassamento ($r = 1/T$).

Il singolo impulso di inversione può quindi essere interpretato come un operatore a due variabili e un parametro $Q_\eta(r, d)$ che agisce sulla magnetizzazione del campione in funzione del rate di rilassamento longitudinale dello stesso. L'azione combinata di una serie di impulsi π può essere simbolicamente indicata con:

$$F(r; d_1, d_2, \dots, d_n) = m_f = Q_\eta(d_n; r) \{ \dots \{ Q_\eta(d_2; r) \{ Q_\eta(d_1; r) \} \} \} \quad (1.4)$$

1.2 PERFIDI

L'effetto di un particolare preambolo PERFIDI a n impulsi di inversione sulla magnetizzazione longitudinale di un campione può allora essere descritto da una formula ricorsiva ¹:

$$F(r; d_1, d_2, \dots, d_n) = 1 - (1 + \eta) \times \sum_{k=0}^{n-1} (-\eta)^k \exp \left(-r \sum_{j=n-k}^n d_j \right) \quad (1.5)$$

che ha per parametri la distanza temporale tra i vari impulsi π e l'efficienza di inversione degli stessi.

E' necessario dal punto di vista sperimentale che un filtro abbia la stessa efficacia per un dato rate ($r \equiv [T^{-1}]$ in ms^{-1}) in tutte le parti del campione; per ottenere tale effetto è necessario che sia possibile fattorizzare la dipendenza da r e quella da η in una forma del tipo : $F(r; d_k) = E(\eta) f(r, d_k)$,

¹si pone $m_i = 1$, si parte cioè da un campione con magnetizzazione nucleare pari alla magnetizzazione di equilibrio

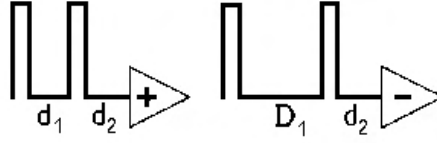


Figura 1.2: Coppia di scansioni per PERFIDI a 2 impulsi

questo risultato si raggiunge mediante l'opportuna combinazione lineare di sequenze acquisite con parametri d_k diversi.

La più semplice di queste combinazioni prevede la sottrazione di due sequenze con preambolo costituito da due impulsi di inversione:

$$F(r; d_1, d_2) - F(r; D_1, d_2) = \eta(1 + \eta) \left(e^{-rd_1} - e^{-rD_1} \right) e^{-rd_2} \quad (1.6)$$

L'esemplificazione di tale struttura è riportata in fig.: 1.2, dove sono rappresentati gli impulsi di inversione separati da opportuni delay e la successiva acquisizione. Una forma più complessa prevede la combinazione di quattro acquisizioni di filtri modulati ognuno con tre delay:

$$F(r; D_1, d_1, D_2, d_2, d_3) = F(r; D_1, D_2, d_3) - F(r; D_1, d_2, d_3) + F(r; d_1, d_2, d_3) - F(r; d_1, D_2, d_3)$$

da cui:

$$\eta^2(1 + \eta) \left[e^{-r(D_1+D_2)} - e^{-r(D_1+d_2)} + e^{-r(d_1+d_2)} - e^{-r(d_1+D_2)} \right] e^{-rd_3} \quad (1.7)$$

Si nota subito, però, che all'aumentare del numero di impulsi di inversione cresce anche la potenza del parametro efficienza dell'impulso π ; nei casi precedentemente esemplificati si può isolare rispettivamente $\eta(1+\eta)$ e $\eta^2(1+\eta)$, questo significa che l'attenuazione massima introdotta da PERFIDI (e quindi la sua capacità di mantenere quanto più inalterato il segnale di 'centro banda'), scala come una potenza pari alla lunghezza del preambolo. Nella pratica si riscontra generalmente $\eta \in [0.75; 0.95]$: essendo η strettamente minore di 1 è conveniente avere meno π possibili.

Sono riportati, a titolo descrittivo, i grafi (Fig 1.3 e Fig 1.4) di alcuni dei filtri ottenibili (nella forma $F=F/\eta(1+\eta)$) tramite la sottrazione di due

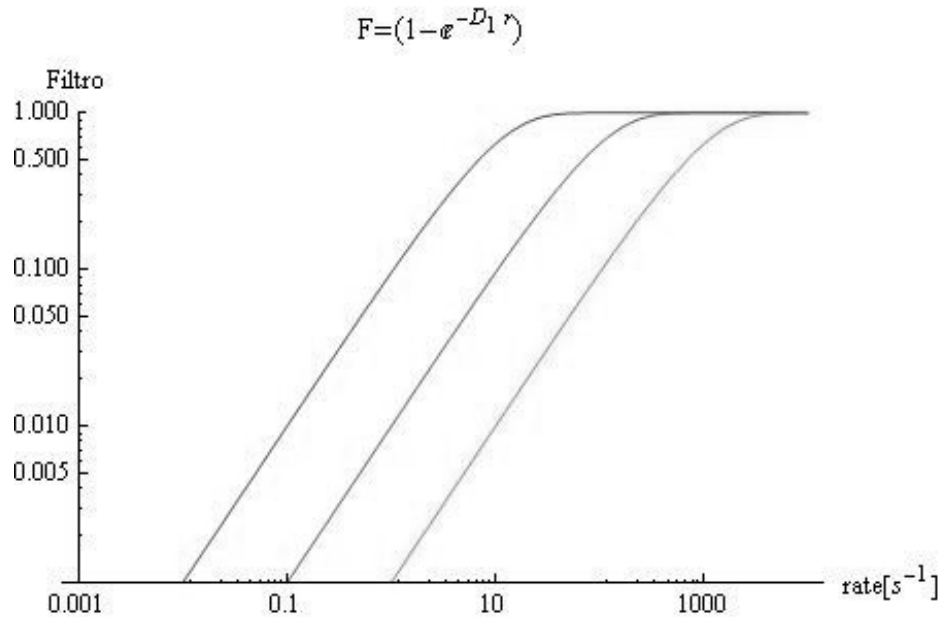


Figura 1.3: Filtri passa alto

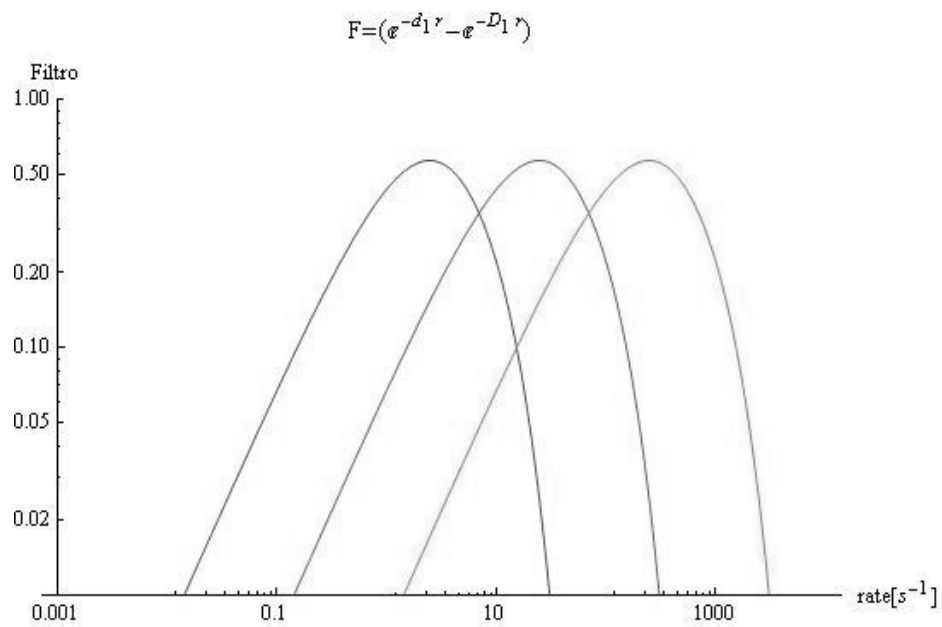


Figura 1.4: Filtri passa banda

sequenze PERFIDI a due impulsi. In Fig 1.3 si osserva come, ponendo $d_1 = 0$ e $d_2 = 0$, PERFIDI agisce come un passa-alto rispetto al rate di rilassamento longitudinale (con $D_1 = 0.1 ; 0.01$ e 0.001 da sinistra a destra).

In Fig 1.4 si osserva come ponendo solo $d_2 = 0$ PERFIDI (con $d_1 = 0.15 ; 0.015$ e 0.0015 , $D_1 = 0.85 ; 0.085$ e 0.0085) agisce come un passa-banda, sempre utilizzando la terminologia elettronica. In entrambi i casi è stata omessa l'azione del secondo delay (d_2) comune alle due sequenze, settandolo a 0 sec.

1.3 PERFIDI a 2 impulsi, $d_2 = 0$

Come si è potuto notare da una prima descrizione qualitativa, il preambolo PERFIDI agisce in maniera simile a un filtro in frequenza, interviene cioè a modificare l'intensità di risposta del campione in funzione del rate di rilassamento; è opportuno sottolineare la differenza concettuale tra il filtro elettronico e quello NMR PERFIDI: il primo agisce dopo che il dispositivo ha generato tutto lo spettro per eliminare delle parti, agisce cioè ex-post, il secondo inibisce l'acquisizione del segnale di parti dello 'spettro di rilassamento'. Data la sua espressione matematica (descritta in Eq:1.6) il filtro sarà modellato dal rapporto tra i delay delle funzioni generatrici, come si vedrà meglio in seguito; considerando la sottrazione di **due** sequenze con primo delay diverso e secondo nullo per entrambe [$d_1 \neq D_1$ e $d_2 = 0$] le componenti saranno e^{-rd_1} e e^{-rD_1} ; l'approccio più semplice prevede di far agire singolarmente le due componenti per comprendere il loro effetto sul segnale:

- se $d_1 = 0$ il primo termine della differenza è unitario e dalla sottrazione si ottiene una traslazione verticale del secondo profilo e^{-rD_1} , che agisce al pari di un passa alto: riduce il segnale proveniente dalle componenti a basso rate di rilassamento longitudinale;
- se $D_1 \rightarrow \infty$ il secondo termine tende a zero e il filtro agisce come un passa basso: riduce il segnale dalle componenti ad alto rate;

nell'implementazione delle sequenze $D_1 \rightarrow \infty$ si ottiene se $D_1 \approx RD^2$;

- se $d_1 > D_1$ la curva di filtraggio risulta negativa e perde significato fisico, questa condizione è da evitare.

Per il passa basso (Eq.: 1.8) e il passa alto (Eq.: 1.9), una volta noto il rate su cui si vuole operare, le relazioni che legano *delay*, *rate* e *attenuazione* sono immediate:

$$d_1 = \frac{1}{r} \ln \left(\frac{1}{att} \right) \text{ con } (D_1 \rightarrow \infty) \quad (1.8)$$

$$D_1 = \frac{1}{r} \ln \left(\frac{1}{1 - att} \right) \text{ con } (d_1 = 0) \quad (1.9)$$

Dove l'attenuazione (*att*) [*att* = frazione di segnale trasmesso $\equiv F$] è grandezza adimensionale espressa come numero nell'intervallo $0 \leq att \leq 1$; il *delay* e il *rate* è bene invece che siano dati con le corrispettive unità di misura (se $d \equiv [T]$ in secondi si avrà r in s^{-1} ovvero Hz , mentre se d è espresso in ms r risulterà in ms^{-1}).

1.3.1 Passa Banda, $d_2 = 0$

La trattazione dei parametri per il filtro passa banda è più complessa in quanto la funzione di filtraggio presenta due parametri:

$$F(r; d_1, d_2 = 0) - F(r; D_1, d_2 = 0) \propto \left(e^{-rd_1} - e^{-rD_1} \right) \quad (1.10)$$

trascurando per il momento il termine dovuto a una non perfetta inversione “ η ”. Visti i limiti “fisici” imposti agli esponenti ($d_1 < D_1$) una loro utile riformulazione risulta essere:

$$d_1 = k \cdot \Delta \quad \text{e} \quad D_1 = (1 - k) \cdot \Delta \quad (1.11)$$

$$F = \left(e^{-rd_1} - e^{-rD_1} \right) \implies F = \left(e^{-rk\Delta} - e^{-r(1-k)\Delta} \right) \quad (1.12)$$

²RD: Recycle Delay, ovvero il tempo di attesa tra due scansioni successive, generalmente impostato a $5 \cdot T_{1MAX}$

con $k \in [0 \div 0.5]$; in questa forma si possono infatti separare due comportamenti distinti dovuti alla variazione degli esponenti:

- Δ agisce come un fattore di scala che trasla entrambe le curve generatrici, e quindi il filtro risultante, lungo l'asse delle ascisse;
- k modifica il rapporto relativo tra gli esponenti e incide su forma e altezza del picco.

Per verificare l'utilità di quanto appena esposto è utile calcolare posizione e altezza del picco del filtro passa-banda.

Per la posizione:

$$\frac{\partial}{\partial r} \left[e^{-rk\Delta} - e^{-r(1-k)\Delta} \right] = (1-k)\Delta \cdot e^{-rk\Delta} - k\Delta \cdot e^{-r(1-k)\Delta} = 0$$

da cui

$$r_{picco} = \frac{\ln\left(\frac{k}{1-k}\right)}{\Delta \cdot (2k-1)} \quad \text{ovvero} \quad r_{picco} = \frac{\ln\left(\frac{d_1}{D_1}\right)}{d_1 - D_1} \quad (1.13)$$

Per l'altezza:

$$\begin{aligned} F_{picco} &= \left(e^{-k\Delta r_{picco}} - e^{-(1-k)\Delta r_{picco}} \right) = \\ &= \left(\exp^{-k\Delta \frac{\ln\left(\frac{k}{1-k}\right)}{\Delta \cdot (2k-1)}} - \exp^{-(1-k)\Delta \frac{\ln\left(\frac{k}{1-k}\right)}{\Delta \cdot (2k-1)}} \right) \end{aligned}$$

da cui

$$F_{picco} = \left(\frac{1-k}{k} \right)^{\frac{k}{2k-1}} - \left(\frac{1-k}{k} \right)^{\frac{1-k}{2k-1}} \quad (1.14)$$

L'altezza del picco (vale a dire l'attenuazione minima introdotta dal filtro) è univocamente determinata da uno solo dei due parametri introdotti, e cioè k come rappresentato in figura 1.5. A partire da questo assunto anche Δ risulta definito una volta che si sia individuato il rate di interesse (identificato con r_{picco}):

$$\Delta = \frac{\ln\left(\frac{k}{1-k}\right)}{r_{picco} \cdot (2k-1)}$$

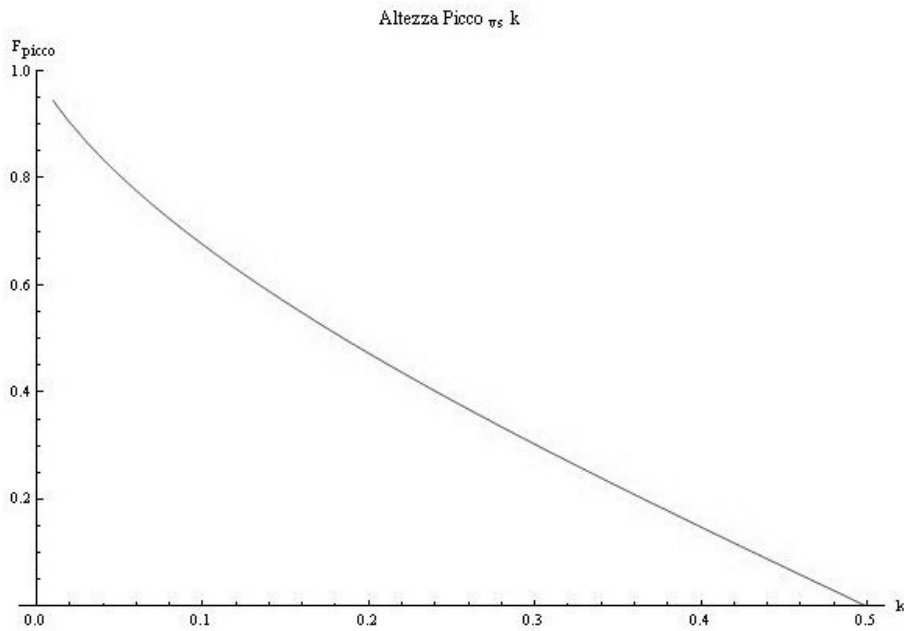


Figura 1.5: Attenuazione in funzione di k

Pertanto anche d_1 resta fissato una da k e r_{picco} tramite $d_1 = k\Delta$. L'espressione dell'altezza del picco, pur essendo funzione di un'unica variabile, non è certo immediata da visualizzare, è quindi opportuno riferirsi a una rappresentazione grafica (Figura: 1.5).

1.3.2 Secondo delay

La forma completa della funzione filtro è: $F = (e^{-rd_1} - e^{-rD_1}) \cdot e^{-rd_2}$; fin qui si è però trascurata la presenza del secondo delay d_2 posto, nelle precedenti analisi, arbitrariamente uguale a zero. Si tratta ora di verificare quale sia l'impatto di un tale assunto, cioè come variano posizione e altezza del picco considerando anche questo terzo parametro, e se sia ragionevole o meno mantenerlo nullo.

$$r_{picco} = \frac{\ln\left(\frac{d_1+d_2}{D_1+d_2}\right)}{d_1 - D_1} \quad \text{ovvero} \quad \frac{\ln\left(\frac{k\Delta+d_2}{(1-k)\Delta+d_2}\right)}{\Delta(2k-1)}$$

Se si continua la trattazione in questa forma diventa inutile la parametrizzazione " $k\Delta$ ", in quanto Δ diviene argomento del logaritmo e non sarà più

semplificabile nel calcolo dell'altezza del picco; per questo appare quantomeno non controproducente esprimere anche d_2 similmente a d_1 e D_1 cioè $d_2 = k_2 \cdot \Delta$. Il risultato immediato è:

$$r_{picco} = \frac{\ln\left(\frac{d_1+d_2}{D_1+d_2}\right)}{d_1 - D_1} \implies \frac{\ln\left(\frac{k+k_2}{(1-k)+k_2}\right)}{\Delta(2k-1)}$$

e quindi si può scrivere:

$$F_{picco} = \left[\left(\frac{1-k+k_2}{k+k_2}\right)^{\frac{k}{2k-1}} - \left(\frac{1-k+k_2}{k+k_2}\right)^{\frac{1-k}{2k-1}} \right] \left(\frac{1-k+k_2}{k+k_2}\right)^{\frac{k_2}{2k-1}} \quad (1.15)$$

In figura 1.6 e 1.7 sono riportati due esempi di variazione della funzione F_{picco} per diversi valori di k_2 , nel grafo 1.6 k_2 è proporzionale a k e vale 0, $0.1k$, $0.5k$, $2k$, nel grafo 1.7 k_2 è costante e vale 0, 0.1, 0.5, 2; in entrambe le rappresentazioni all'aumentare del valore del parametro associato a d_2 la curva si abbassa.

E' utile alla comprensione dell'effetto del secondo delay anche vedere cosa accade a un filtro passa-banda all'aumentare di k_2 una volta scelti dei valori di k e Δ di riferimento.

La curva più alta in fig.: 1.8 è un filtro con $d_1 = 0.02$ s e $D_1 = 0.85$ s ovvero $k = 0.023$ e $\Delta = 0.87$, in quelle sottostanti d_2 non è più nullo, ma cresce con valori 0.002, 0.01, 0.04, 0.1 cioè un decimo, la metà, il doppio e cinque volte il d_1 . Quanto emerge da quest'ultima analisi è che l'introduzione del secondo delay nel preambolo PERFIDI a due impulsi deprime la curva di risposta riducendo su tutto l'intervallo l'intensità del segnale; ciò è controproducente in quanto l'obiettivo del 'filtraggio' è poter selezionare un range di 'frequenze' da cui ottenere informazioni sacrificando il meno possibile il rapporto segnale rumore che il campione può esprimere.

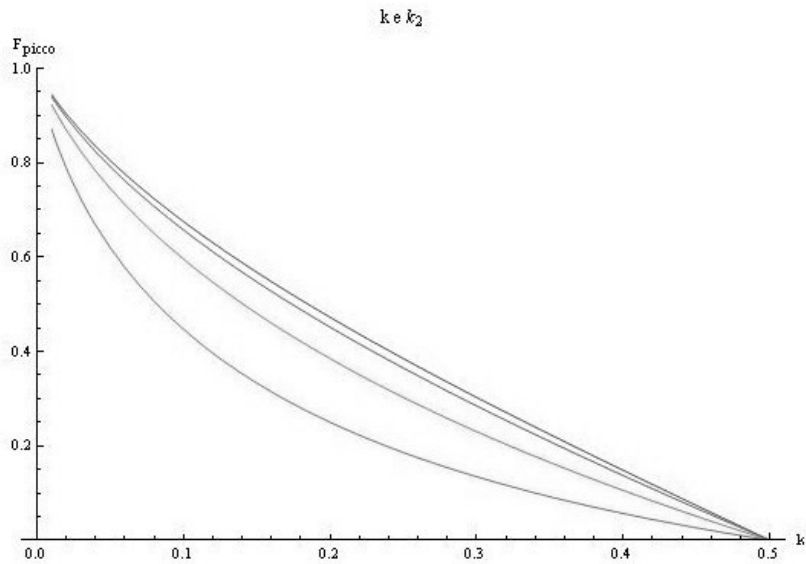


Figura 1.6: Variazione di F_{picco} $k_2 \propto k$

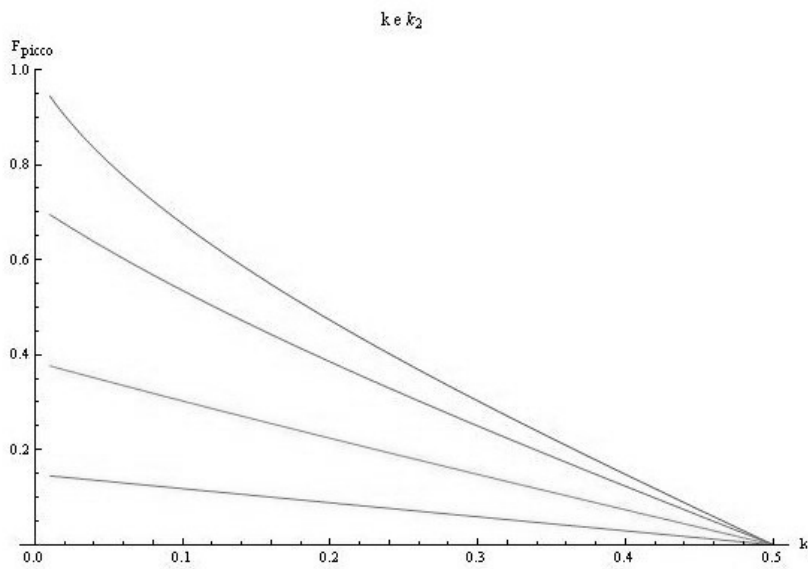


Figura 1.7: Variazione di F_{picco} a k_2 costante

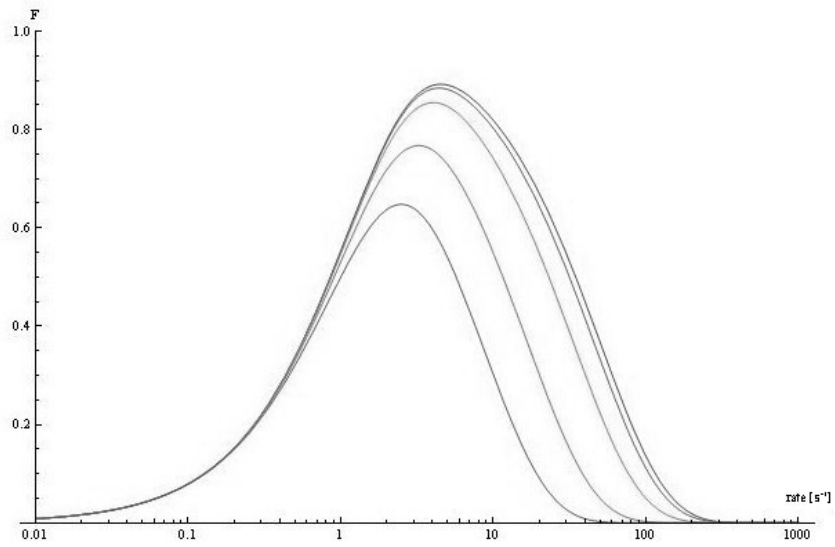


Figura 1.8: Filtro passa banda a k_2 crescente

1.4 Altre possibilità

Oltre a quelle indicate in Eq.: 1.6 e in Eq.: 1.7, numerose altre combinazioni sono possibili; l'implementazione di sequenze più complesse può seguire diverse strade:

- un maggior numero di impulsi nel preambolo (richiede però un numero crescente di acquisizioni per ottenere la fattorizzazione del termine η e quindi un tempo di misura sempre maggiore);
- l'iterazione di uno stesso filtro per rendere più ripida la curva di filtraggio o più stretta la banda passante (introduce la progressione geometrica dell'efficienza di inversione e limita fortemente il massimo segnale ottenibile);
- la realizzazione di cicli di fase studiati appositamente per le sequenze di acquisizione cui viene anteposto il preambolo PERFIDI;
- l'utilizzo degli impulsi di un gradiente di campo (detti *impulsi homospoil* o *HSG*) per la rimozione degli artefatti dovuti a una non perfetta inversione degli RF π (ove l'apparato sperimentale lo permetta);
- la somma o sottrazione dei segnali ottenuti con diversi delay direttamente in fase di acquisizione, e non di post elaborazione (ove l'apparato sperimentale lo permetta).

L'approccio scelto è quello dei cicli di fase in quanto permettono di migliorare la qualità dell'informazione ottenuta senza intervenire pesantemente sui tempi di acquisizione e sull'intensità del segnale.

Capitolo 2

Cicli di Fase

2.1 Premessa

Negli apparati rilassometrici il campione viene immerso in un campo magnetico costante e uniforme ed è circondato da una bobina che svolge una doppia funzione: trasmettere gli impulsi a radiofrequenza che alterano la distribuzione fra livelli energetici degli spin dei nuclei (nel nostro caso ^1H) e ricevere il segnale che viene generato dal loro ritorno all'equilibrio. Essendo l'effetto degli impulsi correlato alla loro durata e direzione è naturale introdurre un sistema di riferimento cartesiano; generalmente l'asse \hat{z} viene fatto coincidere con la direzione del campo magnetico principale (in forma vettoriale nell'eq.: 2.1).

$$\vec{B}_0 = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ B_0 \end{pmatrix} \quad (2.1)$$

Mentre gli impulsi, caratterizzati da una frequenza ω_{rf} e da una fase φ sono descritti in eq.: 2.2; la rilevazione del segnale, in questa configurazione, avviene sul piano \widehat{xoy} .

$$\vec{B}_{rf}(t) = \begin{pmatrix} B_1 \cdot \cos(\omega_{rf}(t) + \varphi) \\ B_1 \cdot \sin(\omega_{rf}(t) + \varphi) \\ 0 \end{pmatrix} \quad (2.2)$$

In una situazione ideale ($\omega_0 = \gamma B_0 = \omega_{rf}$)¹ è possibile calibrare la durata degli impulsi in modo da ottenere uno specifico angolo di nutazione: $\alpha = -\gamma B_{rf} t$; vige inoltre perfetta simmetria e un impulso π applicato lungo \hat{x} ha esattamente lo stesso effetto di uno lungo $-\hat{x}$: ribalta il verso della magnetizzazione e, nel caso si parta da una configurazione $M_i \equiv M_z = M_0$ (magnetizzazione di equilibrio), non induce alcun segnale nella bobina.

Nella realtà gli impulsi di inversione non hanno efficienza unitaria, inoltre si presenta un comportamento leggermente diverso a seconda della direzione e del verso in cui vengono applicati gli stimoli elettromagnetici; per sopperire a queste imperfezioni ed evitare quanto più possibile la presenza di errori sistematici o disturbi al segnale si può compensare tramite la variazione, in scansioni successive, della fase φ .

2.2 Cosa sono

Oltre a quanto accennato nella premessa, un singolo segnale di acquisizione NMR non ha solitamente un rapporto segnale rumore soddisfacente, per questo ogni misura è il risultato dell' 'accumulo' di singole applicazioni delle sequenze di base; la strumentazione è perciò dotata di opportuni buffer di memoria per accumulare i dati ottenuti dalle successive scansioni (la procedura più semplice è sommarle man mano). Si possono così realizzare dei particolari schemi di ripetizione complessi detti *cicli di fase* in cui si gestisce sia la fase di applicazione dell'impulso RF che quella del sistema di rilevazione. Occorre infatti combinare in modo opportuno i segnali acquisiti al fine di eliminare le imperfezioni degli impulsi. Il ciclo più semplice, che alterna l'impulso RF nei due versi di una stessa direzione e accumula i dati alternativamente per addizione e sottrazione, permette, ad esempio, di eliminare un indesiderato offset DC e correggere l'asimmetria del convertitore A/D. Cicli di fase più elaborati consentono di *eliminare echi indesiderati del segnale NMR*².

¹ γ è il rapporto giromagnetico di spin, lega la frequenza di Larmor ω_0 al campo magnetico B_0 ed è caratteristico dei nuclei in esame.

²La combinazione di due o più impulsi RF genera sempre una sequenza di FID ed echi indipendentemente dall'angolo di nutazione degli impulsi.

2.3 Come si ricavano

La Console *Stelar* disponibile in laboratorio è versatile al punto da permettere all'utente di implementare sequenze di acquisizione confacenti alle proprie necessità settando le indicazioni per gli impulsi e quelle per l'acquisizione; questo avviene sulla base di appositi script [9, 10, 11], ovvero sequenze di istruzioni in un linguaggio che il software dell'apparato è poi in grado di tradurre in istruzioni operative. Per gli impulsi RF la sintassi è immediata in quanto si tratta di specificarne la direzione : $p(x) = 0^\circ$, $p(-x) = 180^\circ$, $p(y) = 90^\circ$, $p(-y) = 270^\circ$, oppure in successione $p(x, -x, y, -y)$, e l'angolo di nutazione in gradi sessagesimali.

Nel caso delle direttive d'acquisizione la situazione è più complessa. Nel riferimento proprio degli impulsi RF un $\pi/2$ lungo \hat{x} genera un segnale lungo \hat{y} , per convenzione l'asse in cui si presenta il FID è identificato con l'ascissa del ricevitore; il secondo sistema di riferimento è quindi ruotato di 90° rispetto al primo, col vantaggio di mantenere la medesima identificazione tra la direzione di applicazione e di rilevazione dell'impulso. Il passaggio successivo è sfruttare la coppia di buffer di accumulo. Gli assi coordinati del sistema di ricezione saranno denotati con RE per le ascisse e IM per le ordinate; i buffer con I e II. L'apparato permette 4 diverse combinazioni secondo le seguenti direttive:

$Acc_x \Rightarrow$ somma RE a I e somma IM a II

$Acc_{-x} \Rightarrow$ sottrae RE da I e sottrae IM da II

$Acc_y \Rightarrow$ sottrae RE da II e somma IM a I

$Acc_{-y} \Rightarrow$ somma RE a II e sottrae IM da I

una sintassi dello script di acquisizione è nella forma $ENDS [p(x, -x, y, -y)]$. La situazione è esemplificata anche dallo schema in figura 2.1.

2.3.1 S3P_Pedagogical

Per la successione PERFIDI a due impulsi e singolo $\pi/2$ di misura, il ciclo di fase era stato ottenuto [1] utilizzando una sequenza implementata all'uopo:

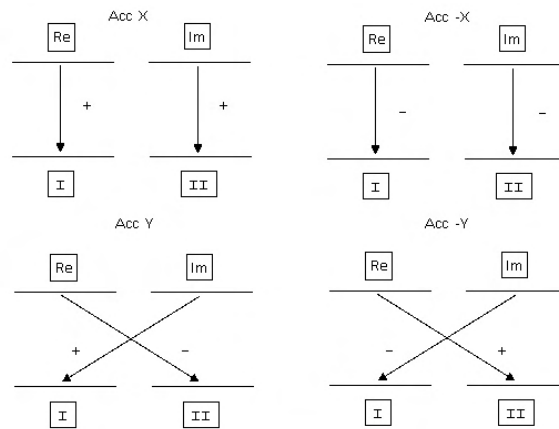


Figura 2.1: Schema delle direttive di accumulo

l'obiettivo era rendere visibili tutte e otto le componenti del segnale che possono essere generate da tre impulsi e combinare la successione di fasi in modo da eliminare quelle indesiderate; a tal fine si sono utilizzati i seguenti accorgimenti:

- era stata ridotta l'omogeneità del campo magnetico in modo da avere $T_2^* \ll T_2$, ciò è possibile posizionando il campione fuori dal centro ideale della bobina;
- la soluzione campione aveva $T_1 \approx T_2$ (nel caso in esame 13.5 ms e 12.0 ms)
- erano stati mal tarati gli angoli di nutazione (90° , 120° , 120° anziché 180° , 180° , 90°) di modo da massimizzare l'effetto dell'imperfezione dei π
- gli impulsi erano stati applicati a 0, T e 4T (dove $T = T_1/3 = 4.5$ ms) per mantenere distinti i vari FID ed Echi.

