

SCUOLA DI MEDICINA E CHIRURGIA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE AVANZATE

**CORSO DI LAUREA IN TECNICHE SANITARIE DI RADIOLOGIA
MEDICA, PER IMMAGINI E RADIOTERAPIA**

Tesi di Laurea

Protocollo di studio avanzato di RM renale con sequenza di diffusione e
trattografia

Candidato

Angelo Morgillo

Anno Accademico 2018 – 2019

Sommario

| | |
|--|----|
| 1 PRINCIPI FISICI DI RISONANZA MAGNETICA | 3 |
| 1.1 I protoni e le loro proprietà magnetiche | 3 |
| 1.2 Campo statico e vettore di magnetizzazione longitudinale | 4 |
| 1.3 Il fenomeno della risonanza ed il vettore di magnetizzazione trasversale | 5 |
| 1.4 Cessazione dell'impulso di radiofrequenza..... | 6 |
| 1.5 Ricostruzione dell'immagine e k spazio | 10 |
| 1.6 Le sequenze in RM | 13 |
| 2 LA DIFFUSIONE IN RM: DIFFUSION WEIGHTED IMAGING | 16 |
| 2.1 Il fenomeno della diffusione molecolare e l'imaging in diffusione | 16 |
| 2.2 La sequenza pesata in diffusione..... | 17 |
| 2.3 Il fattore b e l'ADC | 19 |
| 2.4 Echo Planar Imaging..... | 21 |
| 2.5 T2 shine through | 25 |
| 2.6 IVIM..... | 26 |
| 3 LA TRATTOGRAFIA | 28 |
| 3.1 Diffusione isotropica ed anisotropica..... | 28 |
| 3.2 Il modello del tensore di diffusione | 29 |
| 3.3 Indici di anisotropia | 30 |
| 3.4 Metodi di tracciamento delle fibre | 31 |
| 3.6 Applicazioni della DTI..... | 37 |
| 4 DIFFUSIONE E TRATTOGRAFIA RENALE | 39 |
| 4.1 Anatomia e fisiologia del rene | 39 |
| 4.2 Urografia in RM..... | 42 |
| 4.3 La diffusione applicata sul distretto renale | 44 |
| 4.4 DTI renale | 53 |
| Conclusioni | 59 |
| Bibliografia | 61 |

Introduzione

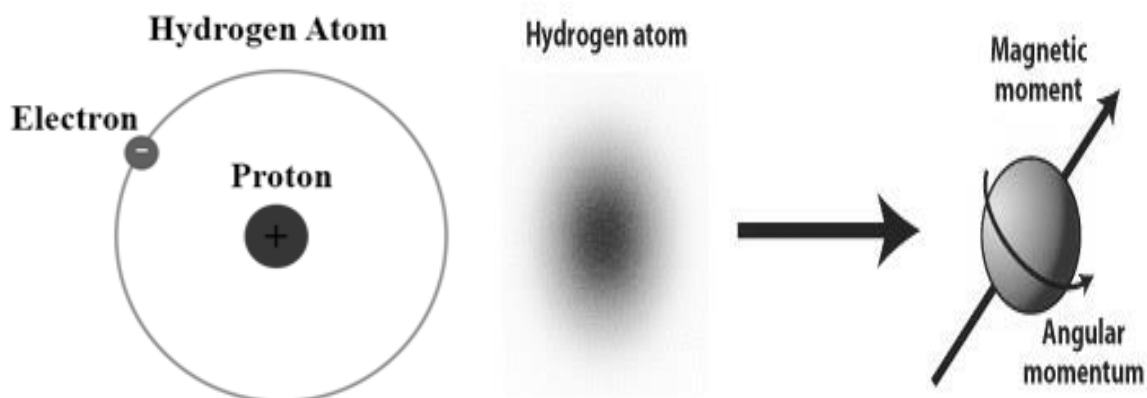
L'imaging di diffusione è una tecnica non invasiva, che sfrutta le tecnologie di risonanza magnetica sensibili agli spostamenti delle molecole d'acqua. Le sequenze di risonanza magnetica pesate in diffusione (DWI) rilevano l'entità dei processi diffusivi che avvengono nei tessuti, misura direttamente legata alla struttura microscopica del tessuto stesso. Grazie ad opportune sequenze di acquisizione è possibile ottenere il tensore di diffusione (DTI), il quale fornisce importanti informazioni riguardo alle direzioni principali di diffusione. La DTI è una pratica ormai consolidata nelle applicazioni neurologiche, ma rappresenta una metodica ancora da esplorare molto promettente, in ambito renale, per offrire informazioni per differenziare le diverse strutture renali, valutandone la funzionalità. Nella pratica clinica la funzionalità renale è valutata tramite la misurazione della creatinemia, che in modo indiretto permette un calcolo approssimativo del filtrato glomerulare (GFR). Questo metodo di calcolare il filtrato glomerulare ha molti limiti: è impreciso, non consente di valutare iniziali e reversibili nefropatie, ed inoltre non consente di valutare indipendentemente la funzionalità del rene destro e del rene sinistro. L'imaging tradizionale con l'ecografia, la tomografia computerizzata e la risonanza magnetica (RM) permette una valutazione morfologica dei due reni, ma offre solo minime informazioni riguardo al loro stato funzionale. La medicina nucleare permette di studiare la funzionalità renale, ma la bassa risoluzione spaziale, gli alti costi e l'elevata dosimetria al paziente ne limitano pesantemente le prestazioni. La DWI e la DTI offrono la possibilità di ottenere uno studio onnicomprensivo, sia morfologico che funzionale, dei reni senza utilizzare alcun mezzo di contrasto esogeno e con un'eccellente risoluzione spaziale. In questo elaborato saranno analizzati: nel primo capitolo i principi fisici di base della RM, mentre nel secondo e terzo capitolo le caratteristiche, le funzionalità, i vantaggi ed i limiti della DWI e della DTI, facendo un cenno su nuove tecniche di imaging pesate in diffusione, che stanno aumentando sempre di più l'accuratezza diagnostica. L'ultimo capitolo mostra, invece, lo scopo della tesi: dimostrare come sia possibile, attraverso l'imaging in diffusione, studiare la funzionalità renale. Nonostante i numerosi vantaggi, questa tecnica non è attualmente usata nella routine clinica, in quanto necessita di gradienti di campo performanti e di un'intensità di campo molto elevata. Da ciò ne consegue che solo pochi gruppi di ricerca hanno studiato l'utilizzo della DTI.

1 PRINCIPI FISICI DI RISONANZA MAGNETICA

1.1 I protoni e le loro proprietà magnetiche

L'immagine in Risonanza Magnetica (RM) si basa sullo studio della componente nucleare dell'idrogeno che costituisce il componente fondamentale dell'organismo umano. Il nucleo dell'atomo di idrogeno è costituito nella forma isotopica fondamentale da un solo protone; il protone è una particella di massa circa $1,67 \times 10^{-27}$ kg e un raggio classico di $1,5 \times 10^{-18}$ m (fig.1.1). Si può immaginare un protone come una sfera rotante intorno a un proprio asse. Inoltre, il protone è una particella dotata di carica elettrica positiva e il suo moto genera un campo magnetico; il motivo di ciò è legato al fatto che a cariche elettriche in moto è associato un campo magnetico, tale movimento è detto spin, termine inglese che significa "girare intorno". Agli estremi dell'asse di "rotazione" si potranno associare due poli magnetici, Nord e Sud, e la loro posizione sarà determinata dal senso di rotazione, orario o antiorario; da questo punto di vista un protone si comporta pertanto come un piccolissimo dipolo magnetico. Nuclei dotati di proprietà magnetiche e presenti nei tessuti biologici sono idrogeno, carbonio, azoto, fluoro, sodio, fosforo e potassio. Caratteristica comune di questi elementi è la presenza di un numero atomico dispari. Pertanto i nuclei di questi elementi hanno un momento dipolare magnetico netto (fig.1.1) che li rende adatti allo studio RM e alla spettroscopia. Tra tutti gli elementi citati, l'idrogeno è quello che generalmente viene utilizzato per produrre l'immagine RM, essendo l'elemento più abbondante del corpo umano ed essendo in grado di produrre un forte momento dipolare magnetico.

Fig.1.1



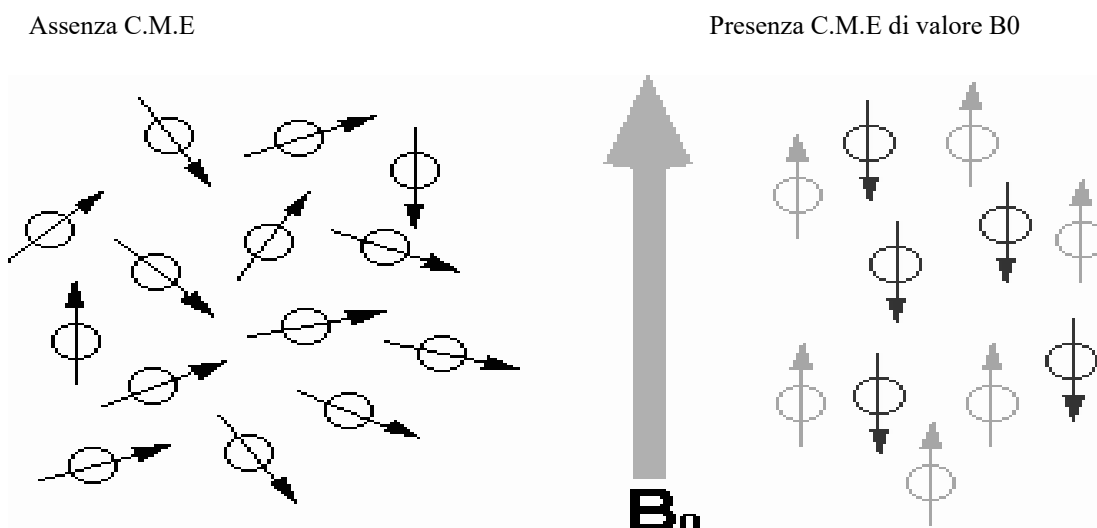
1.2 Campo statico e vettore di magnetizzazione longitudinale

In situazioni normali, senza l'applicazione di un campo magnetico esterno, gli spin di idrogeno sono orientati casualmente, nello stato di massimo disordine in cui la magnetizzazione macroscopica netta è nulla. Se l'insieme dei nuclei è inserito in un campo magnetico omogeneo di forte intensità (fig.1.2), si possono orientare secondo la direzione del campo, con verso parallelo o antiparallelo a quest'ultima. Precisamente poco più della metà dei momenti magnetici si orienta nello stesso verso del campo magnetico statico (CMS) (orientamento parallelo o up, a minor contenuto energetico, e quindi più favorevole); poco meno della metà si orienta invece nel verso opposto a quello delle linee di forza del campo magnetico principale (orientamento antiparallelo o down, a maggior contenuto energetico). La magnetizzazione macroscopica risultante, detta magnetizzazione longitudinale, è una grandezza vettoriale che ha la stessa direzione e lo stesso verso del CMS e modulo proporzionale alla differenza numerica fra le popolazioni up e down. Va precisato che non tutti i nuclei inseriti nel CMS risentono dei suoi effetti e quindi non tutti i nuclei si orientano; tuttavia all'aumentare dell'intensità del CMS aumenta la percentuale di nuclei che si allineano con la direzione del campo. Ne consegue che all'aumentare dell'intensità del CMS, cresce la magnetizzazione longitudinale, per cui le macchine con campi magnetici più intensi permettono di generare segnali più elevati, con immagini caratterizzate da un miglior rapporto segnale-rumore e possibilità di abbreviare i tempi di acquisizione. L'applicazione del campo esterno sul protone, visto come sfera carica in rotazione intorno al proprio asse, determinerà la nascita di un moto di precessione. È una situazione paragonabile a quella di una forza esterna applicata all'asse di rotazione di una trottola che, perturbato nel suo moto, comincia a ruotare intorno all'asse gravitazionale terrestre. L'asse del protone si trova quindi a ruotare sulla superficie di un cono, con una velocità angolare che è direttamente proporzionale al campo applicato secondo la legge di Larmor:

$$\omega = \gamma B;$$

dove ω è la frequenza di precessione dei protoni sottoposti al campo magnetico B , γ è la costante giromagnetica che ha un valore diverso in relazione all'atomo considerato (per l'idrogeno vale 42.5 MHz/T) e B è il campo magnetico esterno applicato.

Fig.1.2



1.3 Il fenomeno della risonanza ed il vettore di magnetizzazione trasversale

Il fenomeno della risonanza, piuttosto diffuso in natura, è definibile come quel fenomeno capace di “amplificare” le oscillazioni periodiche di un sistema, aumentandone l’ampiezza tramite la somministrazione di energia sotto forma di impulsi periodici applicati a una frequenza di oscillazione propria del sistema e derivante dalle sue caratteristiche. La risonanza si verifica quando un sistema oscillante viene sottoposto a una sollecitazione periodica di frequenza pari all’oscillazione propria del sistema stesso. Questo fenomeno è diffuso anche nella diagnostica per immagini, prendendo il nome di “risonanza magnetica”.

Dopo aver inserito il paziente nel CMS generato dal magnete della risonanza magnetica, con conseguente orientamento degli spin di idrogeno e creazione della magnetizzazione longitudinale, è possibile eccitare il sistema di spin mediante l’invio di un’onda di radiofrequenza (RF) definita onda di interrogazione. Un’onda RF che investe i tessuti da sottoporre a indagine raggiunge lo scopo se la frequenza dell’onda irradiata è la stessa della frequenza di precessione degli spin, il sistema entrerà in risonanza con l’onda applicata e da essa comincia ad assorbire energia. Quanto più è lungo l’impulso, tanto maggiore è l’energia fornita e tanto più numerosi sono i nuclei che possono effettuare la transizione energetica up/down. Pertanto, da una situazione di precessione libera con prevalenza della popolazione up si può raggiungere una condizione in cui le due popolazioni nucleari sono in parità numerica ed in completa coerenza di fase sulle orbite precessionali; a questa situazione corrisponde la

scomparsa della magnetizzazione sul piano longitudinale e la creazione di una magnetizzazione trasversale rotante sul piano “xy” con frequenza uguale a quella di precessione dei nuclei e dell’impulso di RF applicato (fig.1.3). La durata dell’attivazione del segnale RF è molto breve, dell’ordine dei millisecondi, motivo per cui si parla di “impulsi a radiofrequenza”. In questo caso, poiché l’effetto complessivo dei due fenomeni citati è un apparente ribaltamento del vettore magnetizzazione longitudinale (VML) sul piano trasversale “xy”, esso è indicato come “impulso a 90°”.

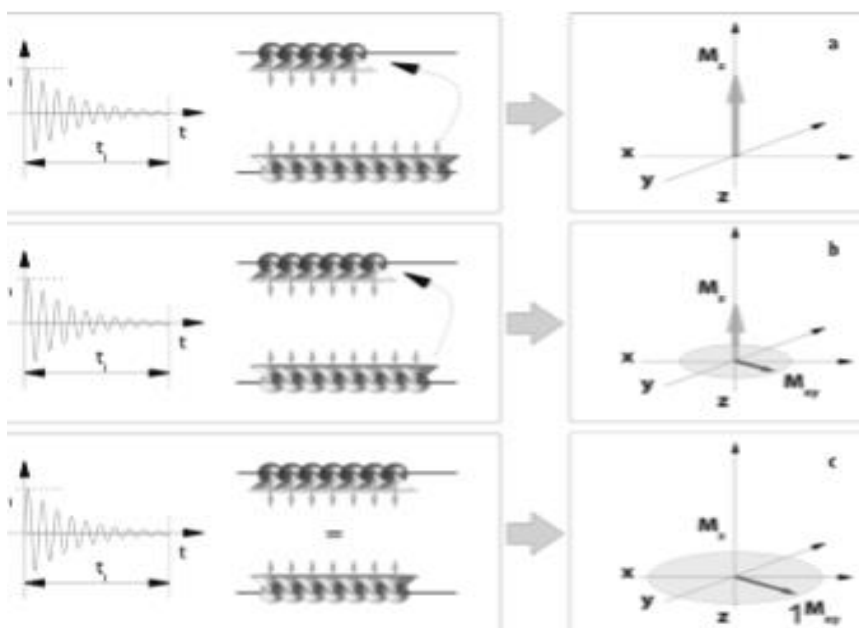


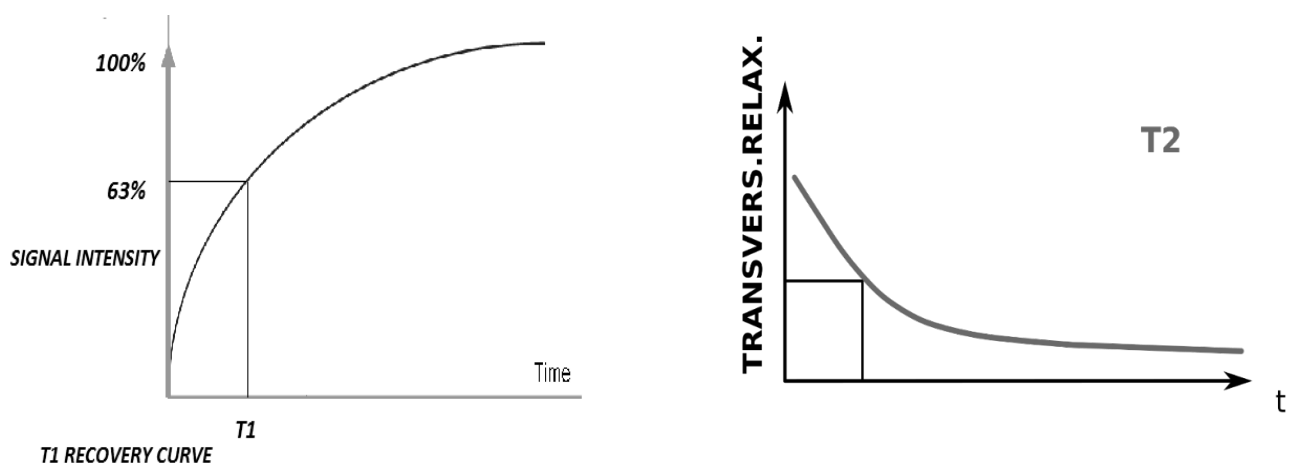
Fig.1.3 - Effetti dell’impulso di RF a 90°. Scomparsa della magnetizzazione longitudinale e conseguente generazione del vettore di magnetizzazione trasversale, rotante sul piano “xy”. In “a” la situazione iniziale, in “b” una situazione intermedia e in “c” la situazione al termine dell’impulso.

1.4 Cessazione dell’impulso di radiofrequenza

Il sistema di spin, all’esaurirsi dello stimolo esterno, tende a ripristinare le condizioni iniziali, energeticamente favorevoli (rilassamento). Tale riassetto nucleare comporta la cessione di energia e, quindi, una variazione nella magnetizzazione magnetica trasversale che, in quanto campo magnetico variabile nello spazio genera una forza elettromotrice in una bobina. Tale forza elettromotrice rappresenta la base del segnale di RM che è denominato Free Induction Decay (FID). Analiticamente ciò corrisponde al ritorno dei nuclei alla situazione di equilibrio energetico precedente all’impulso ed al loro contemporaneo defasamento, cioè alla perdita della sincronia di fase che aveva caratterizzato i loro moti di precessione durante l’erogazione dell’impulso a 90 gradi.

A tali modificazioni delle magnetizzazioni microscopiche corrispondono la scomparsa graduale della magnetizzazione trasversale ed il ripristino della magnetizzazione longitudinale. In particolare, si definisce il tempo T1 (spin –reticolo) come il tempo necessario al vettore di magnetizzazione longitudinale Mz per raggiungere un valore pari al 63% di quello iniziale. Analogamente, si definisce il tempo T2 (spin –spin) come il tempo necessario a perdere il 63% della magnetizzazione trasversale (fig.1.4). Nelle condizioni reali di non perfetta omogeneità di campo esterno si definisce anche il tempo T2* (T2 star). Il T2* è così denominato per distinguerlo dal T2 vero e proprio. Il T2* infatti è un rilassamento trasversale più rapido, perché tra i vari fenomeni che lo causano vi sono anche le disomogeneità del campo magnetico. Invece, il T2 reale dipende soltanto dalle caratteristiche chimiche dei tessuti ed è in generale più lungo perché prescinde dalle disomogeneità del campo magnetico che gli spin dei protoni sperimentano. Oltre a questi tempi caratteristici, non bisogna dimenticare che l'intensità del segnale misurato, generato dalla risultante dei momenti magnetici nucleari, sarà proporzionale alla densità di nuclei di idrogeno (o protoni) per unità di volume. Tale grandezza è appunto indicata con il termine di densità protonica (DP) o densità di spin. La dipendenza del segnale misurabile dalle grandezze presentate, tradotta in livelli di grigio, costituisce la base per la definizione dei diversi contrasti nelle immagini diagnostiche in RM.