Quanto ottenuto è riportato in Figura 2.2; si possono facilmente identificare:

- FID_1 , FID_2 e FID_3 : tre FID corrispondenti ai tre impulsi a radiofrequenza nei punti 0, 630, 2520, che altro non sono se non i tempi 0, T e 4T

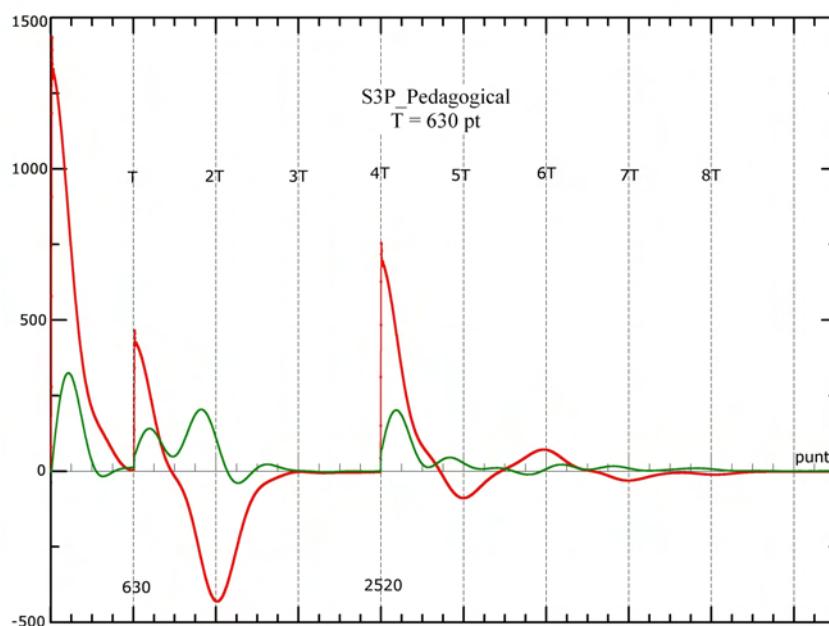


Figura 2.2: Componenti del segnale NMR in sequenza a 3 impulsi

- E_{12} : l'echo dovuto alla combinazione degli impulsi P1 e P2 a tempo $2T$ (1260), ossia l'echo di Hanh di FID_1 generato da P2;
- STE : l'echo stimolato a $5T$ (3150)
- EE : l'echo di E_{12} a $6T$ (3780)
- E_{23} : l'echo del FID_2 dovuto a P3 a tempo $7T$ (4410)
- E_{13} : l'echo del FID_1 dovuto a P3 a tempo $8T$ (5040)

Nell'immagine 2.2 la componente reale del segnale è rappresentata in rosso, quella immaginaria in verde; in questo caso tutti e tre gli impulsi sono stati applicati lungo x : variando la direzione degli impulsi a radiofrequenza si otterranno diverse orientazioni dei vari echi. L'orientazione del FID è coerente con l'impulso che l'ha generato, l'orientazione dell'ECHO viene indicata:

x se il picco si presenta nel canale reale e in verso positivo

$-x$ se il picco si presenta nel canale reale ma con verso negativo

y se il picco si presenta nel canale immaginario con verso negativo

$-y$ se il picco si presenta nel canale immaginario con verso positivo

Ogni combinazione delle direzioni degli impulsi RF genera una diversa configurazione di FID ed echi; il passo successivo è stato quindi raccogliere in un'unica tabella tutte le combinazioni 'rotazionalmente indipendenti'³ degli impulsi e le direzioni dei relativi echi; *combinando poi, tramite opportune direttive di accumulo, le righe di questa tabella è possibile ottenere solo le componenti di segnale desiderate.*

	P1,FID1	P2,FID2	P3,FID3	E_{12}	STE	EE	E_{23}	E_{13}
I	+X	+X	+X	-X	-X	+X	-X	-X
II	+X	+X	+Y	-X	-Y	-X	+X	+X
III	+X	+X	-X	-X	+X	+X	-X	-X
IV	+X	+X	-Y	-X	+Y	-X	+X	+X
V	+X	+Y	+X	+X	-Y	-Y	+Y	-X
VI	+X	+Y	+Y	+X	+X	+X	-Y	+X
VII	+X	+Y	-X	+X	+Y	-X	+Y	-X
VIII	+X	+Y	-Y	+X	-X	+X	-Y	+X
IX	+X	-X	+X	-X	+X	+X	+X	-X
X	+X	-X	+Y	-X	+Y	-X	-X	+Y
XI	+X	-X	-X	-X	-X	+X	+X	-X
XII	+X	-X	-Y	-X	-Y	-X	-X	+X
XIII	+X	-Y	+X	+X	+Y	-X	-Y	-X
XIV	+X	-Y	+Y	+X	-X	+X	+Y	+X
XV	+X	-Y	-X	+X	-Y	-X	-Y	-X
XVI	+X	-Y	-Y	+X	+X	+X	+Y	+X

Tabella 2.1: Orientazione degli stimoli e risposta degli echi

In Tabella 2.1 sono riportate 16 righe da cui si possono ottenere tutte le 64 possibili combinazioni per una sequenza di 3 impulsi.

L'arrangiamento delle righe differisce a seconda del segnale che si vuole mantenere: nel caso del preambolo PERFIDI seguito dall'impulso di acquisizione sarà FID_3 , per una Spin-Echo sarà E_{12} , per una Stimulated-Echo sarà STE.

Un possibile ciclo di fase implementato per mantenere solo FID_3 per sistemi senza rivelatore in quadratura⁴ si ottiene combinando 4 righe di tab.: 2.1 la IX con accumulo x, la III con accumulo -x, la XI ruotata di 180° e accumulo x, la I ruotata di 180° e accumulo -x.

³Da ogni combinazione se ne possono ottenere altre 3 con una rotazione concorde e di pari ampiezza di tutte le componenti; infatti: $x + 90^\circ = y$, $y + 90^\circ = -x$, $-x + 90^\circ = -y$, $-y + 90^\circ = x$

⁴ovvero con una singola bobina e non una coppia ortogonale

	FID1	FID2	FID3	E ₁₂	Ste	EE	E ₂₃	E ₁₃
+IX	x	-x	x	-x	x	x	x	-x
-III	-x	-x	x	x	-x	-x	x	x
+XI (+ π)	-x	x	x	x	x	-x	-x	x
-I (+ π)	x	x	x	-x	-x	x	-x	-x
Tot.	0	0	4x	0	0	0	0	0

da cui:

$$\begin{aligned}
 &P_1(x, x, -x, -x) \quad P_2(-x, x, x, -x) \\
 &P_3(x, -x, x, -x) \quad Acc(x, -x, x, -x);
 \end{aligned}$$

per un sistema con quadratura si può espandere a:

$$\begin{aligned}
 &P_1(x, x, -x, -x, y, y, -y, -y) \quad P_2(-x, x, x, -x, -y, y, y, -y) \\
 &P_3(x, -x, x, -x, y, -y, y, -y) \quad Acc(x, -x, x, -x, y, -y, y, -y);
 \end{aligned}$$

Volendo applicare il preambolo PERFIDI a sequenza più complesse, quali l'IR o la CPMG è necessario elaborare un percorso simile che permetta di dedurre i cicli di fase opportuni.

2.3.2 S4P_pedagogo

L'Inversion Recovery e la CPMG sono sequenze a due impulsi, la prima è composta di un impulso di inversione e di un successivo impulso di 'lettura' con angolo di nutazione 90° , la seconda inizia con un 90° e procede con una serie di 180° per generare gli echi che saranno poi campionati; la presenza di un PERFIDI a due impulsi le trasforma in sequenze a 4 impulsi : nell'IR il picco del segnale sarà allora denotato con FID_4 , nella CPMG con E_{34} . Si tratterà quindi di ottenere due diversi cicli di fase che eliminino quanto più possibile i risultati indesiderati della sequenza.

A tal fine si è approntata una sequenza a 4 impulsi posti a $t_1 = 0$, $t_2 = T$, $t_3 = 4T$ e $t_4 = 10T$, da eseguire nelle stesse condizioni di S3P_Pedagogical su un campione di EDTA appositamente preparato con $T_1 \approx 19$ ms. L'attesa è quella di ottenere 17 segnali tra FID, ECHO e STE; ovviamente con

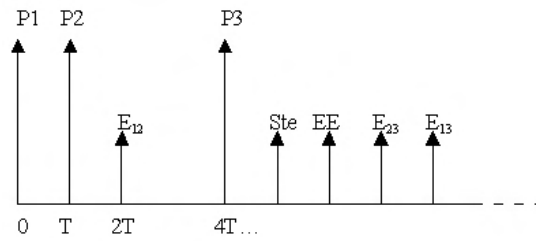


Figura 2.3: Sequenza di segnali generati da S3P_Pedagogical

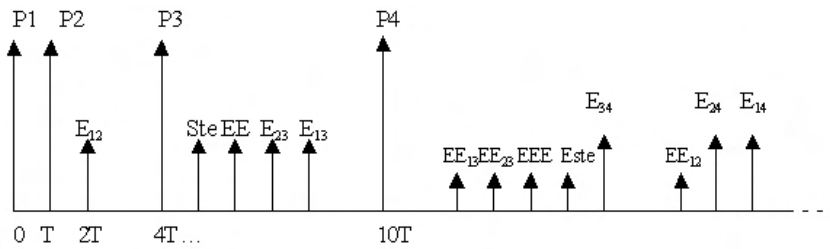


Figura 2.4: Sequenza di segnali generati da S4P_pedagogo

ampiezze diverse e via via decrescenti per quanto riguarda gli echi e gli echo di echo. Si passa dalla configurazione di Fig. 2.3 a quella di Fig. 2.4

Rispetto alla sequenza a tre impulsi ci si aspetta di dover acquisire 64 diverse serie per poter ottenere tutte e 256 le combinazioni possibili di orientazione degli impulsi, per ovviare alla probabilità di errore nel trattare un numero così elevato di combinazioni è stata realizzata, tramite l'ausilio di un foglio di calcolo di Excel una corrispondenza biunivoca tra le successioni di 4 impulsi e i numeri compresi tra 0 e 255 : si è semplicemente interpretato ogni simbolo x , y , $-x$ e $-y$ come termine di una numerazione in base 4 ($x=0$, $-x=1$, $y=2$, $-y=3$ cosicchè $xxxx = 0$; $-y-y-y-y = 255$). Per ottenere le fasi degli echi sono state utilizzate le sequenze da 0 a 63.

Per comprendere al meglio come funziona il sistema di determinazione delle fasi è utile acquisire familiarità con la sintassi degli script propria dello *Spinmaster*; anzichè presentarne i principi in un'esposizione lunga e tediosa è più efficace analizzare la sequenza utilizzata nella pratica:


```

SEQUENCE S4P_Pedagogo
'-----
'Analisi del ciclo di fase per sequenze a 4 impulsi
  D0;P1;RINH;D1;P2;RINH;D2;P3;RINH;D3;P4;RINH;D4
#SETUP  'Setup section:
  D0 :(RD) 'Recycle delay
  P1 = 90 [p(x,-x)] 'First PERFIDI "wrong" pulses
  D1 = 0.001 [c(SR)]
  P2 = 120 [p(x,-x)] 'Second PERFIDI "wrong" pulses
  D2 = 0.001 [c(R)]
  P3 = 120 [p(x,-x)] '
  D3 = 0.001 [c(R)]
  P4 = 120 [p(x,-x)] '
  D4 : (STIM-P1-D1-P2-D2-P3-D3-P4-4*RINH) [c(R)]
  ENDS [p(x,-x)] 'Accumulation
END SEQUENCE

```

la scrittura si compone di due blocchi principali:

- la successione di impulsi e delay:

```
D0;P1;RINH;D1;P2;RINH;D2;P3;RINH;D3;P4;RINH;D4
```

- la definizione delle caratteristiche degli impulsi, dei delay e delle direttive di acquisizione che inizia con #SETUP e termina con END SEQUENCE

Il primo blocco riporta, in ordine di esecuzione, la sequenza di impulsi e i tempi di attesa separati dal carattere ';', i delay utilizzati sono di tre tipi: quelli indicati con D (espressi in secondi), i RINH⁵ e gli ACQD⁶ (in microsecondi) che intervengono anche sull'inibizione dei circuiti di acquisizione.

Il secondo blocco specifica, per gli impulsi, il flip angle (in gradi sessagesimali) e la direzione di applicazione; per i delay la durata degli stessi. Permette inoltre di selezionare, come opzione, l'attivazione del canale di

⁵Receiver Inhibit

⁶Acquisition Delay

ricezione col comando [c(R)]; in D1 a ciò si aggiunge anche il segnale di trigger [c(SR)].

La sintassi di assegnazione per i delay e gli impulsi si differenzia inoltre tra '=' e ':' a seconda che sia permessa o meno la modifica da parte dell'utilizzatore finale dello script, una volta che la sequenza sia stata caricata.

Il fatto che S4.Pedagogo implementi nella sua struttura un ciclo di fase minimo (x, -x) serve a garantire l'annullamento dell'offset DC dall'acquisizione.

Passo passo l'esecuzione delle istruzioni:

1. D0 corrisponde al Recycle Delay tra le successive scansioni, il valore impostato è generalmente $4 \cdot T_{1\ max}$ per evitare la saturazione della componente longitudinale;
2. P1 il primo impulso che simula la prima inversione PERFIDI;
3. RINH delay strumentale necessario per il passaggio dalla configurazione trasmettitore a quella ricevitore per il probe (anche i successivi, sempre seguenti l'RF Pulse hanno la stessa funzione);
4. D1 separazione tra i due impulsi PERFIDI, attiva la ricezione del segnale e il trigger;
5. P2 secondo impulso PERFIDI;
6. D2 separazione tra il preambolo e l'inizio della sequenza standard, attiva la ricezione del segnale;
7. P3 primo impulso della sequenza standard (IR, CPMG, SR ...);
8. D3 delay tra gli impulsi standard, attiva la ricezione del segnale;
9. P4 secondo impulso della sequenza standard;
10. D4 attiva la ricezione del segnale e resetta il trigger per la scansione successiva;
11. ENDS indica le direttive di accumulo per i dati memorizzati nei buffer;

Ogni istruzione P disattiva automaticamente il canale di ricezione, di modo che l'impulso a radiofrequenza non arrivi al preamplificatore; STIM è l'acronimo di sweep time, parametro controllato tramite il software di acquisizione.

Per verificare la funzionalità del metodo e l'adeguatezza del campione è stato prima testato il medesimo set-up sperimentale utilizzando la sequenza S3P_Pedagogical, ottenendo i risultati previsti; alla prova dei fatti l'implementazione a 4 impulsi presenta però dei difetti: gli ultimi echi, o echi di echo generati dal IV impulso hanno un'intensità decisamente inferiore rispetto ai picchi dei FID, a volte talmente bassa da poter essere confusa col rumore. Questo perché non si riesce a ottenere una disomogeneità del campo magnetico tale da evidenziare anche gli ultimi picchi. D'altro canto però, se sono trascurabili rispetto al segnale principale significa che non incidono nella determinazione del segnale da elaborare e possono essere quindi trascurati; in ultima istanza saranno 14 i picchi utili nell'elaborazione dei cicli di fase:

- quattro FID relativi ai 4 impulsi a radiofrequenza e denotati con **P1**, **P2**, **P3** e **P4**
- quattro echi primari denotati con E12, E23, E13 E34 (la coppia di numeri indica i segnali RF che li originano)
- un echo stimolato, che si presenta T dopo P3, chiamato Ste, e il relativo echo Este
- quattro echi di echo : EE (sottinteso EE12), EE13, EE23, EEE (cioè EEE12)

Dopo la prima serie di 16 acquisizioni è emersa una regolarità, poi verificata nelle rimanenti prove, che permette di *determinare la direzione di un echo sulla base della direzione delle coppie di impulsi che lo hanno generato* (il sistema, esemplificato in Tab.:2.2, non si può quindi applicare all'echo stimolato). Questo ha permesso di elaborare una tabella teorica da confrontare con i risultati sperimentali, riscontrando totale accordo. Come in precedenza, per elaborare con rapidità ed efficacia i dati ottenuti ed evitare che i risultati fossero inficiati da distrazione o altro errore umano, si è fatto ricorso al foglio di calcolo di Excel. In una tabella di 64 righe e 15 colonne sono stati riportati i risultati di ogni sequenza, preceduta dal numero che la caratterizza; per poter poi verificare quali *combinazioni lineari* di sequenze

P_1	P_2	Echo ⁷
X	X	-X
X	Y	X
X	-X	-X
X	-Y	X

Tabella 2.2: Formazione degli echi

rispondessero ai criteri di selezione del segnale richiesti si sono convertite le direzioni dei picchi in ‘notazione complessa’: $x \rightarrow 1$, $-x \rightarrow -1$, $y \rightarrow i$ e $-y \rightarrow -i$, di modo da poter sommare o sottrarre le righe e visualizzare immediatamente il risultato.

Un ulteriore passo in avanti, sempre realizzato in Excel, permette di tener conto anche delle direttive di accumulo descritte in precedenza e poter sfruttare così tutte le 256 sequenze a disposizione.

2.3.3 Esempi

Come avvenuto con la sequenza S3P_Pedagogical, nei grafici è utile indicare la posizione dei marcatori temporali posti ai multipli di T con la medesima convenzione, ovvero indicando il punto del Block Size nei quali ci si aspettano i picchi.

In figura 2.5 è riportato un esempio di acquisizione, con tutti e quattro gli impulsi diretti lungo x , in figura 2.6 viene evidenziato il particolare relativo agli echi presenti dopo il quarto impulso, pressochè invisibili nella scala precedente. Nel primo dei due grafici sono facilmente identificabili i 4 FID a 0, T, 4T e 10T (0, 315, 1260, 3150), e gli echi a 2T, 5T, 6T, 7T, 8T (630, 1575, 1890, 2205, 2520). L’ingrandimento evidenzia anche la maggiore anomalia riscontrata in queste prove, e cioè il comportamento del segnale dopo il IV FID, nei punti compresi tra 3475 e 3780, ovvero tra 11T e 12T.

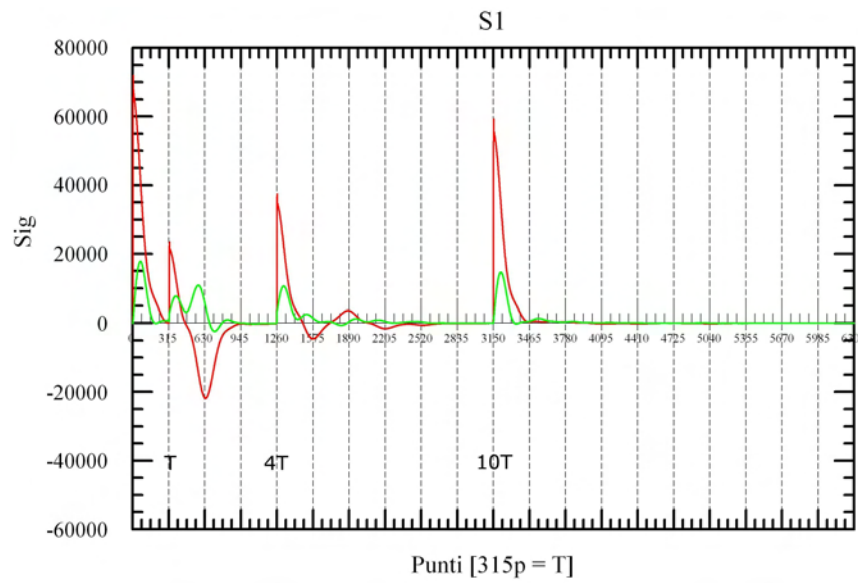


Figura 2.5: Componenti del segnale NMR in sequenza a 4 impulsi

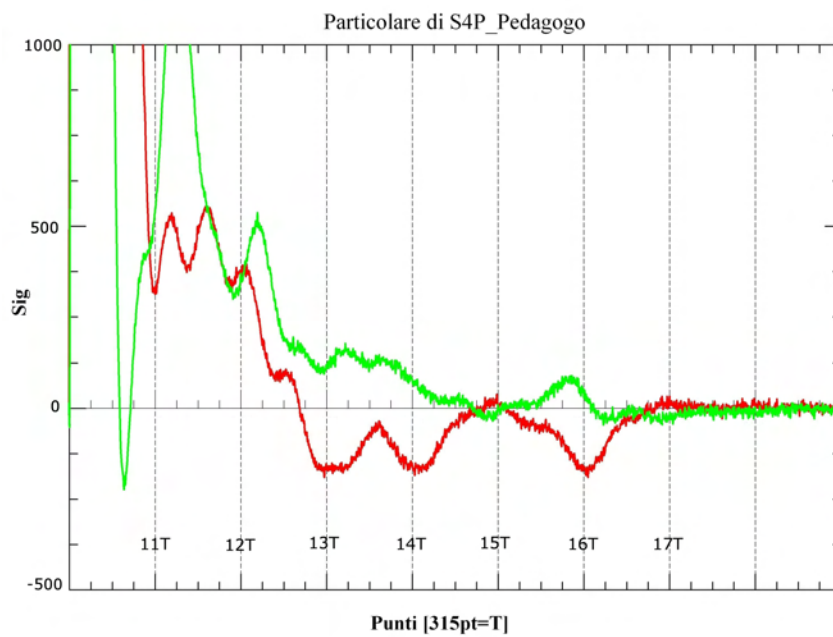


Figura 2.6: Particolare degli echi dopo FID₄

2.4 Risultati

Negli esperimenti si è verificata la funzionalità del preambolo PERFIDI su sequenze IR e CPMG, quindi per queste sono stati ricavati i cicli di fase.

IR \Rightarrow il miglior risultato è stato ottenuto con un ciclo di fase a 4 passi che permette di annullare tutte le componenti all'infuori del FID₄:

Da cui, alternando le direttive di accumulo x e $-x$:

$$P1=180[p(x,x,x,x)] \quad P2=180[p(-x,-x,-x,-x)] \quad P3=180[p(x,x,-x,-x)] \\ PW=90[p(x,-x,x,-x)] \quad ENDS[p(x,-x,x,-x)]$$

CPMG \Rightarrow per la CPMG un ciclo di fase che annulli tutte le componenti estranee ell'echo di interesse (E34) sembra richiedere almeno otto passi:

$$P1=180[p(x,x,x,x,x,x,x,x)] \quad P2=180[p(x,x,-x,-x,x,x,-x,-x)] \\ P3=180[p(-y,-y,x,x,x,x,y,y)] \quad PW=90[p(x,-x,-x,x,-x,x,x,-x)] \\ ENDS[p(x,-x,x,-x,x,-x,x,-x)]$$

questo però risulta difficilmente applicabile in quanto 'satura' la memoria del *Pulse Sequencer*⁸; si tratta quindi di trovare un compromesso tra la lunghezza del ciclo di fase e la presenza di picchi estranei; il miglior compromesso sembra essere:

$$P1=180[p(x,x,x,x)] \quad P2=180[p(y,y,y,y)] \quad P3=180[p(y,y,x,x)] \\ PW=90[p(x,-x,x,-x)] \quad ENDS[p(x,-x,x,-x)]$$

Per verificare la correttezza dei cicli di fase la loro applicazione è stata implementata sulla sequenza S4P_pedagogo (cioè nelle condizioni peggiori possibili), il risultato atteso nel migliore dei casi — per l'IR — è che tendono a scomparire tutti i picchi tranne uno, quello del IV FID; per la CPMG invece, il compromesso con la lunghezza del ciclo di fase permette di eliminare solo i segnali indesiderati più intensi e attenuare gli altri. Un esempio grafico del risultato è riportato in fig.: 2.7 per l'IR e fig.: 2.8 per la CPMG.

⁸la successione di istruzioni per l'esecuzione di una sequenza deve essere completamente caricata in memoria prima dell'esecuzione, un ciclo di fase troppo lungo si scontra con i limiti hardware del pulser

Posizione	0	315	630	1260	1575	1890	2005	2520	3150	3780	4095	4410	4725	5040
Picco	P1	P2	E12	P3	Ste	EE	E23	E13	P4	EE13	EE23	EEE	Este	E34
<i>32</i>	1	-1	-1	1	1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1
<i>34</i>	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	1	1	1	1
<i>40</i>	1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	1	1
<i>42</i>	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1
Risultato	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0

Tabella 2.3: Esempio di combinazione per ciclo di fase IR

Posizione Picco	0	315	630	1260	1575	1890	2005	2520	3150	3780	4095	4410	4725	5040
	P1	P2	E12	P3	Ste	EE	E23	E13	P4	EE13	EE23	EEE	Este	E34
³	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	-i	-1	-1	1	-1	1
inv ¹¹	-1	-1	1	1	-1	-1	1	1	i	1	1	-1	-1	1
⁴⁰	1	-1	-1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	1	1
inv ³²	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	-1	1	1	1	1
⁸	1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	1	1	-1	-1	1
inv ⁰	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1
³³	1	-1	-1	1	1	1	1	-1	i	-1	1	1	1	1
inv ⁴¹	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	-i	1	-1	-1	1	1
Risultato	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8

Tabella 2.4: Esempio di combinazione per ciclo di fase CPMG

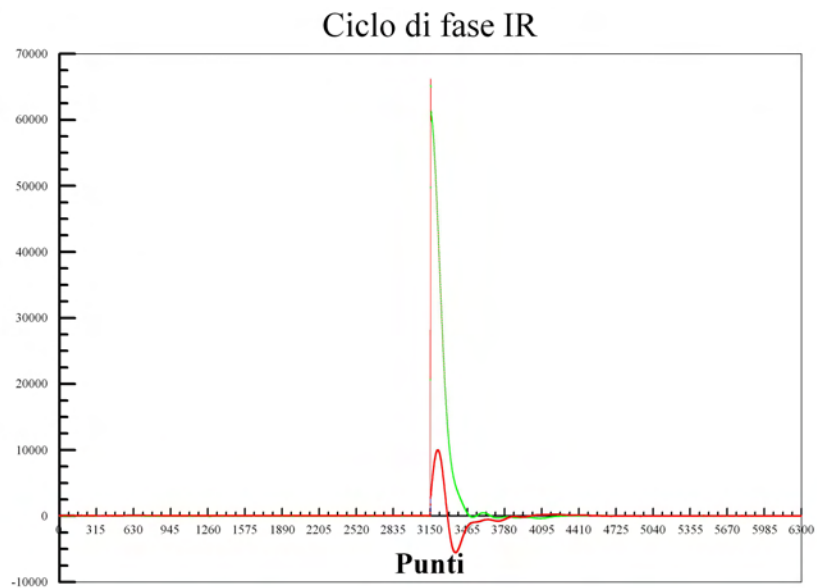


Figura 2.7: Ciclo di fase IR su S4P_pedagogo

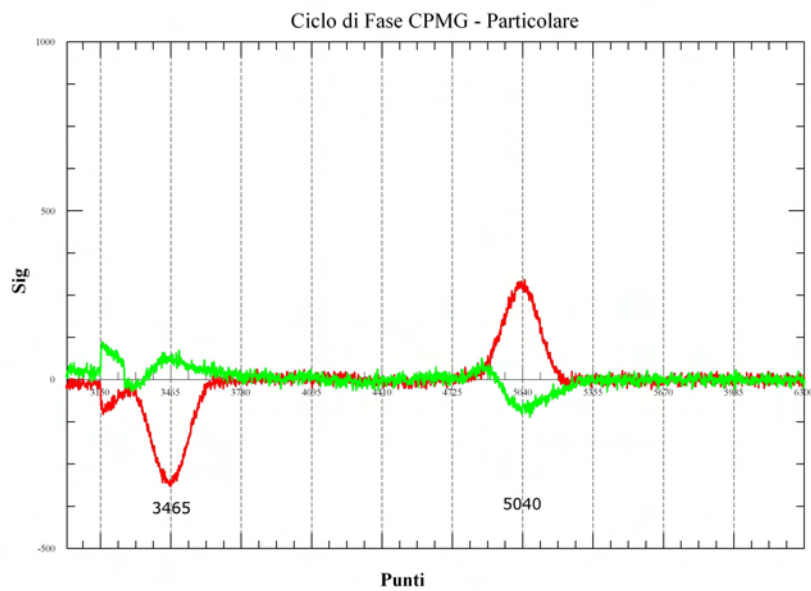


Figura 2.8: Ciclo di fase CPMG, particolare su E34 (5040)

Un'ulteriore conferma della funzionalità dei cicli di fase è attesa dall'applicazione sperimentale delle sequenze di misura con preabolo PERFIDI e dal confronto tra queste e acquisizioni normali; se, infatti, i delay di un preabolo sono settati a zero e il numero di impulsi di inversione è pari, non si dovrebbero avere distorsioni nella distribuzione dei tempi di rilassamento che si ricava dal medesimo campione; dal confronto tra l'intensità del segnale 'puro' e di quello ottenuto col filtraggio si possono inoltre ottenere indicazioni sulla capacità di inversione degli impulsi π e, in generale, sul contributo del preabolo all'intensità del segnale.

Capitolo 3

Materiali e Metodi

3.1 Rilassometri utilizzati

Le misure rilassometriche su campioni preparati ad hoc (e descritti nel capitolo successivo), sono state effettuate su due apparati sperimentali diversi: uno presso il Laboratorio NMR del Dipartimento di Fisica, l'altro presso il DICMA allestito in collaborazione tra Dip. di Fisica e DICMA; nel seguito saranno distinti coi nomi di SpinMaster (SM) e Full-Size (FS) rispettivamente.

SpinMaster L'apparato SpinMaster (fig.: 3.1) è composto da un elettromagnete JEOL in grado di generare un campo magnetico di $\approx 0,5 T$ [BOX4] (frequenza di 20.15 Mhz), da una bobina con funzioni di trasmettitore e ricevitore di impulsi [BOX4], un preamplificatore [BOX5], un generatore di impulsi [BOX3], un sistema di locking [BOX1] (strumentazione Stelar S.r.l) e un oscilloscopio [BOX2]. Un calcolatore permette di raccogliere ed elaborare i dati in uscita da tale catena, nonchè di gestire parte del set-up della stessa.

Full-Size L'altra catena di acquisizione sfrutta il campo magnetico permanente ($\approx 0.2T$, frequenza di 7.6 Mhz) generato dal tomografo Arto-scan (progettato da Esaote S.p.A. per l'MRI delle articolazioni, fig.: 3.2): al centro della cavità è posizionata una bobina (fig.: 3.3b) appositamente



Figura 3.1: Rilassometro SM

realizzata e collegata alla Console NMR portatile per rilassometria Stellar (fig.: 3.3a), che in un unico blocco raccoglie le funzioni di trasmettitore e ricevitore di impulsi e di interfaccia digitale con un laptop su cui è installato il software di acquisizione.

3.1.1 Set-Up

La procedura sperimentale prevede inizialmente una fase di calibrazione dell'apparato tramite il settaggio di un circuito RLC che concorre a determinare la curva di risposta al segnale. Le due operazioni, dette *Tuning* e *Matching*, corrispondono a modificare l'offset orizzontale e l'ampiezza di tale curva (agendo con un cacciavite opportunamente schermato su due viti di regolazione innestate nel probe); più precisamente si modifica l'impedenza di modo che il probe sia quanto più prossimo possibile alla frequenza di risonanza e che sia accoppiato in impedenza al generatore di segnale e all'amplificatore in modo da ottenere il massimo trasferimento di potenza (50Ω). Il software di controllo, comune ai due apparati e denominato 'AcqNMR.exe', permette di intervenire sulla caratterizzazione delle acquisizioni: dalla scelta della sequenza all'implementazione della stessa, dalle frequenze di campionamento all'attenuazione del segnale rilevato dalla bobina.

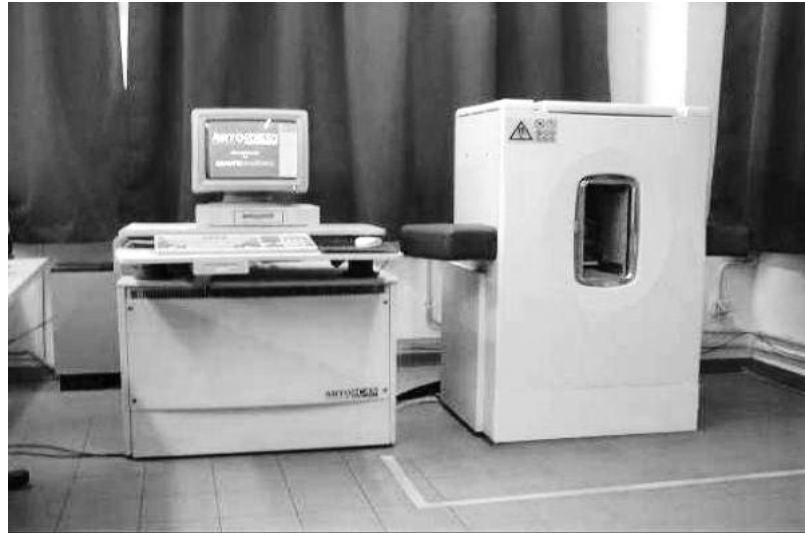
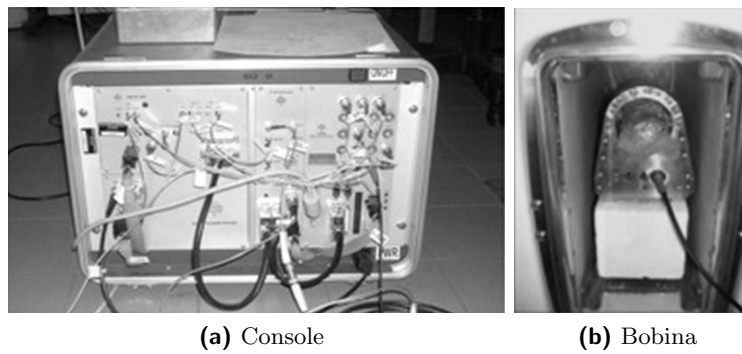


Figura 3.2: Tomografo Artoscan Esaote



(a) Console

(b) Bobina

Figura 3.3: Particolari dell'apparato Full-Size

I più importanti parametri accessibili dal calcolatore, una volta caricata la sequenza sono:

- F1: offset in frequenza del ricevitore [Hz];
- RFA: Radio Frequency Attenuation = attenuazione del segnale;
- RD: Recycle Delay = tempo, in secondi, tra due scansioni successive, serve a riportare il campione allo stato di equilibrio;
- EDLY: Echo Delay (CPMG) in microsecondi;
- Ciclo di Fase: permette di compensare errori relativi all'imprecisione del flip angle variando la direzione dell'impulso;
- MS: Maximum Scans = numero di scansioni totali, per migliorare l'SNR;
- SW: Sweep Width = frequenza di campionamento;
- BS: Block Size = numero di punti campionati;
- RPHS: Receiver Phase = fase del ricevitore (lavora insieme all'offset in frequenza);
- Tempo Morto:
 - RINH: Receiver Inhibit = separazione, in μsec , tra la funzione di trasmettente e quella di ricevente della bobina, per evitare ghost signals,
 - ACQD: Acquisition Delay = ulteriore ritardo nell'acquisizione, rispetto al precedente non interviene direttamente sull'attivazione della bobina;
- STIM: Sweep Time = tempo di scansione (nell'IR o S1P);
- Acquisizioni a parametro variabile (IR/S):
 - BACR: Acronimo del parametro,
 - BGRD: scala di variazione del parametro (LOG, LIN o LIST),
 - BINI e BEND: valori iniziali e finali,
 - NBLK: Number of Blocks = numero di blocchi;
- PW90: lunghezza temporale dell'impulso $\pi/2$ in μsec ;
- TATT: Transmitter Attenuation = potenza trasferita dagli impulsi a radiofrequenza, condiziona la loro durata temporale;

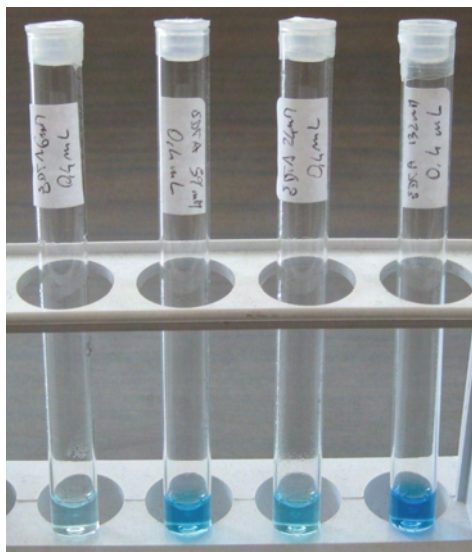


Figura 3.4: Soluzione di acqua ed EDTA in provetta

3.2 Caratteristiche dei Campioni

La soluzione di EDTA in acqua permette di preparare un liquido con un determinato tempo di rilassamento, legato da proporzionalità inversa alla concentrazione molare del sale (fig.: 3.4); trattandosi di un liquido bulk il tempo di rilassamento trasversale sarà confrontabile col tempo di rilassamento longitudinale. Per ottenere tempi dell'ordine dei 50, 100, 200 e 500 ms si è sfruttata una *'retta di calibrazione'* basata su campioni di molarità nota i cui tempi di rilassamento sono stati misurati nell'apparato SM; ci si aspetta che, sottoposti a un campo magnetico inferiore ma decisamente più disomogeneo, qual è quello interno alla bobina del FS, le medesime soluzioni presentino T_1 inferiore, a causa della minor frequenza e T_2 inferiore a causa della non omogeneità di campo. La retta di calibrazione del rilassamento longitudinale è risultata:

$$R[\text{ms}^{-1}] = 1.67 \times 10^{-4} \cdot [\text{ms}^{-1}/\text{mMol}]M + 4.64 \times 10^{-4}\text{ms}^{-1} \quad (3.1)$$

dove *'R'* è il rate di rilassamento e *'M'* la molarità; con un coefficiente di correlazione pari 0.9997 e un tempo di rilassamento trasversale estrapolato per l'acqua libera di 2.3 ± 0.5 s.

Concentrazioni e tempi di rilassamento misurati con SM sono riassunti nella seguente tabella:

Conc.(mM)	131.98	59.09	25.72	6.86
T ₁ (ms)	45	104	222	722
T ₂ (ms)	42	96	208	656

Per ogni soluzione sono state preparate diverse volumetrie:

- 100 μ L in tubo NMR da 5 mm
- 0.4 mL in provetta da 10 mm
- 4.5 mL in provetta da 10 mm

le diverse preparazioni servono ad ottimizzare il volume utile dei due diversi strumenti e a permettere l'inserimento di più provette simultaneamente nel probe (fino a 3 tubi NMR in SM, fino a 5 provette in FS).

3.3 Software

3.3.1 Utilizzo del software di inversione UPEN

La verifica sperimentale si basa sulla determinazione del contributo al segnale delle singole componenti di campioni appositamente preparati, è quindi necessario disporre di un programma per l'inversione dei dati sperimentali. E' stato utilizzato l'algoritmo UPEN (Uniform Penalty) sviluppato presso il Dip. di Fisica, implementato nel software UpenWin, sviluppato presso i Dip. di Fisica e DICMA e ora commercializzato dall'Università di Bologna. [12, 13, 14, 15, 16]

Il rilassamento NMR è una somma di processi esponenziali combinata a una frazione ineliminabile di rumore di fondo. Quando si effettua un'inversione per ottenere le funzioni di distribuzione dei tempi di rilassamento in sistemi multicomponenti vengono generalmente introdotti fattori di smussamento per evitare variazioni troppo brusche. Un'eventualità che si presenta spesso, soprattutto avendo a che fare con il segnale di mezzi porosi saturati d'acqua è che la distribuzione presenti uno o più picchi pronunciati e una

serie di code; con metodi di inversione tradizionali *a coefficienti costanti* queste code si possono trasformare in picchi separati.

Per questo viene introdotta la penalizzazione uniforme lungo la distribuzione; con lo stesso processo iterativo si possono imporre ulteriori parametri di controllo quali la non negatività (NN) o la monotonia dal picco (MT). Quanto sia significativo un picco secondario può essere valutato dal costo che ha sul fit l'assunzione forzata di una soluzione unimodale.

La maggior parte dei processi di inversione adotta come parametro d'iterazione una funzione di merito, generalmente lo scarto quadratico medio, più una penalizzazione data dall'output e i relativi vincoli (NN, MT...). Le difficoltà si presentano qualora non ci sia una conoscenza a priori sufficientemente approfondita da poter effettuare delle previsioni, qualora i picchi non siano risolvibili o addirittura risultino sovrapposti.

Il primo sviluppo di UPEN ha beneficiato del lavoro svolto su rilassamenti longitudinali con livelli di rumore casuale compresi tra lo 0,05% e l'1%, un range tipico di 127 punti spazati secondo la legge $q = \ln t$ (diversamente da quanto avviene nelle sequenze CPMG per la determinazione di T_2). Operativamente si vuole approssimare un set di dati s_i acquisiti ai tempi t_i con una somma di monoesponenziali :

$$s_i \approx g_0 + \sum_{k=1}^M g_k \cdot \exp(-t_i/T_k) \equiv x_i$$

dove T_k sono i tempi di rilassamento e g_0 il valore asintotico all'infinito del segnale.

Per evitare un eccesso di dettaglio è solitamente introdotta una funzione di penalizzazione con termini di:

$$\mathbf{Ampiezza} : A \sum_{k=1}^M g_k^2$$

$$\mathbf{Pendenza} : D \sum_{k=1}^{M-1} (g_{k+1} - g_k)^2$$

$$\mathbf{Curvatura} : C \sum_{k=2}^{M-1} (g_{k+1} - 2g_k + g_{k-1})^2$$

L'effetto di smussamento per un dato valore di C dipende dal SNR e dalla spaziatura di dati e punti calcolati; può essere quantificato tramite α ,

parametro inversamente proporzionale a C. Lavorando sulla curvatura, la quantità da minimizzare risulta essere:

$$\sum_{i=1}^M \left(g_0 + \sum_{k=1}^M g_k \cdot \exp(-t_i/T_k) - s_i \right)^2 + \sum_{k=2}^{M-1} C_k (g_{k-1} - 2g_k + g_{k+1})^2$$

che può essere espresso in forma matriciale se si fa corrispondere a $e^{(-t_i/T_k)}$ una matrice $N \times (M+1)$: $\mathbf{U} \Rightarrow \mathbf{x} = \mathbf{U}\mathbf{g}$ per cui il primo termine diventa $\mathbf{g}^\dagger \mathbf{U}^\dagger \mathbf{U} \mathbf{g} - 2\mathbf{s}^\dagger \mathbf{U} \mathbf{g} + \mathbf{s}^\dagger \mathbf{s}$ con $\mathbf{U}^\dagger \mathbf{U} = \mathbf{W}$ la curvatura sarà data da $V^{(k)} \mathbf{g}$ elevato al quadrato: $\mathbf{g}^\dagger V^{(k)\dagger} V^{(k)} \mathbf{g}$ poi $K = \sum_k C_k V^{(k)\dagger} V^{(k)}$ di modo che la penalità risulti essere $\mathbf{g}^\dagger K \mathbf{g}$ e la quantità da minimizzare $\mathbf{g}^\dagger \mathbf{W} \mathbf{g} - 2\mathbf{s}^\dagger \mathbf{U} \mathbf{g} + \mathbf{s}^\dagger \mathbf{s} + \mathbf{g}^\dagger K \mathbf{g}$. Il feedback per ottimizzare i C_k è dato dalla ‘local compliance contributions’ di pendenza o curvatura. Oltre a ciò è necessario bilanciare il peso dei due termini nella minimizzazione (in pratica l’influenza di rumore e smoothing); in prossimità della soluzione i due termini avranno ragionevolmente pesi confrontabili.

Riprendiamo un po’ più in dettaglio i due termini:

$$\sum_{i=1}^N B_i \left(g_0 + \sum_{k=1}^M g_k \exp(-t/T_k) - s_i \right)^2 + \sum_{k=1}^M A_k g_k^2 + \sum_{k=2}^{M-1} C_k (g_{k-1} - 2g_k + g_{k+1})^2$$

il primo è il quadrato dell’errore di fit, con relativo coefficiente di peso B_i , il secondo è la ‘penalizzazione’: g_k è l’ampiezza calcolata, t_i è il tempo dei dati, T_k sono i tempi di rilassamento, C_k è il coefficiente della penalizzazione di curvatura e A_k è un coefficiente di ampiezza non nullo solo fuori dal range di dati.

Per ultimo è sensato descrivere un indice di qualità del fit RmR : generalmente è negativo, valori dell’ordine di 0,05 indicano problemi nei dati, superiori a 0,1 probabili errori; è definito come il logaritmo del rapporto tra i due parametri R_r ed R_v

$$RmR = \ln(R_r/R_v)$$

$$R_r^2 = \left(\sum_{i=1}^N B_i E_i^2 \right) / N ; R_v = \frac{1}{2(N-2)} \sum_{i=1}^{N-2} \left(\sqrt{B_i} E_i - \sqrt{B_{i+2}} E_{i+2} \right)^2$$

dove E_i sono gli errori di fit.

La struttura fin qui descritta è quanto di meglio ci si possa attendere da una utility di inversione finalizzata a separare le componenti del segnale NMR, e valutare, di conseguenza, come esse variano in seguito all'applicazione del preambolo PERFIDI (ovvero alla selezione delle stesse sulla base del rate di rilassamento longitudinale).

E' sulla base della risposta di UPEN nell'analisi di diverse coppie di campioni che è stata poi effettuata la scelta per il phantom da utilizzare negli esperimenti.

Per ogni inversione vengono restituiti [16]:

- il grafico della distribuzione dei tempi di rilassamento in formato *.eps
- un file *.tst con i valori di uscita dei parametri di inversione
- un file *.dat con la distribuzione dei tempi e dei rate di rilassamento in varie forme

Le informazioni di maggior interesse ai fini degli esperimenti effettuati derivano dall'analisi del file *.tst; di seguito sono elencati, con una breve descrizione, i termini utili:

S/Rv : rapporto segnale-rumore, è un indice di risoluzione e di qualità dei dati acquisiti;

XNeg% : indica la percentuale di 'area negativa' che sarebbe necessaria nella distribuzione dei tempi, tende ad assumere valori alti qualora la distribuzione sia molto piccata (tipicamente nei casi presi in esame);

RmR : riporta due numeri, a sinistra $\ln(Rum/RumV)$ che ci si aspetta negativo, a destra $\ln(RumV1/RumV2)$ dove RumV1 e RumV2 indicano il rumore calcolato sull'errore di fit rispettivamente delle prime e delle seconde **Na** coppie di vicini;

Peaks : la lista dei tempi a cui sono stati identificati dei picchi;

Resolved_Peaks_Tgm : indica la frazione di segnale per ogni singolo picco, di cui riporta la posizione calcolata tramite media geometrica;

RumNewOld : riporta due numeri, a sinistra $\ln(Rum/Rumo)$, a destra $\ln(RumV/RumVo)$, dove ‘o’ sta per ‘old’, ovvero prima che venga applicato il NN (NonNegative) constrain;

kurtosis : spostamento degli errori di fit da una distribuzione gaussiana, può essere indicatore della presenza di un errore sistematico.

Nelle elaborazioni effettuate la presenza di due sole componenti marcatamente distinte nei tempi di rilassamento genera messaggi di WARNING e BEWARE da parte del software di inversione; in particolare la forma dei picchi contribuisce ad accrescere la necessità di una componente negativa nella distribuzione, in presenza di un alto rapporto segnale rumore, invece, bastano piccole deviazioni o irregolarità perché la statistica di Kurtosi sia fuori dai limiti richiesti.

3.3.2 Scrittura di codici ad hoc: Totale.exe

Come accennato in precedenza, UPEN per l’IR lavora in condizioni ottimali con una serie di 127 punti in scala logaritmica; per ottenere tali dati dall’acquisizione di un’IR/S con 128 blocchi è integrato nel programma il ‘filtro *.*sdf’ (con un analogo anche per la CPMG), che elabora un fit per il FID di ogni blocco e prepara un file contenente i dati per l’inversione.

Restano però alcune problematiche aperte, in merito all’elaborazione dei dati e alla definizione dei protocolli sperimentali:

1. è opportuno automatizzare il calcolo dei delay che concorrono a formare il filtro;
2. serve un’alternativa al foglio di calcolo (limitato a circa 65000 righe) per la sottrazione delle acquisizioni;
3. manca un riferimento con cui confrontare i risultati sperimentali.

Si è scelto di racchiudere tutte queste funzionalità in un'unica utility sviluppata in C++ e denominata 'TOTALE.EXE'.

Per il punto **1** la soluzione è implementare il calcolo di k e Δ : il primo parametro dipende solo dal rate per cui si richiede l'attenuazione minima impostata, il secondo, una volta fissato k è univocamente determinato dall'altezza del filtro; come visto nella sezione matematica dai valori di k e Δ deriva un'unica coppia di d_1 e D_1 .

Per il punto **2** si tratta di sfruttare lo stream su file per ottenere, da una coppia di *.sdf, un '*file differenza*' con struttura analoga ai precedenti, su cui poi poter applicare il 'filtro *.sdf' e rendere così applicabile l'inversione di UPEN.

La terza questione richiede una *simulazione* dell'effetto del filtro su di un campione di cui si conosca la distribuzione dei tempi di rilassamento.

3.3.3 Simulazione PERFIDI

Il presupposto per poter ottenere una simulazione del metodo PERFIDI applicato a un dato campione è conoscerne la distribuzione dei tempi di rilassamento longitudinali; questa informazione si può ricavare mediante UPEN sulla base di un'acquisizione standard, quale, ad esempio, un'IR. Partendo dai dati della misura, UpenWin fornisce un file *.dat che riporta, con 100 punti¹, il risultato dell'inversione; simulare l'azione del filtro significa moltiplicare l'altezza di ciascuno di questi punti per il valore che la curva di filtraggio assume in quel dato tempo. L'elaborazione è direttamente scritta su di un nuovo file *.dat che quindi contiene il risultato atteso degli esperimenti.

Da tali presupposti si sono rese necessari due successivi miglioramenti nella struttura della simulazione:

- come base per la simulazione si è scelto di utilizzare un'acquisizione sperimentale dotata di preambolo, ma con entrambi i delay settati a zero, cioè senza alcun effetto atteso sulla risposta delle componenti del campione;

¹tale valore di 'campionamento' della distribuzione è impostato di default in Upen, ed è l'unico su cui lavora Totale.exe

- come confronto tra simulazione e risultato sperimentale si è scelto il rapporto tra le aree sottese dai picchi.

La necessità di partire da una misura che contempra l'applicazione, seppur inefficace, del preambolo PERFIDI deriva dalla non idealità degli impulsi: non è possibile ottenere degli impulsi che invertano perfettamente la magnetizzazione su tutto il volume sensibile, e non è altresì realizzabile una separazione temporale nulla tra due impulsi successivi. Non risulta altrettanto affidabile una previsione dell'effetto del preambolo PERFIDI che si basi sui dati di un'acquisizione standard, cioè senza preambolo.

La seconda scelta si basa, invece, su una più attenta considerazione dei parametri di inversione; ciò che caratterizza, infatti, l'apporto delle singole componenti al segnale è la frazione d'area totale sottesa dai picchi ricavati da UPEN. Per questo è opportuno utilizzare i dati della simulazione per calcolare i rapporti tra le aree dei picchi piuttosto che confrontare graficamente la curva di simulazione e quella dell'esperimento ad essa relativo.

Manuale

```

#####
#                               #
#   TOTALE                       #
#   Raduna tutte le funzioni ritenute utili per i filtri                 #
#   PERFIDI®                     #
#####

Vengono di seguito elencate le funzioni disponibili, comprensive
di una breve descrizione

[1] - PASSA ALTO:
    dato il rate di interesse e l'attenuazione, restituisce il D1
[2] - PASSA BASSO:
    dato il rate di interesse e l'attenuazione, restituisce il d1
[3] - PASSA BANDA:
    dato il rate di interesse e l'attenuazione, restituisce i
    parametri utili alla generazione del filtro.
[4] - SIMULA FILTRO:
    data un'acquisizione senza preambolo, partendo dal file
    *.dat elaborato da UPEN® genera un file di simulazione del filtro
[5] - SOTTRAI *.sdf T1
    permette di generare il file differenza tra due acquisizioni di T1 (IR-SR)
    crea anche un file di controllo per maggiore sicurezza
[6] - SOTTRAI *.sdf T2
    permette di generare il file differenza tra due acquisizioni di T2 (CPMG)
    crea anche un file di controllo per maggiore sicurezza
[7] - MANUALE
    apre una guida *.htm sulle singole funzioni disponibili

Gli algoritmi di calcolo provvedono a verificare che i delay proposti
siano compatibili col limite strumentale di 5e-05 sec

Inserisci il numero di riferimento della funzione da utilizzare: _

```

Figura 3.5: Screenshot del programma Totale.exe

L'immagine 3.5 riporta la schermata iniziale di un eseguibile sviluppato in C++, nell'ambito di questo lavoro di tesi, come ausilio all'attività sperimentale. L'eseguibile `totale.exe` si propone di raccogliere alcune funzioni utili a facilitare la progettazione, l'applicazione e la verifica delle sequenze PERFIDI; è compatibile con OS Windows dalla versione 'Win95' a 'Vista'.

I sottoprogrammi disponibili si possono suddividere in tre gruppi:

- 1 - 2 - 3 : permettono di individuare i delay da impostare nelle diverse sequenze di filtraggio partendo dalla conoscenza del rate di interesse e dell'attenuazione massima che ci si può permettere per un dato campione
- 4 : basandosi su un file `*.dat` reso disponibile dall'analisi tramite UPEN di un'acquisizione 'pura'² e su una coppia di delay introdotta da riga di comando, genera un file contenente diverse colonne utili a rappresentare graficamente l'azione del filtro
- 5 - 6 : sono le opzioni che generano i 'file differenza - `*.sdf`' a partire dalle acquisizioni con preambolo PERFIDI

Essendo strutturato totalmente in riga di comando non è sempre banale inserire i percorsi dei file da processare, per questo è opportuno prepararne una copia nella cartella da cui viene lanciato l'eseguibile, o copiare `totale.exe` nel percorso dei file di interesse. Il programma prevede un controllo della validità dei parametri di output basato sul delay minimo impostabile in laboratorio : 5×10^{-5} secondi; sono presenti anche alcuni controlli sugli stream in ingresso, quali la validità dei nomi file in input o il range ammesso per l'attenuazione. Nella cartella contenente i file di origine e l'eseguibile sono presenti anche alcuni `*.sdf` e `*.dat` utili per la verifica delle funzionalità richieste. I file a disposizione per le prove si chiamano: `prova1.dat` per la simulazione del filtro, `input_1.sdf` e `input_2.sdf` per la sottrazione tra IR, `CPMG1.sdf` e `CPMG2.sdf` per la sottrazione tra CPMG. I valori validi per l'attenuazione sono: strettamente maggiore di zero e minore o uguale a 0.99. I rate e i delay sono espressi rispettivamente in

²Ovvero con delay del preambolo settati a zero

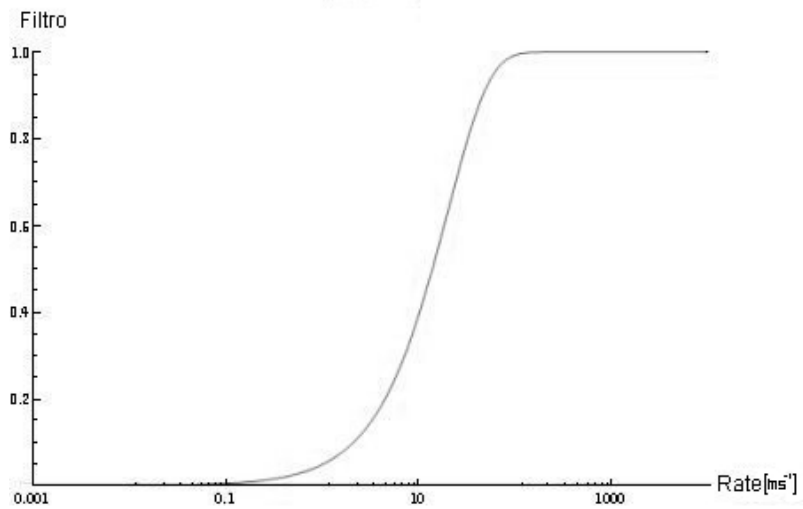


Figura 3.6: Filtraggio limite Passa Alto

ms^{-1} e ms . Una volta introdotta l'attenuazione richiesta il programma comunica il rate massimo disponibile e non accetta in input valori superiori. Il separatore decimale è il punto.

[1]-Passa Alto e [2]-Passa Basso I dati richiesti sono il rate di interesse e la relativa attenuazione. Per prima viene richiesta l'attenuazione di modo da stabilire il rate massimo a cui si può operare il filtraggio in frequenza; se, infatti, il delay minimo impostabile è 0.05 ms la curva più a destra ottenibile rispetto alle ascisse è quella riportata in fig.: 3.6 e in fig.: 3.7

[3]-Passa Banda I dati richiesti sono il rate di interesse e la relativa attenuazione. Come nei due casi precedenti l'attenuazione fornisce un vincolo al rate massimo processabile; oltre a ciò vengono esplicitati altri 5 parametri caratteristici del filtro ottenuto:

- k e Δ : utilizzati nella riparametrizzazione analitica della curva
- rate di dimezzamento dx e sx : cioè a quale rate l'intensità di filtraggio è doppia rispetto a quella di centro banda
- FWHM : ovvero la larghezza a metà altezza della curva che descrive la funzione filtro

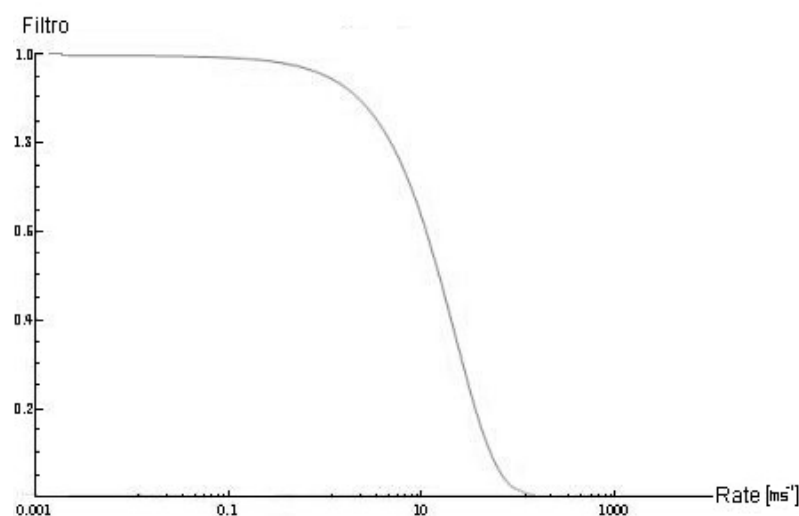


Figura 3.7: Filtraggio limite Passa Basso

Una volta forniti i valori per d_1 e D_1 , il software richiede l'immissione dei valori utilizzati, quelli cioè che verranno inseriti all'atto pratico della misurazione, così da poter valutare un eventuale scostamento dalla posizione o dall'ampiezza originariamente richieste.

[4]-Simula Filtro Il software richiede in input un file `*.dat` (il programma è pensato per quelli generati da UPEN), che abbia 100 righe, più una di intestazione, come prima colonna i tempi di rilassamento e come seconda l'intensità di segnale ad essi relativa; ovvero la descrizione della distribuzione dei tempi di rilassamento. Successivamente gli unici altri due parametri da inserire sono i delay in millisecondi. Il programma genera un file `*.dat` che replica le prime due colonne dell'originale (semplicemente rinominate in Tempo e Segnale) e ne aggiunge altre 3:

Rate : l'inverso della prima colonna

Filtro : il valore della funzione filtro per il tempo/rate corrispondente

SigFilt : l'intensità di segnale dopo l'applicazione del filtro

[5]/[6]-Sottrai `*.sdf` T1/T2 Le ultime due funzioni si differenziano solo nell'algoritmo di elaborazione, necessariamente distinto a seconda che

si voglia trattare con l'output di una sequenza IR/SR o di una CPMG. Questa scelta genera un file *.sdf omologo ai due originali richiesti come input, eseguendo la sottrazione tra le due serie di valori della parte Reale del segnale e la media per la parte Immaginaria; in aggiunta nel caso di dati provenienti da una CPMG replica la colonna dei tempi del primo file in input. In aggiunta al file-differenza denominato 'OUT' vengono generati altri due files:

CTRL : riporta le colonne originali e quelle elaborate, per un confronto immediato sulla riuscita dell'elaborazione

DATI : riporta lo steso risultato di OUT, privo però delle righe di interruzione e con una colonna aggiuntiva a fungere da IndexRow

Capitolo 4

Verifica Sperimentale

4.1 Fid

Una prima verifica dell'efficacia del preambolo PERFIDI è stata ottenuta intervenendo sull'acquisizione più semplice : il Free Induction Decay (FID); su un campione dal rilassamento monoesponenziale appositamente preparato miscelando acqua ed EDTA si sono effettuate dieci coppie di misura del segnale facendo variare i delay in modo da ottenere una riduzione lineare dello stesso. In figura 4.1 è rappresentato lo schema temporale dei due preamboli: due impulsi di inversione separati da delay diversi ($d_1 \neq D_1$) e a cui segue immediatamente il 90° che genera il FID. Questa manipolazione del segnale è stata resa possibile dalla traslazione di un 'filtro passa-banda' ($d_2 = 0$), di modo che il rate di rilassamento del campione fosse di volta in volta in corrispondenza di un valore sempre minore del valore corrispondente sulla curva di attenuazione. Sono di seguito riportate le coppie di delay (in ms) utilizzate nelle acquisizioni del campione di acqua ed EDTA caratterizzata da un tempo di rilassamento $T_1 = 500$ ms.

Att	1	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1
d_1 (ms)	6.2	2.3	1.6	1.2	0.9	0.69	0.51	0.35	0.22	0.1
D_1 (ms)	3112	1175	812	605	460	347	256	178	111.7	52.7

In figura 4.2 è riportato il grafico delle dieci successive differenze tra le coppie di acquisizioni; come si può notare, la presenza del preambolo e la

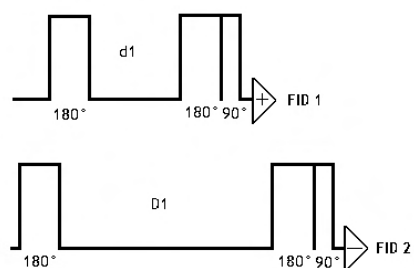


Figura 4.1: Schema di acquisizione del FID con preambolo PERFIDI

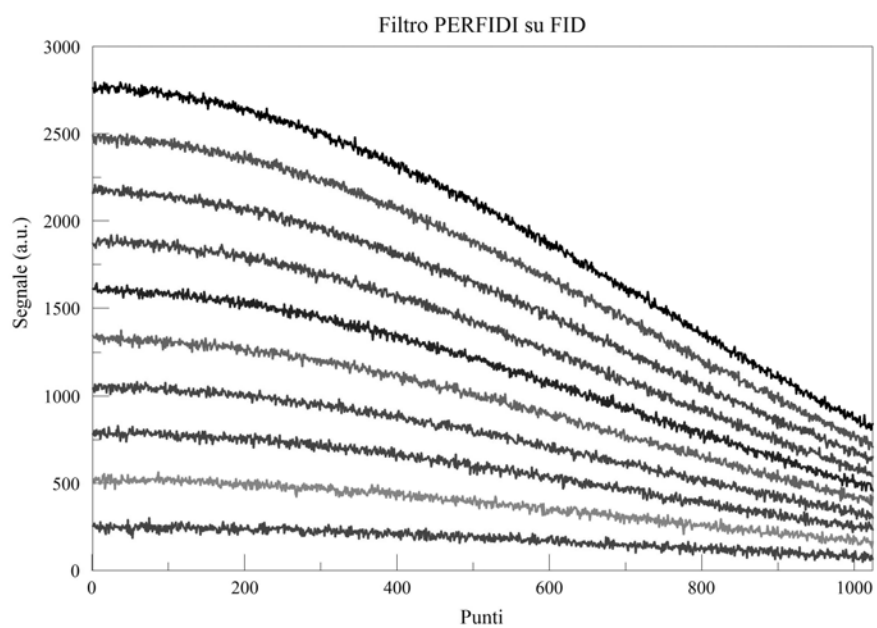


Figura 4.2: Attenuazioni di un segnale FID ottenute mediante preamboli PERFIDI

Att.	S(0) (u.a.)
1	2783
0.9	2491
0.8	2190
0.7	1894
0.6	1616
0.5	1339
0.4	1058
0.3	794
0.2	523
0.1	248

Tabella 4.1: Valori dei segnali di FID ottenuti dalla regressione lineare

sottrazione tra coppie di acquisizioni restituisce curve formate con le stesse caratteristiche di un FID convenzionale. Per ottenere una verifica quantitativa dell'effetto ricercato in quest'esperienza è necessario poter confrontare le diverse intensità di segnale; una regressione lineare sul primo tratto di ogni curva (200 pt su 1024) si presta adeguatamente allo scopo. I risultati sono riportati in tabella 4.1: in prima colonna la frazione di segnale non filtrato, in seconda colonna il relativo valore ricavato dal fit.

Per giustificare l'utilizzo della regressione lineare nel calcolo del valore massimo del FID in figura 4.3 è riportato il tratto iniziale dei dieci segnali acquisiti, a ognuno dei quali è sovrapposta la retta che ne stima l'intensità; poichè si è posto $SW = 500000 \text{ s}^{-1}$ i primi 200 punti rappresentano un tempo di 0.4 ms.

La verifica che le coppie di delay utilizzate realizzino effettivamente la successione lineare di attenuazioni programmate può essere effettuata tramite un fit lineare dei valori elencati in tabella 4.1: il risultato è un buon accordo tra i valori teorici e quelli sperimentali ($R^2 = 0.996$). I dati ottenuti sono rappresentati in figura 4.4.