Fig.1.4



I tempi di rilassamento T1 e T2 sono in generale diversi da tessuto a tessuto, a seconda delle caratteristiche e del contesto molecolare nel quale i protoni si trovano inseriti.

La tabella 1 fornisce un'idea dei tempi di rilassamento e delle densità protoniche relative ad alcuni tipi di tessuti, considerando un campo magnetico statico di 1,5 T.

| Tipo di tessuto biologico | T2 | T1 (1,5 T) | DP(%) |
|---------------------------|------|------------|-------|
| Sostanza grigia | 101 | 920 | 84 |
| Sostanza bianca | 76 | 780 | 71 |
| Liquido cerebrospinale | 1660 | 3270 | 97 |
| Muscoli scheletrici | 47 | 860 | 79 |
| Cuore | 57 | 860 | 80 |
| Fegato | 43 | 620 | 71 |
| Reni | 58 | 1220 | 81 |
| Milza | 62 | 1070 | 79 |
| Grasso sottocutaneo | 85 | 230 | — |

Tabella 1: gli intervalli di valori all'interno dei quali si distribuiscono i tempi di rilassamento T1 e T2 e le densità protoniche dei vari tipi di tessuto sono molto estesi, e molto diversi possono essere i valori tra un tessuto e l'altro. Maggiore è la differenza tra un tessuto e l'altro, maggiore sarà il contrasto con il quale essi verranno rappresentati nell'immagine.

In generale si può affermare che il numero di protoni contenuti in un voxel condiziona la quantità di magnetizzazione assunta dal voxel stesso quando si trovi immerso in un campo magnetico. La situazione è schematizzata nella figura 1.5, nella quale si prendono in considerazione tre voxel di tessuti con tre diverse densità protoniche. È evidente come a una maggiore concentrazione di spin per unità di volume corrisponda un valore più elevato di magnetizzazione locale M_z : in ciascuno dei voxel essa è direttamente proporzionale alla DP.

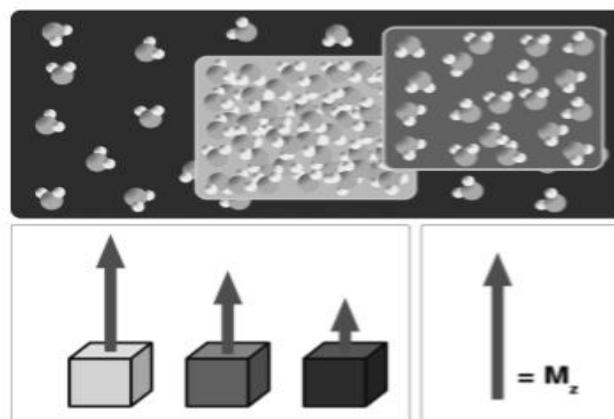


Fig 1.5 - A densità protoniche maggiori corrisponde un valore superiore di magnetizzazione locale. Ai voxel sono stati attribuiti livelli di grigio proporzionali alla loro magnetizzazione locale.

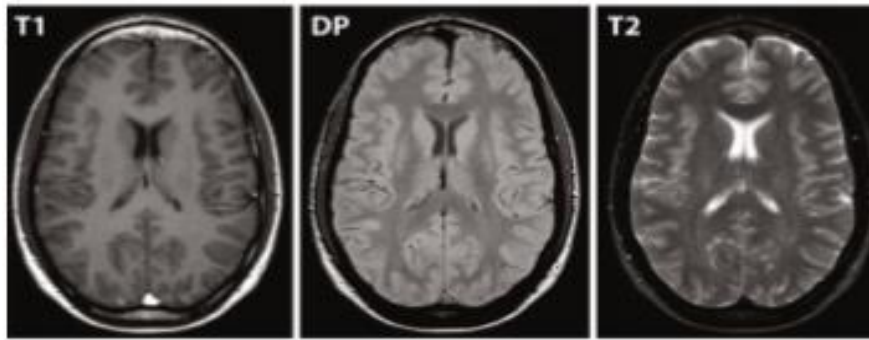


Figura.1.6 - Sono visibili tre immagini RM, rispettivamente ottenute rappresentando un contrasto dipendente dal tempo di rilassamento longitudinale T1 (a sinistra), dalla DP (al centro) e dal tempo di rilassamento trasversale T2 (a destra).

Nell'immagine T2-pesata è apprezzabile un discreto contrasto tra materia grigia e materia bianca mentre, come si poteva intuire osservando il grafico dei tempi di rilassamento, il CSF (liquor cerebrospinale) è rappresentato con un'intensità di grigio molto elevata, quasi bianco, poiché al momento della lettura la sua magnetizzazione trasversale possiede ancora un'intensità piuttosto elevata, a causa del suo tempo di decadimento (T2) più lungo. Nell'immagine T1-pesata, è ancora apprezzabile un certo contrasto tra materia grigia e materia bianca mentre, come si poteva intuire osservando il grafico dei tempi di rilassamento, il CSF è rappresentato con un'intensità di grigio molto bassa, quasi nera, poiché al momento della lettura la sua magnetizzazione longitudinale possiede ancora un'intensità piuttosto scarsa, per il suo tempo di rilassamento longitudinale (T1) più lungo. Nell'immagine pesata in densità protonica, i contrasti dipendono dal contenuto idrico dei tessuti, e nel caso del parenchima cerebrale le differenze non sono molto elevate. Si può in ogni caso apprezzare un certo contrasto tra sostanza bianca e grigia, il cui contenuto idrico differisce per circa il 20% in favore della grigia. Si può notare, inoltre, come in questo caso il parametro utilizzato evidenzia una residua componente T1-pesata che rende non ancora molto elevato il segnale del tessuto a più lungo T1, il CSF. In figura 1.7 sono schematizzati i tempi con cui devono essere scelti i vari parametri per spostare la pesatura di contrasto dell'immagine da una grandezza all'altra.

| <i>Tipo di contrasto</i> | <i>Tempo tra impulsi di eccitazione successivi</i> | <i>Tempo tra eccitazione e raccolta segnale</i> | <i>Contrasto dell'immagine</i> |
|--------------------------|--|---|---|
| DP | Lungo | Breve |  |
| T2 | Lungo | Lungo |  |
| T1 | Breve | Breve |  |

Fig.1.7 - Differenze tra DP, T2 e T1 relative al tempo tra impulsi di eccitazione successivi (TR) e il tempo tra eccitazione e raccolta segnale (TE).

1.5 Ricostruzione dell'immagine e k spazio

Il segnale proveniente dai tessuti è rilevato da una bobina che si comporta come un'antenna. Le onde elettromagnetiche però non possiedono una direzione di propagazione specifica, ma si dirigono indifferente in tutte le direzioni. Come nel caso di un'emittente radio, è possibile ascoltare la sua emissione audio, musicale o parlata, ma non è possibile stabilire dove essa si trovi geograficamente. È quindi necessario stabilire da quale regione dello spazio considerato trae origine ciascuna componente del segnale, con la sua specifica informazione di contrasto, in modo da poter associare l'intensità del segnale rilevato in antenna alla posizione dello specifico volumetto elementare di spazio (voxel) che lo ha emesso. Per questo scopo, durante l'applicazione degli impulsi RF è necessario ricorrere a tecniche aggiuntive che conferiscano al segnale registrato anche informazioni relative alle dimensioni e alla posizione del voxel a cui il segnale stesso fa riferimento. Tali operazioni sono denominate anche tecniche di localizzazione spaziale o codifica spaziale. La codifica spaziale può essere 3D o 2D e ci consente di localizzare correttamente un voxel attraverso l'ausilio dei gradienti di campo, i quali sono campi magnetici supplementari generati da bobine poste all'interno del magnete le quali vengono sovrapposte al campo magnetico principale per pochi millisecondi durante la sequenza. Possono essere orientati secondo i tre piani dello spazio (fig.1.8).

Esistono tre gradienti di imaging per la codifica spaziale: di codifica dello strato (Gz), di codifica di fase (Gy) e di codifica di frequenza (Gx).

Il gradiente di codifica dello strato (G_z) genera una differenza lineare di intensità di campo lungo l'asse del campo magnetico statico (B_0). I protoni in base alla legge di Larmor, acquisiranno frequenze di precessione differenti in funzione della loro posizione lungo l'asse z e all'invio della RF saranno dunque posti in risonanza solo i protoni della sezione prescelta. L'accensione di G_z durante l'invio degli impulsi RF permette di effettuare un'eccitazione selettiva lungo l'asse z. Il gradiente di selezione permette di effettuare scansioni con uno spessore influenzato dalla rapidità del gradiente e dall'ampiezza della banda di RF di eccitazione.

Il gradiente di codifica di fase (G_y) viene applicato tra l'impulso di 90 gradi e quello di 180 gradi. Determina uno spostamento di fase dei protoni che persiste anche dopo lo spegnimento del gradiente. G_y è in grado di codificare solo una riga di matrice per ogni sua applicazione, quindi per codificare tutte le righe bisogna applicare G_y più volte (tante volte quante sono le righe della matrice).

Il gradiente di codifica di frequenza (G_x) genera differenze nella frequenza di precessione lungo l'asse x durante il campionamento dell'eco; per questo motivo, è anche noto come gradiente di lettura. Con un'unica attivazione durante la ricezione del segnale (lettura) vengono codificate tutte le frequenze.

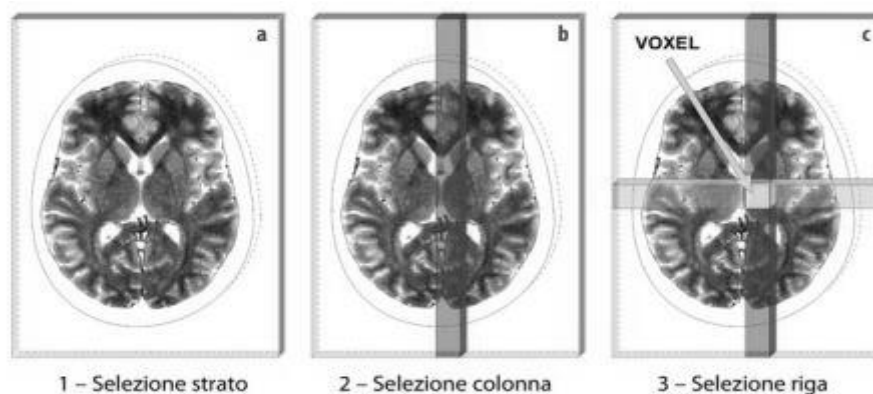


Fig.1.8 - Le tre operazioni necessarie per la localizzazione spaziale di un segnale RM nella tecnica 2D. a) Selezione dello strato e del suo spessore fisico per opera del gradiente di selezione strato (G_{SS}); b) individuazione della colonna della matrice per opera del gradiente di codifica di frequenza; c) individuazione della riga della matrice per opera del gradiente di codifica di fase. Il voxel resta in tal modo univocamente determinato.

L'eco viene così acquisito con i segnali provenienti da una sezione con un determinato spessore. Pertanto, ogni voxel prescelto avrà codifica di fase e frequenza che lo individuano nello spazio. Si acquisiranno dunque n echi, che differiranno solo per i valori della codifica di fase, campionati nelle righe di una matrice, che sarà quella dei dati grezzi, in quanto sono i dati direttamente rilevati dal paziente. Il segnale raccolto sarà sempre la somma dei contributi provenienti dai voxels del campione, ma questa volta i contributi provenienti da ciascuno dei piani perpendicolari alla direzione del gradiente saranno separabili, in quanto di diversa frequenza. Questa separazione è possibile mediante la trasformata di Fourier, che consente di scomporre il segnale raccolto nelle sue componenti di diversa frequenza. Ciascuna componente sarà caratterizzata, oltre che da una frequenza definita, anche da una certa intensità o ampiezza e da una certa fase.

Sottoponendo la matrice dei dati grezzi alla trasformata di Fourier è possibile ricostruire l'immagine RM. Tale matrice è detta k-spazio, il quale è un tipo di spazio geometrico formato da numeri complessi in cui è possibile rappresentare in livelli di grigio il valore della loro parte reale. Sebbene le apparecchiature RM ne permettano l'analisi per scopi manutentivi, in caso di malfunzionamenti dell'hardware, il k-spazio non è di solito visibile all'utilizzatore finale. Per le modalità con cui opera tale strumento matematico è possibile osservare che l'intensità di ogni pixel dello spazio k rappresenta una frequenza spaziale presente in tutta l'immagine associata. La costruzione del k-spazio avviene linea per linea. La codifica di frequenza, la cui precisione è stabilita dal numero di campionamenti effettuati nell'intervallo temporale di lettura costruisce la linea, "percorrendo" il k-spazio da sinistra verso destra. La codifica di fase permette lo spostamento dell'acquisizione sulla linea successiva: l'accensione temporizzata del gradiente di codifica di fase provoca un defasamento "controllato" dei segnali e permette di collocare i dati provenienti dalla successiva acquisizione sulla linea di k-spazio desiderata. Nello spazio k le frequenze spaziali più basse dell'immagine sono codificate verso le regioni centrali, mentre spostandosi verso la periferia le frequenze divengono via via più alte (fig.1.9). Da ciò ne consegue che la porzione periferica del k spazio contribuisce alla risoluzione spaziale dell'immagine, mentre la porzione centrale è legata alla risoluzione di contrasto dell'immagine.

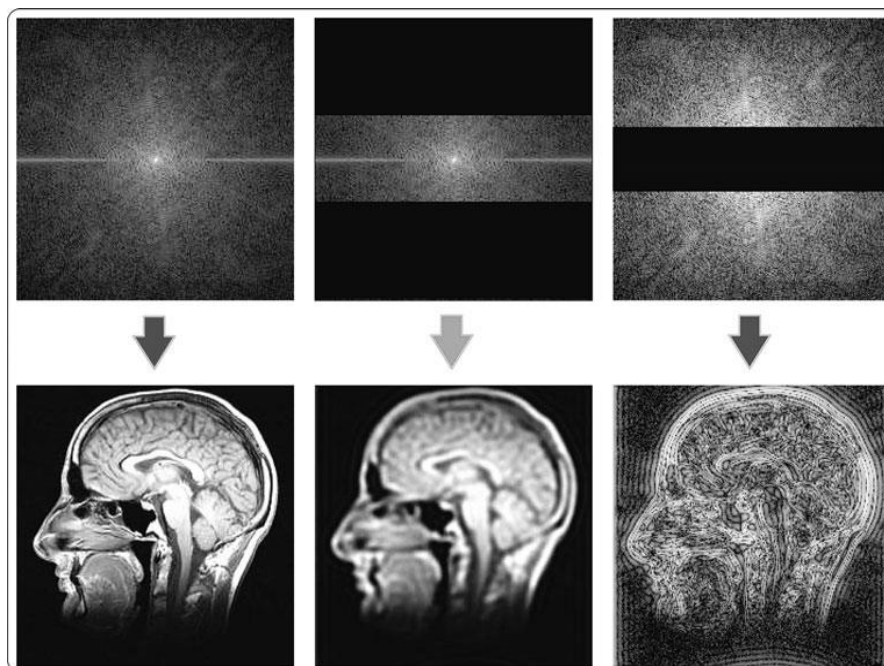


Fig.1.9 - Effetti della ricostruzione di un'immagine da uno spazio k completo o incompleto. Si osservi come le regioni periferiche, corrispondenti alle alte frequenze, contengano informazioni riguardanti le zone di confine tra strutture a diverso segnale (bordi) e una loro mancanza porti a ricostruire un'immagine che conserva in larga misura i contrasti originali ma con un effetto di sfocatura (blurring). Al contrario, preservando le regioni periferiche ma escludendo quelle centrali, a più bassa frequenza, l'immagine ricostruita conterrà scarse informazioni sul contrasto ma elevata informazione concernente le zone di transizione tra grigi (i contorni, o bordi delle immagini).

1.6 Le sequenze in RM

Per indicare un protocollo di acquisizione in risonanza magnetica è utilizzato il termine sequenza. Il termine sta a indicare che l'azione dei diversi campi magnetici utilizzati, in particolare gli impulsi a radiofrequenza e dei gradienti, deve avvenire "in sequenza", con tempi e durate specifiche per il tipo di contrasto che si desidera ottenere. Esistono diversi tipi di parametri che possono concorrere alla definizione di una sequenza, come il TE, il TR o l'angolo di ribaltamento FA che, a differenza di quanto visto finora può anche essere diverso da 90° e in alcune modalità può assumere valori di pochi gradi. La nomenclatura utilizzata per denominare le diverse sequenze non è standard, e solitamente si riferisce ad acronimi ideati e proprietari delle diverse ditte produttrici. Utilizzando il criterio della risoluzione temporale possiamo dividerle in sequenze convenzionali, rapide e ultra-rapide. Le prime sequenze utilizzate in RM sono state: Spin Echo (SE), Inversion Recovery (IR) e Gradient Echo (GRE).

Nelle Spin Echo l'impulso di eccitazione a 90° è succeduto dall'impulso di rifocalizzazione di 180° che presenta un ruolo fondamentale: annullare gli effetti delle disomogeneità di campo magnetico, grazie a una inversione di posizione tra gli spin più "lenti" e quelli più "veloci" (inverte il senso di rotazione dei protoni: quelli più lenti, che erano gli ultimi, diventano i primi e viceversa). Dopo un tempo TE (tempo di eco), che è il doppio rispetto al tempo che intercorre tra l'impulso di eccitazione e quello di rifocalizzazione, i protoni si trovano di nuovo in fase ed emettono il segnale di eco. Con sequenze SE convenzionali ad ogni impulso somministrato viene acquisita una sola linea del k spazio. Esse sono ancora utilizzate, pur con sempre minor frequenza, per le loro caratteristiche di definizione del contrasto e sono comunemente abbinate a una tecnica di acquisizione multislice, con un riempimento dello spazio k sequenziale, una linea per volta.

A differenza delle Spin Echo, nelle Gradient Echo è possibile sfasare e riportare in fase i nuclei senza applicare un impulso di rifocalizzazione, ma utilizzando un gradiente di campo magnetico (quello di codifica di frequenza) per defasare in un primo tempo i moti di precessione dei nuclei e riportarli successivamente in fase, con un'applicazione opposta che recuperi gli effetti della prima. Il segnale che torna a formarsi come conseguenza del rifasamento costituisce l'eco di gradiente. Con questa tecnica è possibile sfruttare il segnale di free induction decay (FID) che non viene utilizzato nelle sequenze Spin Echo. Il gradiente di lettura ha qui la duplice funzione di applicare la codifica di frequenza e di creare in corrispondenza del periodo di acquisizione un'eco di segnale. Riportare in fase attraverso l'uso dei gradienti di campo magnetico è un'operazione più rapida rispetto a quella basata sull'utilizzo degli impulsi a 180° nelle sequenze Spin Echo. Un'altra caratteristica peculiare delle GRE è l'utilizzo degli impulsi di RF con angoli di deflessione (flip-angle) minori di 90 gradi, tipicamente da 10 a 80 gradi, in modo da ridurre il tempo di recupero longitudinale. L'assenza dell'impulso di rifocalizzazione e l'uso di impulsi di eccitazione con angoli minori di 90° determinano in questo tipo di sequenze un SAR più basso. Un'altra sostanziale differenza rispetto alla tecnica SE è costituita dal fatto che nelle sequenze GRE non si usano accorgimenti per recuperare lo sfasamento causato dalle disomogeneità di campo che abbreviano il tempo di rilassamento trasversale. In tali sequenze, le immagini che valutano il rilassamento trasversale sono dunque $T2^*$ pesate. Le sorgenti di disomogeneità di campo includono le disomogeneità di campo esterno, la diversa suscettività magnetica dei tessuti e la presenza di elementi metallici. Tra queste, il peso decisivo è certamente attribuibile alle differenze di

suscettività magnetica. Quando due materiali adiacenti hanno diversa suscettività magnetica, come avviene in prossimità delle interfacce aria-tessuti, o delle clips metalliche circondate da tessuto, tale differenza è assimilabile a un gradiente locale di suscettività magnetica lungo una direzione, che produce localmente un gradiente campo magnetico in grado di mandare fuori fase la magnetizzazione trasversale degli spin. In particolare, la presenza di materiali ferromagnetici, di natura biologica (emorragie croniche, depositi ferrosi nei tessuti) o non biologica (protesi dentali, clips chirurgiche), produce distorsioni del campo magnetico. Gli effetti di queste disomogeneità di campo nelle immagini GRE si manifestano sotto forma di cadute di segnale e distorsioni geometriche, la cui entità è tanto maggiore quanto più lungo è il tempo che si concede loro per manifestarsi prima di leggere il segnale (TE).

L'ultima sequenza convenzionale è l'Inversion Recovery che consiste in un primo impulso a 180° che inverte la magnetizzazione longitudinale, seguito dopo un certo tempo, detto tempo di inversione (TI), da un secondo impulso a 90° . È possibile annullare il segnale proveniente da qualsiasi tessuto scegliendo un valore di TI in corrispondenza del quale la magnetizzazione longitudinale di quel tessuto ha valore 0. Poiché il T1 dei tessuti è direttamente proporzionale al campo magnetico statico, anche il tempo di inversione TI è impostato, tenendo conto non solo del tipo di tessuto da saturare, ma anche dell'intensità del CMS. In generale, con TI brevi, viene soppresso il segnale del grasso e la sequenza è definita STIR (short time inversion recovery), molto utile negli studi muscolo-scheletrici per l'elevata sensibilità nell'identificazione dell'edema. Con valori di TI più alti (intorno a 2500 ms a 1 T) si ottiene la sequenza FLAIR (fluid attenuated inversion recovery).

2 LA DIFFUSIONE IN RM: DIFFUSION WEIGHTED IMAGING

2.1 Il fenomeno della diffusione molecolare e l'imaging in diffusione

La diffusione è considerata il risultato del movimento casuale delle molecole o degli atomi all'interno di un mezzo, da una regione ad alta concentrazione (o alto potenziale chimico) a una regione a bassa concentrazione (o basso potenziale chimico). È descritta dalla legge "browniana" attraverso la costante di diffusione D . A causa della loro energia termica tutte le molecole si muovono, scontrandosi l'una contro l'altra. Ogni collisione si traduce in un cambiamento nella direzione del movimento di ogni molecola. La scoperta di tale fenomeno fisico venne associata a Robert Brown, da cui prende il nome di moto browniano nel 1828. Il fisico inglese studiò la diffusione dei granelli di polline nelle gocce d'acqua non riuscendo però a fornire una spiegazione al fenomeno fisico della diffusione. La formulazione matematica applicata alla teoria cinetica venne esposta per la prima volta nel 1905 da Albert Einstein attraverso la seguente equazione:

$$r^2 = 2Dt;$$

dove r^2 rappresenta lo spostamento quadratico medio delle particelle (mm), direttamente proporzionale al tempo di diffusione t (s) e al coefficiente di diffusione D (mm^2/s). Quindi in base all'equazione di Einstein, il coefficiente di diffusione D è di circa $3,4 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$.

La distribuzione dello spostamento quadratico assume una forma gaussiana, con il picco di spostamento uguale a zero e con uguale probabilità di spostare una data distanza dall'origine indipendentemente dalla direzione in cui viene misurata. In realtà, la distribuzione gaussiana può essere calcolata in una, due o tre dimensioni. La forma della distribuzione gaussiana in una dimensione dello spazio è la familiare curva a campana, quindi lo spostamento quadratico medio è $2Dt$. In uno spazio bidimensionale, la forma della curva è circolare, con il raggio dato da $4Dt$, centrato sull'origine. Se esteso a tre dimensioni, la superficie iso-probabilistica è una sfera, di raggio $6Dt$.

Il fenomeno fisico della diffusione molecolare è stato studiato per la prima volta con risonanza magnetica da Stejskal e Tanner nel 1965 almeno 12 anni prima dello sviluppo del primo tomografo RM per ottenere immagini corporee. L'imaging di

diffusione (DWI) viene utilizzato per valutare il movimento casuale delle molecole d'acqua, termicamente indotto all'interno di un tessuto, senza la somministrazione di alcun mezzo di contrasto esterno. Nei tessuti biologici i fenomeni diffusivi comprendono principalmente la diffusione nello spazio extracellulare, attraverso la membrana cellulare e, in minima parte, nello spazio intracellulare ed intravascolare. Complessivamente però, la presenza di barriere cellulari, di fibre e di macromolecole interferisce limitando la diffusione libera delle molecole d'acqua. Inoltre, le alterazioni dei processi fisiologici che modificano la struttura delle membrane ed i rapporti di volume tra gli spazi intra-extracellulari, la presenza di tumori ad alta densità cellulare e la perdita di integrità della membrana cellulare nei tumori necrotici, influenzano la diffusione delle molecole d'acqua. È proprio questa alterazione (restrizione) del fenomeno diffusivo l'oggetto di studio di questo tipo di imaging di risonanza magnetica. Un'altra indicazione molto comune che presuppone l'utilizzo dell'imaging in diffusione è la localizzazione di una regione ischemica focale durante la fase acuta dell'ictus. Minuti dopo l'inizio di un evento ischemico, vi è una diminuzione della diffusione delle molecole d'acqua attraverso la regione ischemica; questa diminuzione si manifesta con un aumento dell'intensità del segnale su immagini eco-planari pesate in diffusione, che riflettono una diminuzione del coefficiente di diffusione apparente. L'ipotesi per spiegare questo effetto è che il trasporto di energia alterata nella cellula provoca edema citotossico, che si traduce in una diminuzione della velocità di diffusione delle molecole d'acqua.

2.2 La sequenza pesata in diffusione

La sequenza d' impulsi RM pesata in diffusione ideata da Stejskal e Tanner è una modifica di una sequenza Spin Echo planare T2 pesata (T2W SE-EPI) alla quale viene aggiunta a cavallo dell'impulso RF 180° una coppia di gradienti speciali definiti "diffusion sensitizing gradients" ossia gradienti di sensibilizzazione alla diffusione (fig.2.1). Questi gradienti rappresentano il cuore dell'imaging DWI in quanto, modificando l'intensità di tali gradienti, è possibile eliminare progressivamente gli effetti della pesatura T2 dell'immagine e incrementare la dipendenza dell'intensità del segnale dal fenomeno della diffusione. La coppia di gradienti è applicata preferibilmente lungo i tre assi x, y, z. Possiedono eguale intensità ma sono applicati con polarità inverse. In questo modo uno spin che occupa sempre la stessa posizione (uno spin immobile) subisce un defasamento a causa dell'applicazione del primo

gradiente che viene compensato del tutto dall'applicazione del secondo gradiente. Gli spin che sono liberi di muoversi nello spazio avranno una posizione diversa al momento dell'applicazione del secondo gradiente rispetto a quella che occupavano durante l'applicazione del primo gradiente e pertanto il defasamento indotto dal primo gradiente non verrà del tutto recuperato dall'applicazione del secondo gradiente. In sintesi, più una molecola è in grado di muoversi per movimenti diffusivi (diffusione libera) maggiore sarà la saturazione del segnale dopo l'applicazione dei gradienti di diffusione e quindi minore sarà l'intensità del segnale nell'immagine pesata in diffusione. Al contrario, minore è il grado di spostamento della molecola per movimenti diffusivi (diffusione ristretta) minore sarà il grado di saturazione del segnale indotta dalla coppia di gradienti, più elevata sarà l'intensità del segnale nell'immagine pesata in diffusione. Per semplificare è possibile immaginare due situazioni diametralmente opposte: un voxel con diffusione libera (ad esempio un fluido omogeneo senza membrane cellulari che ostacolano la diffusione molecolare) ed un voxel con diffusione ristretta (tessuto ipercellulare con membrane integre e molti ostacoli alla diffusione molecolare). Nelle immagini pesate in diffusione il voxel con diffusione libera avrà un basso segnale mentre il voxel con diffusione ristretta avrà un elevato segnale. Questo è il razionale per cui la DWI può essere utilizzato come marcatore della densità cellulare (marker di ipercellularità ed integrità delle membrane).

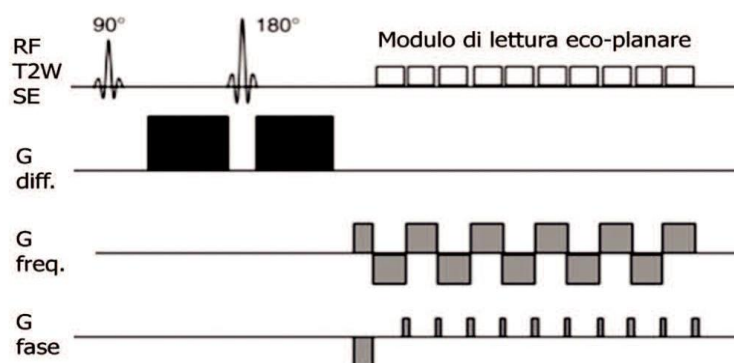


Fig.2.1 - Sequenza SE-EPI pesata in diffusione. La sequenza è composta dagli impulsi RF di una sequenza SE convenzionale seguiti da un modulo di lettura eco planare per la lettura del segnale. A cavallo dell'impulso RF a 180° vengono applicati i gradienti che pesano la sequenza in diffusione.

2.3 Il fattore b e l'ADC

Le sequenze DWI possono essere acquisite con diversi gradi di dipendenza del segnale dalla diffusione a seconda dell'ampiezza, della durata di applicazione dei gradienti e sulla base dell'intervallo di tempo che li distanzia. Questi tre parametri possono essere riassunti in un indice quantitativo sintetico detto fattore b o b-value espresso in sec/mm^2 . Selezionando il parametro b, si decide per quanto tempo tenere attivati i gradienti della sequenza, quanto aspettare tra uno e l'altro e con quanta intensità attivarli. È sostanzialmente il parametro che ci permette di decidere quanto aspettare il movimento micrometrico delle molecole di acqua nel piccolo intervallo di tempo prima di andare a ricercarne il segnale (fig.2.2).

Se b value è pari a $0 \text{ sec}/\text{mm}^2$ il contributo della diffusione all'intensità del segnale è praticamente nullo e l'immagine sarà fondamentalmente una SE-EPI T2 pesata. Al crescere del fattore b diminuisce progressivamente la pesatura in T2 dell'immagine ed aumenta progressivamente la pesatura in diffusione. Il fattore b è scelto dall'operatore e generalmente sulle apparecchiature ad alto campo, si possono utilizzare b-value più elevati, aumentando la pesatura in diffusione delle immagini e il contrasto tra le diverse componenti cellulari, ma di contro, si ha un aumento dei tempi di acquisizione e si abbassa il rapporto segnale-rumore. Sino a valori di b500 il contributo della diffusione è modesto e prevalgono gli effetti T2, tra 500 e 700 si ottengono immagini moderatamente pesate in diffusione, le immagini ottenute con b 800-1000 sono fortemente pesate in diffusione. Per cui, bassi valori di b (circa $50\text{-}100 \text{ s}/\text{mm}^2$) sono utilizzati per rilevare molecole di acqua con un'alta mobilità o con una grande distanza percorsa; mentre alti valori di b (circa $1000 \text{ s}/\text{mm}^2$) per rilevare molecole di acqua con scarsa mobilità o con minime distanze percorse. Con un b value elevato (ad esempio pari a 1000) si può minimizzare l'influenza sul segnale di micromovimenti più rapidi della diffusione, come la perfusione (movimento delle molecole d'acqua nello spazio intravascolare) e la circolazione del liquido cefalorachidiano. La pesatura in diffusione è regolata dalla seguente equazione:

$$S = S_0 e^{-bD};$$

dove S è l'intensità del segnale nell'immagine DWI, S_0 è l'intensità del segnale nell'immagine DWI acquisita con b 0, "e" rappresenta una costante (base del logaritmo naturale), b rappresenta il b factor e D il coefficiente di diffusione (indice quantitativo della diffusione molecolare espresso in mm^2/sec). Pertanto, conoscendo l'intensità del segnale di un voxel nelle immagini DWI ottenute con due diversi fattori b (ad es. 0 -

1000) è possibile risalire quantitativamente al coefficiente di diffusione grazie alla seguente formula:

$$D = -1/b \ln S_{1000}/S_0.$$

Il fattore D così calcolato viene definito ADC (apparent diffusion coefficient), coefficiente di diffusione apparente, e può essere calcolato quantitativamente in fase di post-processing. Grazie a delle applicazioni software, si calcola per ogni voxel il valore di ADC interpolando i valori di intensità del segnale ottenuti con due differenti valori di b, attraverso la seguente equazione matematica:

$$ADC = (1/b) \ln (S_1/ S_0);$$

dove: b è il fattore di diffusione; S_0 è l'intensità di segnale per $b=0$; S_1 è l'intensità di segnale dopo l'applicazione di un gradiente di diffusione. I valori di ADC ottenuti vengono convertiti in scala di grigi o in mappe colorimetriche generando la cosiddetta mappa di ADC. La mappa di ADC rappresenta quindi un'immagine parametrica del coefficiente di diffusione. Esemplicando, un voxel con diffusione estremamente libera (es: un fluido) avrà un elevato segnale nelle immagini b_0 (effetto T2) basso segnale nelle immagini b_{1000} (diffusione libera) e mostrerà elevati valori di coefficiente D (alto segnale nella mappa ADC, come rappresentato nella fig.2.3). Per contro un voxel con restrizione della diffusione (es: tessuto ipercellulare con membrane cellulari integre) avrà un'intensità segnale medio-alta nelle immagini b_0 (in dipendenza dal T2 del tessuto), mostrerà un elevato segnale nelle immagini b_{1000} (in relazione alla restrizione della diffusione) e bassi valori di fattore D (basso segnale nella mappa di ADC).

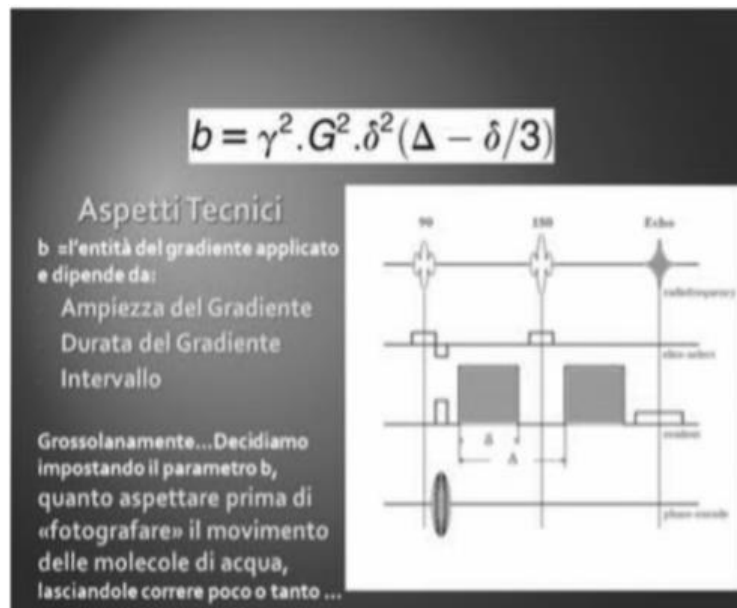


Fig.2.2 - Schema rappresentativo del b factor e della sequenza pesata in diffusione. Il b value si può ricavare attraverso la seguente equazione $b = (\gamma G \delta)^2 (\Delta - \delta/3)$ dove: γ = fattore giromagnetico; G = ampiezza del gradiente di diffusione; Δ = tempo che intercorre tra l'applicazione dei due gradienti; δ = tempo di applicazione di ogni gradiente.

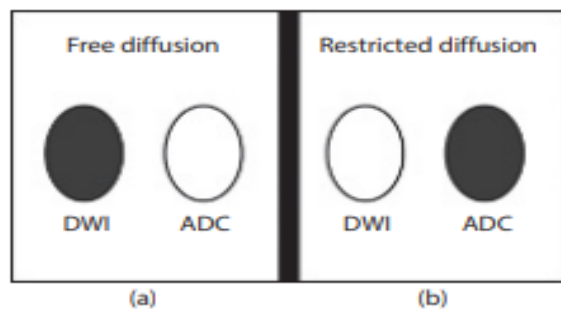


Fig.2.3 – Rappresentazione dell'intensità del segnale DWI e ADC rispetto alle caratteristiche della diffusione. Quando la diffusione non è ristretta, il segnale DWI è basso e il segnale ADC è alto (a). Quando c'è una restrizione della diffusione il segnale DWI è alto, mentre l'ADC è basso (b).

2.4 Echo Planar Imaging

Come descritto nell'ultimo paragrafo del capitolo 1, in RM possiamo distinguere tre categorie di sequenze: convenzionali, rapide ed ultrarapide. Alcune sequenze utilizzano una combinazione delle tecniche a eco di spin e a eco di gradiente. Rientrano in questa categoria le sequenze Echo Planar Imaging (EPI), descritte da Mansfield nel 1977 ma rese disponibili alla pratica clinica solo in tempi più recenti a causa dell'alto livello di prestazioni richiesto all'hardware. Le EPI sono sequenze ultrarapide in grado di ridurre significativamente i tempi di imaging della risonanza magnetica. L'imaging

eco-planare consente l'acquisizione di immagini in 20-100 msec, di conseguenza quest'elevata risoluzione temporale riduce notevolmente gli artefatti relativi al movimento del paziente. Nell'imaging ecoplanare, viene prodotto un treno di echi dal rapido cambio di polarità del gradiente di lettura. Se il segnale ottenuto deriva solamente dal gradiente di rifocalizzazione la tecnica viene chiamata gradient-EPI (fig 2.1), molto sensibile agli effetti di suscettibilità. Un modo per poter ridurre questi effetti, sta nell'aggiunta di un impulso di 180° dopo quello di 90° , e in questo caso si parla di Spin echo-EPI (fig 2.4).

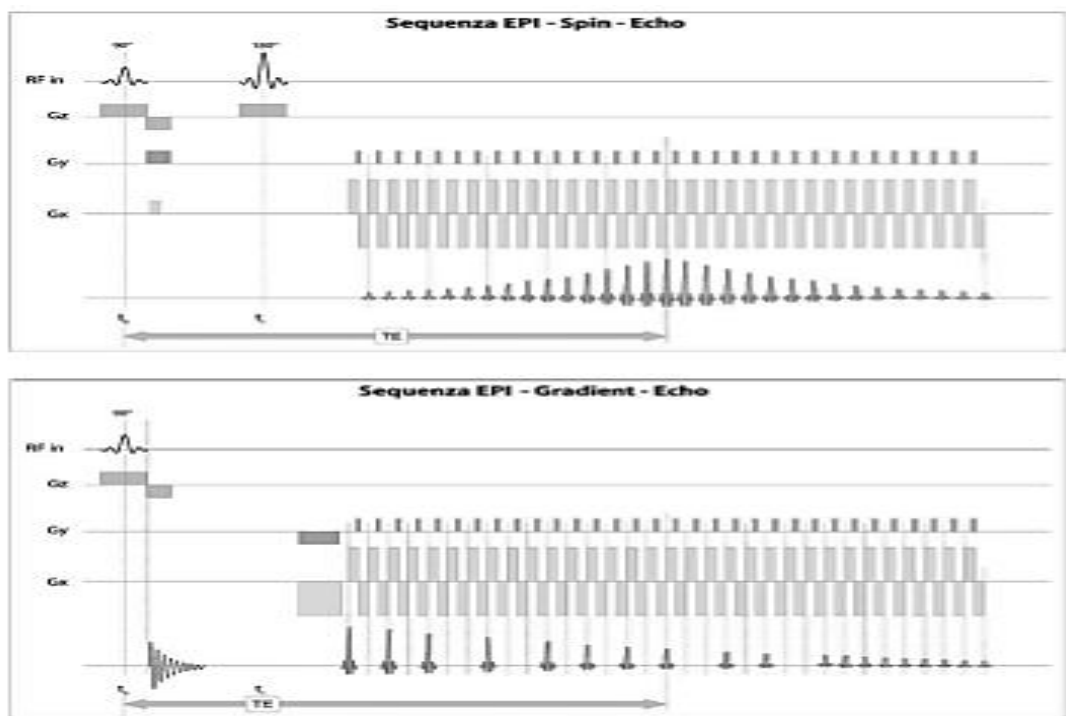


Fig.2.4 - Il primo diagramma temporale mostra una sequenza EPI Spin Echo in cui l'impulso di rifocalizzazione a 180° conferisce alla sequenza un contrasto insensibile alle disomogeneità di campo (T2-pesato). Il secondo diagramma temporale mostra una sequenza EPI Gradient Echo in cui si osserva l'assenza dell'impulso a 180° , che conferisce alla sequenza il tipico decadimento T2* (contrasto T2*-pesato).