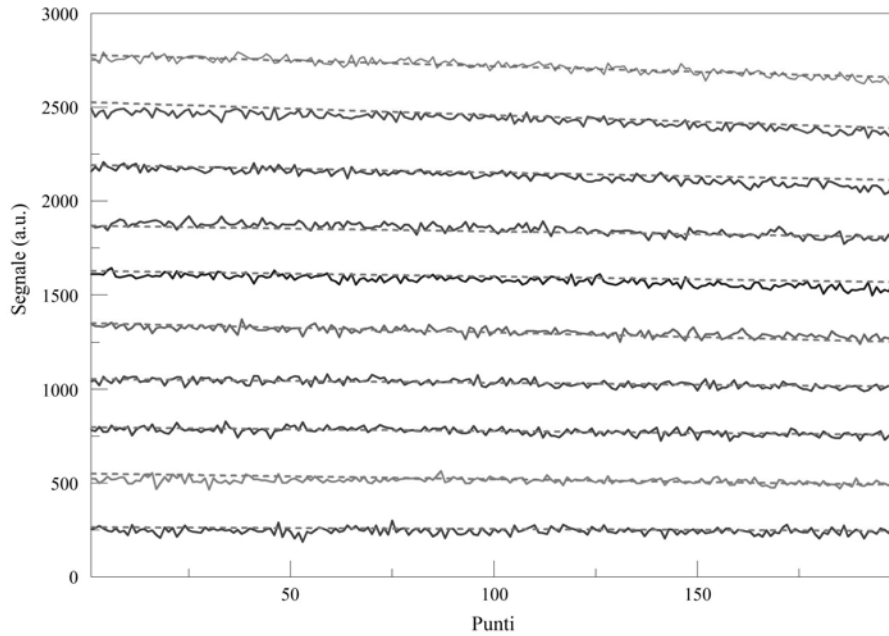


Figura 4.3: Fitting dei primi 200 punti dei FID

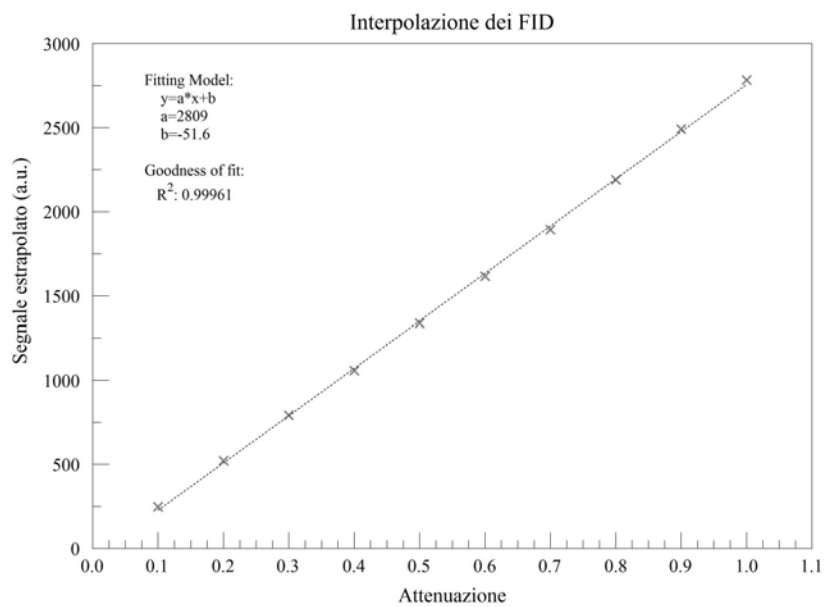


Figura 4.4: Fit dei segnali vs attenuazione

4.2 Phantom Multiesponenziale

La fase sperimentale qui descritta è servita a testare l'applicabilità del metodo PERFIDI nel campo medico: si sono scelte come paradigmatiche le misure di tempi di rilassamento citate nell'introduzione, sulla base di detti tempi sono stati preparati campioni monoesponenziali di acqua ed EDTA, si sono effettuate diverse applicazioni del 'filtraggio' PERFIDI inserendo nel probe due provette contenenti preparati isovolumetrici a concentrazioni diverse.

4.2.1 Filtri Utilizzati

Come accennato in precedenza la verifica sperimentale si basa sull'applicazione dei cosiddetti filtri passa-basso, passa-alto e passa-banda a campioni costituiti da coppie o terne di provette per ottenere la '*selezione*' del segnale sulla base del rate di rilassamento; per l'elaborazione dei dati ottenuti dal software di acquisizione è stato utilizzato il software di inversione UPEN, per questo si è reso necessario innanzitutto testare fino a che 'rapporto temporale' fossero separabili i picchi rappresentativi del segnale proveniente dalle diverse componenti del campione. Si è usata la coppia 26/132 mM perché permette la separazione tra i 2 picchi, mantenendo contenuto il tempo complessivo di misura (2 tubi NMR con 100 μ L per SM, 2 provette con 4.5 mL per FS) .

Avendo a disposizione due picchi si possono testare tutte e tre le tipologie di filtro:

- il passa basso per tagliare i rate più alti, ovvero ottenere segnale solo dalla componente a tempo di rilassamento maggiore;
- il passa alto per ridurre i rate bassi, ovvero ottenere segnale dalla componente a tempo di rilassamento minore;
- il passa banda, che può essere centrato su uno dei due rate a scelta.

Un altro parametro impostabile è l'attenuazione che il filtro introduce sul segnale che si vuol mantenere; si è quindi lavorato con attenuazioni 0.9 e 0.5 ottenendo un set di 8 combinazioni: i filtri passa alto e passa basso e i filtri passa banda centrati sia sul rate minore che su quello maggiore

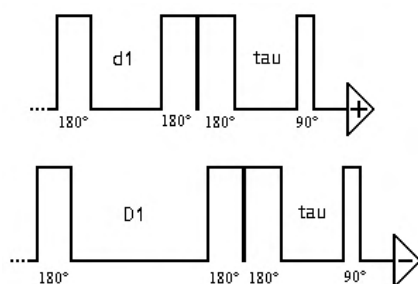


Figura 4.5: Schema della sequenza IR con preambolo PERFIDI

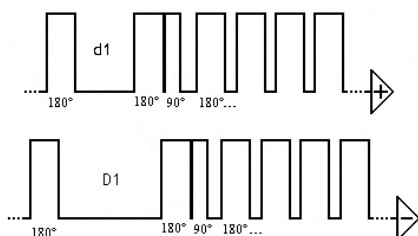


Figura 4.6: Schema della sequenza CPMG con preambolo PERFIDI

e con le due diverse attenuazioni. Le sequenze scelte per gli esperimenti sono le due maggiormente utilizzate per la misura dei tempi di rilassamento rispettivamente longitudinale e trasversale : l' Inversion Recovery e la CPMG, opportunamente adattate al preambolo PERFIDI anche mediante l'elaborazione di un ciclo di fase dedicato; una rappresentazione della loro struttura è riportata in fig.: 4.5 e fig.: 4.6.

In tabella 4.2 sono riportati i tempi di rilassamento; le differenze, come si è detto, sono giustificate dalle diverse frequenze di Larmor e dalla diversa omogeneità di campo.

Campione	SpinMaster		Full-Size	
	T ₁ (ms)	T ₂ (ms)	T ₁ (ms)	T ₂ (ms)
132 mM	45	42	34	31
26 mM	222	208	168	152

Tabella 4.2: Tempi di rilassamento per i campioni utilizzati misurati con i due diversi rilassometri

	d_1	D_1
<i>Passa Alto</i>		
0.9	0	103.2
0.5	0	31.0
<i>Passa Basso</i>		
0.9	23.4	$\infty \equiv \text{RD}$
0.5	154.0	$\infty \equiv \text{RD}$
<i>Passa Banda A</i>		
0.9	3.7	176.0
0.5	19.6	85.8
<i>Passa Banda B</i>		
0.9	18.7	872.5
0.5	97.1	425.2

Tabella 4.3: Delay per SM

4.2.2 Confronto Simulazione-Esperimenti

Le acquisizioni sono state eseguite con il medesimo protocollo, in modo da risultare confrontabili e da evitare quanto più possibile errori sistematici. In primis, con entrambi gli apparati, una rilevazione dei tempi di rilassamento dei campioni con IR e CPMG; i dati ottenuti tramite elaborazione con UPEN sono stati confrontati con acquisizioni cui era stato anteposto il preambolo PERFIDI con entrambi i delay a zero: come ci si aspettava risulta perfetta compatibilità nella posizione dei due picchi, viene mantenuto il rapporto pressochè unitario tra le aree ad essi sottese, il segnale è reso più rumoroso e attenuato dalla non perfetta inversione della coppia di impulsi π e dall'impossibilità di applicarli senza che tra la fine dell'uno e l'inizio dell'altro intercorra del tempo. In tabella 4.3 e 4.4 sono riportati i delay utilizzati per gli esperimenti.

Sulla base delle acquisizioni con preambolo ininfluenza sono state eseguite le simulazioni di filtraggio grazie ad un programma sviluppato ad hoc e descritto in precedenza (`totale.exe`); per confrontare tali previsioni con gli esiti degli esperimenti erano disponibili due alternative: utilizzare il rapporto tra le aree dei picchi nelle due successive acquisizioni oppure valutare la variazione di rapporto tra le loro aree. La seconda opzione si dimostra più affidabile in quanto decisamente meno influenzata dal rumore introdotto col filtraggio e da un eventuale allargamento dei picchi dovuto all'inversione.

	d_1	D_1
<i>Passa Alto</i>		
0.9	0	74.0
0.5	0	22.2
<i>Passa Basso</i>		
0.9	16.6	$\infty \equiv$ RD
0.5	109.2	$\infty \equiv$ RD
<i>Passa Banda A</i>		
0.9	2.7	126.1
0.5	14.0	61.5
<i>Passa Banda B</i>		
0.9	13.2	618.7
0.5	68.9	301.5

Tabella 4.4: Delay per FS

Nelle tabelle 4.5, 4.6, 4.7 e 4.8 sono raccolti, anticipandoli per chiarezza espositiva, i risultati degli esperimenti suddivisi per apparato di acquisizione, per tipologia di sequenza e per scelta della curva di filtraggio e dell'attenuazione massima. Nelle prime due colonne di dati sono riportati i fattori di riduzione del segnale — valutati mediante simulazione — introdotti in riferimento al tempo di rilassamento della componente del campione interessata dal filtro; in terza colonna viene calcolato il rapporto tra questi due valori (RappS), che dovrà essere confrontato con il valore in sesta colonna (RappM), ovvero il rapporto tra i R.P.Tgm delle due componenti (Resolved Peaks Tgm = Frazione d'area dei picchi identificati da UPEN) che si trovano nelle due colonne precedenti. L'ultimo numero riportato per ogni acquisizione è il rapporto segnale rumore (SNR). 'Passa Banda A' e 'Passa Banda B' indicano su quale dei due rate è centrato il picco del filtro, rispettivamente sul rate maggiore (Campione A - 132 mM) e su quello a rate minore (Campione B - 26 mM).

	Simulazione		RappS	R.P.Tgm		RappM	SNR
	Camp A	Camp B		Camp A	Camp B		
<i>Passa Alto</i>							
att 0.9	0,9	0,36	2,50	0,68	0,32	2,13	469
att 0.5	0,50	0,14	3,57	0,77	0,23	3,35	247
<i>Passa Basso</i>							
att 0.9	0,6	0,9	1,50	0,4	0,6	1,50	412
att 0.5	0,04	0,5	12,50	0,07	0,93	13,29	333
<i>Passa Banda A</i>							
att 0.9	0,9	0,54	1,67	0,63	0,37	1,70	348
att 0.5	0,50	0,24	2,08	0,66	0,34	1,94	414
<i>Passa Banda B</i>							
att 0.9	0,68	0,9	1,32	0,42	0,58	1,38	451
att 0.5	0,12	0,5	4,17	0,23	0,77	3,35	327

Tabella 4.5: Simulazione vs Misure: IR-Spinmaster

	Simulazione		RappS	R.P.Tgm		RappM	SNR
	Camp A	Camp B		Camp A	Camp B		
<i>Passa Alto</i>							
att 0.9	0,9	0,38	2,37	0,72	0,28	2,57	531
att 0.5	0,50	0,15	3,33	0,79	0,21	3,76	367
<i>Passa Basso</i>							
att 0.9	0,6	0,9	1,50	0,44	0,56	1,27	565
att 0.5	0,04	0,5	12,50	0,09	0,90	10,00	426
<i>Passa Banda A</i>							
att 0.9	0,9	0,54	1,67	0,67	0,33	2,03	382
att 0.5	0,50	0,24	2,08	0,7	0,3	2,33	410
<i>Passa Banda B</i>							
att 0.9	0,65	0,9	1,38	0,46	0,54	1,17	333
att 0.5	0,13	0,5	3,85	0,25	0,75	3,00	377

Tabella 4.6: Simulazione vs Misure: CPMG-Spinmaster

	Simulazione		RappS	R.P.Tgm		RappM	SNR
	Camp A	Camp B		Camp A	Camp B		
<i>Passa Alto</i>							
att 0.9	0,9	0,35	2,57	0,73	0,27	2,70	172
att 0.5	0,50	0,12	4,17	0,87	0,13	6,69	128
<i>Passa Basso</i>							
att 0.9	0,6	0,9	1,50	0,39	0,61	1,56	691
att 0.5	0,04	0,5	12,50	0,05	0,95	19,00	230
<i>Passa Banda A</i>							
att 0.9	0,9	0,5	1,80	0,59	0,41	1,44	362
att 0.5	0,50	0,22	2,27	0,6	0,4	1,50	300
<i>Passa Banda B</i>							
att 0.9	0,67	0,9	1,34	0,42	0,58	1,38	270
att 0.5	0,12	0,5	4,17	0,2	0,8	4,00	235

Tabella 4.7: Simulazione vs Misure: IR-Full-Size

	Simulazione		RappS	R.P.Tgm		RappM	SNR
	Camp A	Camp B		Camp A	Camp B		
<i>Passa Alto</i>							
att 0.9	0,9	0,38	2,37	0,69	0,31	2,22	370
att 0.5	0,50	0,14	3,57	0,72	0,28	2,57	185
<i>Passa Basso</i>							
att 0.9	0,6	0,9	1,50	0,43	0,57	1,33	194
att 0.5	0,04	0,5	12,50	0,1	0,9	9,0	91
<i>Passa Banda A</i>							
att 0.9	0,9	0,55	1,64	0,61	0,39	1,56	211
att 0.5	0,50	0,24	2,08	0,66	0,34	1,94	82
<i>Passa Banda B</i>							
att 0.9	0,65	0,9	1,38	0,42	0,58	1,38	267
att 0.5	0,12	0,5	4,17	0,22	0,78	3,55	219

Tabella 4.8: Simulazione vs Misure: CPMG-Full-Size

4.3 Descrizione estesa dei Risultati Sperimentali

In tabella 4.3 e 4.4 sono riportati, in ms, i ritardi temporali tra il primo e il secondo impulso π della prima (d_1) e della seconda (D_1) sequenza di acquisizione, che andranno poi sottratte tra di loro. Un caso particolare è rappresentato dal ‘Passa-Basso’ per il quale il termine ∞ andrebbe ragionevolmente sostituito col RD¹, questo però allunga notevolmente i tempi di acquisizione; è stato quindi approntato un escamotage che consiste nel tagliare il primo impulso della sequenza (naturalmente dopo aver adattato il ciclo di fase a questa nuova situazione). Sebbene sia giustificata a livello teorico, questa pratica è stata comunque sottoposta al vaglio sperimentale, che, come atteso, ha dato esito positivo.

Per ogni gruppo di filtri applicati tramite la stessa sequenza e sullo stesso apparato saranno dati:

- i valori dei parametri di misura
- i risultati di un’acquisizione in cui il preambolo non abbia effetto di filtraggio (ovvero con entrambi i delay settati a zero)
- il grafico di tale acquisizione

Per ogni misura saranno dati:

- i risultati dell’inversione di UPEN (in particolare evidenza i Resolved Peaks Tgm e le rispettive frazioni di area)
- il grafico della distribuzione ottenuta

I grafici delle distribuzioni dei tempi di rilassamento riportano in ordinata il segnale in unità arbitrarie e in ascissa (la scala è riportata sulla parte superiore del grafico) il valore del tempo di rilassamento in ms.

¹Recycle Delay: tempo al quale si assume che la magnetizzazione del campione sia tornata all’equilibrio

4.3.1 Rilassometro Full-Size

IR

Per l'Inversion Recovery sull'apparato Full-Size si sono utilizzati i seguenti parametri di acquisizione:

```

EXP = IR/S_G_PERFIDI          FLTR= 120000
RFA = 45                      ACQD= 8.3
GAIN= 1                       TATT= 26
RD = 1                        PW = 90 [p(x,-x,x,-x)]
TAU = 1.6                    P1 = 180 [p(x,x,x,x)]
T1MX= 0.4                    P2 = 180 [p(-x,-x,-x,-x)]
BPOL= 7.616                  P3 = 180 [p(x,x,-x,-x)]
PW90= 40                     ENDS= [p(x,-x,x,-x)]
RPHS= 32                      NBLK= 128
MS = 64                      DBLK= 0
BS = 500                     BACR= TAU
STIM= 0.0025                 BGRD= LOG
SW = 200000                  BINI= 0.0001
SWP = 26260.5042017          BEND= (4*T1MX)
RINH= 100

```

Acquisizione propedeutica per l'IR su apparato Full-Size:

```

24_132_IRS_Per_0_0.Hdf Run:UPEN3E3_E18 29May2009 10:48
N=128 MI=100 NB=128 MN=1 beta000=1
-0.002%_Change_+0.021 S/Rv=414 XNeg%=6.9 +.016_RmR_-.053
0%_Extrap_0% beta00=1 5.47_BusyMMod_1.43 .1_DATA_1600
TLong=276 Peaks: 170.8 34.7
Resolved_Peaks_Tgm ;168,.407;34.5,.593 +.056_RumNewOld+.000
65.6_gmTra_50.5 77440_XsigU_77290:76690 189.7_Rum_186.7
Sinf=-156 Kurtosis_-.37; .2
WARNING: Large Rum(NoNN)/Rum(NN)

```

Il grafico rappresentativo è in figura 4.7. I due picchi sono ben distinti e riproducono i valori attesi di $T_{1A} = 34$ ms e $T_{1B} = 168$ ms

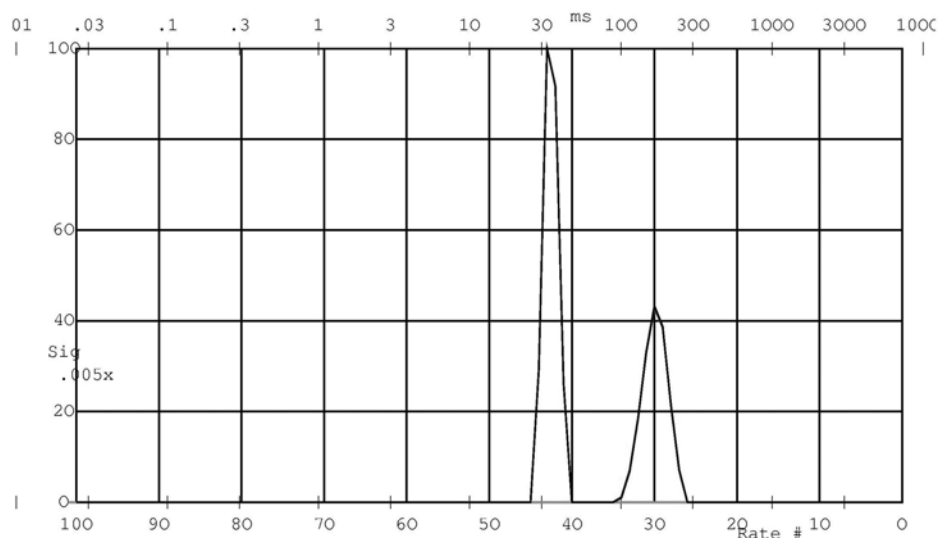


Figura 4.7: IR - Full-Size

Passa Alto L'elaborazione per il filtro a 0.9:(figura: 4.8)

```

OUT_Per_0_74.Hdf Run:UPEN3E3_E18 29May2009 12:17
N=128 MI=100 NB=128 MN=1 beta000=2 FileChr$=J
-0.000%_Change_+0.003 S/Rv=172 XNeg%=4.7 +.034_RmR_- .159
0%_Extrap_0% beta00=2 5.97_BusyMMod_1.10 .1_DATA_1600
TLong=276 Peaks: 181.4 35.68
Resolved_Peaks_Tgm ;169,.265;35.1,.735 +.013_RumNewOld_- .000
53.3_gmTra_44 CONVERGE 42010._XsigU_41910:41470 252.1_Rum_243.5
Sinf=-144 Kurtosis_- .85; -.021

```

L'elaborazione per il filtro a 0.5:(figura: 4.9)

```

OUT_Per_0_23.Hdf Run:UPEN3E3_E18 29May2009 10:58
N=128 MI=100 NB=128 MN=1 beta000=2 FileChr$=J
-0.000%_Change_+0.007 S/Rv=128 XNeg%=4 -.002_RmR_- .107
0%_Extrap_0% beta00=2 5.34_BusyMMod_1.03 .1_DATA_1600
TLong=243 Peaks: 114.5 34.14
Resolved_Peaks_Tgm ;173,.13;34.5,.87
+.049_RumNewOld_+.000 42.5_gmTra_38 CONVERGE 23390_XsigU_23330.:22660
182.6_Rum_182.9 Sinf=-69.7 Kurtosis_- .21; .11

```

Passa Basso L'elaborazione per il filtro a 0.9 (figura: 4.10)

```

OUT_16_X_IR.Idf Run:UPEN3E3_E18 11Jun2009 16:05
N=128 MI=100 NB=128 MN=1 beta000=1 FileChr$=J

```

```
+0.000%_Change_+0.000 S/Rv=691 XNeg%=8.5 +.592_RmR_-.242
0%_Extrap_0% beta00=1 8.67_BusyMMod_1.55 .1_DATA_1600
TLong=243 Peaks: 157.1 32.6 Resolved_Peaks_Tgm ;157,.613;32.9,.387
+.578_RumNewOld_+.019 85.7_gmTra_63.6 CONVERGE
59750_XsigU_59650:58950.
155.9_Rum_86.28 Sinf=-98.2 Kurtosis_.84; -.15
WARNING: Large RmR Large Rum(NoNN)/Rum(NN)
BEWARE! Very Large RmR Very Large Rum(NoNN)/Rum(NN)
```

L'elaborazione per il filtro a 0.5 (figura: 4.11)

```
OUT_109_X_IR.Idf Run:UPEN3E3_E18 11Jun2009 16:09
N=128 MI=100 NB=128 MN=1 beta000=1 FileChr$=J
-0.000%_Change_+0.001 S/Rv=169 XNeg%=5.4 +.140_RmR_-.347
0%_Extrap_0% beta00=1 2.75_BusyMMod_1.02 .104_DATA_1600
AvNa.219 TLong=276 Peaks: 156 58.72
Resolved_Peaks_Tgm ;155,.954;30.4,.046 +.141_RumNewOld_+.004
145_gmTra_123 20890_XsigU_20880:20500 142.3_Rum_123.6
Sinf=-83.3 Kurtosis_.14; -.61
WARNING: Large RmR Large Rum(NoNN)/Rum(NN) AvNa
BEWARE! Very Large Rum(NoNN)/Rum(NN)
```

Passa Banda Alto L'elaborazione per il filtro a 0.9 (figura: 4.12)

```
OUT_3_126_IR.Idf Run:UPEN3E3_E18 09Jun2009 13:37
N=128 MI=100 NB=128 MN=1 beta000=1 FileChr$=J
+0.000%_Change_+0.001 S/Rv=362 XNeg%=5.7 +.057_RmR_-.199
0%_Extrap_0% beta00=1 10.92_BusyMMod_1.12 .1_DATA_1600
TLong=276 Peaks: 156.9 32.49 Resolved_Peaks_Tgm ;153,.408;32.5,.592
+.051_RumNewOld_-.002 61.1_gmTra_47.6 58680_XsigU_58560:58550.
171.2_Rum_161.8 Sinf=-109. Kurtosis_.16; .12
WARNING: Large RmR Large Rum(NoNN)/Rum(NN)
```

L'elaborazione per il filtro a 0.5 (figura: 4.13)

```
OUT_14_61_IR.Idf Run:UPEN3E3_E18 10Jun2009 09:32
N=128 MI=100 NB=128 MN=1 beta000=1 FileChr$=J
+0.001%_Change_+0.004 S/Rv=300 XNeg%=9 +.087_RmR_-.301
0%_Extrap_0% beta00=1 3.87_BusyMMod_1.41 .1_DATA_1600
TLong=276 Peaks: 152.6 31.35 Resolved_Peaks_Tgm ;144,.401;32.3,.599
+.064_RumNewOld_-.002 61.1_gmTra_47.5 33680_XsigU_33610:33280
148.2_Rum_135.8 Sinf=-83.2 Kurtosis_-.31; -.37
WARNING: Large RmR Large Rum(NoNN)/Rum(NN)
```


Passa Banda Basso L'elaborazione per il filtro a 0.9 (figura: 4.14)

```
OUT_13_618_IRS.Idf Run:UPEN3E3_E18 09Jun2009 10:10
N=128 MI=100 NB=128 MN=1 beta000=1 FileChr$=J
+0.001%_Change_+0.008 S/Rv=270 XNeg%=8 +.078_RmR_- .159
0%_Extrap_0% beta00=1 3.16_BusyMMod_1.56 .1_DATA_1600
TLong=276 Peaks: 159.7 32.64 Resolved_Peaks_Tgm ;158,.582;35,.418
+.011_RumNewOld_- .004 84.1_gmTra_62.1 72030_XsigU_71920:71900
288.4_Rum_266.8 Sinf=-221 Kurtosis_- .3; .011
WARNING: Large RmR
```

L'elaborazione per il filtro a 0.5 (figura: 4.15)

```
OUT_69_301_IR.Idf Run:UPEN3E3_E18 11Jun2009 09:25
N=128 MI=100 NB=128 MN=1 beta000=1 FileChr$=J
+0.001%_Change_+0.018 S/Rv=235 XNeg%=8.4 +.121_RmR_- .428
0%_Extrap_0% beta00=1 4.53_BusyMMod_1.09 .104_DATA_1600
AvNa.229 TLong=243 Peaks: 157.3 31.96
Resolved_Peaks_Tgm ;157,.804;34.2,.196 +.048_RumNewOld_+.003
117_gmTra_88.2 27020_XsigU_26990:27070 129.9_Rum_115.1
Sinf=-78.8 Kurtosis_1.7; -.13
WARNING: Large RmR AvNa Large Kurtosis
```