L'imaging eco-planare può essere eseguito utilizzando impulsi di eccitazione singoli o multipli ("colpi"). Il numero di colpi rappresenta il numero di periodi TR necessari per completare l'acquisizione dell'immagine. È uguale al numero totale di passi di codifica di fase diviso per la lunghezza del treno di eco. Ad esempio, se il numero di passi di codifica di fase è 256 e la lunghezza del treno di eco è otto, allora il numero di colpi è uguale a $256/8$. Nell'imaging echo-planare single shot tutti i dati del k spazio vengono acquisiti con un solo colpo (impulso di eccitazione). Tuttavia, la matrice di

acquisizione dell'immagine non è tipicamente maggiore di 128×128 . L'Echo-Planar Imaging single shot (SS-EPI) è la tecnica tipicamente utilizzata per acquisire immagini cliniche basate sulla diffusione, perché presenta un'elevata velocità. Sfortunatamente, le immagini soffrono di artefatti di suscettibilità magnetica che si manifestano come distorsione geometrica, effetto ghosting, artefatti da chemical shift, sfocatura dell'immagine (effetto blurring) ed effetti di suscettibilità locale.

Ghost di Nyquist: si presenta come ripetizione di strutture anatomiche all'interno del campo di vista (Field Of View, FOV) causata da errori di registrazione per stress dell'elettronica. Si può ridurre, diminuendo tale stress con l'aumento del FOV con conseguente riduzione della risoluzione spaziale o con l'applicazione dell'imaging parallelo.

Chemical shift: si presenta come spostamento della reale posizione di acqua e grasso in direzione di codifica di frequenza ed è dovuto alla differenza tra la frequenza di Larmor di acqua e grasso. Si può ridurre aumentando la banda di campionamento (BW) che però comporta un aumento del rumore e quindi una diminuzione del rapporto Segnale/Rumore (SNR).

T2* blurring: si presenta come riduzione della risoluzione spaziale rispetto a quella attesa per FOV e matrice impostati, per effetto del decadimento del segnale con tempo caratteristico T2* (più rapido di T2) e conseguente riduzione del segnale negli ultimi echi campionati. Questo effetto è particolarmente marcato al crescere del campo magnetico B_0 e quindi a 3T. Si può ridurre diminuendo il numero di echi campionati con l'imaging parallelo oppure riducendo la distanza tra gli echi con conseguente aumento della BW e quindi riduzione del SNR.

Intra-voxel dephasing: si presenta come caduta di segnale nei voxel che contengono tessuti con differente frequenza di Larmor per effetto di gradienti di B_0 creati da interfaccia aria-parenchima. Si può ridurre riducendo lo spessore della fetta con conseguente aumento non atteso del SNR.

Distorsione: si presenta come distorsioni nell'immagine in entrambi le direzioni (di codifica di fase e di lettura) per effetto di correnti indotte spurie. Si può ridurre migliorando l'omogeneità di B_0 (condizione di shim migliore). Le correnti indotte possono essere inoltre ridotte riducendo il numero di echi campionati (imaging parallelo). Quest'ultimo artefatto è particolarmente importante, in quanto determina

un'interruzione del segnale vicino alle cavità aeree. È la mancanza di impulsi di rifocalizzazione che è responsabile di questi artefatti, infatti in assenza di questi impulsi, i protoni rotanti accumulano un errore di fase, che causa errori di posizionamento nella direzione della codifica di fase, determinando un artefatto significativo. Oltre all'utilizzo di una sequenza Spin echo- EPI che prevede l'utilizzo dell'impulso di rifocalizzazione di 180° , un'altra tecnica per ottenere una risoluzione più elevata e ridurre gli artefatti tipici della SS-EPI è l'imaging echo-planare multishot. In quest'ultima tecnica, solo una parte dei dati dello spazio k viene acquisita ad ogni colpo e i colpi vengono ripetuti finché non viene raccolto un insieme completo di dati.

Multi-shot Read-out Segmented Echo-Planar Imaging (Resolve-EPI) è una nuova tecnica per ottenere immagini pesate in diffusione consentendo di ridurre gli artefatti da suscettibilità magnetica e di aumentare la qualità delle immagini. Ciò è possibile, suddividendo il k spazio in più segmenti nella direzione di lettura, consentendo una riduzione del tempo di eco (TE), dell'echo spacing (ESP) e del tempo di codifica. L'utente determina il numero di segmenti multipli manipolando il parametro "numero di segmenti di lettura". Aumentando il "numero di segmenti di lettura" si ottengono distorsioni ridotte e una qualità dell'immagine più elevata, ma aumenta anche il tempo di acquisizione. In sintesi, l'EPI Resolve multishot (fig.2.5) risolve i limiti dell'EPI single shot che sono: basso rapporto segnale rumore, bassa risoluzione spaziale e distorsione geometrica. L'unico svantaggio di questa tecnica è l'aumento del tempo di acquisizione rispetto all' EPI single shot.

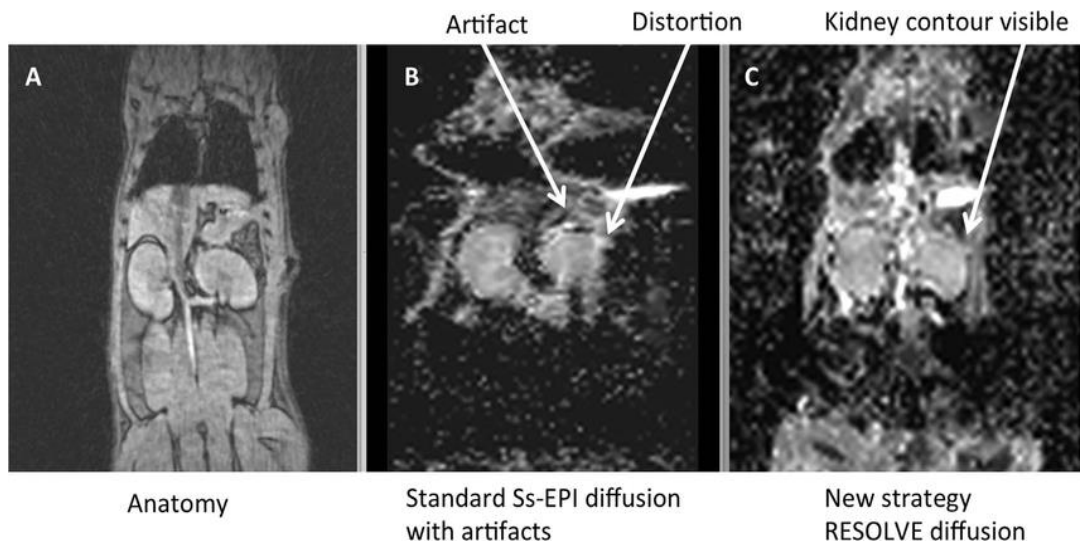


Fig.2.5 - Confronto tra DWI ss-EPI e RESOLVE in un topo. Entrambe le immagini DWI sono state confrontate con le immagini anatomiche (A). Le sequenze standard ss-EPI hanno mostrato una grave distorsione ai bordi del rene (B). Nel 14% dei reni, per le immagini ss-EPI, il parenchima è completamente scomparso a causa delle distorsioni. Nella sequenza RESOLVE (C) artefatto notevolmente ridotto.

2.5 T2 shine through

La valutazione delle mappe di ADC è fondamentale nel discernere se un elevato segnale nelle immagini DWI sia realmente sostenuto da una restrizione della diffusione oppure dipenda da permanenza del segnale T2. Tessuti con elevato T2 possono mostrare elevato segnale nelle immagini con elevati valori di b anche se la diffusione è completamente libera. Questo artefatto viene detto “T2 shine-through” (permanenza del T2). Quindi per effetto T2 shine trough (fig.2.6), una cisti può mostrare elevato segnale in un’immagine con elevato valore di b ma, essendo la diffusione completamente libera nella mappa di ADC si osserverà un elevato segnale.










| | b 0 | Alto b | ADC |
|--------------------------------------|---|--|---|
| Lesione benigna |  |  |  |
| Lesione maligna |  |  |  |
| T2 shine through (cisti, angiomi) |  |  |  |

Fig.2.6 - Rappresentazione schematica dell'intensità del segnale di una lesione benigna, maligna e dell'effetto T2 shine through nelle immagini con b0, alti valori di b e nella mappa di ADC. La valutazione qualitativa della mappa di ADC è fondamentale per identificare una vera restrizione della diffusione dall'effetto di permanenza del T2.

2.6 IVIM

Nei tessuti umani in vivo oltre ai movimenti diffusivi delle molecole di acqua libera esistono anche movimenti molecolari pseudo-diffusivi sostenuti dal movimento molecolare all'interno del letto vascolare del microcircolo (pseudodiffusione o perfusione) (fig.2.7). Tali movimenti molecolari sono più veloci rispetto ai movimenti molecolari diffusivi veri e propri e pertanto alcuni autori parlano di diffusione veloce (pseudodiffusione) e di diffusione lenta (diffusione).

Il concetto è stato introdotto nel 1986, poiché il flusso sanguigno nei capillari (perfusione) imita un processo di diffusione, soprattutto nelle immagini ottenute con valori di b bassi ed intermedi (b50-700) il segnale, oltre a dipendere dal T2, dipenderà più dagli effetti di pseudo diffusione che dai movimenti diffusivi lenti. Tale aspetto viene sfruttato in ambito di ricerca e non ancora in applicazioni cliniche routinarie per estrapolare dati quantitativi sulla perfusione tissutale ed il letto micro capillare tissutale attraverso un modello matematico e teorico complesso (IVIM: intravoxel incoherent motion). In sintesi, acquisendo immagini con multipli valori di b (15-20 bfactor differenti) è possibile effettuare in post processing attraverso dei calcoli complessi di isolare e quantificare separatamente la diffusione, la pseudodiffusione e la cosiddetta frazione di perfusione. Il modello IVIM prende in considerazione sia gli effetti di diffusione che quelli di perfusione usando il seguente modello biesponenziale:

$$S / S_0 = f e^{-b(D + D^*)} + (1-f) e^{-bD};$$

dove f (adimensionale) è la frazione di perfusione che indica la percentuale di un volume di voxel occupato dai capillari. Viceversa (1-f) riflette lo spazio extravascolare

in cui si verificano solo effetti di diffusione (con coefficiente di diffusione apparente D). Il parametro D^* è chiamato coefficiente di pseudodiffusione e riflette il dephasing dovuto alla perfusione in capillari. D^* viene talvolta indicato come ADC veloce o ADC alto, mentre D viene talvolta chiamato ADC lento o ADC basso. A seconda della pendenza della porzione iniziale della curva, (che a sua volta dipende dalla densità capillare e dalla perfusione), D^* può essere 5-10 volte maggiore di D . Quindi come per la diffusione molecolare, anche in questo caso si può risalire al coefficiente di pseudo-diffusione D^* . Tuttavia, la componente del microcircolo sanguigno decade 10 volte più velocemente, il che consente di separare i due fenomeni indipendenti. Il metodo IVIM trova maggiore applicazione nella valutazione di lesioni oncologiche grazie anche al non impiego di agenti di contrasto.

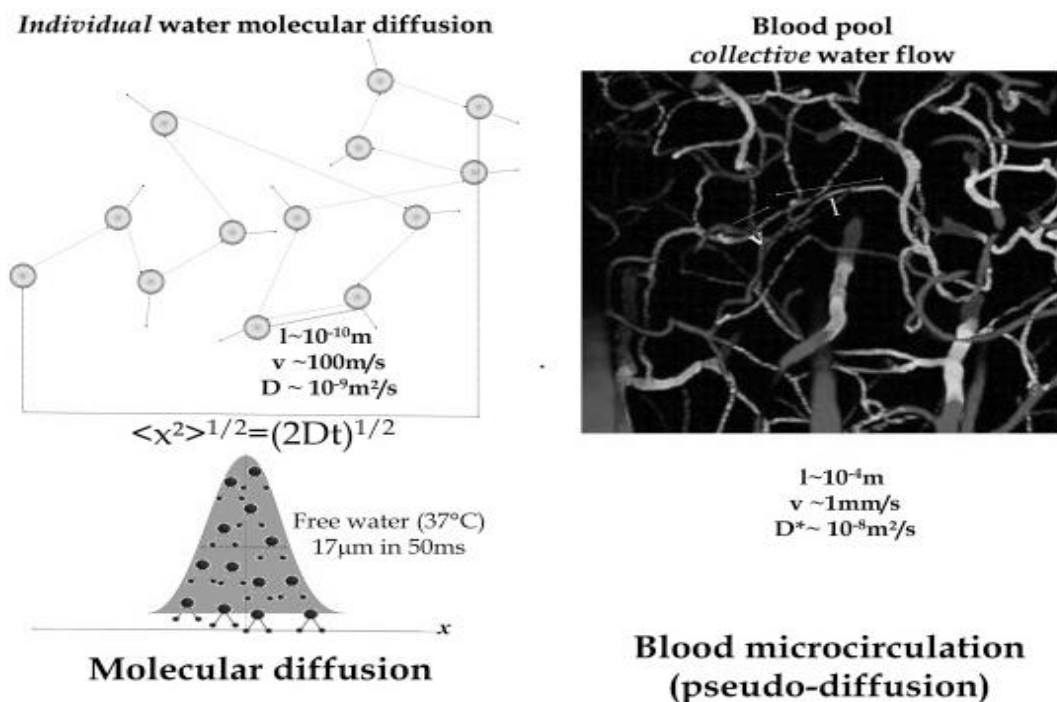


Fig. 2.7 - La diffusione molecolare (a sinistra) è un processo casuale a livello molecolare individuale risultante in una distribuzione gaussiana di spostamento molecolare (diffusione libera). La pseudo-diffusione per flusso sanguigno risulta dal flusso d'acqua collettivo nei segmenti capillari orientati casualmente.

3 LA TRATTOGRAFIA

3.1 Diffusione isotropica ed anisotropica

Il più recente sviluppo dell'imaging RM in diffusione è rappresentato dal tensore di diffusione (Diffusion Tensor Imaging, DTI), tecnica in grado di rendere evidente non solo l'entità ma anche la direzione della diffusione delle molecole di acqua nei tessuti.

Una delle applicazioni più frequenti della DTI risulta essere sul distretto cerebrale, rappresentando un potente strumento per la stima in vivo del connettoma umano dal punto di vista strutturale; prima di andare a descrivere i principi di questa tecnica è utile fare una distinzione tra diffusione isotropica ed anisotropica. La diffusione isotropica è tipica dei mezzi omogenei in cui la diffusione è indipendente dalla direzione nello spazio, quindi le molecole d'acqua diffondono omogeneamente nelle tre direzioni dello spazio. La seconda, invece, è caratteristica dei tessuti biologici, in cui la diffusione avviene lungo una direzione preferenziale dello spazio a causa della presenza delle cosiddette "barriere biologiche" (strutture extracellulari ed intracellulari). Nella sostanza grigia cerebrale, ad esempio, la diffusione delle molecole d'acqua è isotropica, mentre nella sostanza bianca cerebrale è anisotropica (fig 3.1) e poiché la sostanza bianca è costituita da assoni, avvolti dalla guaina mielinica, la diffusione avviene preferenzialmente in direzione parallela alla guaina mielinica. Pertanto, in presenza di ostacoli, la distanza di diffusione effettiva (r^2) è ridotta rispetto all'acqua libera e la distribuzione delle molecole d'acqua non è più gaussiana. Ne consegue che il movimento delle molecole d'acqua è facilitato se avviene in direzione parallela a quella dell'assone, invece, se avviene in direzione perpendicolare, la diffusione è ristretta. Un'altra differenza sostanziale tra diffusione isotropica ed anisotropica è che in un mezzo isotropo la diffusione viene descritta come una sfera, in quanto questa rappresenta l'insieme infinito di punti sui quali è possibile trovare delle particelle in un determinato tempo di diffusione. In un mezzo anisotropo, invece, la superficie viene descritta come un'ellissoide con l'asse lungo parallelo all'asse lungo del mezzo anisotropico. Inoltre, a seconda della diffusione locale, l'ellissoide può essere anche prolato (se è ruotato attorno al suo asse maggiore) oppure oblato (se è ruotato attorno al suo asse minore). Ci si aspetta forme prolote in tratti altamente organizzati in cui i fasci di fibre hanno tutti simili gli orientamenti, mentre le forme oblate sono previste quando gli orientamenti delle fibre sono più variabili ma restano limitati a un singolo piano.

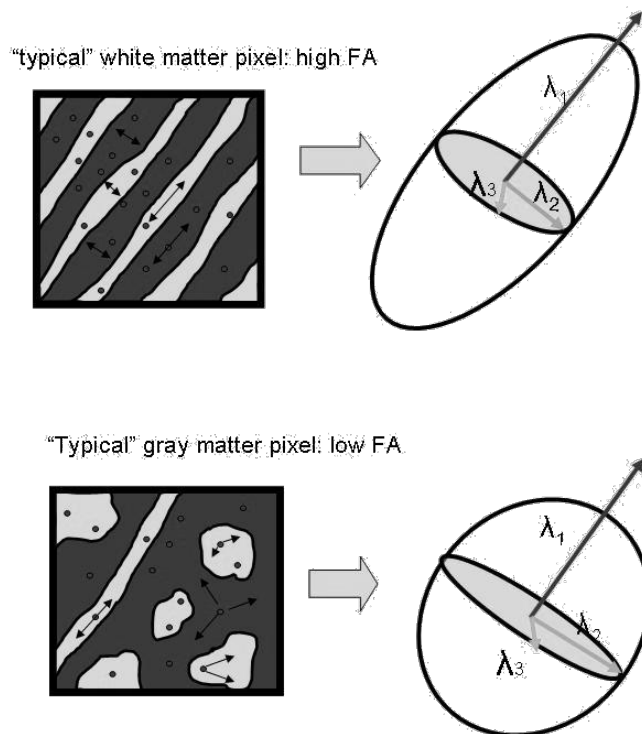


Fig 3.1 - Nell'immagine in alto è rappresentata la diffusione nella sostanza bianca cerebrale in cui c'è un elevato indice di anisotropia e la diffusione assume la forma di un ellissoide. Mentre nell'immagine in basso, in cui è rappresentata la diffusione nella sostanza grigia cerebrale, l'indice di anisotropia è basso, essendoci un'elevata isotropicità quindi la diffusione è rappresentata da una sfera.

3.2 Il modello del tensore di diffusione

La tecnica DTI in primo luogo è stata introdotta da Peter Basser nel 1994 ed è una tecnica EPI che acquisisce informazioni sulla diffusione in un numero arbitrario di direzioni di diffusione con un range minimo di 6 direzioni per poter ottenere risultati accettabili. È un'evoluzione della DWI e permette di valutare la mobilità dell'acqua in una determinata direzione dello spazio. La differenza tra la DWI e la DTI è l'introduzione di un tensore di diffusione, che descrive la diffusione anisotropica nelle strutture biologiche. Il tensore è la naturale generalizzazione del concetto di vettore che assume un'ampia rilevanza nella DTI, permettendo di campionare con estrema precisione lo spazio tridimensionale. Il modello del tensore consiste, dunque, in una matrice 3x3 (fig 3.2) derivata dalla misura della diffusività in almeno sei direzioni non collineari. Per calcolare il tensore di diffusione sono necessari almeno sei gradienti di diffusione e quindi almeno sei mappe di ADC lungo sei direzioni ortogonali (3 ortogonali puri: x, y, z, e 3 combinati: xy, xz, yz). Di conseguenza, si acquisiscono almeno sei serie di immagini pesate in diffusione con lo stesso b value e una serie di

immagini con b value nullo in cui non è applicato il gradiente di diffusione. Aumentando il numero delle direzioni codificate si perfezionerà l'accuratezza delle misurazioni del tensore per ogni arbitrario orientamento e la risoluzione angolare, cioè la capacità di distinguere le fibre che si incrociano all'interno di un voxel, migliora ma con un notevole incremento dei tempi di acquisizione.

$$\mathbf{D} = \begin{bmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{yx} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{zx} & D_{zy} & D_{zz} \end{bmatrix}$$

Fig 3.2 - Modello semplice per rappresentare la diffusione anisotropa è quello del tensore simmetrico di diffusione che è una matrice 3x3 simmetrica ($D_{xy} = D_{yx}$, $D_{yz} = D_{zy}$ e $D_{xz} = D_{zx}$) quindi ci sono 6 incognite, da qui le 6 direzioni minime necessarie in acquisizione).

3.3 Indici di anisotropia

Per poter quantificare il grado di anisotropia di ciascun voxel sono necessari gli indici di anisotropia che vengono ricavati dal tensore di diffusione. I più comuni sono la diffusività media (MD) e l'anisotropia frazionaria (FA), meno comuni sono l'anisotropia relativa, il volume ratio (anisotropia totale/anisotropia relativa), la diffusività parallela o longitudinale (dà informazioni sulla diffusività lungo l'asse maggiore delle fibre e cioè sull'integrità dell'assone) e la diffusività radiale o perpendicolare (dà informazioni sulla diffusività lungo l'asse minore delle fibre e cioè sull'integrità della mielina). Da questi indici si ricavano, in seguito, le rispettive mappe 2D Direction encoded color (DEC) in cui ogni colore codifica una specifica direzione di diffusione delle fibre: le fibre con orientamento destro- sinistro sono di colore rosso; quelle con orientamento antero-posteriore sono rappresentate di colore verde ed infine il colore blu rappresenta le fibre con direzione di diffusione caudo- craniale. Le fibre con orientamento obliquo sono invece rappresentate con colori originati dalla combinazione dei tre colori primari.

La diffusività media è la media su tutte le direzioni delle diffusività all'interno di un voxel, è quindi una media dei tre autovalori, mentre l'anisotropia frazionaria FA deriva dalla deviazione standard degli autovalori (quantifica la deviazione delle diffusività nelle tre direzioni principali dalla diffusività media) e fornisce informazioni riguardo

alla forma dell'ellissoide di rotazione associato al tensore: partendo dal valore nullo di FA, in cui la forma è sferica (diffusione isotropa), per valori maggiori del parametro la forma risulta sempre più allungata, fino a raggiungere la forma lineare per $FA = 1$ (massima anisotropia). Nella mappa di anisotropia frazionaria FA, la quale è costituita da valori compresi tra 0 e 1, le regioni a diffusione isotropica sono ipointense (sostanza grigia), mentre le regioni a diffusione anisotropica (sostanza bianca) appaiono iperintense (fig 3.3). L'indice di anisotropia frazionaria non è uguale in tutte le strutture che costituiscono la sostanza bianca, in quanto è alto nelle regioni in cui le fibre decorrono in fasci paralleli (come nel corpo calloso), mentre è più basso nelle regioni dove le fibre hanno un orientamento incoerente (come nel centro semiovale).

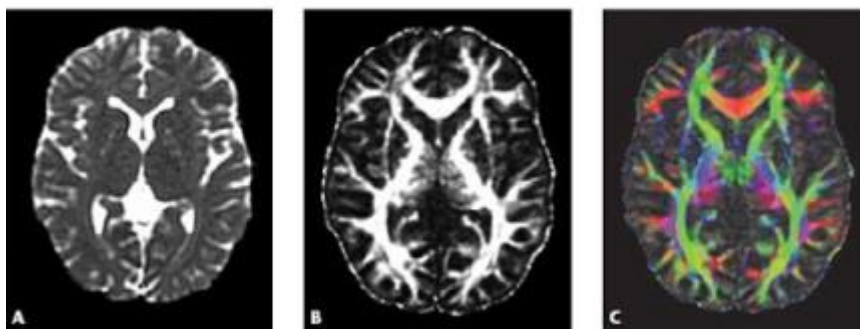


Fig .3.3 - Mappe parametriche derivanti dal tensore di diffusione: (A) la diffusività media è la media dell'intensità di segnale delle immagini di diffusione in ogni voxel; (B) l'anisotropia frazionaria esprime il grado di anisotropia del voxel; (C) nella mappa a colori di anisotropia frazionaria si rappresenta la direzione principale dei fasci di fibre di sostanza bianca mediante variazioni di intensità di colori: rosso, orientamento del fascio destro- sinistro; verde, antero- posteriore; blu, supero- inferiore.

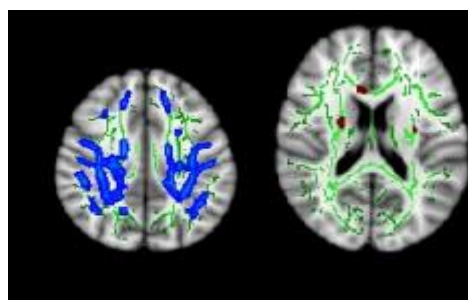


Fig 3.4 - Nell'immagine a sinistra è rappresentata la mappa di diffusività parallela o assiale, mentre in quella a destra è rappresentata la mappa di diffusività radiale o perpendicolare.

3.4 Metodi di tracciamento delle fibre

La trattografia è una ricostruzione 3D a partire dal tensore di diffusione che può essere ottenuta attraverso due tipi di approcci: deterministico o probabilistico.

L'approccio deterministico necessita di algoritmi che permettono la propagazione della traccia delle fibre assumendo per ciascun voxel, la direzione dell'autovettore principale come direzione media della fibra, quindi non si fa altro che seguire voxel per voxel la direzione di massima diffusione. La traccia del tensore è una grandezza costante indipendente dal sistema di riferimento e viene calcolata effettuando la somma degli elementi diagonali (autovalori) della matrice dei dati grezzi D_{xx} , D_{yy} e D_{zz} caratterizzando la diffusività media del campione:

$$\text{Tr}^d = (D_{xx}+D_{yy}+D_{zz}); \text{MD} = \text{Tr}^d/3.$$

Inoltre, a partire dalla traccia del tensore si possono calcolare anche gli indici di diffusione, come l'indice di diffusione anisotropica FA, che varia da 0 a 1 in base alla diffusione isotropica o anisotropica:

$$\text{FA} = \sqrt{\frac{3}{2}} \sqrt{\frac{(D_{xx} - \text{MD})^2 + (D_{yy} - \text{MD})^2 + (D_{zz} - \text{MD})^2}{(D_{xx} + D_{yy} + D_{zz})^2}}.$$

Questo metodo estrae l'informazione riguardante l'orientamento dei vettori, ma non del loro verso e come criterio di interruzione utilizza un limite prestabilito di FA al di sotto del quale non sia possibile tracciare la fibra oppure se l'angolo tra le due direzioni di massima diffusione è maggiore di un valore soglia. Dopo aver propagato la traccia si ottengono delle immagini sulle quali vengono sovrapposte le mappe di diffusione, dopodiché si ottiene l'immagine finale di trattografia 3D che può essere anche sovrapposta a un'immagine ottenuta da una sequenza morfologica (fig 3.5).

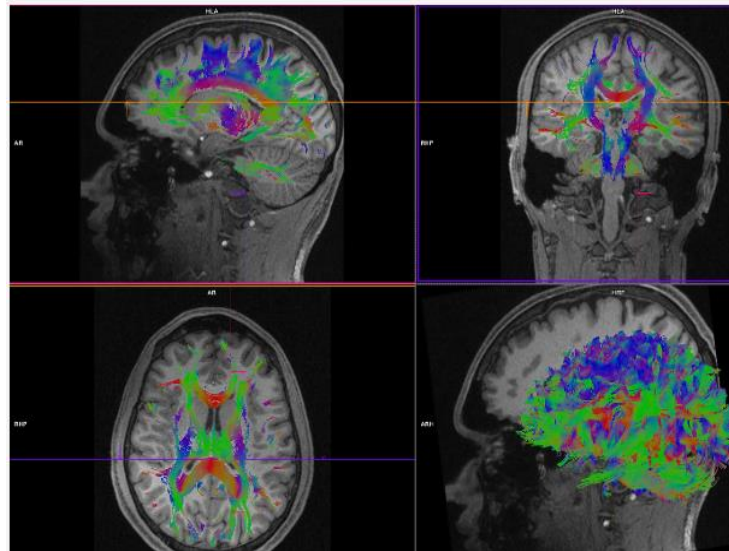
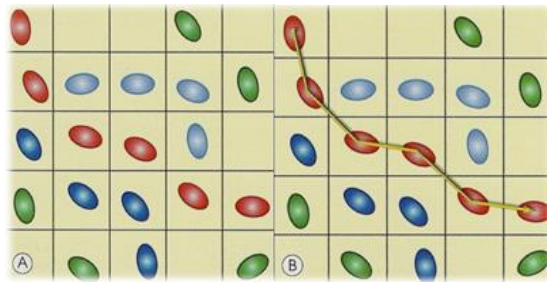


Fig.3.5 - Sono elencati i risultati dei vari passaggi, in successione temporale, ottenuti utilizzando l'approccio probabilistico. Quindi, inizialmente si propaga la traccia per poi ottenere la trattografia 3D e sovrapporla alle sequenze morfologiche sul piano sagittale, coronale e assiale.

Passiamo ora all'approccio probabilistico: viene messo in atto quando non si ha a disposizione una matrice di dati grezzi performante. In questo caso si utilizza un algoritmo probabilistico che consente di ricostruire l'immagine finale di trattografia 3D, senza propagare la traccia dalla matrice di dati grezzi (tensore), ma andando a definire due ROI (region of interest). Solitamente la prima ROI viene posizionata all'inizio del percorso, mentre l'altra si trova alla fine del percorso del fascio di fibre da ricostruire, così facendo, viene delineata la traiettoria delle fibre che determina la creazione di una mappa probabilistica globale, la quale contiene per ogni voxel la probabilità che una particella vi diffonda all'interno. La specificità di questo approccio è bassa in quanto la probabilità di diffusione in un voxel si estende anche al voxel adiacente, determinando dei falsi positivi. Gli algoritmi deterministici di tracciamento delle fibre sono comuni, ma non tengono conto dell'incertezza inerente all'orientamento delle fibre. Ciò è possibile utilizzando gli algoritmi probabilistici di tracciamento delle fibre che determinano, con il metodo di bootstrap residuo, la probabilità di distribuzione degli orientamenti delle fibre. Un tipo di approccio probabilistico è rappresentato dall' HARDI (high angular resolution diffusion

imaging). L'acquisizione HARDI è più lunga di un'acquisizione DTI tradizionale, tuttavia è stata inclusa con successo nei protocolli di ricerca pediatrici e per adulti. Le differenze principali tra un'acquisizione DTI e HARDI sono il numero di direzioni e il valore b . La modifica di questi parametri è semplice su molti scanner, tuttavia valori b più alti producono immagini con rapporto segnale-rumore inferiore. Per cui sono necessarie intensità di campo elevate e gradienti di campo potenti per migliorare il rapporto segnale rumore, a valori b elevati. Una limitazione attuale è che la post-elaborazione HARDI non è una funzione disponibile sulla maggior parte degli scanner.

3.5 Limiti della DTI e lo sviluppo di nuove tecniche: DSI, QBI E DKI

Le fibre possono avere varie direzioni all'interno di un voxel: rettilinea, curva e in alcuni casi si incrociano (crossing fibers), si avvicinano per poi allontanarsi (kissing fibers) oppure possono diramarsi (branching fibers) all'interno dello stesso voxel. Con il modello del tensore, l'informazione sull'incrocio di fibre risulta come rumore o decremento non spiegato di anisotropia in quel voxel. Quindi il limite principale della DTI è che il tensore ha problemi a distinguere voxel con fibre che si incrociano, calcolando una direzione di diffusione media delle fibre all'interno di un singolo voxel. Una soluzione a questo problema può essere la riduzione del voxel size, poiché avendo un voxel più piccolo diminuisce la probabilità che si verifichi il crossing fibers, però si ha un aumento del tempo di acquisizione in quanto la dimensione del voxel è inversamente proporzionale a quella della matrice. Oppure, per risolvere il problema del crossing fibers, recentemente sono nate altre due tecniche di diffusione, in alternativa alla DTI: la DSI (diffusion spectrum imaging) e la QBI (q-ball imaging). Tra le tecniche RM di diffusione, la DSI fornisce la maggiore quantità di informazione e il maggior dettaglio. Mentre il segnale prodotto dagli spin protonici ad ogni posizione spaziale (voxel) viene campionato in un sistema di coordinate denominato k spazio, il campionamento della diffusione degli spin viene effettuato in un sistema di coordinate detto spazio q . Un'immagine pesata in diffusione (DWI) rappresenta l'intensità del segnale di diffusione in una specifica posizione q ; corrisponde quindi al campionamento di un punto dello spazio q . Con la DTI vengono campionati almeno 6 punti dello spazio q , mentre con la DSI viene campionato l'intero spazio q , o un grande campione di questo rappresentativo, misurando la diffusione all'interno di ogni voxel. Una serie di immagini pesate in diffusione vengono acquisite consecutivamente, con diversi b value, corrispondenti ciascuno a un diverso vettore q , da $b=0$ a, per esempio,

$b=1200 \text{ sec/mm}^2$ (il b value è direttamente proporzionale all'intensità del campo magnetico esterno).

Il limite della DSI è che per campionare l'intero spazio q occorre acquisire centinaia di immagini, richiedendo lunghi tempi di acquisizione. Inoltre, per applicare alti b -value, occorre avere a disposizione apparecchiature con gradienti di campo molto intensi. Pur riuscendo a discriminare le singole direzioni di diffusione delle fibre all'interno di uno stesso voxel (fig 3.6) senza determinare artefatti, la DSI non è una tecnica utilizzata di routine nella pratica clinica, a causa delle limitazioni citate in precedenza.

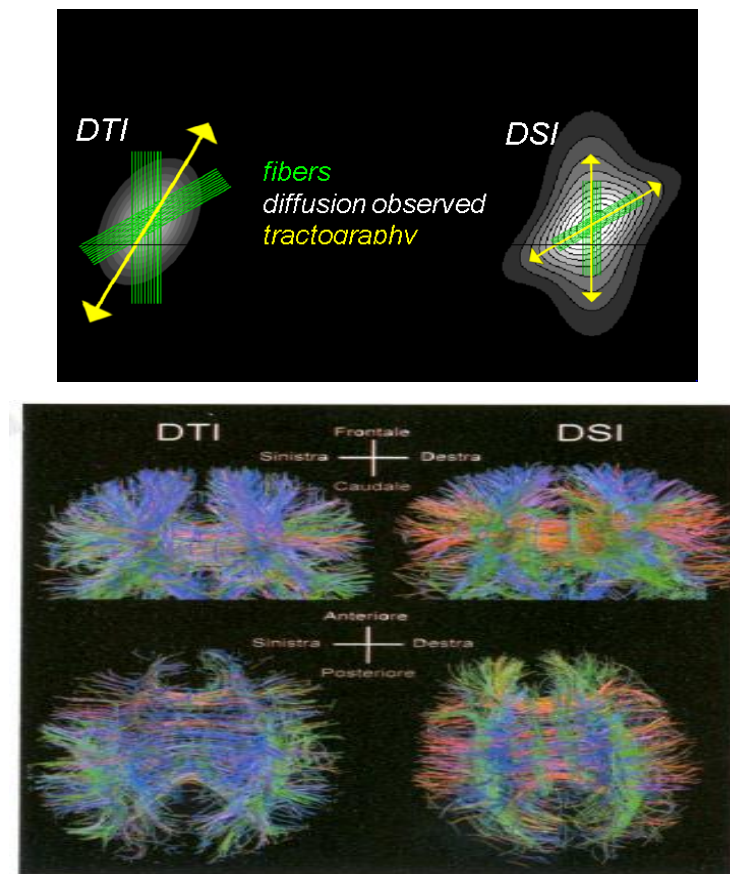


Fig.3.6 Confronto tra trattografia basata su DTI e trattografia basata su DSI. Con la DSI le fibre provenienti da fasci diversi sono più chiaramente separate.

Un'altra tecnica di imaging in diffusione, capace di coniugare i vantaggi della DTI e della DSI, è la QBI (q ball imaging). La QBI congiunge la velocità di acquisizione della DTI con l'accurata ricostruzione dei fasci di sostanza bianca anche dove siano presenti direzioni assionali multiple all'interno di uno stesso voxel. La maggiore velocità di acquisizione rispetto alla DSI è ottenuta misurando selettivamente la struttura angolare della funzione di diffusione. Un'altra caratteristica che

contraddistingue la QBI, è che rispetto alla DSI presenta una ridotta richiesta di intensità di gradienti, seppur significativamente superiore rispetto alla DTI.

Per comprendere come viene campionato il segnale di diffusione utilizzando la QBI, possiamo immaginare di porre un poliedro con venti lati (icosaedro) intorno a una sfera (o ellisse se la diffusione è anisotropica) che rappresenta lo spazio q per ciascun voxel: un ampio numero di traiettorie di gradienti può passare attraverso il voxel, ognuna in corrispondenza di uno degli apici del poliedro. Cosicché, campionando il segnale di diffusione solo su questa superficie esterna della sfera (involucro poliedrico), anziché su tutto il reticolo cartesiano, si ottiene la proiezione radiale della funzione di diffusione. In pratica il movimento delle fibre (diffusione) viene ricostruito campionando punti dello spazio q su una sfera con un raggio costante (b value costante e alto, in genere $> 4000 \text{ sec/mm}^2$). In questo modo la QBI consente di misurare l'anisotropia delle linee (fibre) che attraversano il voxel: se il voxel è attraversato da un singolo tratto di fibre, si avranno solo due valori di anisotropia che puntano in direzioni opposte; se il voxel è attraversato da due tratti di fibre, si avranno due coppie di massima stima del grado di anisotropia, e così via. Un'altra tecnica che può risolvere il problema degli incroci intravoxel, migliorando l'immagine di trattografia, è la DKI (diffusion kurtosis imaging). La curtosi è un allontanamento dalla normalità distributiva, rispetto alla quale si verifica un maggiore appiattimento (distribuzione platicurtica, con indice <0) o un maggiore allungamento (distribuzione leptocurtica con indice >0). Quando, invece, la distribuzione è gaussiana l'indice di curtosi è pari a 0.

La diffusione dell'acqua nei tessuti biologici non è gaussiana a causa degli effetti della microstruttura cellulare (ad esempio membrane cellulari e organelli). Ciò è particolarmente evidente nel cervello, dove la diffusione dell'acqua è fortemente limitata dagli assoni mielinizzati. Qualitativamente, un'elevata curtosi diffusionale suggerisce un alto grado di eterogeneità diffusionale e complessità microstrutturale. La DKI considera il comportamento non gaussiano delle molecole d'acqua nei sistemi biologici, fornendo misure precise e sensibili inerenti alla complessità microstrutturale ed eterogeneità diffusionale.

Poiché la diffusione nel cervello è anisotropa, la DKI richiede l'introduzione di un tensore di curtosi di diffusione in aggiunta al tensore di diffusione usato in DTI. Dai tensori di curtosi diffusivo e diffusionale (che sono calcolati insieme da un singolo set di dati di imaging pesato sulla diffusione), possono essere calcolati degli indici DTI standard, come la diffusività media e l'anisotropia frazionaria, oppure altri che

riflettono la curtosità diffusiva, come la kurtosità media MK (coefficiente di kurtosità apparente, che rappresenta la diffusione media su tutte le direzioni), assiale $k_{||}$ (kurtosità lungo la direzione assiale) e radiale k_{\perp} (kurtosità lungo la direzione radiale). Gli indici di kurtosità diffusionali sono fortemente legati alla microstruttura cellulare, in quanto questa è la principale fonte di non-gaussianità diffusionale nei tessuti. I protocolli DKI differiscono dai protocolli DTI per richiedere almeno 3 valori b (rispetto ai 2 valori b per DTI) e almeno 15 direzioni del gradiente di diffusione indipendenti (rispetto a 6 per DTI). I protocolli tipici per il cervello hanno valori b di 0, 1000, 2000 s/mm^2 con 30 direzioni di diffusione. Per cui, la DKI richiede elevati b value, a differenza dell'IVIM che è ottenuto utilizzando bassi b value (fig 3.7).

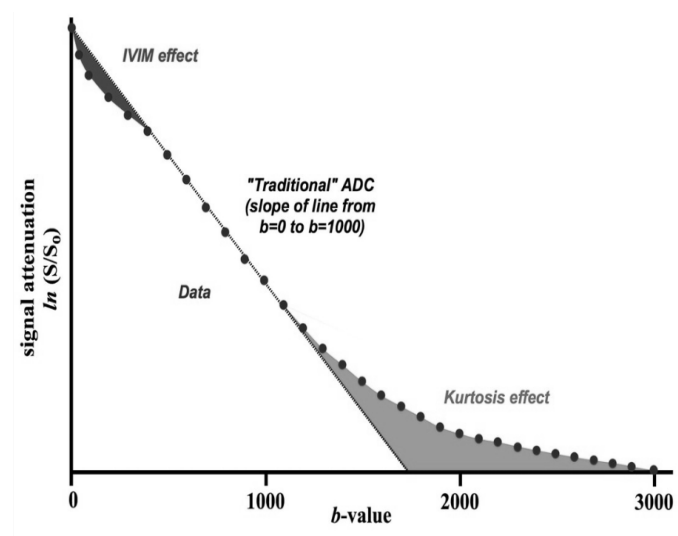


Fig.3.7 A valori b bassi ($\leq 300 - 500 s/mm^2$) l'attenuazione del segnale è maggiore del previsto a causa dell'aumento delle perdite di IVIM dalla perfusione microscopica. A valori b più grandi $\geq 1000-1500 s/mm^2$, l'attenuazione del segnale è spesso inferiore al previsto, un effetto dovuto alla distribuzione non gaussiana. A bassi valori b devono essere considerati gli effetti IVIM dovuti alla perfusione microscopica (in alto a sinistra), mentre con valori b elevati devono essere considerati gli effetti della curtosità (in basso a destra).