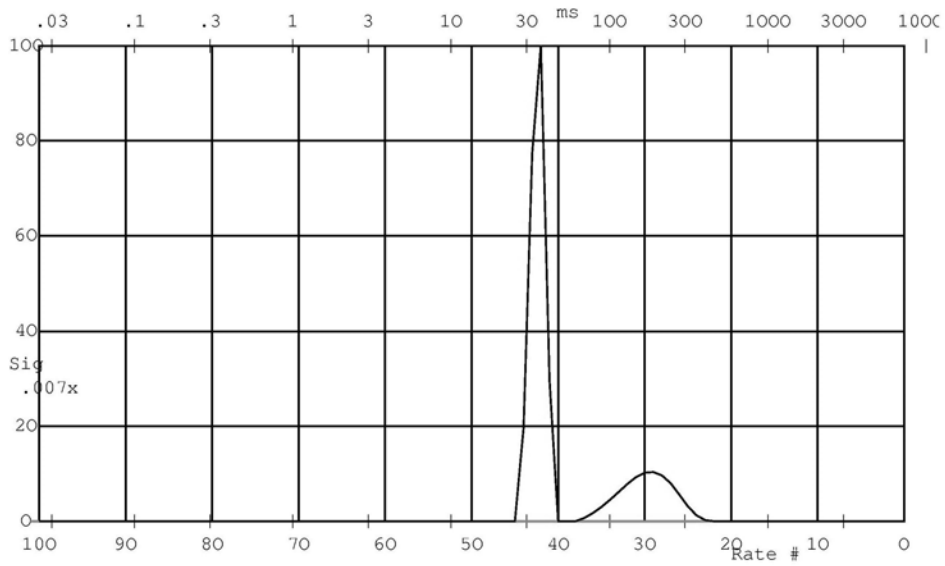


Figura 4.8: IR PassaAlto att 0.9 - Full-Size

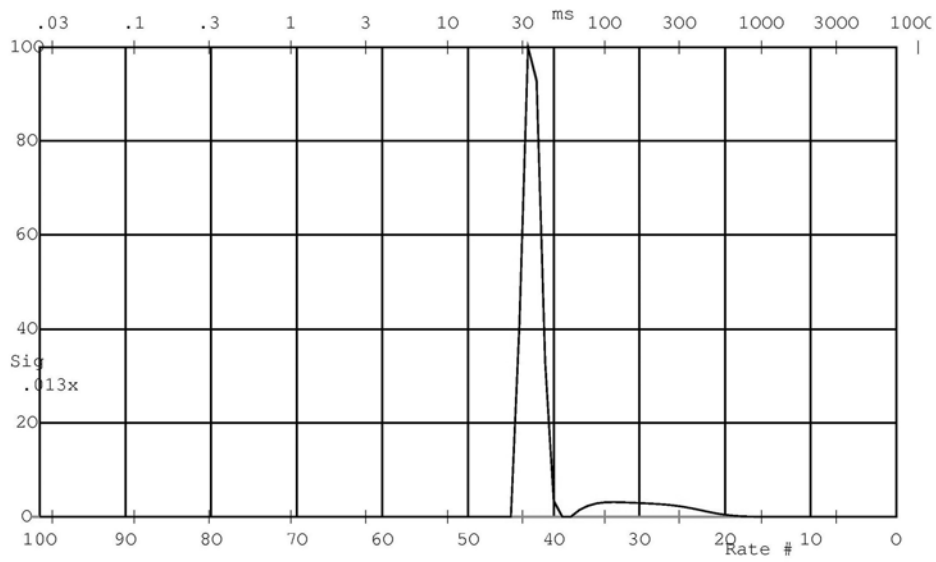


Figura 4.9: IR PassaAlto att 0.5 - Full-Size

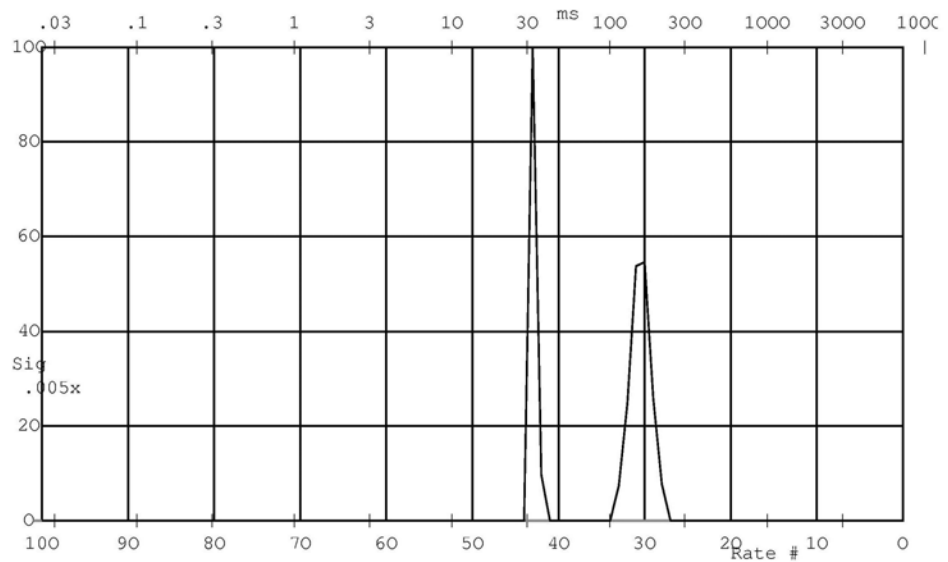


Figura 4.10: IR PassaBasso att 0.9 - Full-Size

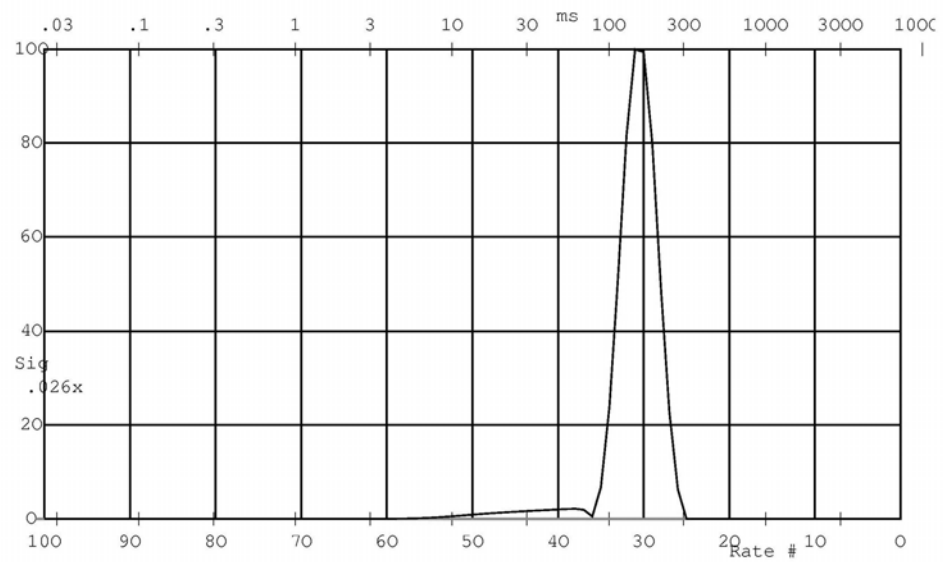


Figura 4.11: IR PassaBasso att 0.5 - Full-Size

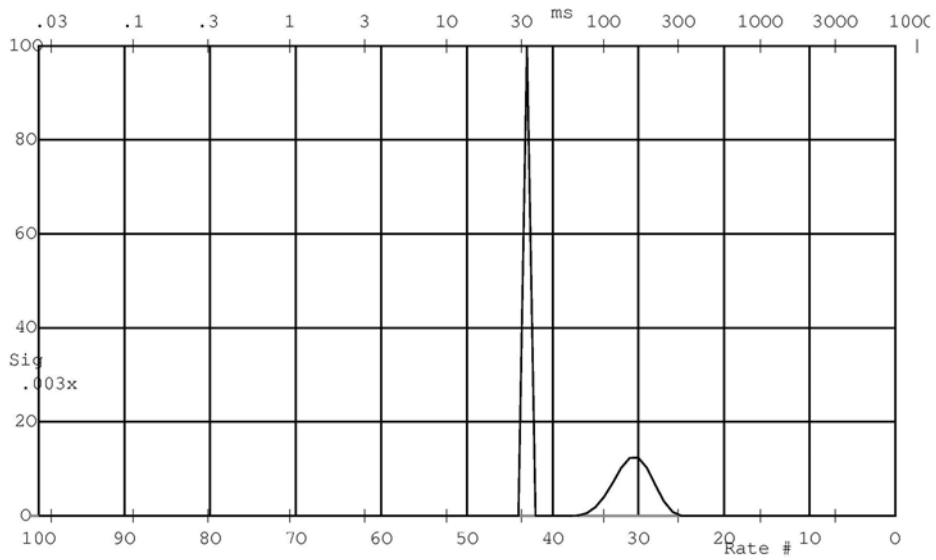


Figura 4.12: IR PassaBanda A att 0.9 - Full-Size

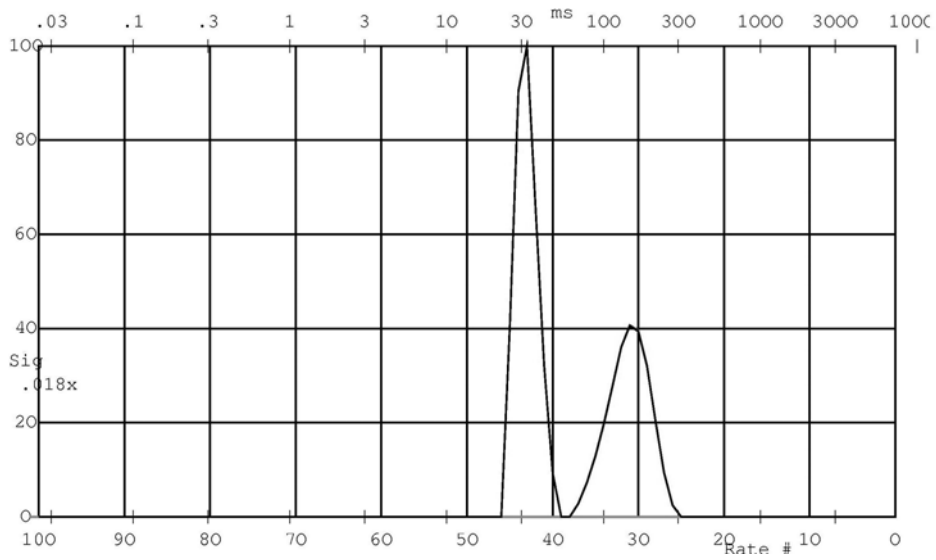


Figura 4.13: IR PassaBanda A att 0.5 - Full-Size

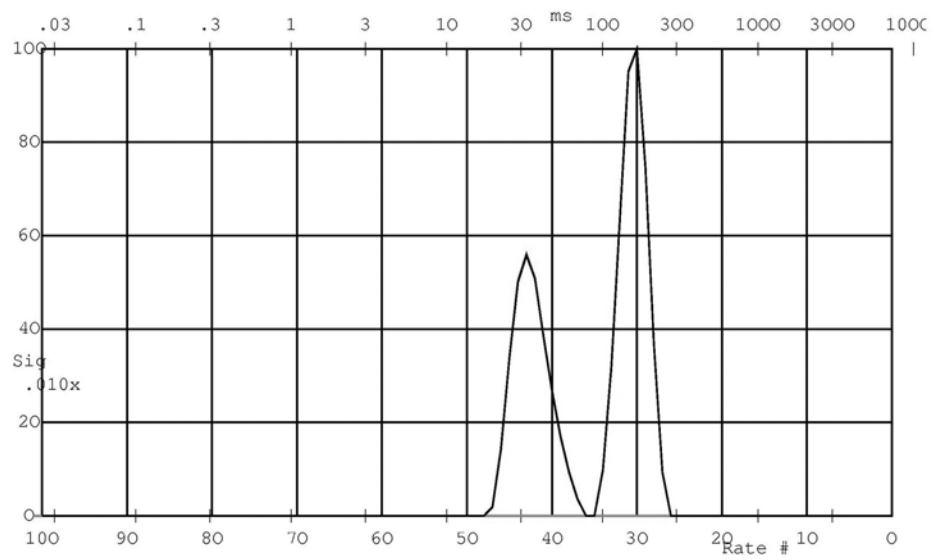


Figura 4.14: IR PassaBanda B att 0.9 - Full-Size

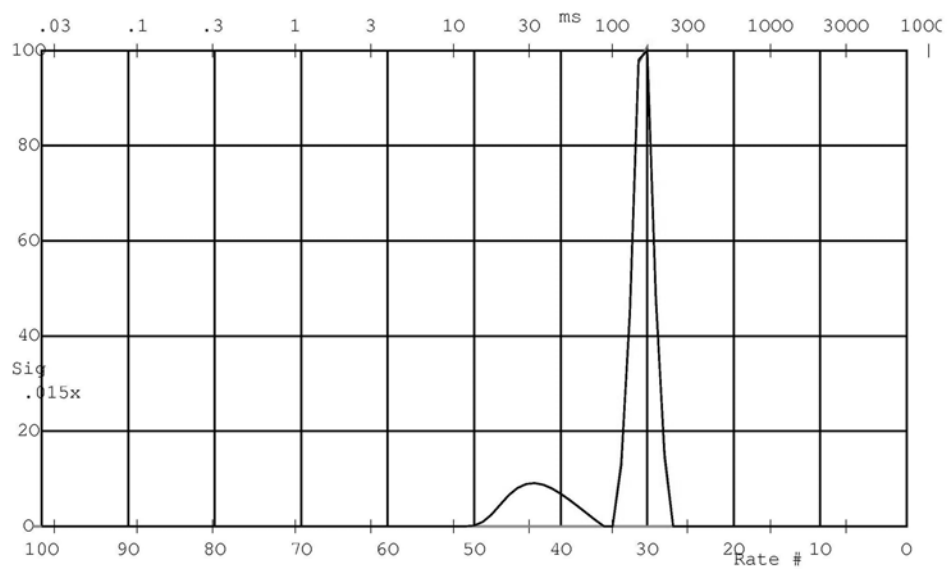


Figura 4.15: IR PassaBanda B att 0.5 - Full-Size

CPMG

Per la CPMG sull'apparato Full-Size si sono utilizzati i seguenti parametri di acquisizione:

```

EXP = CPMG_PER_CF4_IM          TATT= 30
RFA = 50                       PW = 90 [p(x,-x,x,-x)]
GAIN= 1                         P1 = 180 [p(x,x,x,x)]
RD = 1                          P2 = 180 [p(y,y,y,y)]
EDLY= 300                       P3 = 180 [p(y,y,x,x)]
BPOL= 7.616                     ENDS= [p(x,-x)]
PW90= 56                       D0 = (RD) = 1
RPHS= 46                        D1 = 0
MS = 1600                      D2 = 0
BS = 1500                      D3 = (EDLY-RINH) = 0.00029
RINH= 10                       D4 = (EDLY-RINH) = 0.00029 [c(R)]
FLTR= 120000                   D5 = (EDLY) = 0.0003 [c(R)]

```

Acquisizione propedeutica per la CPMG su apparato Full-Size:

```

24_132_CPMG_Per_0_01.Bdf  Run:UPEN3E3_E18 16Jun2009 11:40
tau=300 SMPL= Water N=102 MI=100 NB=1490 MN=0 beta000=1
TEE=.712 D=.05 FileChr$=K ND=10 -0.002%_Change_+0.017
S/Rv=369 XNeg%=16.2 +.320_RmR_***** 0%_Extrap_0%
beta00=1 10.62_BusyMMod_1.56 .712:8.19_DATA_1042
AvNa2.64 TLong=221 Peaks: 150.1 30.35
Resolved_Peaks_Tgm ;152,.488;31.2,.512 +.010_RumNewOld+.003
67.7_gmTra_50.8 22030_XsigU_18860:16220. 70.37_Rum_51.11
Sinf=0 Kurtosis_3.3; 2.9
WARNING: Large RmR Large RmR12 AvNa Large Kurtosis
BEWARE! Very Large RmR Very Large RmR12 Very Large Kurtosis

```

Il grafico rappresentativo è in figura 4.16. I due picchi sono ben distinti e sottendono rispettivamente 152,0488 ; 31,2,0512.

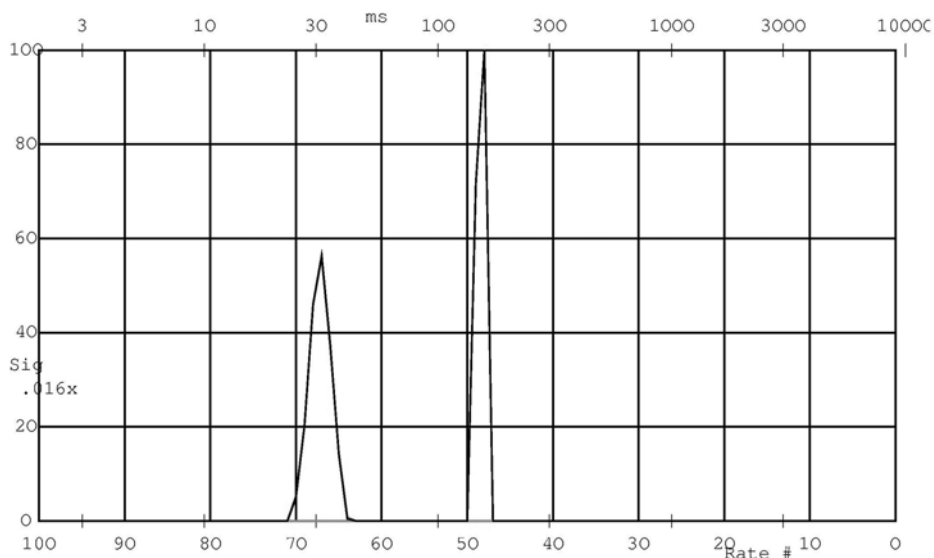


Figura 4.16: CPMG - Full-Size

Passa Alto L'elaborazione per il filtro a 0.9:(figura: 4.17)

```

OUT_CPMGdiff_0_741.Bdf  Run:UPEN3E3_E18 16Jun2009 13:46
tau=300 SMPL= Water E  N=102 MI=100 NB=1490 MN=0 beta000=1
TEE=.712 D=.05 FileChr$=K ND=10 -0.000%_Change_+0.002
S/Rv=370  XNeg%=16.8  +.324_RmR_+.977  0%_Extrap_0%  beta00=1
9.11_BusyMMod_1.84  .712:8.19_DATA_1042  AvNa2.72  TLong=221
Peaks: 155.9  31.11  Resolved_Peaks_Tgm ;152,.311;31.4,.689
+.007_RumNewOld_+.002  51.3_gmTra_41.5  CONVERGE
28520_XsigU_23530.:20230  87.81_Rum_63.52  Sinf=0  Kurtosis_2.4; .53
WARNING:  Large RmR  Large RmR12  AvNa  Large Kurtosis
BEWARE!  Very Large RmR  Very Large RmR12

```

L'elaborazione per il filtro a 0.5:(figura: 4.18)

```

OUT_CPMGdiff_0_231.Bdf  Run:UPEN3E3_E18 16Jun2009 13:44
tau=300 SMPL= Water E  N=102 MI=100 NB=1490 MN=0 beta000=1
TEE=.712 D=.05 FileChr$=K ND=10 -0.000%_Change_+0.007  S/Rv=185
XNeg%=8.7  +.343_RmR_+.719  0%_Extrap_0%  beta00=1
4.42_BusyMMod_1.45  .712:8.19_DATA_1042  AvNa2.74  TLong=241
Peaks: 148.7  30.81  Resolved_Peaks_Tgm ;145,.281;30.7,.719
+.011_RumNewOld_+.001  47.6_gmTra_39  16200._XsigU_13200:10590
100.5_Rum_71.33  Sinf=0  Kurtosis_1; .054
WARNING:  Large RmR  Large RmR12  AvNa  Large Kurtosis
BEWARE!  Very Large RmR  Very Large RmR12

```

Passa Basso L'elaborazione per il filtro a 0.9 (figura: 4.19)

```

OUT_CPMG_16_inf1.Bdf Run:UPEN3E3_E18 16Jun2009 17:01
tau=300 SMPL= Water EXP N=102 MI=100 NB=1490 MN=0 beta000=1
TEE=.712 D=.05 FileChr$=K ND=10 +0.000%_Change_+0.006 S/Rv=194
XNeg%=16.2 +.649_RmR_+.729 0%_Extrap_0% beta00=1
14.57_BusyMMod_1.14 .712:8.19_DATA_1042 AvNa2.83 TLong=221
Peaks: 157.1 32.06 Resolved_Peaks_Tgm ;156,.573;32,.427
+.003_RumNewOld_+.001 79.7_gmTra_58.2 28910_XsigU_25260.:28680
248.6_Rum_129.9 Sinf=0 Kurtosis_6.4; 15
WARNING: Large RmR Large RmR12 AvNa Large Kurtosis
BEWARE! Very Large RmR Very Large RmR12 Very Large Kurtosis

```

L'elaborazione per il filtro a 0.5 (figura: 4.20)

```

OUT_CPMG_109_inf1.Bdf Run:UPEN3E3_E18 16Jun2009 17:04
tau=300 SMPL= Water EX N=102 MI=100 NB=1490 MN=0 beta000=1
TEE=.712 D=.05 FileChr$=K ND=10 +0.000%_Change_+0.001 S/Rv=91
XNeg%=5 +.567_RmR_+.624 0%_Extrap_0% beta00=1 12.87_BusyMMod_1.01
712:8.19_DATA_1042 AvNa2.75 TLong=221 Peaks: 157 41.07
esolved_Peaks_Tgm ;155,.895;39.3,.105 -.001_RumNewOld_-.000
135_gmTra_114. CONVERGE 10560_XsigU_9854:12700 191.5_Rum_108.6
Sinf=0 Kurtosis_7.8; 15
WARNING: Large RmR Large RmR12 AvNa Large Kurtosis
BEWARE! Very Large RmR Very Large RmR12 Very Large Kurtosis

```

Passa Banda Alto L'elaborazione per il filtro a 0.9 (figura: 4.21)

```

OUT_3_126_CPMG_Per1.Bdf Run:UPEN3E3_E18 18Jun2009 11:49
tau=300 SMPL= Water N=107 MI=100 NB=1495 MN=0 beta000=1
TEE=.712 D=.05 FileChr$=J ND=5 +0.001%_Change_+0.012 S/Rv=211
XNeg%=12.6 +.323_RmR_***** 0%_Extrap_0% beta00=1
5.95_BusyMMod_1.82 .712:4.63_DATA_1042 AvNa2.05 TLong=244
Peaks: 151.9 31.15 Resolved_Peaks_Tgm ;151,.389;31,.611
+.003_RumNewOld_+.000 57.3_gmTra_44.3 26030._XsigU_23500:27540
153.6_Rum_111.2 Sinf=0 Kurtosis_5.1; 14
WARNING: Large RmR Large RmR12 AvNa Large Kurtosis
BEWARE! Very Large RmR Very Large RmR12 Very Large Kurtosis

```

L'elaborazione per il filtro a 0.5 (figura: 4.22)

```

OUT_14_61_CPMGPer1.Bdf Run:UPEN3E3_E18 18Jun2009 12:56
tau=300 SMPL= Water E N=107 MI=100 NB=1495 MN=0 beta000=1
TEE=.712 D=.05 FileChr$=J ND=5 -0.001%_Change_+0.009 S/Rv=82

```



```
XNeg%=3.8 +.048_RmR_+.841 0%_Extrap_0% beta00=1
3.06_BusyMMod_1.72 .712:4.63_DATA_1042 AvNa1.86 TLong=244
Peaks: 155.2 30.61 Resolved_Peaks_Tgm ;150,.341;30.5,.659
-.017_RumNewOld_-.002 52.5_gmTra_40.7 13220_XsigU_11820:14800
150.9_Rum_143.8 Sinf=0 Kurtosis_3.6; 6.8
WARNING: Large RmR12 AvNa Large Kurtosis
BEWARE! Very Large RmR12 Very Large Kurtosis
```

Passa Banda Basso L'elaborazione per il filtro a 0.9 (figura: 4.23)

```
OUT_CPMG_13_618_Per1.Bdf Run:UPEN3E3_E18 17Jun2009 16:56
tau=300 SMPL= Water N=107 MI=100 NB=1495 MN=0 beta000=1
TEE=.712 D=.05 FileChr$=J ND=5 +0.000%_Change_+0.002 S/Rv=267
XNeg%=11.5 +.730_RmR_***** 0%_Extrap_0% beta00=1
12.68_BusyMMod_1.14 .712:4.63_DATA_1042 AvNa2.54 TLong=244
Peaks: 154.4 30.88 Resolved_Peaks_Tgm ;153,.581;31.2,.419
-.002_RumNewOld_-.001 78.6_gmTra_56.9 31550._XsigU_29150:39970
226.2_Rum_109. Sinf=0 Kurtosis_7.3; 6.3
WARNING: Large RmR Large RmR12 AvNa Large Kurtosis
BEWARE! Very Large RmR Very Large RmR12 Very Large Kurtosis
```

L'elaborazione per il filtro a 0.5 (figura: 4.24)

```
OUT_Per_68_301_CPMG1.Bdf Run:UPEN3E3_E18 17Jun2009 17:43
tau=300 SMPL= Water N=102 MI=100 NB=1490 MN=0 beta000=1
TEE=.712 D=.05 FileChr$=K ND=10 +0.000%_Change_+0.005 S/Rv=219
XNeg%=9.3 +.257_RmR_+.580 0%_Extrap_0% beta00=1
15.89_BusyMMod_1.02 .712:8.19_DATA_1042 AvNa2.4 TLong=203
Peaks: 157.5 32.17 Resolved_Peaks_Tgm ;156,.779;35.8,.221
+.005_RumNewOld_+.000 113._gmTra_84.6 11880_XsigU_10830:10660
64.05_Rum_49.56 Sinf=0 Kurtosis_7.6; 3.3
WARNING: Large RmR Large RmR12 AvNa Large Kurtosis
BEWARE! Very Large RmR Very Large RmR12 Very Large Kurtosis
```

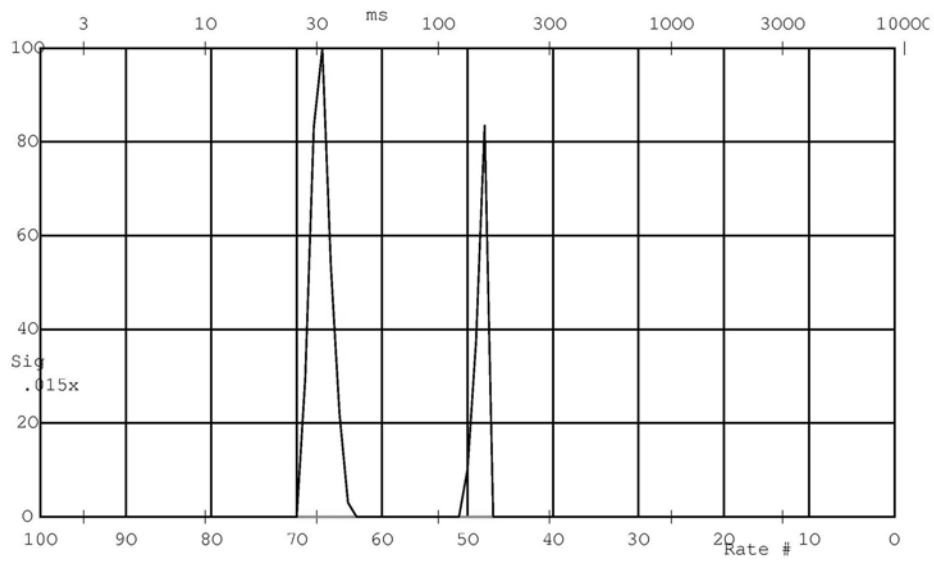


Figura 4.17: CPMG PassaAlto att 0.9 - Full-Size

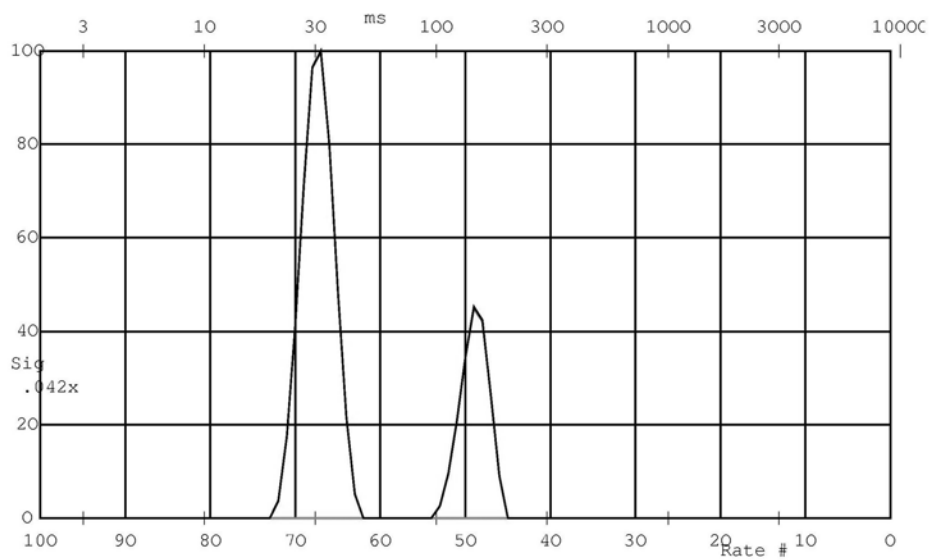


Figura 4.18: CPMG PassaAlto att 0.5 - Full-Size

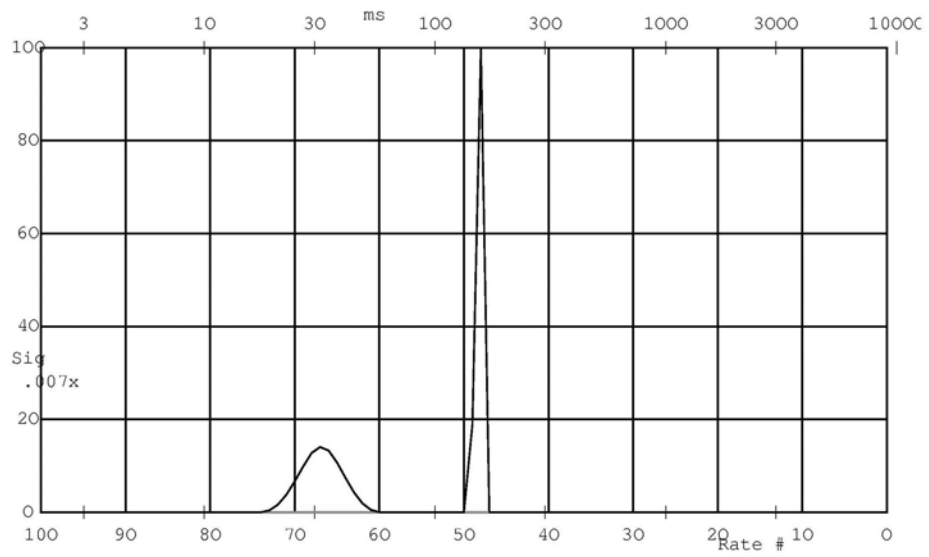


Figura 4.19: CPMG PassaBasso att 0.9 - Full-Size

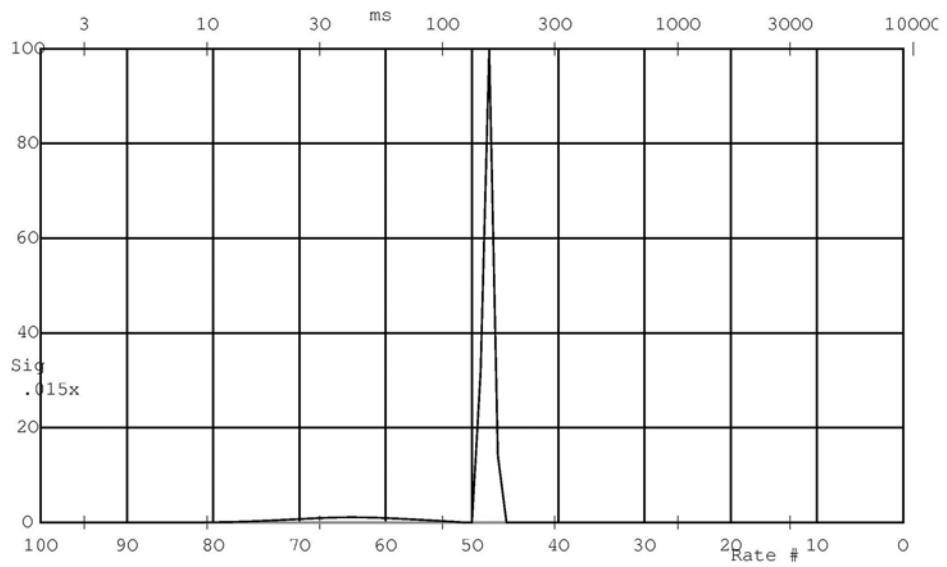


Figura 4.20: CPMG PassaBasso att 0.5 - Full-Size

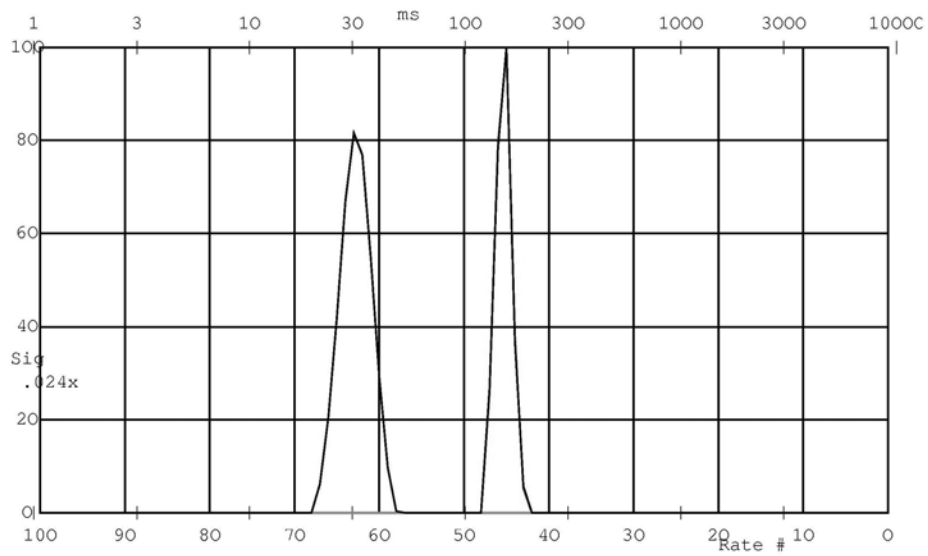


Figura 4.21: CPMG PassaBanda A att 0.9 - Full-Size

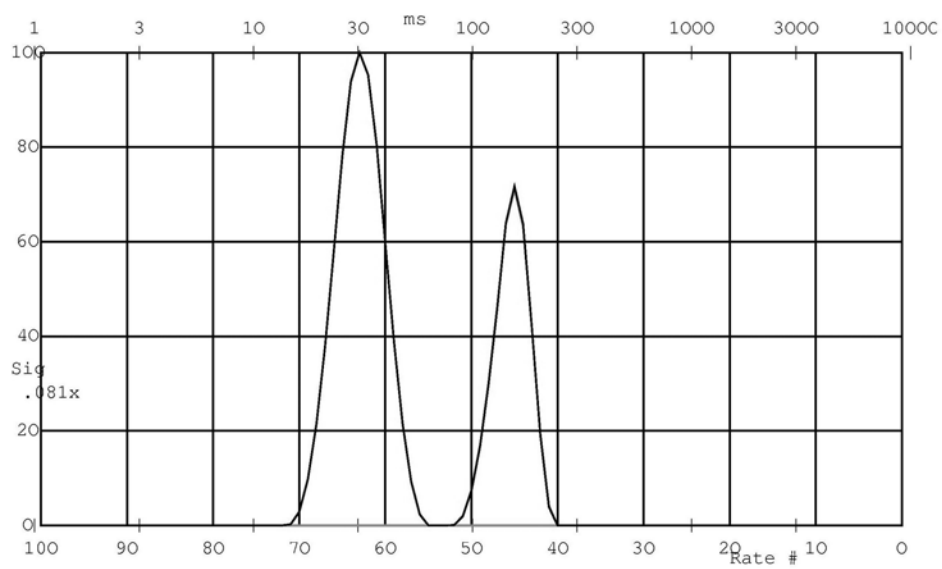


Figura 4.22: CPMG PassaBanda A att 0.5 - Full-Size

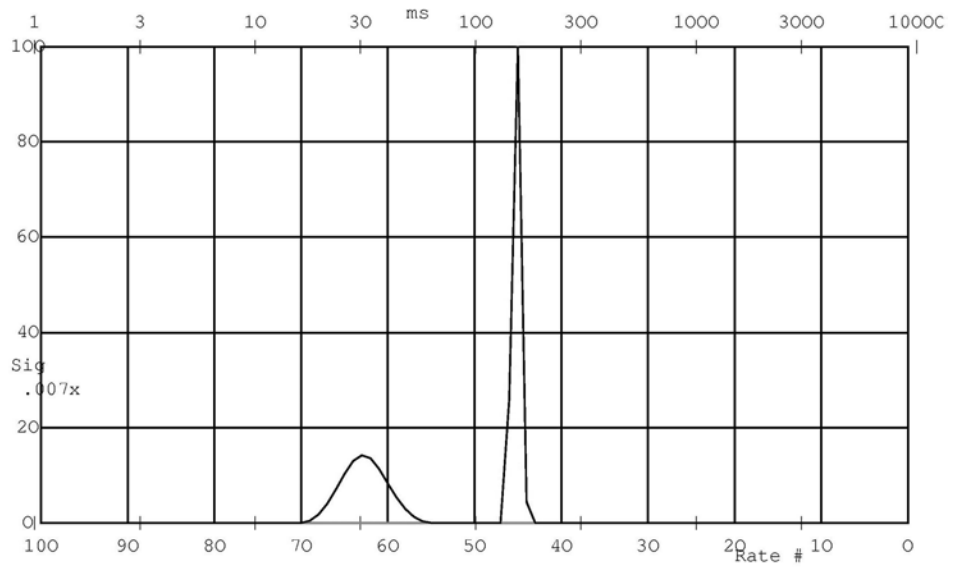


Figura 4.23: CPMG PassaBanda B att 0.9 - Full-Size

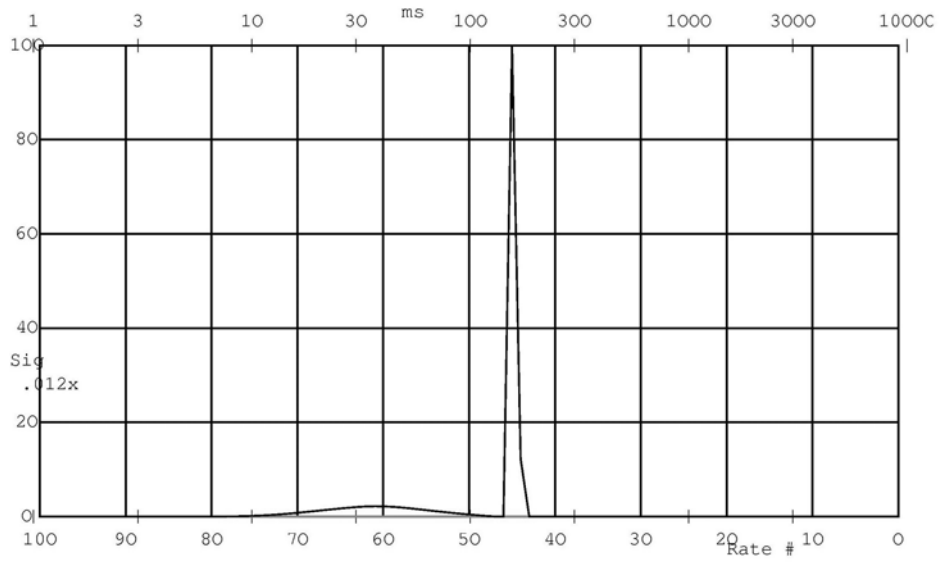


Figura 4.24: CPMG PassaBanda B att 0.5 - Full-Size

4.3.2 Rilassometro SpinMaster

IR

Per l'Inversion Recovery sull'apparato SpinMaster si sono utilizzati i seguenti parametri di acquisizione:

```

EXP = IR/S_G_PERFIDI          ACQD= 16.7
F1 = -260.959946631          TATT= 30
RFA = 30                      PW = 90 [p(x,-x,x,-x)]
GAIN= 1                       P1 = 180 [p(x,x,x,x)]
RD = 1                        P2 = 180 [p(-x,-x,-x,-x)]
TAU = 1.6                    P3 = 180 [p(x,x,-x,-x)]
T1MX= 0.4                    ENDS= [p(x,-x,x,-x)]
BPOL= 20.15                 D0 = (RD) = 1
PW90= 3.6                   D1 = 0
RPHS= 293                   D2 = 0
MS = 32                     D3 = (TAU) = 1.6
BS = 512                    NBLK= 128
STIM= 0.00512              BACR= TAU
SW = 100000                BGRD= LOG
SWP = 4962.77915633        BINI= 0.0001
RINH= 10                   BEND= (4*T1MX)
FLTR= 60000

```

L'acquisizione propedeutica per l'IR su apparato SpinMaster è stata elaborata con UPEN, e il risultato è il seguente:

```

IRS_Per_32acc.Hdf Run:UPEN3E3_E18 01Jul2009 16:19
N=128 MI=100 NB=128 MN=1 beta000=1
S/Rv=878 XNeg%=9.4 -.054_RmR_-.033
beta00=1 AvNa.205 TLong=402 Peaks: 220.1 45.42
Resolved_Peaks_Tgm ;222.,.5;45.3,.5
+.017_RumNewOld_-.003 100_gmTra_74.7 CONVERGE
25220._XsigU_25180.:25160
27.2_Rum_28.69 Sinf=-120 Kurtosis_3.9; 3.6
WARNING: AvNa Large Kurtosis
BEWARE! Very Large Kurtosis

```

Il grafico rappresentativo è in figura 4.25. I due picchi sono ben distinti e un'informazione importante che si ricava dai risultati dell'inversione è che sottendono ognuno metà dell'area totale (l'indicazione è in Resolved_Peaks_Tgm 222.,.5 ; 45.3,.5). Si ha inoltre a disposizione un buon rapporto segnale rumore (S/Rv=878) come base per l'applicazione del filtro.