3.6 Applicazioni della DTI

L'applicazione principale della DTI è sul sistema nervoso centrale: può essere utilizzata per studiare lo sviluppo del cervello durante l'infanzia e l'adolescenza e le alterazioni della sostanza bianca associate all'autismo, alla sindrome da deficit di attenzione/iperattività, alle psicosi e all'abuso di sostanze stupefacenti o alcol. Altre indicazioni sono: lo studio di patologie demielinizzanti (ad esempio la sclerosi

multipla), neurodegenerative (molto utile per distinguere la malattia di Alzheimer da altri tipi di demenze), la localizzazione dei tumori in rapporto ai fasci di fibre nervose della sostanza bianca (i tumori possono infiltrare o distruggere le fibre). Recentemente è stato dimostrato che le immagini DTI sono un valido ausilio durante il follow-up, perché consentono di stimare l'effetto (successo o fallimento) della chemioterapia non solo in base alle variazioni di volume del tumore, ma anche grazie a considerazioni legate al valore delle mappe calcolate dal tensore di diffusione punto per punto nella regione tumorale: l'aumento o la diminuzione delle grandezze scalari osservate sono un indicatore sensibile dell'evoluzione della patologia. Allo scopo di adoperare vantaggiosamente questa tecnica, occorre confrontare due immagini, rispettivamente pre- e post-trattamento chemioterapico, e studiare le variazioni di segnale interpretandole opportunamente. La DTI, inoltre, assume una particolare importanza nella preparazione degli interventi chirurgici per identificare le sedi di passaggio delle più importanti fibre nervose per prevenirne il danno durante le procedure. Uno dei fasci più utilizzati è il tratto cortico-spinale, sede del passaggio di tutte le vie motorie volontarie, che se danneggiato porta ad importanti paralisi. La sensibilità all'orientamento delle fibre sembra essere d'aiuto anche nell'arena della medicina dello sport dove aiuta molto l'imaging della struttura e delle lesioni ai muscoli e tendini. Infatti, altre applicazioni della DTI si possono avere nell'investigazione del muscolo scheletrico, del muscolo cardiaco e del distretto renale. Quest'ultima è trattata in maniera più approfondita nel prossimo capitolo.

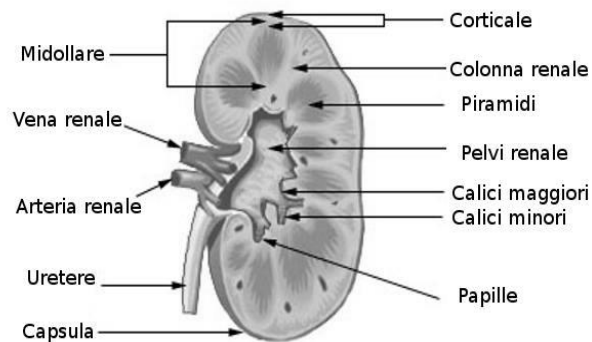
4 DIFFUSIONE E TRATTOGRAFIA RENALE

4.1 Anatomia e fisiologia del rene

L'apparato urinario è costituito dai reni, dalla pelvi e dagli ureteri che convogliano l'urina nella vescica e dall'uretra che la trasporta all'esterno del corpo. È un insieme di organi il cui compito è quello di filtrare il sangue dai cataboliti che vi si accumulano e di eliminarli all'esterno. I reni sono organi parenchimosi pari a forma di fagiolo ed orientati obliquamente dall'alto in basso, mediolateralmente e dall'indietro all'avanti. Sono organi retroperitoneali, contenuti nella loggia renale, situati a lato della colonna vertebrale tra D12 e L3 ed il rene destro è leggermente più corto e tozzo ed è posizionato lievemente più in basso del rene sinistro a causa dell'ingombro del fegato. I reni sono costituiti da un polo superiore e un polo inferiore, una faccia anteriore, una faccia posteriore, un margine laterale convesso e un margine mediale concavo (in rapporto a destra con la vena cava inferiore ed a sinistra con l'aorta addominale) su cui è presente l'ilo del rene. Attraverso questa fessura arrivano nei reni l'arteria renale (dietro alla vena renale) e i nervi e ne escono la vena renale (anterioremente) e la prima parte della via urinaria chiamata pelvi o bacinetto renale. Il parenchima renale è costituito da una zona più periferica, la corticale (contenente i glomeruli renali ed i tubuli contorti prossimali e distali) e una zona centrale, più chiara (perché è meno vascolarizzata), la midollare, costituita dall'ansa di Henle e dai collettori che si riuniscono in canali sempre più ampi formando le piramidi (variabili da 8 a 12), con la base rivolta verso la corticale e l'apice o papilla aggettante nel seno renale, precisamente nei calici minori, in numero uguale a quello delle piramidi. I calici minori convergono in 3 calici maggiori, uno per la parte superiore del rene, uno per quella intermedia e un altro per quella inferiore. I 3 calici maggiori convergono in una struttura cava chiamata pelvi renale (fig 4.1).

Fig.4.1

Sezione frontale del rene



Il rene assume varie funzioni: escrezione prodotti di scarto del metabolismo (urea, creatinina, acido urico, prodotti finali degradazione emoglobina, metaboliti di vari ormoni) e di sostanze estranee (farmaci, additivi alimentari), regolazione dell'equilibrio idrico, regolazione dell'osmolarità e concentrazione di elettroliti dei liquidi corporei, regolazione della pressione arteriosa tramite il sistema renina-angiotensina-aldosterone, regolazione dell'equilibrio acido-base, secrezione di ormoni (eritropoietina), produzione della forma attiva della vitamina D. L'elemento funzionale del rene è il nefrone, esso comprende varie strutture in cui avvengono i processi di filtrazione, riassorbimento e di secrezione. Ogni rene contiene circa un milione di nefroni, ognuno dei quali è costituito dal corpuscolo del Malpighi (fig 4.2) e da un sistema tubulare (tubulo contorto prossimale, l'ansa di Henle e il tubulo contorto distale). Il corpuscolo renale è costituito da un gomitollo di capillari fenestrati chiamato glomerulo ed una capsula che circonda il glomerulo chiamata capsula di Bowman. Quando il sangue circola attraverso il glomerulo, l'acqua e i soluti in esso contenuti sono filtrati e passano allo spazio capsulare. Quindi, è qui che avviene il processo di filtrazione. Nel corpuscolo renale possiamo riconoscere due poli opposti: un polo vascolare, dove troviamo le arteriole glomerulari afferenti ed efferenti; ed un polo tubulare, dove il tubulo contorto prossimale prende rapporto con il corpuscolo renale. Dopo questa fase il filtrato glomerulare scorre nel tubulo prossimale. Il tubulo contorto prossimale origina dal polo tubulare del corpuscolo renale ed è costituito da cellule che si occupano del riassorbimento di acqua e soluti. L'ansa di Henle è caratterizzata da una branca discendente che si estende nella midollare, e una branca ascendente che torna indietro verso la corteccia renale. La funzione principale dell'ansa di Henle è quella di facilitare il riassorbimento di acqua e soluti dal liquido tubulare filtrato. Il tubulo contorto distale origina nella corteccia renale al termine della

branca ascendente. Qui avviene un ulteriore perfezionamento dell'urina, grazie all'azione della renina e dell'ADH. Si ha la secrezione di ioni come il potassio e l'idrogeno, nel fluido tubulare, oltre al riassorbimento dell'acqua sotto il controllo degli ormoni ADH e aldosterone. L'ADH è secreto in risposta o ad un aumento della concentrazione di ioni del sangue o ad una caduta di volume ematico (ad esempio quando il corpo è disidratato). Una volta che il fluido tubulare (pre-urina) lascia il tubulo contorto distale, viene convogliato nei dotti collettori e a questo punto può essere definito urina. L'urina dai dotti collettori raggiunge i calici minori e maggiori per poi essere convogliata all'esterno mediante le vie escrettrici.

In sintesi, la produzione di urina nel nefrone richiede tre processi distinti: ultrafiltrazione glomerulare, riassorbimento e secrezione tubulare. La filtrazione è il processo mediante il quale l'acqua e alcuni soluti disciolti nel plasma sanguigno si spostano passivamente dal glomerulo del corpuscolo renale di Malpighi grazie alle differenze di pressione presenti a livello della membrana di filtrazione tra questi due compartimenti. Il riassorbimento tubulare si ha quando le sostanze presenti nel filtrato si spostano per diffusione attraverso la parete dei tubuli renali per tornare al sangue. Normalmente tutti i soluti necessari e gran parte dell'acqua che costituiscono il filtrato sono riassorbiti nel sangue. La secrezione tubulare consiste nel trasporto di soluti e ioni in eccesso dal sangue al liquido tubulare.

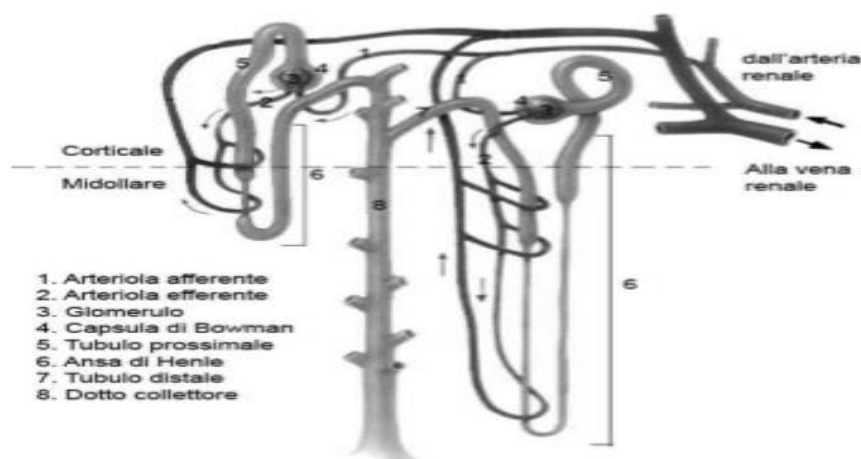


Fig.4.2 - Questa è una rappresentazione degli elementi che costituiscono il nefrone.

4.2 Urografia in RM

Tra le tante tecniche per lo studio dell'apparato urinario, l'urografia in RM (uro RM) rappresenta una metodica di secondo livello. Esistono due possibilità di studio: una uro RM statica ed una dinamica (escretoria).

L'uro RM dei "fluidi statici" si avvale di sequenze fortemente pesate in T2 capaci di fornire un imaging a calco dei fluidi statici o semi stazionari (urina), con riduzione ed annullamento completo del segnale dei tessuti e dei parenchimi circostanti (indicata nello studio dell'uropatia ostruttiva). Questa sequenza è anche detta *pielo rm* o sequenza idrografica (fig 4.3). I vantaggi della statica sono: il mancato utilizzo del mezzo di contrasto (chelati di gadolinio) che consente l'esecuzione dell'esame anche nei pazienti in cui il mezzo di contrasto è controindicato ed è indipendente dalla funzionalità escretoria del rene, quindi si può utilizzare anche nei pazienti che hanno un'insufficienza renale o che hanno un'ostruzione o dilatazione dell'apparato escretore. Lo svantaggio della statica è dato dall'interferenza di tutte le strutture fluide, normali o patologiche, presenti nella porzione addomino pelvica, ad esempio la presenza di liquido nelle anse intestinali. Per evitare tale problema si può somministrare un mezzo di contrasto superparamagnetico (Lumirem) per via orale, che sopprime il segnale dei liquidi gastrointestinali. Talvolta, lo stesso effetto si può ottenere facendo bere al paziente del succo di ananas o di mirtillo, essendo sostanze ad alto contenuto di manganese. Per quanto riguarda la preparazione del paziente e la tecnica di acquisizione, nella statica il digiuno non è indispensabile, è fondamentale l'idratazione del paziente e lo svuotamento della vescica, si posiziona il paziente in decubito supino, generalmente, nel verso *feet first* in maniera tale da ridurre i problemi di claustrofobia e si utilizza la bobina *body* che copre tutto il distretto addomino pelvico. Per ottenere la sequenza statica, si può utilizzare un approccio radiale in cui si effettuano scansioni coronali oblique ottenute con angolazione variabile e posizionando il centro della raggiera sull'ilo di uno dei due reni, oppure si può ricorrere ad un approccio combinato per entrambi i reni. Nello studio combinato dei due reni si posiziona il pacchetto in coronale classico comprendendo entrambi i reni, utilizzando un'acquisizione volumetrica.

Nell'uro RM dinamica, invece, la visualizzazione delle vie escretrici renali è resa possibile dall'escrezione del Gadolinio. Si utilizza una sequenza T1 escretoria con soppressione del tessuto adiposo spettrale (SPIR). Il digiuno è fondamentale perché il

paziente può vomitare, si deve valutare attentamente la creatinina e quindi il GFR perché il mezzo di contrasto utilizzato in risonanza magnetica in genere è controindicato nel caso in cui il GFR sia minore di 30 ml/min (per prevenire la fibrosi sistemica nefrogenica). Si idrata il paziente, anche in questo caso, con acqua o diuretico mentre come mezzo di contrasto si utilizza un chelato di gadolinio ad escrezione renale. L'esame si esegue in apnea respiratoria per evitare artefatti da movimento, si utilizza una sequenza T1 volumetrica coronale col FOV esteso dagli emi-diaframmi alla sinfisi pubica. È importante verificare sul piano sagittale il corretto posizionamento del piano coronale obliquo lungo l'asse delle vie urinarie. Quindi si acquisiscono le sequenze convenzionali: T1 assiale, T2 coronale e assiale con e senza soppressione del grasso e la T1 dual (sfrutta un doppio tempo di echo, il primo più lungo e il secondo più breve, per ottenere serie di immagini in phase e out phase, così da caratterizzare il tessuto adiposo presente in alcuni tumori renali come il carcinoma a cellule chiare e l'angiomiolipoma). L'uro RM dinamica prevede, come l'uro TC, diverse fasi di acquisizione: la fase arteriosa nei primi 20-25 secondi dalla somministrazione, che permette di valutare la perfusione renale e quindi eventuali stenosi dell'arteria renale ed ischemie renali; la fase corticomidollare acquisita dopo 20-35 secondi, per valutare eventuali lesioni solide; la fase nefrografica dopo 100-180 secondi, nella quale si studia in maniera ottimale il parenchima renale, distinguendo le lesioni solide da quelle cistiche. L'ultima fase è quella escretoria (dai 5 ai 30 minuti) dove compare il mezzo di contrasto nei calici e poi successivamente nella pelvi, negli ureteri e nella vescica, che funge da serbatoio dell'urina.

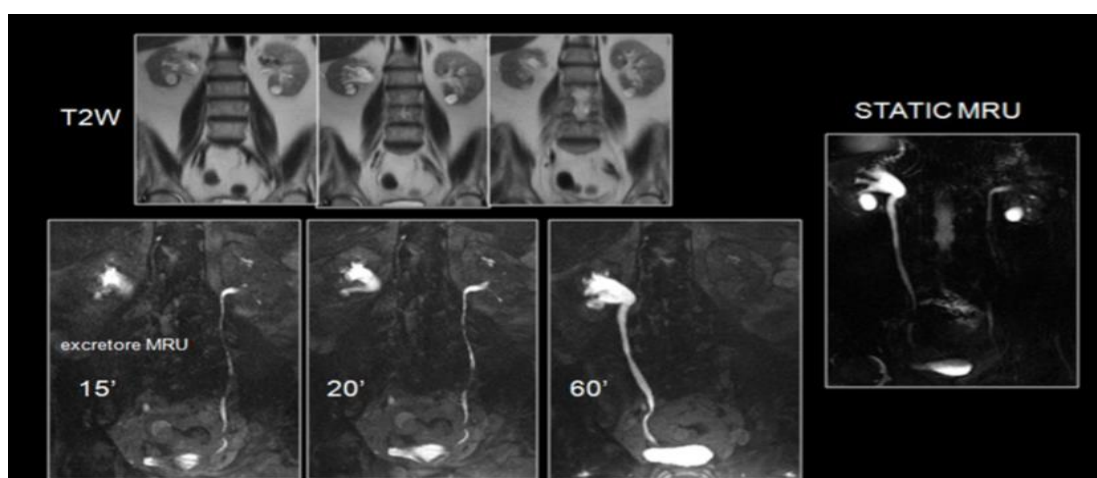


Fig.4.3 - Nell'uro RM statica si visualizzano tutti i liquidi stazionari come l'urina e il liquor, con la soppressione di tutti i parenchimi addominali circostanti, che invece risultano visibili in una T2 convenzionale. Nella T1 dinamica, invece, non si vede il liquor, ma si può seguire l'escrezione del gadolinio nelle vie urinarie.

4.3 La diffusione applicata sul distretto renale

Dopo il successo della DWI nel cervello, la fattibilità della DWI nel rene è stata ben dimostrata in impostazioni sia sperimentali che cliniche. La DWI è particolarmente sensibile alle alterazioni nell'interstizio renale, che si hanno durante la fibrosi renale, un'infiltrazione cellulare (infiammatoria o tumorale) o edema, nella perfusione renale e nel passaggio dell'acqua nel compartimento tubulare. Intensi sforzi di ricerca in corso mirano a svelare il potenziale della DWI come biomarcatore di imaging per malattie renali, con i risultati più promettenti nella stima della fibrosi, nella malattia renale cronica (CKD), nella guida alla biopsia nella disfunzione renale acuta dovuta al trapianto e nella pielonefrite acuta. Quindi, oltre alla valutazione di alcuni tumori renali, alcuni gruppi di ricerca hanno indagato e stanno indagando la possibilità di valutare la funzionalità renale tramite DWI in altre patologie come la stenosi dell'arteria renale (RAS) e la caratterizzazione di lesioni espansive renali.

Insufficienza renale: diversi studi hanno dimostrato che i valori di ADC della corticale e della midollare renale sono più bassi nei pazienti affetti da insufficienza renale sia acuta che cronica rispetto ai valori di ADC della corticale e midollare di volontari sani (fig 4.4). Hanno dimostrato che, in uno stesso paziente, un rene ostruito non funzionante, ha valori di ADC più bassi del rene controlaterale normalmente funzionante. Queste differenze nei valori di ADC tra rene patologico e rene sano, sono presenti sia con l'utilizzo di acquisizioni DWI con alti valori di b, sia con acquisizioni DWI che utilizzano bassi valori di b; questo dato è molto importante, in quanto suggerisce che le informazioni sulla perfusione capillare (ottenuta con bassi valori di b) e sulla diffusione, possono entrambe essere utilizzate per caratterizzare la funzionalità renale tramite il calcolo dell'ADC. È stata inoltre dimostrata una correlazione tra i valori di ADC della midollare e della corticale renale con i valori di creatinemia e di GFR (l'ADC e il GFR sono direttamente proporzionali). Esiste una generale concordanza nei dati sperimentali dei diversi gruppi di ricercatori nell'evidenziare il potenziale ruolo del calcolo dei valori di ADC renali nella valutazione della funzionalità renale. La forma più comune di CKD e la principale causa della malattia renale allo stadio terminale, è malattia renale diabetica (DKD) che è una complicanza comune del diabete. Numerosi studi hanno mostrato valori inferiori di ADC corticali e midollari nel DKD rispetto ai volontari sani. Nel complesso, la DWI potrebbe essere la tecnica di imaging preferita in tutti i tipi di insufficienza renale cronica, anche prima della riduzione della funzione renale, per valutare il grado di

fibrosi tissutale, prevedere l'evoluzione della funzione renale e seguire i cambiamenti della microstruttura che si verificano.

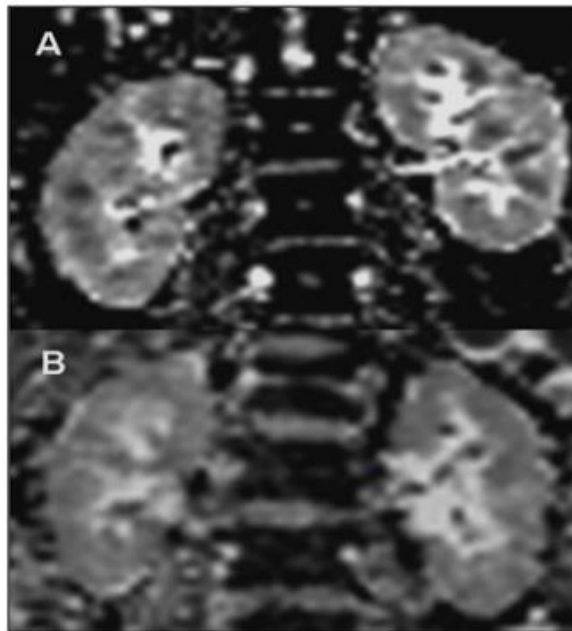


Fig.4.4 -Nei reni sani (A), è possibile notare una differenza nei valori di ADC tra la corticale e la midollare renali. Questa differenziazione è persa nell'insufficienza renale cronica (B).

Fibrosi: la malattia renale cronica (CKD) ha un'incidenza crescente e la fibrosi (l'accumulo di matrice extracellulare) è un comune denominatore di diversi processi patologici nello sviluppo di CKD. Numerosi studi hanno costantemente dimostrato la correlazione negativa tra ADC renale e quantità di fibrosi renale (fig 4.5) nella CKD. Uno studio sperimentale della fibrosi renale nei ratti ha suggerito che questa correlazione è semplicemente causata dalla riduzione della perfusione renale e della filtrazione glomerulare piuttosto che direttamente dalla deposizione di matrice fibrotica. Non è chiaro se la riduzione osservata dei valori di ADC riflette solo la diminuzione della funzionalità renale o il grado di alterazioni fibrotiche dei tessuti, oppure tutti e due. I limiti all'uso clinico della DWI nella CKD sono la bassa risoluzione spaziale dell'immagine, la variabilità del protocollo e la variabilità interindividuale. Nonostante ciò, l'imaging in diffusione rappresenta un metodo promettente per il rilevamento e il monitoraggio non invasivo (in alternativa alla biopsia) della fibrosi renale e della CKD. Ciò è possibile attraverso la valutazione dei classici parametri di diffusione: una misura di base è il coefficiente di diffusione apparente (ADC) che è la diffusività D osservata lungo una direzione n . Tuttavia, la scelta inappropriata dei valori di b , può influenzare le misurazioni dell'ADC a causa degli effetti del movimento incoerente intravoxel (perfusione e filtrazione renale).

Inoltre, le metriche della DWI come l'ADC potrebbero non essere i markers di diffusione più sensibili per rilevare la fibrosi. Esistono, però, tecniche di diffusione più avanzate che offrono parametri sensibili a più aspetti della microstruttura cellulare, tra cui la DTI. La DTI con il parametro anisotropia frazionaria riflette la variazione direzionale della diffusione dell'acqua, dove zero indica la diffusione isotropica e uno indica la diffusione in una sola direzione. Ostacoli e restrizioni dovuti alla microstruttura tissutale fanno sì che la diffusione non sia gaussiana, ragion per cui non viene catturata dalla DTI. Per descrivere questo effetto, la DKI è stata proposta una decina di anni fa ed è ampiamente ritenuta in grado di riflettere sensibilmente la microstruttura dei tessuti in modo complementare alla DWI e alla DTI. La DKI è una semplice estensione del modello DTI che tenendo conto degli effetti non gaussiani, ha dimostrato di migliorare le stime dei tensori di diffusione e di far sì che le metriche di diffusione stimate mostrino una minore dipendenza dal valore b . I metodi proposti di recente consentono di eseguire la DKI in un lasso di tempo clinicamente rilevante (non meno di un minuto inclusa la post-elaborazione). Fino ad ora sono stati pubblicati pochi studi di DKI in reni umani normali. Questi studi hanno dimostrato che i valori di FA e k_{\perp} sono più grandi nella midollare rispetto alla corticale, mentre i valori di MK e k_{\parallel} sono maggiori nella corticale rispetto alla midollare. Questa differenza è dovuta alla presenza di vasi e tubuli disposti radialmente nella midollare. Un recente studio mostra che la DKI è preziosa nella valutazione del carcinoma renale a cellule chiare, utilizzando 7 b value (intervallo 0–2000 s / mm²) e sono state trovate tre direzioni di codifica per caratterizzare quantitativamente diversi gradi di tumore renale. Anche se questo mostra risultati promettenti per l'uso della DKI nella diagnostica della malattia renale, la mancanza di un protocollo standard potrebbe potenzialmente causare risultati contrastanti e valori assoluti non comparabili. In conclusione, da alcuni studi si può osservare come la fibrosi influisce sulle metriche DKI in assenza di effetti fisiologici.

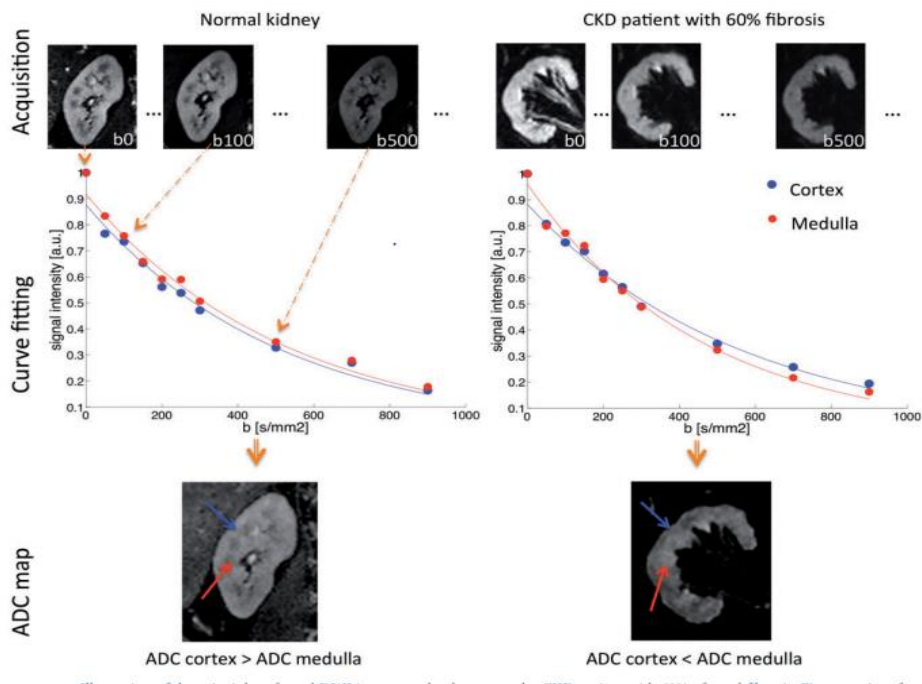


Fig.4.5 - Illustrazione dei principi della DWI renale in un volontario sano e in un paziente con insufficienza renale cronica con il 60% di fibrosi renale. Vengono acquisite immagini con vari gradi di diffusione (prima riga). Quindi, viene calcolata la mappa ADC. Si può notare la differenza negli adattamenti corticali e midollari tra il volontario normale senza fibrosi e il paziente con insufficienza renale cronica. La curva della midollare nel paziente con insufficienza renale cronica presenta una curvatura più forte che riflette un aumento dell'ADC. Nel volontario normale (a sinistra), l'ADC è più alto nella corticale (freccia blu) rispetto alla midollare (freccia rossa). Il contrario si verifica nel paziente con insufficienza renale cronica (a destra), dove l'ADC è più alto nella midollare rispetto alla corticale in accordo con l'adattamento della curva. Questa inversione della differenza dell'ADC cortico-midollare è correlata alla quantità di fibrosi presente nel paziente con insufficienza renale cronica.

Rene trapiantato: in uno studio sui ratti i valori di ADC della midollare e della corticale renali di un rene trapiantato sono risultati più bassi rispetto ai valori di ADC dei reni native. La riduzione dei valori di ADC è stata attribuita alla perdita dell'innervazione autonoma. Nel rene trapiantato, così come nel rene nativo, i valori di ADC della corticale e della midollare renale dimostrano una buona correlazione con i livelli di creatininemia. La DWI ha quindi la potenzialità di valutare la funzionalità del rene trapiantato senza la necessità di somministrare il mezzo di contrasto. Pertanto, l'ADC può rappresentare una possibile alternativa per la valutazione della funzionalità renale, particolarmente utile nei pazienti ad alto rischio per la fibrosi nefrogenica sistemica (NSF), una patologia riscontrata in alcuni pazienti con insufficienza renale, a cui venivano somministrati i chelati aperti di gadolinio. La DWI, inoltre, ha mostrato risultati promettenti nello studio di pazienti trapiantati, con funzionalità renale compromessa in base ai valori di ADC più bassi rispetto ai normali allotrapianti renali.

Sebbene i valori ADC fossero significativamente inferiori nei reni trapiantati con rigetto acuto (AR) e nella necrosi tubulare acuta, rispetto ai reni allotrapiantati sani, la DWI non è in grado di differenziare le varie patologie sottostanti responsabili della compromissione della funzionalità renale.

Stenosi dell'arteria renale (RAS): è stato dimostrato in un modello animale che la DWI con l'utilizzo di multipli valori di b può essere utilizzata per misurare cambiamenti della perfusione renale. La porzione di ADC dovuta alla componente perfusionale può essere calcolata mediante acquisizioni DWI che utilizzino multipli valori di b , senza la necessità di iniettare alcun mezzo di contrasto esogeno; questa possibilità può potenzialmente essere utile nella valutazione delle stenosi delle arterie renali. È stato dimostrato che i reni di pazienti affetti da severa RAS hanno valori di ADC più bassi rispetto ai valori di ADC dei reni di volontari sani. I valori di ADC possono, quindi, essere utilizzati per differenziare pazienti non affetti o con minima RAS dai pazienti con moderata e severa RAS (fig.4.6). Inoltre, si possono ottenere risultati migliori in questa patologia applicando l'IVIM, utilizzando bassi b value.

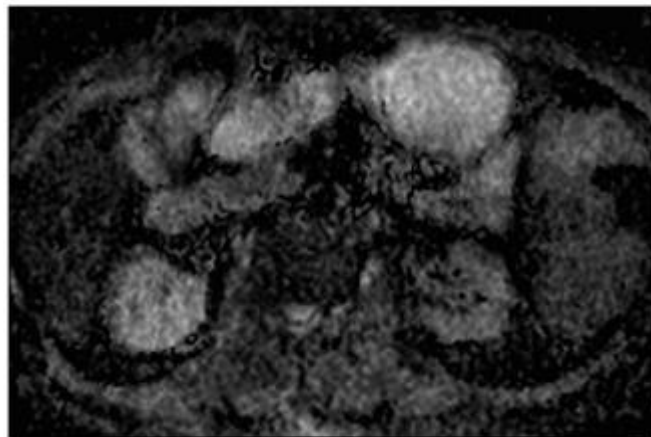


Fig.4.6 - Mappa ADC calcolata da immagini assiali ottenute con acquisizione DWI. Paziente con stenosi severa dell'arteria renale sinistra. Il rene sinistro dimostra valori di ADC inferiori al rene di destra.

Pielonefrite acuta (APN): la DWI ha dimostrato di essere più sensibile dell'ecografia per rilevare i segmenti renali infetti durante l'APN. Con una semplice analisi qualitativa, in combinazione con informazioni cliniche, la DWI potrebbe avere un impatto clinico significativo sulla conferma dell'efficacia del trattamento durante il follow-up, principalmente nei bambini e nelle donne in gravidanza, sostituendo la risonanza magnetica col mezzo di contrasto, evitando potenziali effetti collaterali dovuti alla somministrazione di quest'ultimo.

Caratterizzazione di lesioni espansive renali: sono state studiate 109 lesioni renali in 64 pazienti dimostrando che la DWI può essere usata per differenziare i carcinomi renali dagli oncocitomi e caratterizzare i sottotipi istologici del carcinoma renale. L'ADC è significativamente più basso nelle lesioni solide rispetto a quelle cistiche, mentre il valore di FA dei tumori solidi è significativamente superiore a quello calcolato nelle lesioni cistiche (tabella 2).

| b-value | ADC ($\times 10^3$) mm ² /s) | | | | | |
|---------------|---|----------------|--------------------|----------------|--------------------|----------------|
| | ciste | | carcinoma | | parenchima | |
| | media \pm dev.st | %pixel anomali | media \pm dev.st | %pixel anomali | media \pm dev.st | %pixel anomali |
| b=500 | 3,38 \pm 0,17 | 0 | 2,26 \pm 0,24 | 0 | 2,50 \pm 0,26 | 0 |
| b=700 | 3,37 \pm 0,06 | 0 | 2,27 \pm 0,26 | 0 | 2,39 \pm 0,28 | 0 |
| b=900 | 3,27 \pm 0,04 | 0 | 1,94 \pm 0,05 | 0 | 2,20 \pm 0,34 | 0 |
| b=1500 | 2,61 \pm 0,001 | 19 \pm 0,5 | 1,75 \pm 0,14 | 4 \pm 5,8 | 2,09 \pm 0,33 | 0 |

Tabella 2: media e deviazione standard di ADC di cisti, carcinoma, parenchima per diversi valori di b-value (500, 700, 900, 1500) e la media della % percentuale dei pixel anomali trovati all'interno della regione selezionata. Dai risultati riportati in tabella risulta evidente come al crescere del b-value il parametro ADC delle strutture analizzate diminuisca. Per cisti e carcinoma, le acquisizioni con b-value pari a 500 e 700 non evidenziano valori di ADC diversi. Inoltre, al crescere del b-value, i valori medi di ADC continuano a differenziare le varie strutture allo stesso modo: i valori di ADC delle cisti risultano sempre maggiori dei valori di parenchima, e questi ultimi del carcinoma.

Dopo aver descritto come varia l'ADC nelle varie patologie renali, si può dedurre che una riduzione della perfusione, del flusso tubulare e dello spazio extracellulare, comportano una riduzione di ADC.

Per quanto riguarda la preparazione del paziente all'esame, si raccomanda di idratare i pazienti prima dell'acquisizione della DWI, per eliminare questo potenziale confondente. I valori ADC risultano ridotti nei reni disidratati, mentre aumentano con la reidratazione, a causa dell'aumento della velocità di filtrazione glomerulare e dell'aumento del movimento osmotico dell'acqua nel rene. Passando ora alla tecnica di acquisizione, la DWI renale viene eseguita generalmente sul piano assiale o coronale. Un orientamento coronale fornisce più facilmente una completa copertura dei reni, utilizzando un numero minore di strati rispetto all'orientamento assiale, ma è più incline al movimento respiratorio. I modi per mitigare il movimento respiratorio durante l'acquisizione dei dati comprendono: l'attivazione fisiologica della sequenza di impulsi col triggering (dichiarata nel 38,3%), l'esecuzione di acquisizioni col

respiro trattenuto (dichiarate nel 18,2%) oppure a respiro libero con acquisizioni multiple (poiché la DWI è poco sensibile ad artefatti da movimento respiratorio). Si può dedurre che si raccomanda l'utilizzo del triggering a causa della migliore qualità dell'immagine e riproducibilità. Per ottenere i parametri quantitativi di diffusione (come la mappa ADC) è importante scegliere almeno due diversi b value, uno basso ed uno più alto. Solitamente nella DWI renale (fig 4.7) si scelgono b value di 0 e 500 secondi / mm^2 , in modo da produrre un rapporto segnale-rumore (SNR) sufficiente, tenendo conto anche degli effetti del flusso renale. Infatti, quando vengono applicati valori b elevati, l'influenza della perfusione viene in gran parte annullata e il valore ADC si avvicina alla diffusione reale. I valori b bassi sono influenzati sia dalla perfusione che dalla diffusione. Grazie alla formula rappresentata in figura 4.8, è stato possibile calcolare il valore di ADC per ciascun voxel e quindi la mappa ADC per l'intera immagine. Si può, inoltre, saturare il tessuto adiposo per evitare artefatti da chemical shift e si possono utilizzare due bande di presaturazione, posizionate perpendicolarmente alle sezioni anteriori e posteriori, rispettivamente, per sopprimere gli effetti del movimento.

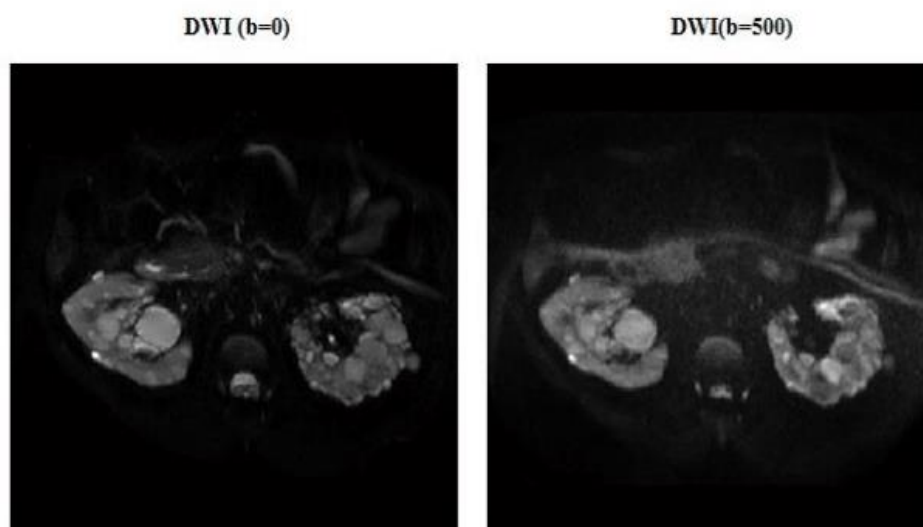


Fig.4.7 - Immagine a sinistra: acquisizione DWI con $b=0$ di una sezione di reni policistici allo stadio 1-2. Immagine a destra: acquisizione DWI con $b=500$ della stessa sezione.

$$ADC(i, j) = \frac{\ln \left(\frac{DWI(i, j; b = 0)}{DWI(i, j; b > 0)} \right)}{b}$$

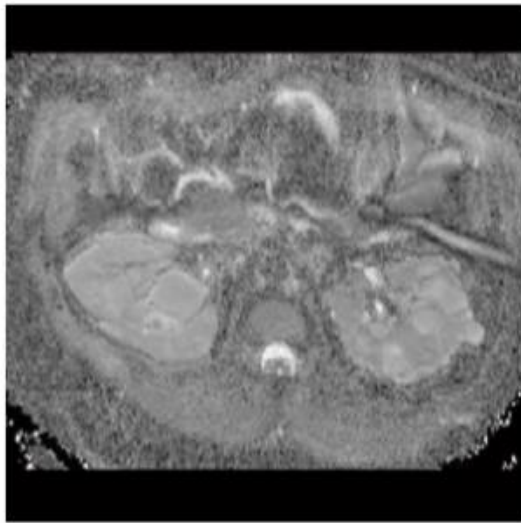


Fig.4.8- È rappresentata la formula che consente di ricavare l'ADC a partire dai due b value impostati dall'operatore. Sotto alla formula matematica è rappresentata la mappa ADC di due reni policistici di una paziente in stadio 1-2. Qualitativamente le mappe ADC appaiono come il negativo delle DWI, al contrario delle DWI, non risentono di alcuna pesatura T2 residua e contengono una precisa informazione quantitativa relativa ai processi diffusivi.

Dopo l'esecuzione del protocollo di studio, si passa poi al post processing. Esiste una grande eterogeneità di elaborazioni DWI e negli strumenti software utilizzati per correggere il movimento del paziente.

Il calcolo dei parametri DWI è influenzato dalla qualità dell'immagine, infatti è necessaria un'attenta ispezione visiva prima di eseguire il post processing (per identificare possibili artefatti ed eventualmente escludere immagini problematiche) insieme alla correzione del movimento (che fino ad oggi è stata eseguita solo in una minoranza di casi), per avere dei risultati affidabili. Le informazioni ottenibili con la DWI (sulla densità cellulare tissutale, della integrità delle membrane e sulla presenza o assenza di altri ostacoli alla diffusione delle molecole di acqua) possono essere valutate sia qualitativamente (confrontando le immagini DWI e con la mappa ADC) sia quantitativamente (valutazione ADC tramite ROI). Il post processing della DWI renale consiste nella delineazione di diverse ROI (fig.4.9) per quantificare i parametri DWI (ad esempio per la generazione delle mappe ADC) nell'intero rene o separatamente nella corticale e nella midollare. Strutture vascolari, confini dei tessuti, aree necrotiche, artefatti, aree eterogenee, cisti e lesioni che potrebbero influenzare i

valori medi, dovrebbero essere esclusi dalla ROI. Le ROI dovrebbero essere collocate nel polo superiore, nel polo inferiore e nella zona intermedia dei reni (ad esempio nell'ilo renale) per avere valori medi rappresentativi, o nelle aree iperintense e ipointense in caso di reni eterogenei. Tra i parametri di diffusione calcolati, anche sul distretto renale si può distinguere la diffusione legata alla microcircolazione del sangue, la quale provoca un decadimento monoesponenziale del segnale di risonanza magnetica, ma 10 volte più veloce, che si traduce in un decadimento biesponenziale del segnale di diffusione. Questo modello consente di calcolare, oltre all'ADC, la pseudodiffusione (D^*), la frazione fluente all'interno dei vasi sanguigni e dei tubuli (F) e il vero coefficiente di diffusione dell'acqua nel tessuto (D).