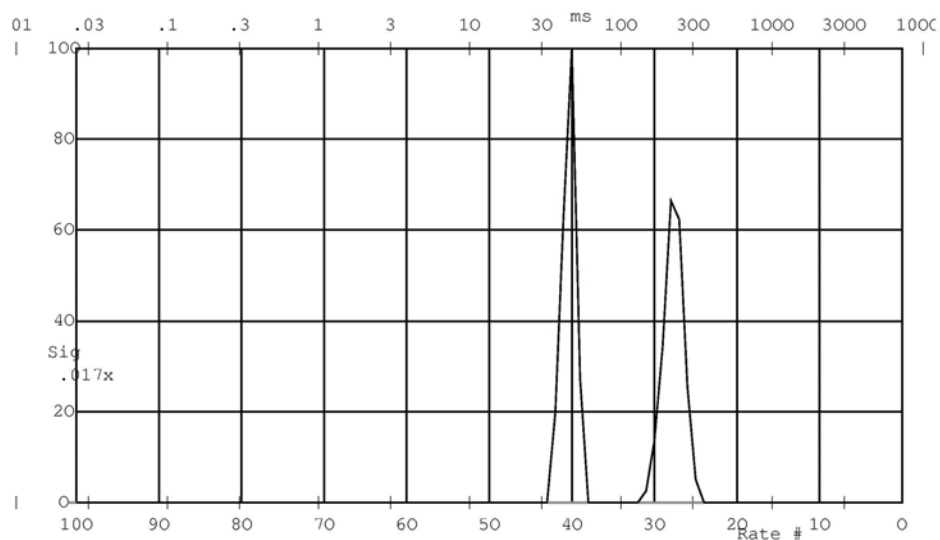


Figura 4.25: IR - SpinMaster

Passa Alto Per ottenere segnale solo dalla componente del campione a rate maggiore la procedura è semplificata dall'aver a disposizione la sequenza propedeutica cui sottrarre una seconda acquisizione con delay tra i due impulsi π non nullo. Il risultato si differenzia a seconda che si scelga un'attenuazione massima di 0.9 (figura 4.26) o di 0.5 (figura 4.27)

L'elaborazione per il filtro a 0.9:(figura: 4.26)

```
OUT_IRS_Per_0_103.Hdf Run:UPEN3E3_E18 02Jul2009 15:25 b
N=128 MI=100 NB=128 MN=1 beta000=1
C:\UpenWin\OUT_IRS_Per_0_103H.dat 18_plt_30
+0.000%_Change_+0.001 S/Rv=469 XNeg%=3.8 -.074_RmR_-.061
0%_Extrap_0% beta00=1 5.66_BusyMMod_1.14 .104_DATA_1600
AvNa.254 TLong=355 Peaks: 216.1 44.14
Resolved_Peaks_Tgm ;200,.322;44.4,.678
-.000_RumNewOld_-.000 72.1_gmTra_58.5
15290_XsigU_15260:15280
30.22_Rum_32.54 Sinf=-73.6 Kurtosis_1.9; 1.6
WARNING: AvNa Large Kurtosis
```

L'elaborazione per il filtro a 0.5:(figura: 4.27)

```
OUT_IRS_Per_0_31.Hdf Run:UPEN3E3_E18 02Jul2009 15:24
N=128 MI=100 NB=128 MN=1 beta000=1
S/Rv=247 XNeg%=4.6 -.032_RmR_+.102
```

```

0%_Extrap_0%  beta00=1  4.63_BusyMMod_1.10  .104_DATA_1600
AvNa.517  TLong=402  Peaks: 205.2  44.9
Resolved_Peaks_Tgm ;207.,.23;45.3,.77
+.001_RumNewOld_-.001  64.2_gmTra_54.4  CONVERGE
7745_XsigU_7730:7739  30.28_Rum_31.28  Sinf=-35.7  Kurtosis_3.9; 3.3
WARNING:  AvNa  Large Kurtosis
BEWARE!  Very Large Kurtosis

```

Passa Basso L'elaborazione per il filtro a 0.9 (figura: 4.28)

```

OUT_IRS_per_23_inf.Hdf  Run:UPEN3E3_E18 09Jul2009 10:32
N=128 MI=100 NB=128 MN=1 beta000=1
+0.000%_Change_+0.008  S/Rv=412  XNeg%=9.1  -.029_RmR_-.033
0%_Extrap_0%  beta00=1  2.74_BusyMMod_1.51  .104_DATA_1600
AvNa.583  TLong=402  Peaks: 229.3  47.41
Resolved_Peaks_Tgm ;223,.594;47.6,.406  -.017_RumNewOld_-.006
120_gmTra_85.9  18000_XsigU_17970:17970  42.36_Rum_43.62
Sinf=-151  Kurtosis_4.4; 1.3
WARNING:  AvNa  Large Kurtosis
BEWARE!  Very Large Kurtosis

```

L'elaborazione per il filtro a 0.5 (figura: 4.29)

```

OUT_IRS_Per_154_inf.Hdf  Run:UPEN3E3_E18 02Jul2009 16:40
N=128 MI=100 NB=128 MN=1 beta000=1
-0.001%_Change_+0.004  S/Rv=333  XNeg%=6.3  -.020_RmR_-.107
0%_Extrap_0%  beta00=1  3.74_BusyMMod_1.03  .104_DATA_1600
AvNa.347  TLong=355  Peaks: 227.7  94.88
Resolved_Peaks_Tgm ;225,.927;48.2,.073  +.002_RumNewOld_-.000
201._gmTra_165  6050_XsigU_6047:5995  17.79_Rum_18.14
Sinf=-68.9  Kurtosis_1.6; .53
WARNING:  AvNa  Large Kurtosis

```

Passa Banda Alto L'elaborazione per il filtro a 0.9 (figura: 4.30)

```

OUT_IRS_per_3_176.Hdf  Run:UPEN3E3_E18 09Jul2009 10:30
N=128 MI=100 NB=128 MN=1 beta000=1
+0.001%_Change_+0.007  S/Rv=348  XNeg%=6.9  +.024_RmR_-.064
0%_Extrap_0%  beta00=1  2.91_BusyMMod_1.32  .104_DATA_1600
AvNa.663  TLong=456  Peaks: 217.6  45.51
Resolved_Peaks_Tgm ;217,.366;46.1,.634  +.032_RumNewOld_-.002
81.3_gmTra_63  17320_XsigU_17290:17410  50.88_Rum_49.65
Sinf=-121  Kurtosis_6.1; 4.3

```


WARNING: AvNa Large Kurtosis
BEWARE! Very Large Kurtosis

L'elaborazione per il filtro a 0.5 (figura: 4.31)

```
OUT_IRS_per_19_85.Hdf Run:UPEN3E3_E18 09Jul2009 10:31
N=128 MI=100 NB=128 MN=1 beta000=1
+0.001%_Change_+0.006 S/Rv=414 XNeg%=5.9 +.049_RmR_-.084
0%_Extrap_0% beta00=1 3.30_BusyMMod_1.25 .104_DATA_1600
AvNa.788 TLong=402 Peaks: 224.4 46.5
Resolved_Peaks_Tgm ;219,.344;46.1,.656 +.041_RumNewOld_-.000
78.8_gmTra_61.9 9252_XsigU_9236:9262 23.46_Rum_22.33
Sinf=-60.6 Kurtosis_5.6; 2.8
WARNING: AvNa Large Kurtosis
BEWARE! Very Large Kurtosis
```

Passa Banda Basso L'elaborazione per il filtro a 0.9 (figura: 4.32)

```
OUT_IRS_per_18_872.Hdf Run:UPEN3E3_E18 09Jul2009 10:31
N=128 MI=100 NB=128 MN=1 beta000=1
-0.001%_Change_+0.007 S/Rv=451 XNeg%=15 -.032_RmR_-.064
0%_Extrap_0% beta00=1 3.47_BusyMMod_1.72 .104_DATA_1600
AvNa.873 TLong=402 Peaks: 230. 45.87
Resolved_Peaks_Tgm ;226.,.571;46.3,.428 +.005_RumNewOld_-.003
114._gmTra_60.6 CONVERGE 19040_XsigU_19010:18990 40.84_Rum_42.18
Sinf=-138 Kurtosis_15; 7.7
WARNING: AvNa Large Kurtosis
BEWARE! Very Large Kurtosis
```

L'elaborazione per il filtro a 0.5 (figura: 4.33)

```
OUT_IRS_per_97_425.Hdf Run:UPEN3E3_E18 09Jul2009 10:34
N=128 MI=100 NB=128 MN=1 beta000=2 FileChr$=Z
-0.000%_Change_+0.013 S/Rv=327 XNeg%=13.2 -.054_RmR_-.117
0%_Extrap_0% beta00=2 6.07_BusyMMod_1.07 .104_DATA_1600
AvNa.64 TLong=355 Peaks: 237.4 50.01
Resolved_Peaks_Tgm ;231,.76;53,.24 +.007_RumNewOld+.002
162_gmTra_121 7320_XsigU_7314:7270 21.22_Rum_22.39
Sinf=-66 Kurtosis_.84; .87
WARNING: AvNa
```

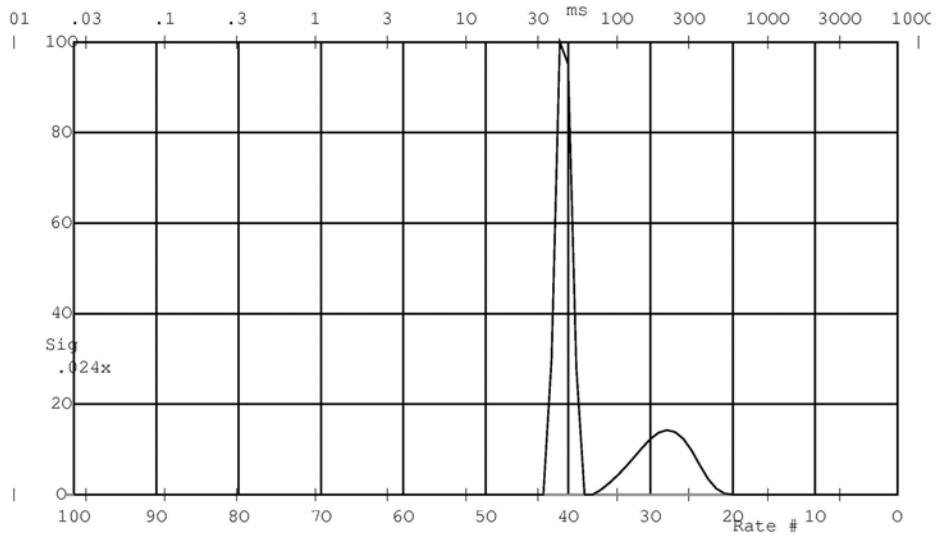


Figura 4.26: IR PassaAlto att 0.9 - SpinMaster

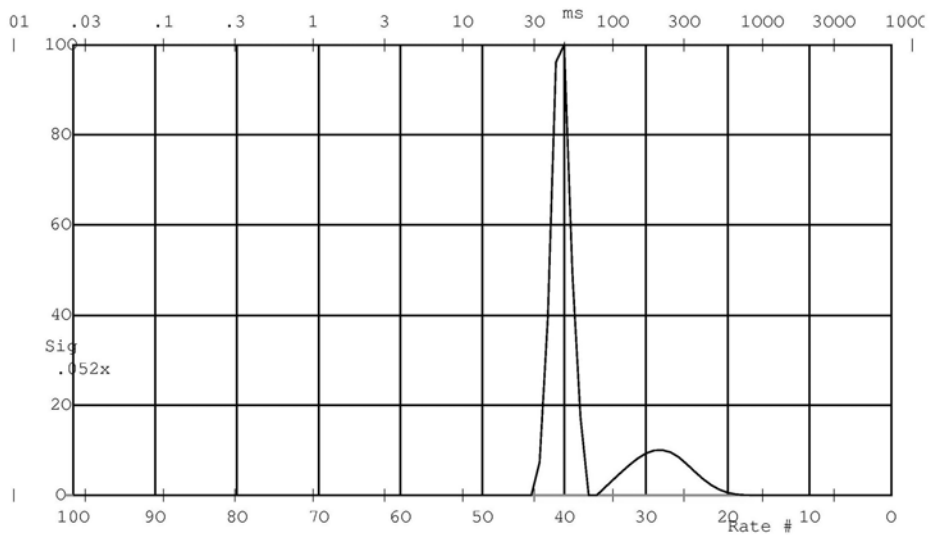


Figura 4.27: IR PassaAlto att 0.5 - SpinMaster

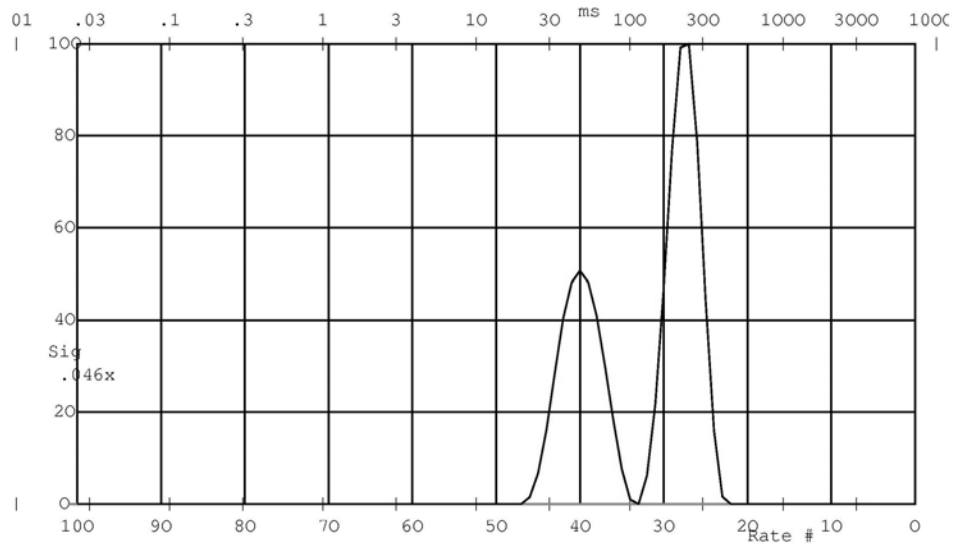


Figura 4.28: IR PassaBasso att 0.9 - SpinMaster

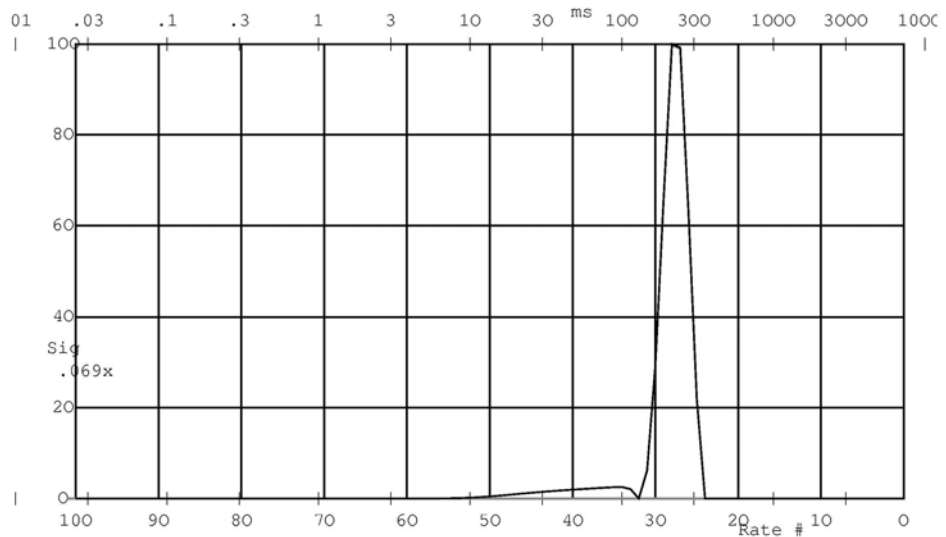


Figura 4.29: IR PassaBasso att 0.5 - SpinMaster

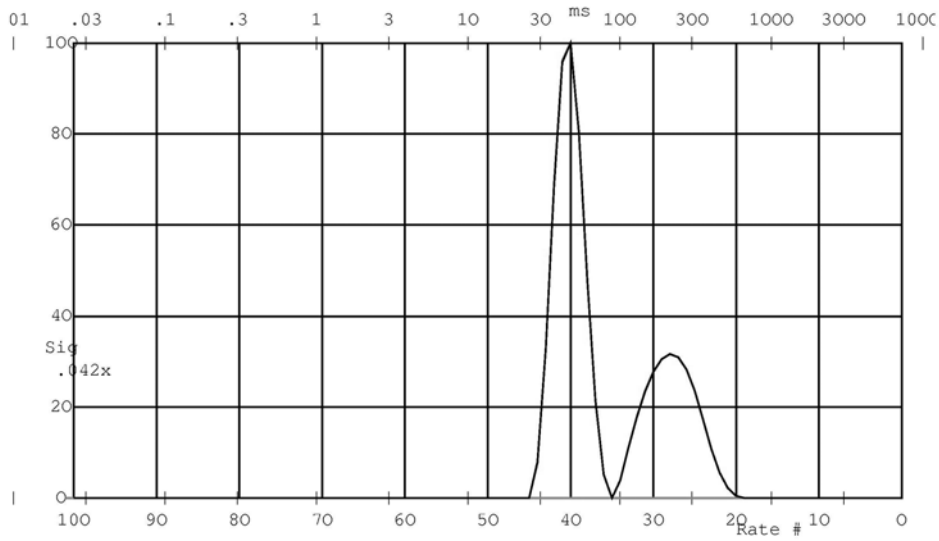


Figura 4.30: IR PassaBanda A att 0.9 - SpinMaster

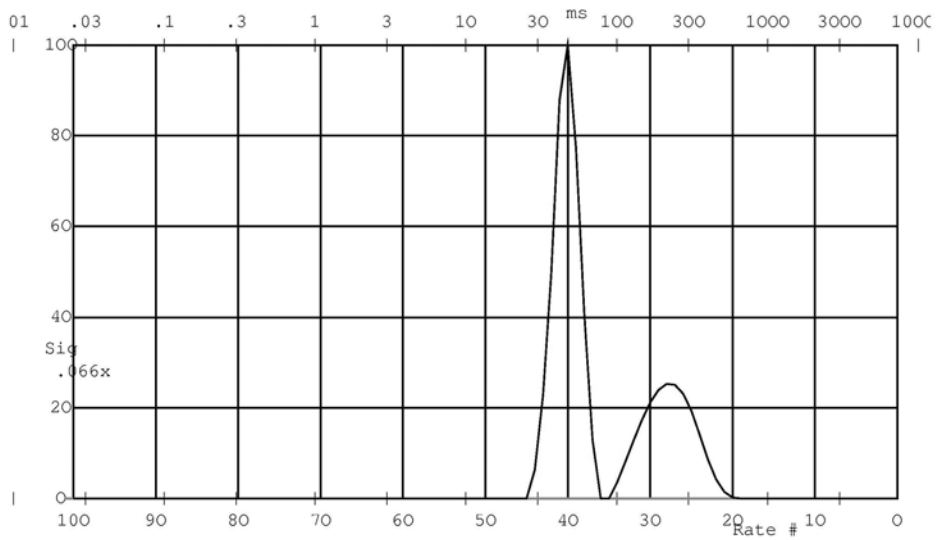


Figura 4.31: IR PassaBanda A att 0.5 - SpinMaster

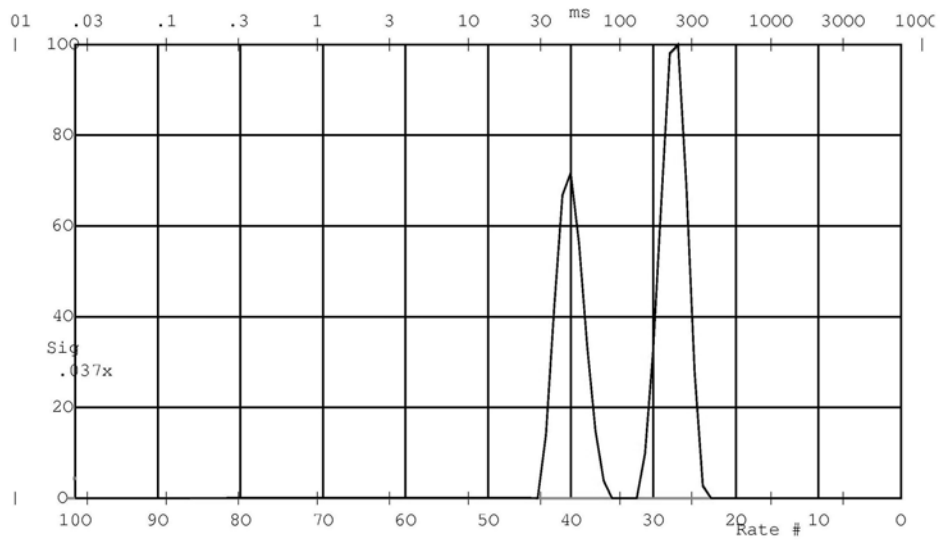


Figura 4.32: IR PassaBanda B att 0.9 - SpinMaster

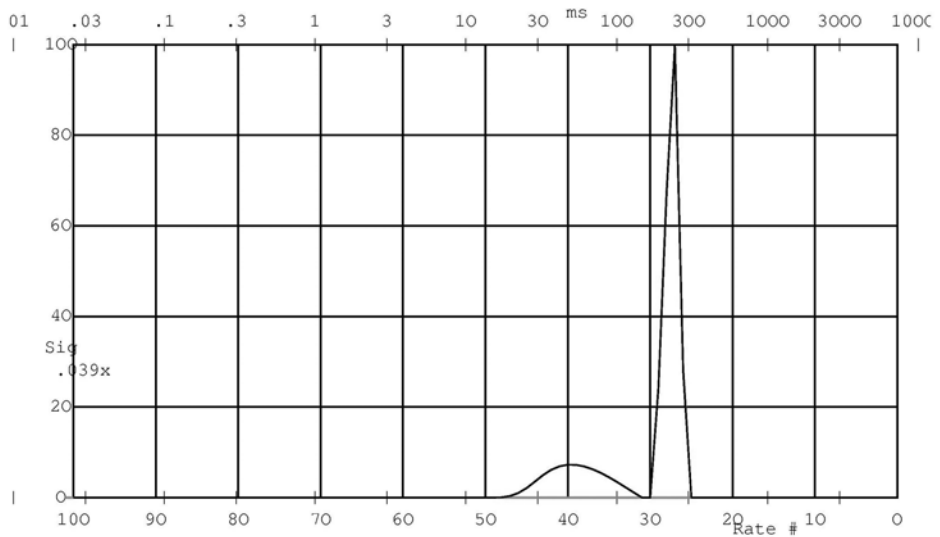


Figura 4.33: IR PassaBanda B att 0.5 - SpinMaster

CPMG

Per la CPMG sull'apparato SpinMaster si sono utilizzati i seguenti parametri di acquisizione:

```

EXP = CPMG_PER_CF4_IM          TATT= 30
F1 = -337.580525191           PW = 90 [p(x,-x,x,-x)]
RFA = 30                       P1 = 180 [p(x,x,x,x)]
GAIN= 1                         P2 = 180 [p(y,y,y,y)]
RD = 1.2                       P3 = 180 [p(y,y,x,x)]
EDLY= 300                     ENDS= [p(x,-x)]
BPOL= 20.15                   D0 = (RD) = 1.2
PW90= 3.6                     D1 = 0
RPHS= -67                     D2 = 0
MS = 1200                     D3 = (EDLY-RINH) = 0.0003
BS = 2000                     D4 = (EDLY-RINH) = 0.0003 [c(R)]
RINH= 0                       D5 = (EDLY) = 0.0003 [c(R)]
FLTR= 60000

```

Acquisizione propedeutica per la CPMG su apparato SpinMaster:

```

24_132_CPMGPer_0_01.Bdf  Run:UPEN3E5_E03 29Jun2009 14:54
tau=300 SM N=103 MI=100 NB=2000 MN=0 beta000=1
TEE=.6072 D=.05 FileChr$=J ND=15
-0.000%_Change_+0.009 S/Rv=399 XNeg%=19.1 +.591_RmR_+.573
0%_Extrap_0% beta00=1 12.31_BusyMMod_1.38 .607:10_DATA_1185
AvNa2.21 TLong=261 Peaks: 207.2 42.92
Resolved_Peaks_Tgm ;208.,.499;42.8,.501 +.001_RumNewOld+.000
94.2_gmTra_70.5 5875_XsigU_5120:5417 23.19_Rum_12.84
Sinf=0 Kurtosis_6.4; 12
WARNING: Large XNegative Large RmR Large RmR12 AvNa Large Kurtosis
BEWARE! Very Large RmR Very Large RmR12 Very Large Kurtosis

```

Il grafico rappresentativo è in figura 4.34. I due picchi sono ben distinti e sottendono ognuno metà dell'area totale (Resolved_Peaks_Tgm 208., .499 ; 42.8, .501).

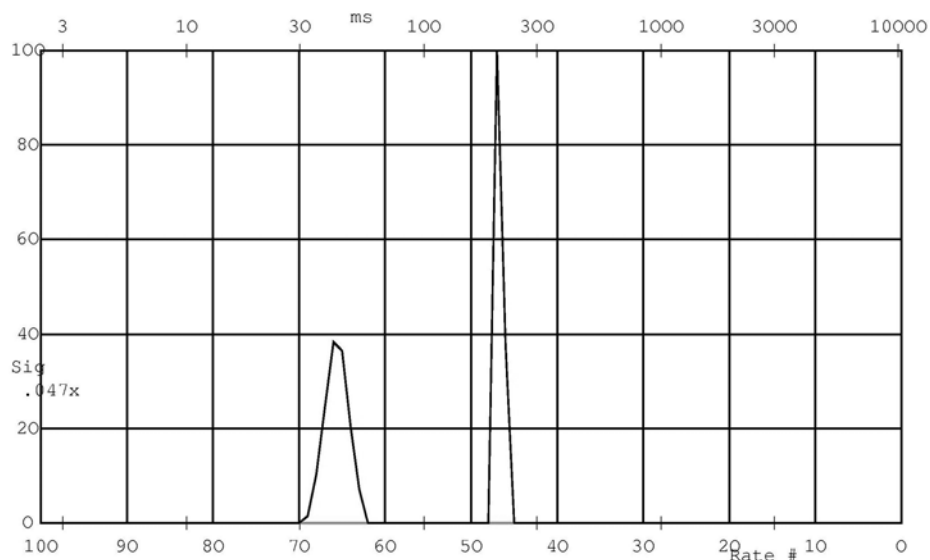


Figura 4.34: CPMG - SpinMaster

Passa Alto L'elaborazione per il filtro a 0.9:(figura: 4.35)

```

OUT_CPMGPer_0_991.Bdf Run:UPEN3E3_E18 29Jun2009 17:28
tau=300 SMPL= EDTA EXP N=103 MI=100 NB=1985 MN=0 beta000=1
TEE=.6072 D=.04984 FileChr$=J ND=15
-0.000%_Change_+0.006 S/Rv=531 XNeg%=17.6 +.463_RmR_+.661
0%_Extrap_0% beta00=1 10.19_BusyMMod_1.37 .607:10_DATA_1185
AvNa2.47 TLong=261 Peaks: 208.7 41.87
Resolved_Peaks_Tgm ;208,.282;42.6,.718 +.001_RumNewOld_-.000
66.6_gmTra_54.8 7420_XsigU_6204:6440 18.57_Rum_11.69
Sinf=0 Kurtosis_8.3; 13
WARNING: Large RmR Large RmR12 AvNa Large Kurtosis
BEWARE! Very Large RmR Very Large RmR12 Very Large Kurtosis

```

L'elaborazione per il filtro a 0.5:(figura: 4.36)

```

OUT_CPMGPer_0_291.Bdf Run:UPEN3E3_E18 29Jun2009 17:27
tau=300 SMPL= EDTA EXP N=103 MI=100 NB=1985 MN=0 beta000=1
TEE=.6072 D=.04984 FileChr$=J ND=15
+0.000%_Change_+0.000 S/Rv=367 XNeg%=19.3 +.450_RmR_+.557
0%_Extrap_0% beta00=1 13.79_BusyMMod_1.10 .607:10_DATA_1185
AvNa2.07 TLong=261 Peaks: 211.4 41.96
Resolved_Peaks_Tgm ;210,.208;42.5,.792 +.002_RumNewOld_-.000
59.3_gmTra_51 CONVERGE 3449_XsigU_2842:2938 12.15_Rum_7.749

```

```
Sinf=0 Kurtosis_11; 12
WARNING: Large XNegative Large RmR Large RmR12 AvNa Large Kurtosis
BEWARE! Very Large RmR Very Large RmR12 Very Large Kurtosis
```

Passa Basso L'elaborazione per il filtro a 0.9 (figura: 4.37)

```
OUT_CPMGPer_21_inf1.Bdf Run:UPEN3E3_E18 30Jun2009 15:58
tau=300 SMPL= EDTA E N=103 MI=100 NB=1985 MN=0 beta000=1.5
TEE=.6072 D=.04984 FileChr$=J ND=15
-0.000%_Change_+0.015 S/Rv=565 XNeg%=18.6 +.416_RmR_*****
0%_Extrap_0% beta00=1.5 15.35_BusyMMod_1.28 .607:10_DATA_1185
AvNa3.07 TLong=261 Peaks: 203.6 42.11
Resolved_Peaks_Tgm ;204,.568;42,.432 +.001_RumNewOld+.000
103_gmTra_76.3 9116_XsigU_8030.:8879 21.56_Rum_14.22
Sinf=0 Kurtosis_3; 7.3
WARNING: Large XNegative Large RmR Large RmR12 AvNa Large Kurtosis
BEWARE! Very Large RmR Very Large RmR12 Very Large Kurtosis
```

L'elaborazione per il filtro a 0.5 (figura: 4.38)

```
OUT_CPMGPer_144_inf1.Bdf Run:UPEN3E3_E18 30Jun2009 15:58
tau=300 SMPL= EDTA N=103 MI=100 NB=1985 MN=0 beta000=1.5
TEE=.6072 D=.04984 FileChr$=J ND=15
+0.000%_Change_+0.014 S/Rv=426 XNeg%=14.4 +.790_RmR_+.842
0%_Extrap_0% beta00=1.5 16.87_BusyMMod_1.01 .607:10_DATA_1185
AvNa2.75 TLong=261 Peaks: 203.3 35.36
Resolved_Peaks_Tgm ;203.,.905;35.7,.0954 +.001_RumNewOld+.000
172_gmTra_138 3400_XsigU_3171:3325 16.41_Rum_7.448
Sinf=0 Kurtosis_7.5; 7.6
WARNING: Large RmR Large RmR12 AvNa Large Kurtosis
BEWARE! Very Large RmR Very Large RmR12 Very Large Kurtosis
```

Passa Banda Alto L'elaborazione per il filtro a 0.9 (figura: 4.39)

```
OUT_CPMGPer_3_1691.Bdf Run:UPEN3E3_E18 30Jun2009 16:37
tau=300 SMPL= EDTA EX N=103 MI=100 NB=1985 MN=0 beta000=1.5
TEE=.6072 D=.04984 FileChr$=J ND=15
+0.000%_Change_+0.000 S/Rv=382 XNeg%=18.8 +.251_RmR_*****
0%_Extrap_0% beta00=1.5 11.45_BusyMMod_1.56 .607:10_DATA_1185
AvNa3.01 TLong=261 Peaks: 203.8 41.76
Resolved_Peaks_Tgm ;204,.334;42.1,.666 +.000_RumNewOld+.000
71.3_gmTra_57.2 CONVERGE 8408_XsigU_7086:8288 23.82_Rum_18.53
Sinf=0 Kurtosis_2.9; 7.8
```


WARNING: Large XNegative Large RmR Large RmR12 AvNa Large Kurtosis
BEWARE! Very Large RmR Very Large RmR12 Very Large Kurtosis

L'elaborazione per il filtro a 0.5 (figura: 4.40)

```
OUT_CPMGPer_18_82_1.Bdf Run:UPEN3E3_E18 01Jul2009 14:51
tau=300 SMPL= EDTA E N=103 MI=100 NB=1985 MN=0 beta000=1.5
TEE=.6072 D=.04984 FileChr$=J ND=15
+0.000%_Change_+0.000 S/Rv=410 XNeg%=17.1 +.666_RmR_+.733
0%_Extrap_0% beta00=1.5 11.79_BusyMMod_1.36 .607:10_DATA_1185
AvNa2.66 TLong=261 Peaks: 202.6 41.59
Resolved_Peaks_Tgm ;200,.299;41.6,.701
-.000_RumNewOld_-.001 66.5_gmTra_54.5 CONVERGE 4342_XsigU_3627:3953
17.21_Rum_8.841 Sinf=0 Kurtosis_6.5; 16
WARNING: Large RmR Large RmR12 AvNa Large Kurtosis
BEWARE! Very Large RmR Very Large RmR12 Very Large Kurtosis
```

Passa Banda Basso L'elaborazione per il filtro a 0.9 (figura: 4.41)

```
OUT_CPMGPer_17_8171.Bdf Run:UPEN3E3_E18 01Jul2009 13:54
tau=300 SMPL= EDTA E N=103 MI=100 NB=1985 MN=0 beta000=1.5
TEE=.6072 D=.04984 FileChr$=J ND=15
-0.000%_Change_+0.012 S/Rv=633 XNeg%=17.9 +.809_RmR_*****
0%_Extrap_0% beta00=1.5 15.83_BusyMMod_1.25 .607:10_DATA_1185
AvNa3.03 TLong=261 Peaks: 203.2 41.2
Resolved_Peaks_Tgm ;203.,.548;41.8,.452 +.000_RumNewOld_-.000
99.4_gmTra_73.7 9468_XsigU_8303:9445 29.45_Rum_13.12
Sinf=0 Kurtosis_4.2; 8.7
WARNING: Large RmR Large RmR12 AvNa Large Kurtosis
BEWARE! Very Large RmR Very Large RmR12 Very Large Kurtosis
```

L'elaborazione per il filtro a 0.5 (figura: 4.42)

```
OUT_CPMGPer_91_3981.Bdf Run:UPEN3E3_E18 01Jul2009 13:54
tau=300 SMPL= EDTA E N=103 MI=100 NB=1985 MN=0 beta000=1.5
TEE=.6072 D=.04984 FileChr$=J ND=15
+0.000%_Change_+0.004 S/Rv=337 XNeg%=17.8 +.792_RmR_*****
0%_Extrap_0% beta00=1.5 16.48_BusyMMod_1.05 .607:10_DATA_1185
AvNa2.76 TLong=261 Peaks: 203.4 42.33
Resolved_Peaks_Tgm ;204,.755;42.1,.245 +.001_RumNewOld_-.000
139_gmTra_103 3893_XsigU_3546:4198 23.25_Rum_10.54
Sinf=0 Kurtosis_5.2; 16
WARNING: Large RmR Large RmR12 AvNa Large Kurtosis
BEWARE! Very Large RmR Very Large RmR12 Very Large Kurtosis
```

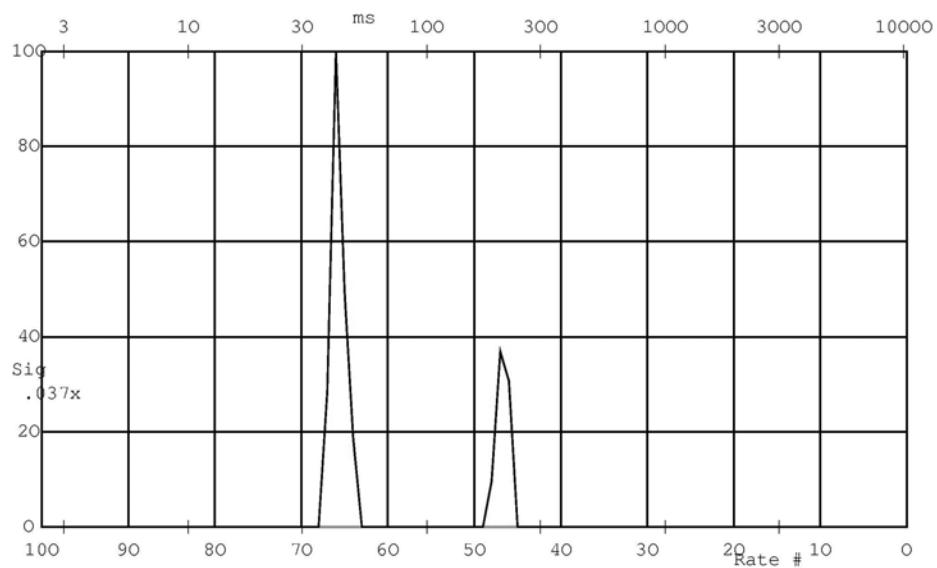


Figura 4.35: CPMG PassaAlto att 0.9 - SpinMaster

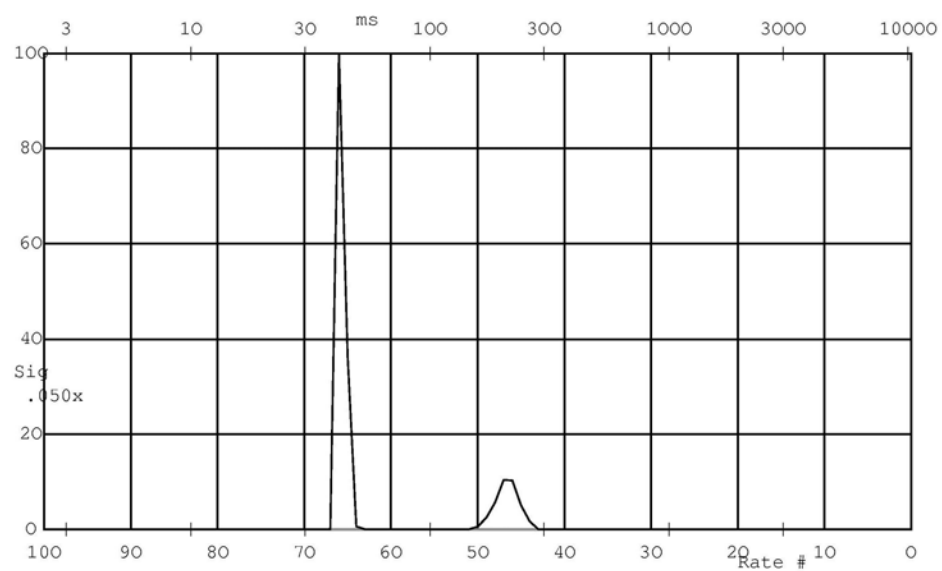
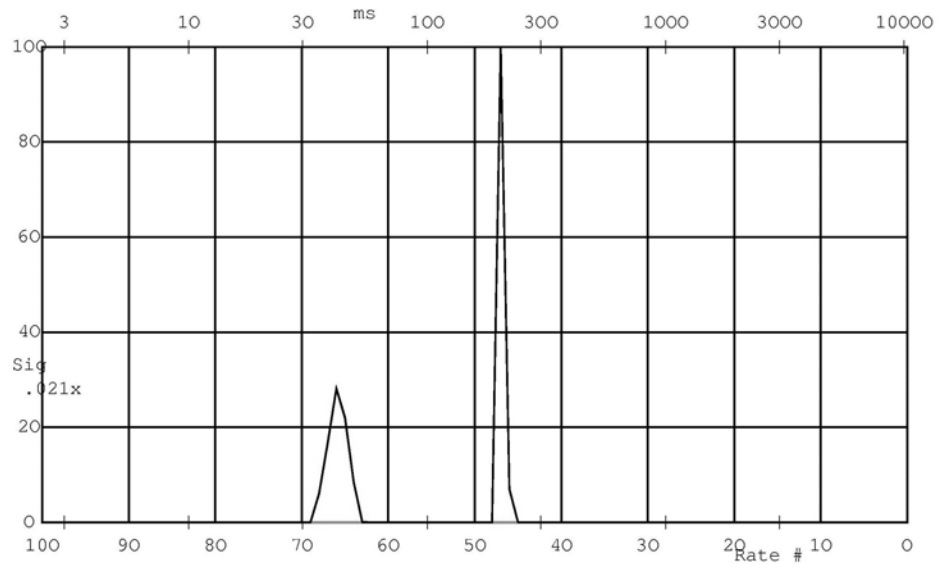
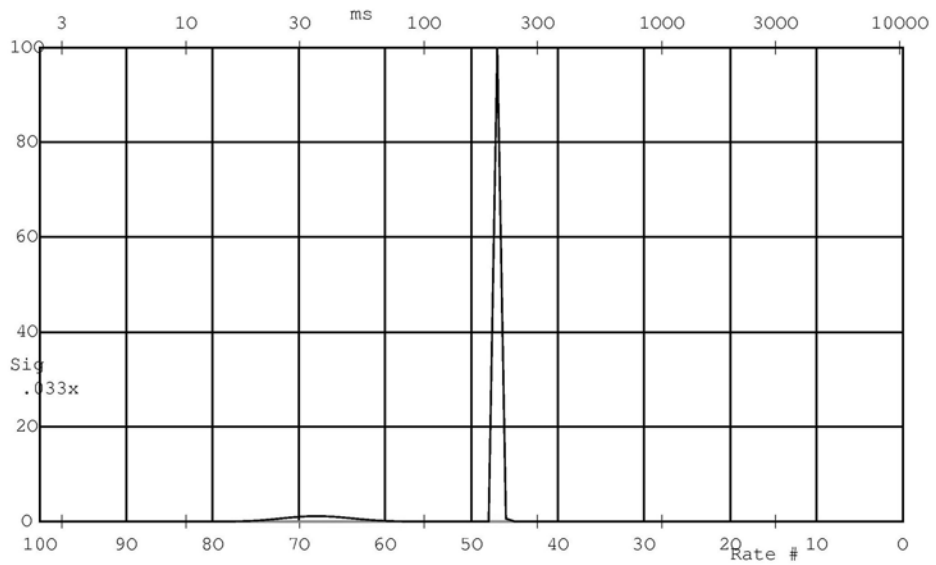


Figura 4.36: CPMG PassaAlto att 0.5 - SpinMaster

**Figura 4.37:** CPMG PassaBasso att 0.9 - SpinMaster**Figura 4.38:** CPMG PassaBasso att 0.5 - SpinMaster

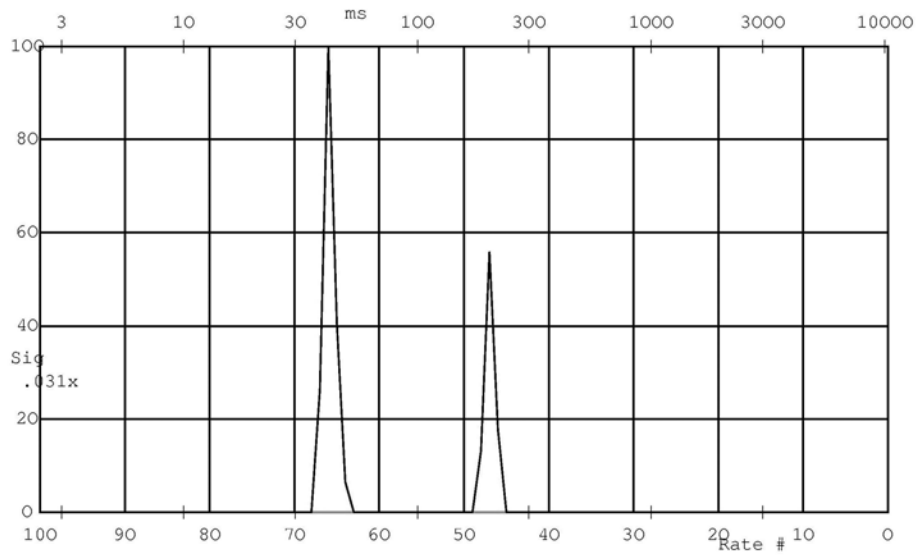


Figura 4.39: CPMG PassaBanda A att 0.9 - SpinMaster

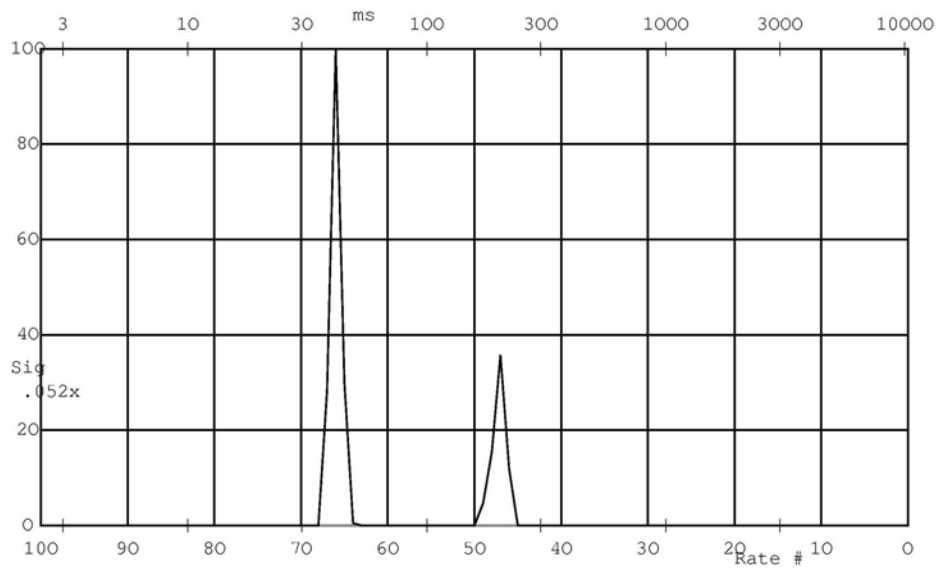
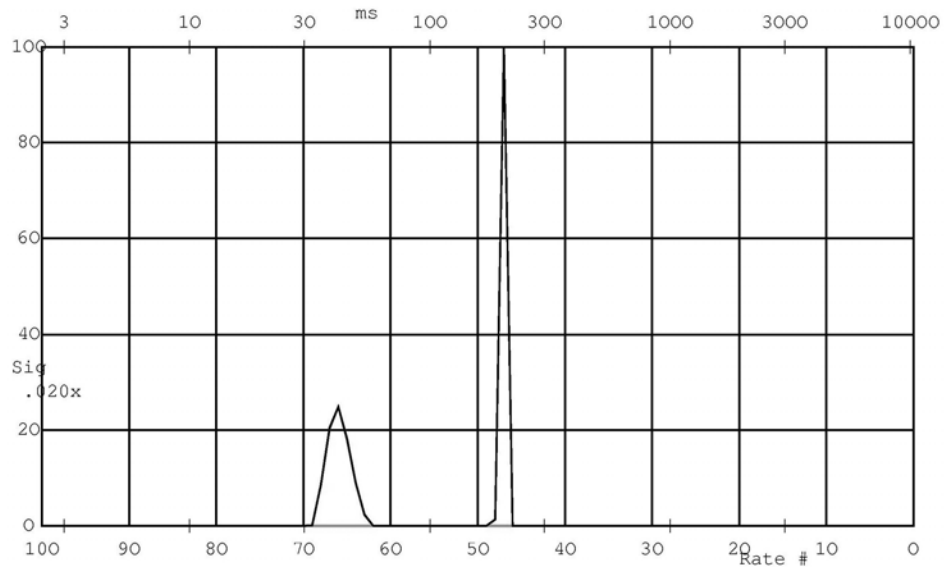
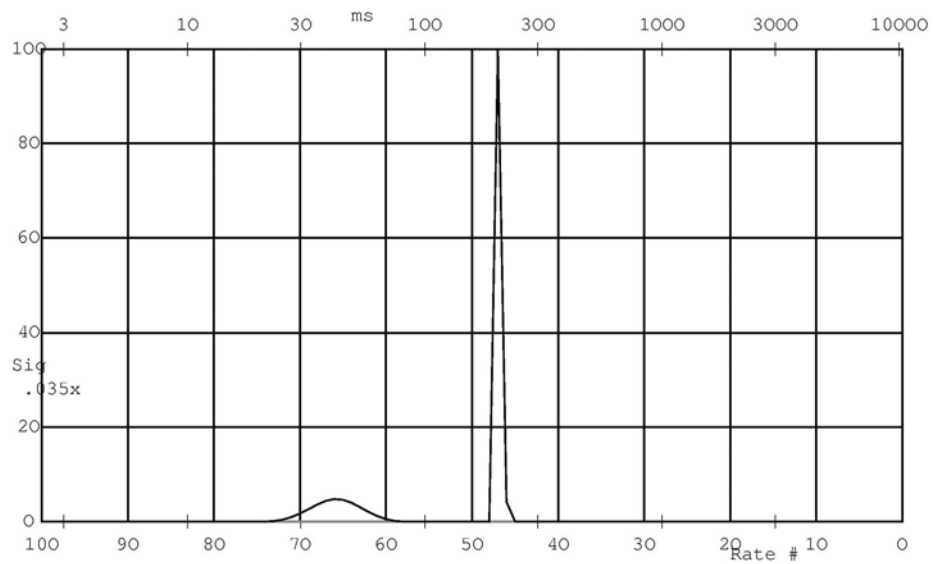


Figura 4.40: CPMG PassaBanda A att 0.5 - SpinMaster

**Figura 4.41:** CPMG PassaBanda B att 0.9 - SpinMaster**Figura 4.42:** CPMG PassaBanda B att 0.5 - SpinMaster

	Full-Size			SpinMaster		
	RappS	RappM	Var %	RappS	RappM	Var %
Passa Alto						
<i>att 0.9</i>	2,57	2,70	2,5	2,50	2,13	-8,1
<i>att 0.5</i>	4,17	6,69	23,2	3,57	3,35	-3,2
Passa Basso						
<i>att 0.9</i>	1,50	1,56	2,0	1,50	1,50	0,0
<i>att 0.5</i>	12,50	19,00	20,6	12,50	13,29	3,0
Passa Banda Alto						
<i>att 0.9</i>	1,80	1,44	-11,1	1,67	1,70	1,0
<i>att 0.5</i>	2,27	1,50	-20,4	2,08	1,94	-3,5
Passa Banda Basso						
<i>att 0.9</i>	1,34	1,38	1,3	1,32	1,38	2,1
<i>att 0.5</i>	4,17	4,00	-2,0	4,17	3,35	-10,9

Tabella 4.9: Simulazioni *vs* Risultati IR

4.4 Analisi Risultati

4.4.1 Intensità del Segnale

Come accennato in precedenza, la verifica dell'accordo tra previsioni e dati sperimentali si avvale della capacità di UPEN di calcolare l'area sottesa dai picchi delle due componenti; il programma di inversione attribuisce area maggiore alle componenti da cui deriva un segnale più intenso. Le misurazioni effettuate senza il preambolo PERFIDI, o con delay settati a zero garantiscono che il peso relativo delle due componenti all'origine sia pressochè identico, come previsto in fase di preparazione dei campioni. Si parte quindi da una situazione di sostanziale parità: l'intervento del preambolo nelle coppie di acquisizioni è stato quello di ridurre l'intensità di una o di entrambe le componenti e di modificarne il rapporto. In tabella 4.9 e 4.10 sono riportati i quadri riassuntivi dei risultati; rispetto alle tabelle 4.5, 4.6, 4.7 e 4.8 è stata calcolata la discrepanza percentuale tra i rapporti di intensità misurati e quelli attesi (colonna Var%). Si tratta ora di evidenziare quanto emerge dall'analisi delle tabelle.

Innanzitutto si può visualizzare la distribuzione generale della differenza percentuale tra simulazione ed esperimenti con tre grafici: il primo (fig: 4.43)

	Full-Size			Spinmaster		
	RappS	RappM	Var %	RappS	RappM	Var %
Passa Alto						
<i>att 0.9</i>	2,37	2,23	-3,1	2,37	2,57	4,1
<i>att 0.5</i>	3,57	2,57	-16,2	3,33	3,76	6,0
Passa Basso						
<i>att 0.9</i>	1,50	1,33	-6,1	1,50	1,27	-8,2
<i>att 0.5</i>	12,50	9,00	-16,2	12,50	10,11	-10,5
Passa Banda Alto						
<i>att 0.9</i>	1,64	1,56	-2,2	1,67	2,03	9,8
<i>att 0.5</i>	2,08	1,94	-3,5	2,08	2,33	5,6
Passa Banda Basso						
<i>att 0.9</i>	1,38	1,38	-0,1	1,38	1,17	-8,2
<i>att 0.5</i>	4,17	3,55	-8,0	3,85	3,00	-12,3

Tabella 4.10: Simulazioni *vs* Risultati CPMG

	Media
SpinMaster	6.1%
Full-Size	8.7%
TOT	7.4%

Tabella 4.11: Media delle Variazioni

è un istogramma che riporta il numero di acquisizioni per ogni intervallo percentuale in valore relativo, il secondo (fig: 4.44) invece è la cumulativa in valore assoluto di tale istogramma, utile a ottenere immediatamente quante misure si discostano meno di una certa frazione dalla simulazione, senza tener conto del segno.

Mantenendo accorpate tutti i set di rilevazioni e poi separandoli sulla base dell'apparato di acquisizione, è stata calcolata la media delle variazioni, riportata in tabella 4.11.

Volendo individuare quali sono i fattori che maggiormente influiscono sulla discrepanza tra previsioni e dati sperimentali non bisogna rivolgere la propria attenzione agli apparati di misura o alla tipologia di sequenza impiegata, bensì all'attenuazione che il filtro introduce; se si separano, infatti, le percentuali dei filtri '0.9' da quelle dei filtri '0.5' si ottiene per i primi

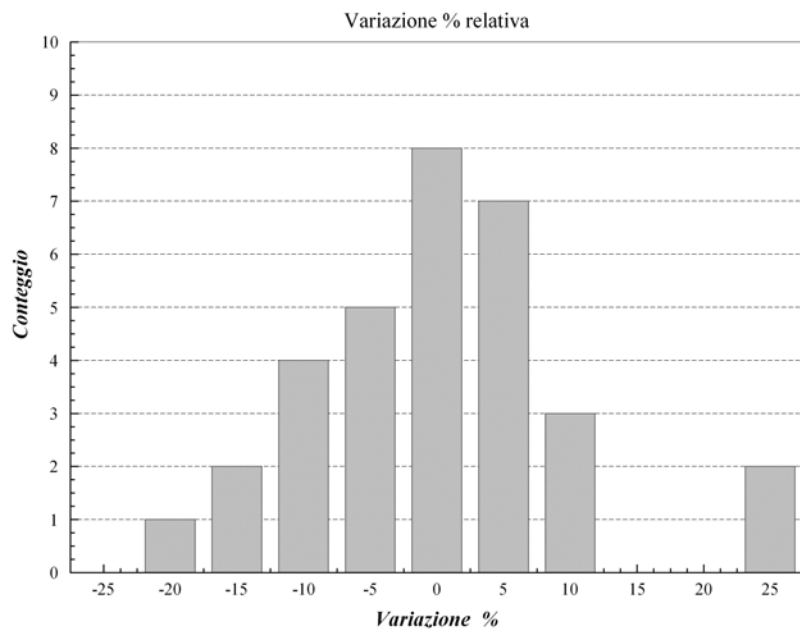


Figura 4.43: Istogramma della variazione percentuale relativa

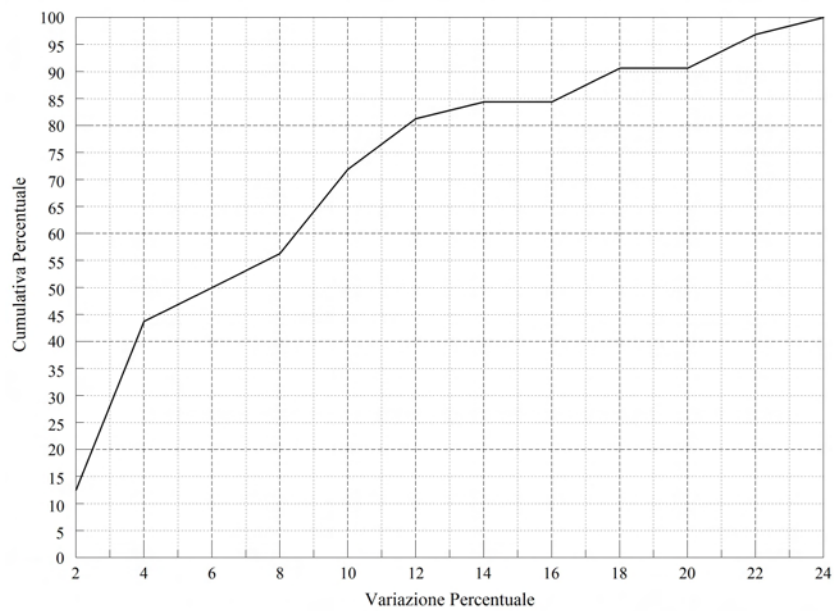


Figura 4.44: Curva cumulativa della variazione percentuale

	IR		CPMG		0.9		0.5	
	-20,4	0,0	-16,2	0,1	-11,1	0,0	-20,4	2,0
	-11,1	1,0	-16,2	2,2	-8,2	0,1	-16,2	3,0
	-10,9	1,3	-12,3	3,1	-8,2	1,0	-16,2	3,2
	-8,1	2,0	-10,5	3,5	-8,1	1,3	-12,3	3,5
	-3,5	2,0	-8,2	4,1	-6,1	2,0	-10,9	3,5
	-3,2	2,1	-8,2	5,6	-3,1	2,1	-10,5	5,6
	-2,0	2,5	-8,0	6,0	-2,2	2,2	-8,0	6,0
	0,0	3,0	-6,1	6,1	-0,1	2,5	-3,5	8,0
	1,0	3,2	-3,5	8,0	0,0	3,1	-3,5	10,5
	1,3	3,5	-3,1	8,2	1,0	4,1	-3,2	10,9
	2,0	8,1	-2,2	8,2	1,3	6,1	-2,0	12,3
	2,1	10,9	-0,1	9,8	2,0	8,1	3,0	16,2
	2,5	11,1	4,1	10,5	2,1	8,2	5,6	16,2
	3,0	20,4	5,6	12,3	2,5	8,2	6,0	20,4
	20,6	20,6	6,0	16,2	4,1	9,8	20,6	20,6
	23,2	23,2	9,8	16,2	9,8	11,1	23,2	23,2
Media	7,2		7,6		4,4		10,4	

Tabella 4.12: Raffronto sequenze e attenuazioni (var %)

media 4.4 , per i secondi 10.4. Per un raffronto diretto tra IR e CPMG e tra le due attenuazioni sono riportati in tabella 4.12 i valori di deviazione percentuale, sia in valore relativo che assoluto, entrambi in ordine crescente. Ci si trova, quindi, nella situazione in cui i filtri che garantiscono la migliore efficacia quanto a soppressione delle componenti indesiderate risultano meno affidabili nella simulazione dei risultati. Ciò potrebbe trovare giustificazione nel fatto che una maggior attenuazione introdotta dal preambolo PERFIDI riduce il rapporto segnale-rumore; rumore di cui non è possibile tenere conto durante la simulazione. Si introduce, cioè, un maggior margine di incertezza entro cui è ragionevole aspettarsi la corrispondenza tra previsioni e risultati sperimentali.

	FS IR		SM IR		FS CPMG		SM CPMG	
PA	169	35	200	44	152	31	208	43
	173	34	207	45	145	31	210	42
PB	157	33	223	48	156	32	204	42
	155	30	225	48	155	39	203	36
PBA	153	32	217	46	151	310	204	42
	144	32	219	46	150	30	200	426
PBB	158	35	226	46	153	31	203	42
	157	34	231	53	156	36	204	42
<i>media</i>	158	33	219	47	152	32	205	41
<i>dev st</i>	9	2	10	3	4	3	3	2
<i>rif</i>	168	34	222	45	152	31	208	42

Tabella 4.13: Posizione dei Picchi in ms

4.4.2 Posizione picchi

Un'altra problematica relativa all'applicazione del metodo PERFIDI è l'introduzione o meno di una distorsione nella distribuzione dei tempi di rilassamento; nel nostro caso un'eventuale influenza del filtro dovrebbe manifestarsi con una non trascurabile differenza nella posizione dei picchi per le diverse misure. Ovviamente in questo caso si tratta di confrontare le medesime sequenze sui medesimi apparati. Il dato elaborato è quello fornito da UPEN alla voce 'Resolved.Peaks_Tgm', il risultato sono le medie ottenute per ciascun apparato e ciascuna sequenza sugli otto filtri ; in tabella 4.13 sono inoltre presenti i riferimenti ottenuti con le sequenze standard, cioè senza preambolo PERFIDI (nell'ultima riga, indicata con *rif*).

Le medie sono tutte compatibili con i valori di riferimento ottenuti con le sequenze standard — lo scostamento medio è del 2% — si presentano però delle situazioni estreme quando l'applicazione del preambolo PERFIDI comporta un deciso allargamento dei picchi, che ne rende meno definita la 'posizione'; anche in tali casi lo scostamento supera il 5% solo tre volte: due nella misura del T_2 del picco 132mM con attenuazione 0.5 e filtro passa basso, una nella CPMG PassaBanda Basso del 132mM ad attenuazione 0.5 su Full-Size. Si tratta di condizioni estreme, come si può notare anche dai grafici della distribuzione dei tempi di rilassamento in fig.: 4.38, 4.20 e 4.24.

4.4.3 Efficienza di Inversione

Come indicato durante la trattazione formale del preambolo PERFIDI, la presenza di una coppia di impulsi di inversione a radiofrequenza produce un'imprescindibile ulteriore fattore di attenuazione; questo è dovuto al fatto che l'effetto di un π non è mai il completo ribaltamento della magnetizzazione di equilibrio. A ciò si assommano altri fattori:

- il delay tra il secondo π e l'inizio della sequenza (d_2) non può essere esattamente zero, cosiccome d_1 nel caso si voglia confrontare un'acquisizione standard con un preambolo ininfluenza;
- la durata degli impulsi può non essere trascurabile rispetto ai tempi caratteristici della sequenza (si è visto, ad esempio, nel caso della CPMG su apparato Full-Size, quando, per evitare la saturazione del segnale, si è aumentato il TATT facendo arrivare il PW90 a 56 μsec)

Una valutazione della perdita di segnale dovuta alla presenza del preambolo PERFIDI è stata resa possibile dal confronto tra CPMG standard e CPMG_PERFIDI con $d_1 = d_2 = 0$: sia che si calcoli la media dei rapporti punto a punto tra le due curve, sia che ci si affidi ai dati forniti dall'elaborazione di UPEN (_XSigU_), sia che si faccia riferimento a un'interpolazione biesponenziale il risultato è che il segnale viene ridotto di circa 1/3. Un valore perfettamente compatibile si è ottenuto anche dal confronto tra FID standard e FID PERFIDI con minima attenuazione; tale verifica può essere considerata indicativa anche per l'IR/S, sequenza composta da una successione di FID.

Conclusioni

Ci si proponeva di studiare e analizzare le possibili applicazioni di un brevetto dell'Università di Bologna [1] che sviluppa un nuovo metodo nel campo della Risonanza Magnetica Nucleare per l'analisi di campioni con distribuzione multiesponenziale dei tempi di rilassamento. Si tratta di un preambolo di impulsi di inversione a radiofrequenza (chiamato PERFIDI) da applicare a una qualsiasi sequenza standard NMR per selezionare il contributo delle singole componenti al segnale rilassometrico sulla base del loro rate di rilassamento longitudinale².

L'*analisi matematica* della struttura del preambolo PERFIDI ha permesso di indicare la direzione in cui lavorare e, tramite la riparametrizzazione delle funzioni generatrici, semplificare la trattazione dei filtri: dalla valutazione dell'attenuazione introdotta in funzione del numero di impulsi deriva la scelta di concentrarsi solo sui preamboli a doppio impulso di inversione; l'introduzione di \mathbf{k} e Δ ³ permette invece di determinare i delay che caratterizzano un filtro sulla base solo dell'attenuazione — che lo stesso viene a introdurre — e del rate su cui si intende lavorare.

Il lavoro sui *cicli di fase* ha permesso di migliorare decisamente la qualità delle acquisizioni. Si sono inoltre gettate le basi per una metodologia generale che permetta di ricavare la composizione dei cicli di fase per sequenze qualsiasi; il sistema è stato testato, con buoni risultati, per le sequenze IR e CPMG cui fosse applicato il preambolo PERFIDI a due impulsi. L'elaborazione dei dati è stata quanto più possibile delegata al foglio di calcolo per ridurre la possibilità di errore; anche in questo caso la struttura

²rate: $r = 1/T_1$

³ \mathbf{k} e Δ sono definiti da $d_1 = k \cdot \Delta$ e $D_1 = (1 - k) \cdot \Delta$; \mathbf{k} determina la forma del filtro, Δ la sua posizione rispetto alle ascisse

è applicabile, con modifiche minime, a sequenze più lunghe. La stesura di nuove sequenze ha comportato lo studio del linguaggio proprio dei 'Pulse Sequencer' Stelar, ha permesso il controllo diretto dei sistemi di acquisizione degli strumenti e contribuito all'approfondimento della maggior parte dei parametri modificabili dall'utente.

Sul versante della possibile applicazione ed espansione del lavoro svolto per questa tesi si colloca anche l'implementazione in C++, di un *software dedicato* all'elaborazione dei dati e alla definizione del protocollo sperimentale: il programma `Totale.exe` è infatti modulare e ogni blocco può singolarmente essere modificato o costituire la base per l'aggiunta di una nuova funzione. Tale software ha permesso di aggirare gli ostacoli imposti dall'elaborazione con foglio di calcolo (ad esempio la sottrazione di `*.sdf` oltre le 65000 righe), di automatizzare il calcolo dei delay che caratterizzano i filtri e di ottenere una *simulazione del filtraggio* sulla base di un'acquisizione con preambolo inefficace. Alla prova dei fatti tali previsioni si sono rivelate in accordo coi risultati degli esperimenti mediamente entro il 10% (sovrastima).

La *fase di sperimentazione* mirava in primis a verificare l'applicabilità del preambolo PERFIDI a sequenze più complesse di una semplice acquisizione di un FID, utili alla determinazione dei tempi di rilassamento in campioni multicomponenti, tale risultato è stato raggiunto appieno sia per la misura di T_1 (rilassamento longitudinale) con la sequenza Inversion Recovery, sia per la misura di T_2 (rilassamento trasversale) con la sequenza CPMG. A tal fine si è dimostrato insostituibile UpenWin che ha permesso di ottenere la distribuzione dei rate tramite l'inversione dei dati contenuti nei file-differenza generati da `Totale.exe`. Il passo successivo è stato verificare l'accordo tra le simulazioni e le misure testando, in diverse configurazioni, le tre tipologie di filtro: passa alto, passa basso e passa banda. Ciò ha permesso di validare il sistema di previsione dei risultati e approfondire le caratteristiche di applicazione del preambolo PERFIDI a due impulsi. Risultato di rilievo è che la miglior efficacia nella soppressione del segnale indesiderato si ottiene con i filtri a maggiore attenuazione, ovvero riducendo anche il contributo dei rate di interesse.

Come atteso la presenza del preambolo non introduce distorsioni nella distribuzione dei tempi di rilassamento.

In conclusione, il metodo PERFIDI per la selezione del segnale NMR sulla base del rate di rilassamento longitudinale si rivela efficace e controllabile nelle prove sperimentali eseguite in laboratorio su campioni a due componenti appositamente realizzati; il software di simulazione si dimostra un importante strumento per la definizione del protocollo di misura.

Il metodo PERFIDI si è rivelato inoltre potenzialmente utile come base per l'analisi bidimensionale dei tempi di rilassamento, ovvero per la correlazione tra rilassamento longitudinale e trasversale. Si tratterebbe, in tal caso, di un'analisi bidimensionale non affetta da possibili artefatti e false interpretazioni introdotte dall'algoritmo matematico di inversione dei dati bidimensionali, applicato a posteriori sui dati acquisiti sperimentalmente.

Appendice A

Sequenze

Di seguito sono riportati gli script delle sequenze utilizzate nella sperimentazione: PW90 per il FID, IR/S per il T1, CPMG per il T2, S3P_Pedagogical per il ciclo di fase della PW90 e S4P_Pedagogo per il ciclo di fase delle sequenze a 4 impulsi.

PW90

```
SEQUENCE PERFIDI_G_PH
',-----
'Preambolo PERFIDI seguito da un impulso a 90
'la distanza tra il preambolo e la sequenza è TAU
'è utilizzato il ciclo di fase descritto nel "brevetto"

DO;P1;D1;P2;D2;PW;RINH;ACQD;STIM

#SETUP
DO:(RD)
P1 = 180 [p(x,x,-x,-x)]
D1 = 0.001
P2 = 180 [p(-x,x,x,-x)]
D2 = 0
PW = 90 [p(x,-x,x,-x)]
ENDS [p(x,-x,x,-x)]
END SEQUENCE
```

IR/S_PERFIDI

```

SEQUENCE IR/S_G_PERFIDI
'-----
  D0;P1;D1;P2;D2;P3;D3;PW;RINH;ACQD;STIM
#SETUP  'Setup section:
  D0:(RD)  'Qui inizia il preambolo
  P1 = 180 [p(x,x,x,x)]
  D1 = 0.0000
  P2 = 180 [p(-x,-x,-x,-x)]
  D2 = 0.0000
  P3 :180 [p(x,x,-x,-x)] 'Preparatory pulse
  D3 :(TAU) 'Delay between pulses
  PW =90 [p(x,-x,x,-x)] 'Acquisition pulse
  ENDS [p(x,-x,x,-x)] 'Accumulation
  EACN= "BACQ" 'Listed parameter
  NBLK= 1  'Multi-blocks
  BACR= "TAU"
  BINI= 0.0005
  BEND= (4*T1MX)
  BGRD= "LOG"
  NBLK= 64
END SEQUENCE

```

CPMG_PERFIDI

```

SEQUENCE CPMG_PER_CF4_IM
'-----
#1 = BS 'Initialize size counter
  D0;P1;D1;P2;D2;PW;RINH;D3
#CYCLE: 'Start of cycle
  P3;RINH;D4
#ADC 'Strobe ADC
  D5
#1 = #1-1 'Decrement counter
#IF #1>0 #GOTO CYCLE 'Test for end and loop
#SETUP
  BS = 500 'Default block size
  P1 = 180 [p(x,x,x,x)] 'primo impulso pigreco
  P2 = 180 [p(y,y,y,y)] 'secondo impilso pigreco
  P3 =180 [p(y,y,x,x)] '180 degrees pulse
  PW = 90 [p(x,-x,x,-x)] '90 degrees pulse
  ENDS [p(x,-x)] 'Accumulation
  RINH = 0 'Default RINH is 0
  EDLY = 300 'Default tau/2 = 0.5ms
  D0 :(RD) 'Recycle delay
  D1 = 0.0000 ' primo delay PERFIDI
  D2 = 0.0000 ' secondo delay PERDIFI
  D3 :(EDLY-RINH) 'Various tau/2
  D4 :(EDLY-RINH) [c(R)]
  D5 :(EDLY) [c(R)]
END SEQUENCE

```

S3P_Pedagogical

```

SEQUENCE S3P_Pedagogical
'-----
'Acquisition starts immediately after the first pulse
  D0;P1;RINH;D1;P2;RINH;D2;P3;RINH;D3
#SETUP   'Setup section:
  D0 :(RD) 'Recycle delay
  P1 = 90 [p(x,-x)] '
  D1 = 0.1 [c(SR)]
  P2 = 90 [p(x,-x)] '
  D2 = 0.1 [c(R)]
  P3 = 90 [p(x,-x)] '
  D3 : (STIM-P1-D1-P2-D2-P3-3*RINH) [c(R)]
  ENDS [p(x,-x)] 'Accumulation
END SEQUENCE

```

S4P_Pedagogo

```

SEQUENCE S4P_Pedagogo
'-----
'Analisi del ciclo di fase per sequenze a 4 impulsi
  D0;P1;RINH;D1;P2;RINH;D2;P3;RINH;D3;P4;RINH;D4
#SETUP   'Setup section:
  D0 :(RD) 'Recycle delay
  P1 = 90 [p(x,-x)] '
  D1 = 0.001 [c(SR)]
  P2 = 120 [p(x,-x)] '
  D2 = 0.001 [c(R)]
  P3 = 120 [p(x,-x)] '
  D3 = 0.001 [c(R)]
  P4 = 120 [p(x,-x)] '
  D4 : (STIM-P1-D1-P2-D2-P3-D3-P4-4*RINH) [c(R)]
  ENDS [p(x,-x)] 'Accumulation
END SEQUENCE

```


Appendice B

Listato di Totale.exe

In totale, i file da compilare sono 10: 2 header e 8 cpp, tra questi ultimi sono presenti l'intestazione, il main e 6 sono dedicati ognuno a una differente funzione interna al programma.

main.cpp

```
#include "targetver.h" //per la compatibilità sui sistemi da Win98 a WinVista
#include "librerie.h" //racchiude tutti gli header utilizzati
#include "dichiarazioni.h" //include le dichiarazioni delle funzioni

using namespace std;
int main( int argc, const char* argv[] )
{
    titolo(); //intestazione del programma
    INIZIO:aiuto(); //breve descrizione delle funzioni

    int scelta; //scelta della funzione
    do {
        cout << "Inserisci il numero di riferimento della funzione da utilizzare: ";
        cin.clear();
        cin.sync();
        cin >> scelta; cout << endl;
    }
    while(cin.fail() || scelta <1 || scelta>7);
    //controlla che il valore sia compatibile con lo switch
    cout << endl;

    switch (scelta){
        case (1) : passa_alto();
            break;
        case (2) : passa_basso();
            break;
        case (3) : passa_banda();
            break;
        case (4) : simula_filtro();
            break;
        case (5) : sottrai_sdf_T1();
            break;
    }
```

```

        case (6) : sottrai_sdf_T2();
        break;
        case (7) : manuale();
        break;
    } // fine della selezione funzioni

    char uscita;
    cout << "Desideri utilizzare altre tra le funzioni disponibili [s/n] ? ";
    cin >> uscita; cout << endl;

    while ( uscita != 's' && uscita != 'n' )
    {
        cout << " Risposta non valida ! \n";
        cout << "Desideri utilizzare altre tra le funzioni disponibili ? \n";
        cout << "Risposta affermativa = 's'; risposta negativa = 'n' : ";
        cin >> uscita;
        cout << endl;
    }
    if (uscita == 's') goto INIZIO;
    return 0;
} //fine del main

    intestazione.cpp

// Codice per la creazione della "schermata iniziale" - Permette all'utente di
// selezionare una tra le funzioni disponibili

void titolo()
{
    cout<<"#####"<<endl;
    cout<<"#                               TOTALE                               #"<<endl;
    cout<<"#      Raduna tutte le funzioni ritenute utili per i filtri      #"<<endl;
    cout<<"#                               PERFIDI\xB8                               #"<<endl;
    cout<<"#####"<<endl;
}

void aiuto()
{
    cout<<endl;
    cout<<"Vengono di seguito elencate le funzioni disponibili, comprensive \n";
    cout<<"di una breve descrizione\n";
    cout<<endl;
    cout<<" [1] - PASSA ALTO: \n";
    cout<<"dato il rate di interesse e l'attenuazione, restituisce il D1\n";
    cout<<" [2] - PASSA BASSO: \n";
    cout<<"dato il rate di interesse e l'attenuazione, restituisce il d1\n";
    cout<<" [3] - PASSA BANDA: \n";
    cout<<"dato il rate di interesse e l'attenuazione, restituisce i \n";
    cout<<"parametri utili alla generazione del filtro. \n";
    cout<<" [4] - SIMULA FILTRO: \n";
    cout<<"data un'acquisizione senza preambolo , partendo dal file \n";
    cout<<"*.dat elaborato da UPEN\xB8 genera un file di simulazione del filtro\n";
    cout<<" [5] - SOTTRAI *.sdf T1\n";
    cout<<"permette di generare il file differenza tra due acquisizioni di T1(IR)\n";
    cout<<"crea anche un file di controllo per maggiore sicurezza \n";
    cout<<" [6] - SOTTRAI *.sdf T2\n";
    cout<<"permette di generare il file differenza tra due acquisizioni di T2(CPMG)\n";
    cout<<"crea anche un file di controllo per maggiore sicurezza \n";
    cout<<" [7] - MANUALE \n";
    cout<<"apre una guida *.htm sulle singole funzioni disponibili e con i listati\n";
    cout<<endl;
    cout<<" Gli algoritmi di calcolo provvedono a verificare che i delay proposti \n";
}

```

```
cout<<" siano compatibili col limite strumentale di 5e-05 sec\n" << endl;
}
```

```
int manuale()
{
    system("manuale.htm");
    return 0;
}
```

passa_basso.cpp

```
//codice per la determinazione del delay nel caso del filtraggio passa-basso
void passa_basso()
{
    cout<<" FILTRO PASSA-BASSO: \n";
    cout<<" la denominazione fa riferimento alla frequenza, \n";
    cout<<" si tratta quindi di un filtro che taglia i tempi minori. \n"<<endl;
    cout<<" l'unita' di misura per i tempi sono i ms, per le frequenze ms^-1 \n"<<endl;

    double r, att, d1, r_MAX;

    cout << " Inserire l'attenuazione ] 0-0.99 ]: ";
    cin >> att; cout << endl; //input attenuazione

    while ( att ==0 || att > 0.99) //verifica input
    {
        cout << " Valore attenuazione non valido ! \n";
        cout << " Il valore dev'essere maggiore di 0 e minore di 0.99 \n";
        cout << " Inserire l'attenuazione [0-0.99]: ";
        cin >> att; cout << endl;
    }
    r_MAX = (1/0.05)*log(1/att);
    // verifica il rate massimo disponibile per tale attenuazione
    cout << "ATTENZIONE: RateMAX = " << r_MAX << " ms^-1\n";
    cout << " Inserire il rate d'interesse in ms^-1: ";
    cin >> r; cout << endl;
    while( r > r_MAX)//controlla che il rate inserito non sia fuori range
    {
        cout<<" Valore di rate non valido ! \n";
        cout<<" il rate dev'essere minore di: " << r_MAX << " ms^-1 \n";
        cout<<" Inserire il rate d'interesse in ms^-1: ";
        cin>> r; cout << endl;
    }
    d1 = (1/r)*log(1/att); //calcola l'attenuazione

    cout<<" Per un'attenuazione: " << att << endl;
    cout<<" il delay d1 risulta: " << d1 << " ms" << endl;
    cout<<"\nIl filtraggio si ottiene sottraendo al PERFIDI con d1 un'acquisizione\n";
    cout<<" con D1 dell'ordine di RecycleDelay = 4T1Max \n ";
    cout<<endl;
}
```

passa_alto.cpp

```
//codice per la determinazione del delay nel caso del filtraggio passa-alto
void passa_alto()
{
    cout<<"FILTRO PASSA-ALTO: \n";
    cout<<"la denominazione fa riferimento alla frequenza, \n";
    cout<<"si tratta quindi di un filtro che taglia i tempi maggiori. \n"<<endl;
    cout<<"l'unita' di misura per i tempi sono i ms, per le frequenze ms^-1 \n"<<endl;
}
```

```

double r, att, D1, r_MAX;

cout << " Inserire l'attenuazione ] 0-0.99 ]: ";
cin >> att; cout << endl; //input attenuazione

while ( att ==0 || att > 0.99) //verifica input
{
    cout << " Valore attenuazione non valido ! \n";
    cout << " Il valore dev'essere maggiore di 0 e minore di 0.99 \n";
    cout << " Inserire l'attenuazione [0-0.99]: ";
    cin >> att; cout << endl;
}
r_MAX = (1/0.05)*log(1/(1-att));
// verifica il rate massimo disponibile per tale attenuazione

cout << "ATTENZIONE: RateMAX = " << r_MAX << " ms^-1\n";

cout << " Inserire il rate d'interesse in ms^-1: ";
cin >> r; cout << endl;

while ( r > r_MAX)
//controlla che il rate inserito non sia fuori range
{
    cout << " Valore di rate non valido ! \n";
    cout << " il rate dev'essere minore di: " << r_MAX << " ms^-1 \n";
    cout << " Inserire il rate d'interesse in ms^-1: ";
    cin >> r; cout << endl;
}

D1 = (1/r)*log(1/(1-att)); //calcola l'attenuazione

cout << " Per un'attenuazione: " << att << endl;
cout << " il delay D1 risulta: " << D1 << " ms" << endl;

cout<<"\nIl filtro si ottiene sottraendo a un'acquisizione normale una con D1\n";
cout<<endl;
}

passa_banda.cpp

//codice per la determinazione del delay nel caso del filtraggio passa-basso
void passa_banda()
{
    double att,k,delta,r,r_MAX,kappa,d1,D1,picco05,r1,r2,curva,FWHM,rReale,pReale;

    cout << " Inserire l'attenuazione ] 0-0.99 ]: ";
    cin >> att; cout << endl; //input attenuazione

    while ( att ==0 || att > 0.99) //verifica input
    {
        cout << " Valore attenuazione non valido ! \n";
        cout << " Il valore dev'essere maggiore di 0 e minore di 0.99 \n";
        cout << " Inserire l'attenuazione [0-0.99]: ";
        cin >> att; cout << endl;
    }
    k = 0.001;
    kappa = pow(((1-k)/k), (k/(2*k-1)))-pow(((1-k)/k), ((1-k)/(2*k-1)));
    // calcolo kappa dall'attenuazione
    do {
        k = k + 0.001;
        kappa = pow(((1-k)/k), (k/(2*k-1)))-pow(((1-k)/k), ((1-k)/(2*k-1)));
    }
}

```



```

while (kappa >= att);
cout << "\n";
cout << "Attenuazione ottenuta:" << kappa << "\n";
cout << "Per valore di k: " << k << "\n";

//calcolo il rate massimo gestibile per tale attenuazione
r_MAX =(k/0.05)*((log(k/(1-k)))/(2*k-1));
cout << " Per un'attenuazione di: " << kappa <<
" il rate massimo e': " << r_MAX << " ms^-1 \n" << endl;
cout << "\n" << "Inserire il rate d'interesse in ms^-1 : ";
//input rate
cin >> r;
while ( r > r_MAX) //controlla che il rate inserito non sia fuori range
{
    cout << " Valore di rate non valido ! \n";
    cout << " il rate dev'essere minore di: " << r_MAX << " ms^-1 \n";
    cout << " Inserire il rate d'interesse in ms^-1: ";
    cin >> r; cout << endl;
}
delta = ((log(k/(1-k)))/(2*k-1))/r;
// calcolo Delta da attenuazione e rate
cout << "\n" << "Il valore di Delta risulta : " << delta << "\n";

d1 = (k*delta); //calcolo i delay in ms
D1 = (1-k)*delta;
// pubblico i delay
cout << "\n" << "Valore d1 = " << d1 << "\t" << "in ms" << "\n";
cout << "Valore D1 = " << D1 << "\t" << "in ms" << "\n";
// calcolo dei rate di dimezzamento
r1 = 0; //sinistro
picco05 = 0.5*(pow(((1-k)/k),(k/(2*k-1)))-pow(((1-k)/k),((1-k)/(2*k-1))));
do {
    r1 = 0.001 + r1;
    curva = (exp(-(k*delta*r1))-exp(-((1-k)*delta*r1)));
}
while (curva <= picco05);
r2 = r1 + 0.1*r1; //destra
do {
    r2 = 0.001 + r2;
    curva = (exp(-(k*delta*r2))-exp(-((1-k)*delta*r2)));
}
while (curva >= picco05);
cout << "\n Rate di dimezzamento: " << r1 << " ms^-1 \t e " << r2 << " ms^-1 \n";
FWHM = r2-r1; // calcolol della larghezza a metà altezza del picco
cout << "\n FWHM: " << FWHM << " msec^-1 \n \n";
//verifica con i delay utilizzati
cout << "\n Inserire i delay reali in ms \n";
cout << "\n d1: "; cin >> d1;
cout << "\n D1: "; cin >> D1;
rReale = (1/(d1-D1))*log(d1/D1);
pReale = pow((d1/D1),(-(d1/(d1-D1))))-pow((d1/D1),(-(D1/(d1-D1))));
cout << "\n La posizione del picco sara' [ms^-1]: " << rReale;
cout << "\n L'altezza del picco sara': " << pReale << "\n \n";
}

```

simula_filtro.cpp

```

//codice per la simulazione dell'azione del filtro
int simula_filtro()
{
    cout<<"#####" <<endl;
    cout<<"#           Simulazione del filtro a partire da *.*dat           #" <<endl;
}

```

```

cout<<"#           contenente la distribuzione generata da UPEN \xB8           #" <<endl;
cout<<"#####" <<endl;
    cout << endl;
    char nome1[50];
    cout << "Inserisci il nome COMPLETO del file: ";
    cin >> nome1 ; cout << endl;
    cout << endl;

    ifstream input ; //apre il file contenente i dati in origine
    input.open(nome1);
    if (input.fail())
    {
        cout << "Error opening: \" << nome1 << "\"\n\n";
        //controllo che il file esista e venga correttamente aperto
        system("PAUSE");
        return 1;
    }
    time_t t; //blocco per l'aggiunta di data e ora al nomefile
    struct tm *now;
    char tBuf[20];
    char fullFile[250];
    t = time(NULL);
    now = localtime(&t);

    strftime(tBuf, sizeof(tBuf), "%m-%d_%H.%M", now);
    _snprintf(fullFile, sizeof(fullFile), "Sim_%s.dat", tBuf);

    ofstream output(fullFile); //genero un file in cui immagazzinare l'output

    double d1,D1;
    cout << "Inserire d1 in millisec: "; cin >> d1; cout << endl;
    //acquisisco i parametri di filtraggio
    cout << "Inserire D1 in millisec: "; cin >> D1; cout << endl;

    char buffer[150]; //per la "monnezza"
    input.getline(buffer,150, '\n'); //elimina la prima riga
    cout << buffer << endl;
    char tempo[15],segnale[15];

    output << "Tempo\t Segnale\t Rate\t Filtro\t SigFilt\n";
    //intestazione del file di output

    double sig, T, rate, filtro, sigfil;
    for (int i=1; i<=100; i++)
    {
        input.getline(tempo,15, ',');
        input.getline(segnale,15, ',');
        T = atof (tempo); //converto tempo e segnale per poterli elaborare
        sig = atof (segnale);
        input.getline(buffer,150, '\n');
        rate = 1/T;
        filtro = exp(-(d1/T))- exp(-(D1/T));
        sigfil = sig*filtro;
        output << tempo << "\t" << segnale << "\t";
        output << rate << "\t" << filtro << "\t" << sigfil <<endl;
    }
    cout << "\nTutto quello che ti serve e' ora nel file " ;
    cout << fullFile << endl << endl;

    input.close();
    output.close();

```

}

sotttrai_sdf.T1.cpp

```

//codice per la sottrazione di acquisizioni IR/S_PERFIDI
int sottrai_sdf_T1()
{
cout<<"#####" << endl;
cout<<"#          Sottrazione segnali da coppie di *.sdf          #" << endl;
cout<<"# da eseguire nella cartella di origine dei file da elaborare #" << endl;
cout<<"#####" << endl;
cout << endl;
    char nome1[50], nome2[50];
    ifstream input_1 , input_2;

    cout << "Inserisci il nome COMPLETO del primo file: ";
    cin >> nome1 ; cout << endl;
    input_1.open(nome1); //apertura con controllo file 1
    if (input_1.fail())
    {
        cout << "Error opening: \"" << nome1 << "\"\n\n";
        system("PAUSE");
        return 1;
    }

    cout << "Inserisci il nome COMPLETO del secondo file: ";
    cin >> nome2 ; cout << endl;
    cout << endl;
    input_2.open(nome2); //apertura con controllo file 2
    if (input_2.fail())
    {
        cout << "Error opening: \"" << nome2 << "\"\n\n";
        system("PAUSE");
        return 1;
    }

    time_t t; //blocco per l'aggiunta di data e ora al nomefile
    struct tm *now;
    char tBuf [20];
    char outp[250], control[250], dat[250];
    t = time(NULL);
    now = localtime(&t);

    strftime(tBuf, sizeof(tBuf), "%m-%d_%H.%M", now);
    _snprintf(outp, sizeof(outp), "OUT_%s.sdf", tBuf);
    //nomifile output con data e ora
    _snprintf(control, sizeof(control), "CTRL_%s.sdf", tBuf);
    _snprintf(dat, sizeof(dat), "DATI_%s.dat", tBuf);

    ofstream output(outp); //genero i file in cui immagazzinare l'output
    ofstream controllo(control);
    ofstream dati(dat);

    dati << "#File generato dalla differenza di " << nome1 << " e ";
    dati << nome2 << " in data (M-D_hh.mm) : " << tBuf << endl;
    controllo << "#File generato dalla differenza di " << nome1 << " e ";
    controllo << nome2 << " in data (M-D_hh.mm) : " << tBuf << endl;

    char str_1[50], str_2[50], out[50];

    int primo, secondo;
    int diff, media;

```

```

do{
    // genera il preambolo con le caratteristiche dell'acquisizione
    //(a parte il delay dovrebbero essere identiche)
    input_1.getline(str_1,50, '\n');
    input_2.getline(str_2,50, '\n');
    output << str_1 << "\n";
    cout << str_1 << endl;
    controllo << str_1 << "\t" << str_2 << endl;
}
while (strncmp(str_1 , "DATA= 0",4) != 0);
int n = 1;
while(!input_1.eof()){
    // genera le colonne con la differenza tra i file "originali"
    input_1.getline(str_1,50, '\t');
    input_2.getline(str_2,50, '\t');
    primo = atoi (str_1);
    secondo = atoi (str_2);
    if ( primo == 0 && secondo == 0) break;
    diff = primo - secondo;
    output << diff << "\t";
    controllo << primo << "\t" << secondo << "\t" << diff << "\t\t";
    input_1.getline(str_1,50, '\n');
    input_2.getline(str_2,50, '\n');
    primo = atoi (str_1);
    secondo = atoi (str_2);
    media = (primo + secondo)/2; //media delle parti immaginarie
    output << media << "\n";
    controllo << primo << "\t" << secondo << "\t" << media << "\n";
    n++;
    dati << n << "\t" << diff << "\t" << media << endl;
}
cout << "\nTutto quello che ti serve e' ora nel file " << outp << endl;
cout << "\n" << dat << " e' un due colonne utile per i grafi" << endl;
cout<< control <<"permette il confronto tra i file e la verifica del risultato\n";
input_1.close();
input_2.close();
output.close();
controllo.close();
dati.close();
}

```

sottrai_sdf_T2.cpp

```

//codice per la sottrazione di CPMG_PERFIDI
int sottrai_sdf_T2()
{
cout<<"#####"<<endl;
cout<<"#          Sottrazione segnali da coppie di *.sdf          #"<<endl;
cout<<"# da eseguire nella cartella di origine dei file da elaborare  #"<<endl;
cout<<"#####"<<endl;
cout << endl;
char nome1[50], nome2[50];
ifstream input_1 , input_2;

cout << "Inserisci il nome COMPLETO del primo file: ";
cin >> nome1 ; cout << endl;
input_1.open(nome1); //apertura con controllo file 1
if (input_1.fail())
{
cout << "Error opening: \" << nome1 << "\"\n\n";
system("PAUSE");
return 1;
}
}

```

```

}

cout << "Inserisci il nome COMPLETO del secondo file: ";
cin >> nome2 ; cout << endl;
cout << endl;
input_2.open(nome2); //apertura con controllo file 2
if (input_2.fail())
{
cout << "Error opening: \" << nome2 << "\"\n\n";
system("PAUSE");
return 1;
}

time_t t; //blocco per l'aggiunta di data e ora al nomefile
struct tm *now;
char tBuf[20];
char outp[250], control[250], dat[250];
t = time(NULL);
now = localtime(&t);

strftime(tBuf, sizeof(tBuf), "%m-%d_%H.%M", now);

_sprintf(outp, sizeof(outp), "OUT_%s.sdf", tBuf);
//nomifile output con data e ora
_sprintf(control, sizeof(control), "CTRL_%s.sdf", tBuf);
_sprintf(dat, sizeof(dat), "DATI_%s.dat", tBuf);

ofstream output(outp); //genero i file in cui immagazzinare l'output
ofstream controllo(control);
ofstream dati(dat);

dati << "#File generato dalla differenza di " << nome1 << " e ";
dati << nome2 << " in data (M-D_hh.mm) :" << tBuf << endl;
controllo << "#File generato dalla differenza di " << nome1 << " e ";
controllo << nome2 << " in data (M-D_hh.mm) :" << tBuf << endl;

char str_1[50], str_2[50], out[50];

int primo, secondo;
int diff, media, tempo_1, tempo_2;

do{
// genera il preambolo con le caratteristiche dell'acquisizione
//(a parte il delay dovrebbero essere identiche)
input_1.getline(str_1,50, '\n');
input_2.getline(str_2,50, '\n');
output << str_1 << "\n";
cout << str_1 << endl;
controllo << str_1 << "\t" << str_2 << endl;
}
while (strncmp(str_1, "DATA= 0",4) != 0);
int n = 1;
while(!input_1.eof())
{
// replica la colonna dei tempi dal primo file
input_1.getline(str_1,50, '\t');
input_2.getline(str_2,50, '\t');
tempo_1 = atoi (str_1);
tempo_2 = atoi (str_2);
if ( tempo_1 == 0 && tempo_2 == 0) break;
output << tempo_1 << "\t";
controllo << tempo_1 << "\t" << tempo_2 << "\t";
// genera le colonne con la differenza tra i file "originali"
}
}

```

```

        input_1.getline(str_1,50, '\t');
        input_2.getline(str_2,50, '\t');
        primo = atoi (str_1);
        secondo = atoi (str_2);
        diff = primo - secondo;
        output << diff << "\t";
        controllo << primo << "\t" << secondo << "\t" << diff << "\t\t";
        input_1.getline(str_1,50, '\n');
        input_2.getline(str_2,50, '\n');
        primo = atoi (str_1);
        secondo = atoi (str_2);
        media = (primo + secondo)/2; //media delle parti immaginarie
        output << media << "\n";
        controllo << primo << "\t" << secondo << "\t" << media << "\n";
        n++;
        dati << n << "\t" << diff << "\t" << media << endl;
    }
cout<< "\nTutto quello che ti serve e' ora nel file " << outp << endl;
cout<< "\n" << dat << " e' un due colonne utile per i grafi" << endl;
cout<< control << "permette il confronto tra i file e la verifica del risultato\n";
    input_1.close();
    input_2.close();
    output.close();
    controllo.close();
    dati.close();
}

```

dichiarazioni.h

```

//header file per la dichiarazione delle funzioni utilizzate nel main
#ifndef dichiarazioni_h
#define dichiarazioni_h
void titolo();
void aiuto();
void passa_alto();
void passa_basso();
void passa_banda();
int simula_filtro();
int sottrai_sdf_T1();
int sottrai_sdf_T2();
int manuale();
#endif

```

librerie.h

```

//librerie utilizzate nel listato
#pragma once

#include <stdlib.h>
#include <string.h>
#include <stdio.h>
#include <tchar.h>
#include <cstdlib>
#include <iostream>
#include <fstream>
#include <math.h>
#include <time.h>
#include <windows.h>

```

Appendice C

Tabella S4P_Pedagogo

Viene di seguito riportata la tabella riassuntiva delle 64 combinazioni utilizzate per ricavare i dati utili all'elaborazione dei cicli di fase. In prima colonna l'identificativo della sequenza in base 4, nelle successive la direzione di FID ed echi.

ID	P1	P2	E12	P3	Ste	EE	E23	E13	P1	EE13	EE23	EEE	EESte	EE34
	0	315	630	1260	1575	1890	2005	2520	3150	3780	4095	4410	4725	5040
0	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
1	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
2	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
3	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
4	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
5	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
6	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
7	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
8	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
9	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
10	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
11	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
12	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
13	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
14	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
15	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
16	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
17	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
18	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
19	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
20	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
21	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
22	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
23	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
24	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
26	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
27	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
28	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
29	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x

ID	P1	P2	E ₁₂	P3	Ste	EE	E ₂₃	E ₁₃	P1	EE ₁₃	EE ₂₃	EEE	EE _{Ste}	EE ₃₄
	0	315	630	1260	1575	1890	2005	2520	3150	3780	4095	4410	4725	5040
30	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
31	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
32	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
33	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
34	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
35	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
36	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
37	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
38	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
39	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
40	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
41	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
42	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
43	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
44	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
45	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
46	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
47	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
48	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
49	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
50	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
51	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
52	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
53	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
54	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
55	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
56	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
57	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
58	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
59	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
60	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
61	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
62	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x
63	x	x	-x	x	-x	x	-x	-x	x	x	x	-x	x	-x

Bibliografia

- [1] P Fantazzini and S Sykora. ‘*Italian Patent BO2005A000445*’, (2005).
- [2] S Sykora, V Bortolotti, and P Fantazzini. ‘Perfidi: parametrically enable relaxation filters with double and multiple inversion’. *Magnetic Resonance Imaging*, 25:529–532, (2007).
- [3] B Dardzinski, T Mosher, Li Shizhe, M Van Sylke, and MB Smith. ‘Spatial Variation of T_2 in Human Articular Cartilage’. *Radiology*, 205:546–550, (1997).
- [4] JR Roebuck, SJ Haker, D Mitsouras, F Rybicki, C Tempany, and R Mulkern. ‘Carl-Purcell-Meiboom-Gill imaging of prostate cancer: quantitative T_2 values for cancer discrimination’. *Magnetic Resonance Imaging*, 27:497–502, (2009).
- [5] L Mascaro, C Ferrari, L Grazioli, D Aragno, and A Chiesa. ‘ T_2 Relaxation of the parotid gland of patients affected by pleomorphic adenoma’. *Magnetic Resonance Imaging*, 17:723–730, (1999).
- [6] GM Griffin, J Dehmeshky, DT Chard, GJM Parker, GJ Barker, and AJ Thompson. ‘ T_1 histograms of normal appearing brain tissue are abnormal in early relapsing-remitting multiple sclerosis’. *Multiple Sclerosis*, 8:211–216, (2002).
- [7] R GrantSteen, M Hunte, E Traipe, P Hurh, S Wu, and L Bilaniuk. ‘Brain T_1 in young children with sick cell disease: evidence of early abnormalities in brain development’. *Magnetic Resonance Imaging*, 22:299–306, (2004).
- [8] DR Warakaulle and P Anslow. ‘Differential Diagnosis of Intracranial Lesions with High Signal on T1 or Low Signal on T2-weighted MRI’. *Clinical Radiology*, 58:922–933, (2003).
- [9] S Sykora. ‘*Manuale di AcqNMR.exe*’, (2004).
- [10] S Sykora. ‘*Stelar Application Note 040824*’, (2004).

-
- [11] S Sykora. ‘*Stelar Application Note 040825*’, (2004).
- [12] GC Borgia, RJS Brown, and P Fantazzini. ‘Uniform-Penalty Inversion of Multiexponential Decay Data’. *Journal of Magnetic Resonance*, 132:65–77, (1998).
- [13] GC Borgia, RJS Brown, and P Fantazzini. ‘Examples of Uniform-Penalty Inversion of Multiexponential Relaxation Data’. *Magnetic Resonance Imaging*, 16:549–552, (1998).
- [14] GC Borgia, RJS Brown, and P Fantazzini. ‘Uniform-Penalty Inversion of Multiexponential Decay Data - II Data spacing, T2 data, systematic data errors, and diagnostics’. *Journal of Magnetic Resonance*, 147:273–285, (2000).
- [15] GC Borgia, RJS Brown, and P Fantazzini. ‘Examples of marginal resolution of NMR relaxation peaks using UPEN and diagnostics’. *Magnetic Resonance Imaging*, 19:473–475, (2001).
- [16] V Bortolotti, RJS Brown, and P Fantazzini. ‘*UpenWin*’, (2008). <http://www.unibo.it/Portale/Ricerca/Servizi+Imprese/UpenWin.htm>.