Il vantaggio principale della DWI renale è quello di valutare separatamente la funzionalità dei due reni senza l'utilizzo di mezzi di contrasto esogeni. Vista la rapidità della sequenza di acquisizione, questa può essere aggiunta ai protocolli clinici d'esame senza un rilevante incremento dei tempi di scansione o disagio per i pazienti.

La limitazione di questa tecnica è la mancanza di consenso riguardo ai valori di b da utilizzare nelle sequenze DWI, che rende difficili da comparare i valori di ADC ottenuti nei diversi studi e quindi generare dei valori di ADC di riferimento da usare come cut-off per differenziare un paziente malato da un paziente sano. La precisione e l'accuratezza nella misurazione dei valori di ADC ottenuti da diversi apparecchi di risonanza necessita di ulteriore validazione. Inoltre, nonostante il potenziale DWI sia ben riconosciuto, la conferma specifica di meccanismi e processi misurati dalla DWI non è stato ancora chiaramente stabilito. Questo è principalmente a causa dell'assenza di un gold standard per effettuare misurazioni in vivo sulla diffusione, perfusione renale e sul flusso glomerulare e tubolare. Pertanto, la dipendenza multifattoriale del contrasto DWI complica la comprensione della sua origine e probabilmente diminuisce la specificità delle misurazioni relative all'ADC.

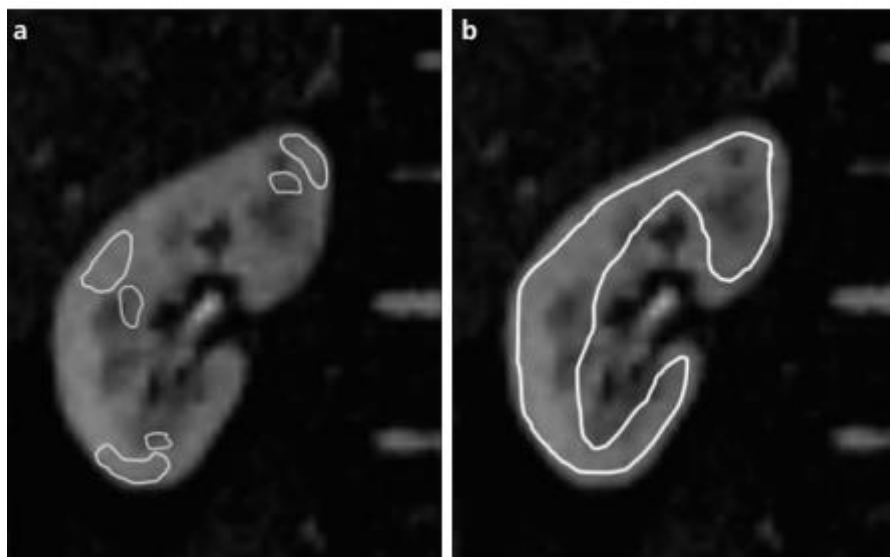


Fig 4.9 - ROI a mano libera posizionate separatamente nella corticale e nella midollare del polo superiore, zona centrale e polo inferiore (a) e posizionamento globale della ROI, compresa tutta la corticale e la midollare (b) è mostrato sulle immagini $b = 0$.

4.4 DTI renale

I movimenti casuali delle molecole d'acqua studiati tramite la DWI e quantificati tramite le mappe di ADC possiedono oltre ad un valore scalare anche una direzione, che può essere studiata tramite l'imaging del tensore di diffusione (DTI). Come già spiegato nel capitolo precedente, quando i movimenti di diffusione avvengono in maniera omogenea (ovvero non secondo delle direzioni preferenziali) la diffusione è detta isotropa, se la diffusione avviene secondo direzioni preferenziali (come ad esempio lungo l'assone di un neurone) la diffusione è detta anisotropa. L'anisotropia fornisce informazioni sulla struttura di un tessuto e sui flussi che avvengono nel medesimo. Nei reni, la diffusione ha proprietà anisotrope a causa della presenza di condotti di raccolta, tubuli e vasi (come i vasa recta) orientati radialmente, specialmente nella midollare. Infatti, si può osservare che nella midollare renale i vasa recta ed i tubuli renali hanno un orientamento radiale tra la corticale renale e la pelvi renale (fig.4.10). Esiste una direzionalità del flusso del filtrato glomerulare nei tubuli e del sangue nei vasa recta, con un decorso dalla giunzione cortico-midollare alle papille renali e viceversa. La possibilità di studiare la struttura e la funzionalità dei tubuli renali, con una tecnica come la DTI, è affascinante in quanto permetterebbe di valutare in modo non invasivo un nuovo aspetto della fisiopatologia delle malattie renali. Al momento sono stati dimostrati valori di FA più alti nella midollare rispetto alla corticale renale in gruppi di volontari sani (fig. 4.11), anche se rimane da chiarire

se queste differenze siano dovute alla struttura dei tubuli o piuttosto al flusso attraverso di essi. Si presume che il movimento dell'acqua sia predominante lungo i tubuli renali e le strutture vascolari delle piramidi midollari. Per quanto riguarda la tecnica di esecuzione della DTI renale, non ci sono differenze significative tra i valori di FA e ADC con 2 b value e 6 direzioni di diffusione tra le misurazioni a 1,5 T e 3 T. La FA della midollare è significativamente più alta di quella della corticale in tutte le misurazioni, anche al variare dell'intensità del campo magnetico esterno, anche se l'aumento di quest'ultima determina un più alto rapporto segnale-rumore. Il numero di b value utilizzati influenza i valori di ADC. Infatti, le misurazioni con 3 b value portano a una riduzione dei valori di ADC. Le immagini di migliore qualità sono ottenute, come nel caso della DWI renale, utilizzando il trigger respiratorio. I valori di FA e ADC, ottenuti utilizzando il breath hold (apnea respiratoria) e la respirazione libera, risultano essere significativamente più alti di quelli ottenuti mediante le acquisizioni sincronizzate col respiro (trigger respiratorio).

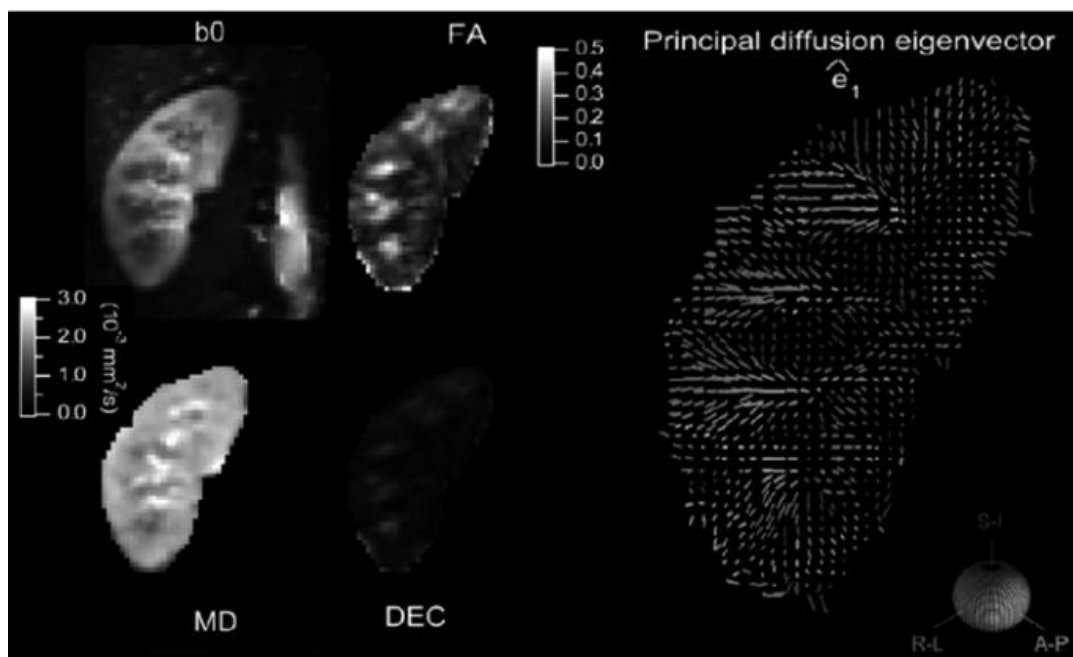


Fig.4.10 - Immagine coronale DTI in 3T. e_1 : mappa dei vettori di diffusione (lunghezza pesata in base alla anisotropia frazionale). La mappa b_0 mostra la differenziazione tra midollare e corticale renale dovuta alla pesatura dell'immagine in T2. La mappa MD mostra che la diffusività è leggermente minore nella midollare rispetto alla corticale. Nella mappa FA è evidente il contrasto tra la corticale e la midollare, questo è dovuto alla microstruttura anisotropica dei tubuli presenti nella midollare che causano alti valori di anisotropia frazionale. Infine, le mappe DEC ed e_1 confermano l'orientamento radiale dei tensori di diffusione nel compartimento midollare, dove i tubuli renali sono, infatti, diretti verso la pelvi renale.

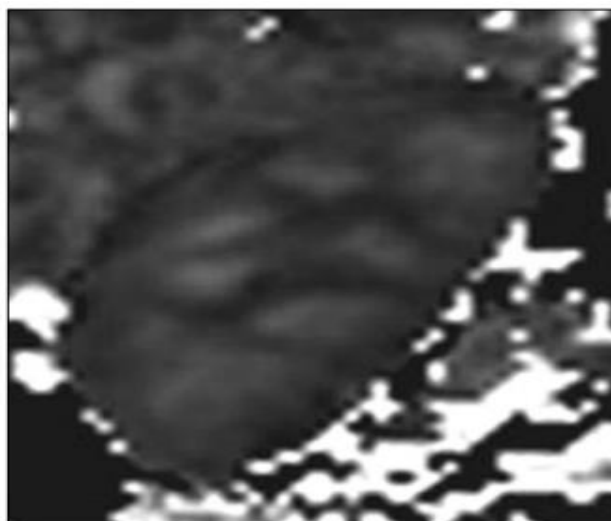


Fig.4.11 - Mappa di anisotropia frazionale ottenuta da immagini coronali DTI con un magnete 3T. È possibile notare le differenze di anisotropia frazionale tra la corticale e la midollare renali.

Effettuando uno studio su un campione di pazienti con funzionalità renale compromessa (gruppo di studio) e un campione di pazienti senza patologie renali (gruppo di controllo), i valori medi di ADC e FA, per ciascuna ROI (si disegna una ROI midollare e un'altra corticale) sono stati ottenuti in ciascun gruppo e sono stati confrontati. Si è giunti alle seguenti conclusioni: sia nei reni normali che in quelli affetti da patologie renali, è stata ottenuta una differenza cortico-midollare dei valori ADC e FA. Il valore di FA nella midollare era significativamente più basso nei pazienti con compromissione della funzionalità renale rispetto ai pazienti con funzionalità renale normale. Inoltre, non è stata trovata una correlazione diretta tra i parametri DTI e l'eGFR. Diversi parametri sono stati suggeriti per quantificare l'anisotropia di diffusione, incluso il rapporto tra le principali diffusività, il volume ratio e l'anisotropia frazionaria. Il calcolo di questi parametri richiede gli autovalori del tensore di diffusione e quindi una misurazione completa del tensore di diffusione. Poiché il tensore di diffusione è sempre simmetrico, è possibile, anche in mezzi anisotropi, determinare i nove elementi del tensore misurando i tre elementi diagonali e i tre diagonali aggiuntivi. Questa diagonalizzazione del tensore di diffusione (4.12) determina i tre autovalori, ciascuno dei quali rappresenta l'entità della diffusione nelle direzioni principali e i tre autovettori corrispondenti, che rappresentano l'orientamento delle tre direzioni principali nel sistema di coordinate del magnete. Dopo aver calcolato i vari indici anisotropia ed ottenute le rispettive mappe di anisotropia (fig.4.13) si visualizza l'immagine finale di trattografia 3D (4.14), in cui si può

osservare un'interruzione della disposizione regolare delle fibre nei pazienti con alterazione della funzionalità renale.

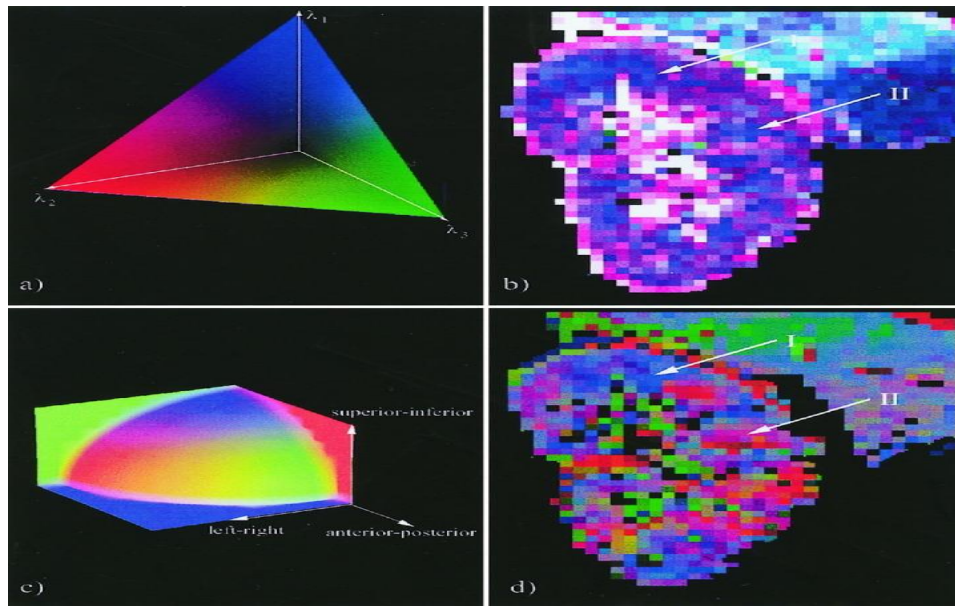


Fig. 4.12 - (a) La legenda dei colori per la codifica dei colori per gli autovalori del tensore. I valori di colore più alti alla fine di ciascun asse rappresentano un valore di diffusione di $\lambda_n = 3,5 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 / \text{s}$. Poiché gli autovalori sono ordinati per grandezza ($\lambda_1 \geq \lambda_2 \geq \lambda_3$), la diffusione anisotropica produce colori situati vicino all'asse λ_1 . Pertanto, la diffusione anisotropica nei compartimenti midollari I e II **(b)** si traduce in aree blu scuro, mentre la diffusione più isotropica che prevale nella corticale è caratterizzata da un colore viola / bianco. La diffusione isotropica di grande entità è rappresentata dal bianco. L'immagine a colori con codifica direzionale (DEC) **(d)** ottenuta dai dati del tensore di diffusione rivela, con l'aiuto della legenda dei colori **(c)**, la struttura radiale degli scomparti midollari del rene. Il colore blu dei compartimenti superiore e inferiore descrive queste regioni come aree con diffusione predominante nella direzione supero- inferiore. I quattro scomparti nella regione intermedia del rene possono essere identificati dal loro colore rosso / viola come regioni con diffusione predominante nella direzione sinistra-destra.

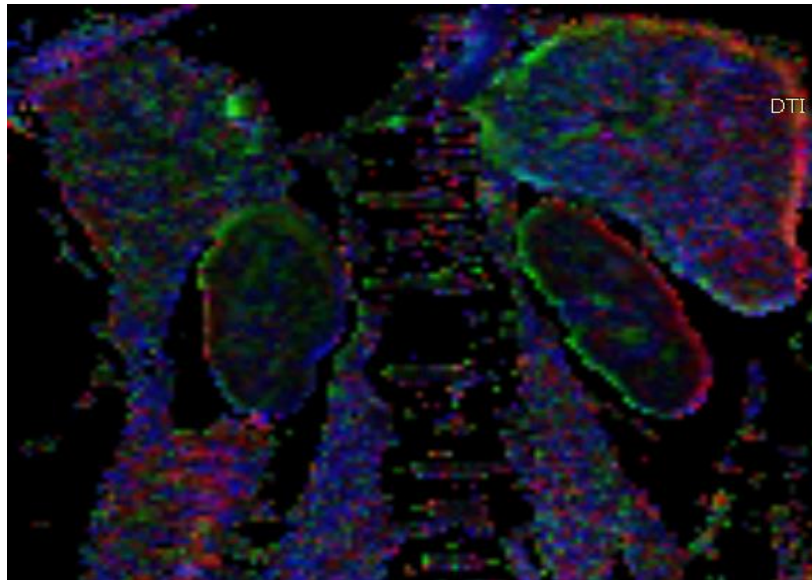


Fig.4.13 - Color FA renale ottenuta applicando 6 direzioni. Il colore rosso rappresenta l'orientamento destro-sinistro, il blu orientamento cranio-caudale e il verde orientamento antero-posteriore.

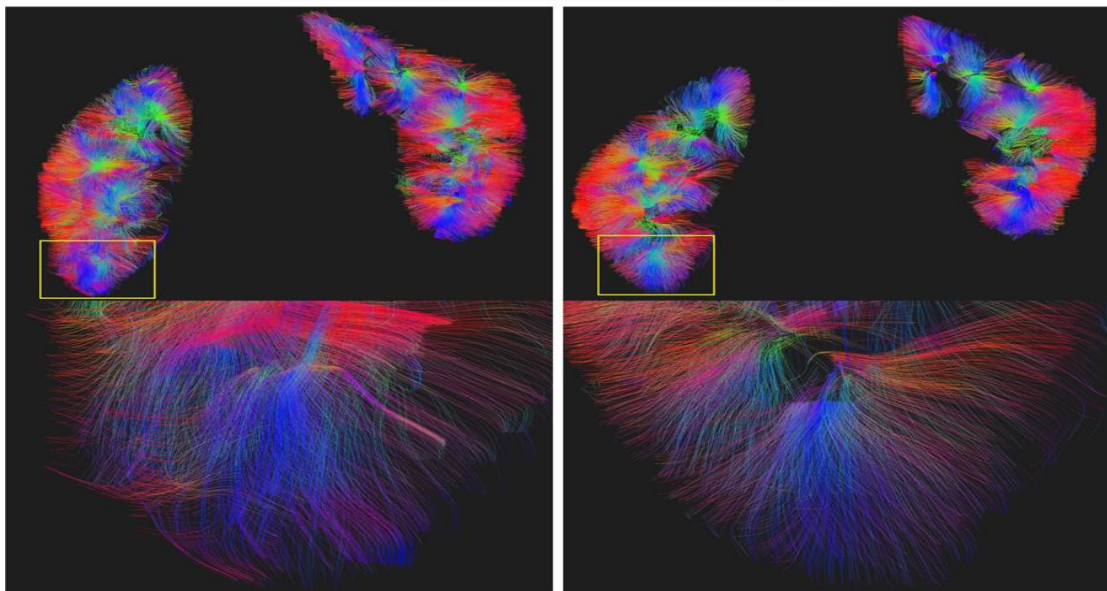


Fig.4.14- Ricostruzioni di immagini T2 HASTE (in alto) e di trattografia renale da DTI senza elaborazione (in basso a sinistra) e con correzione di correnti parassite, movimento da volume a volume e da fetta a volume e correzione della distorsione indotta dalla suscettibilità (in basso a destra) di un volontario sano.

Una particolare applicazione della DTI renale è per caratterizzare la lesione da ri-perfusione da ischemia renale (IRI). In generale, si parla di danno da ri-perfusione ad un tessuto quando la circolazione sanguigna torna al tessuto dopo un periodo di ischemia. L'assenza di ossigeno e nutrienti crea una condizione in cui il ripristino della circolazione ha come risultato l'infiammazione e lo stress ossidativo con conseguente danno ai tessuti coinvolti, invece della ripresa della normale funzionalità. I risultati sperimentali (sui ratti) hanno dimostrato che la DTI è sensibile nell'identificare l'IRI renale caratterizzando i cambiamenti in ADC e FA (fig.4.15).

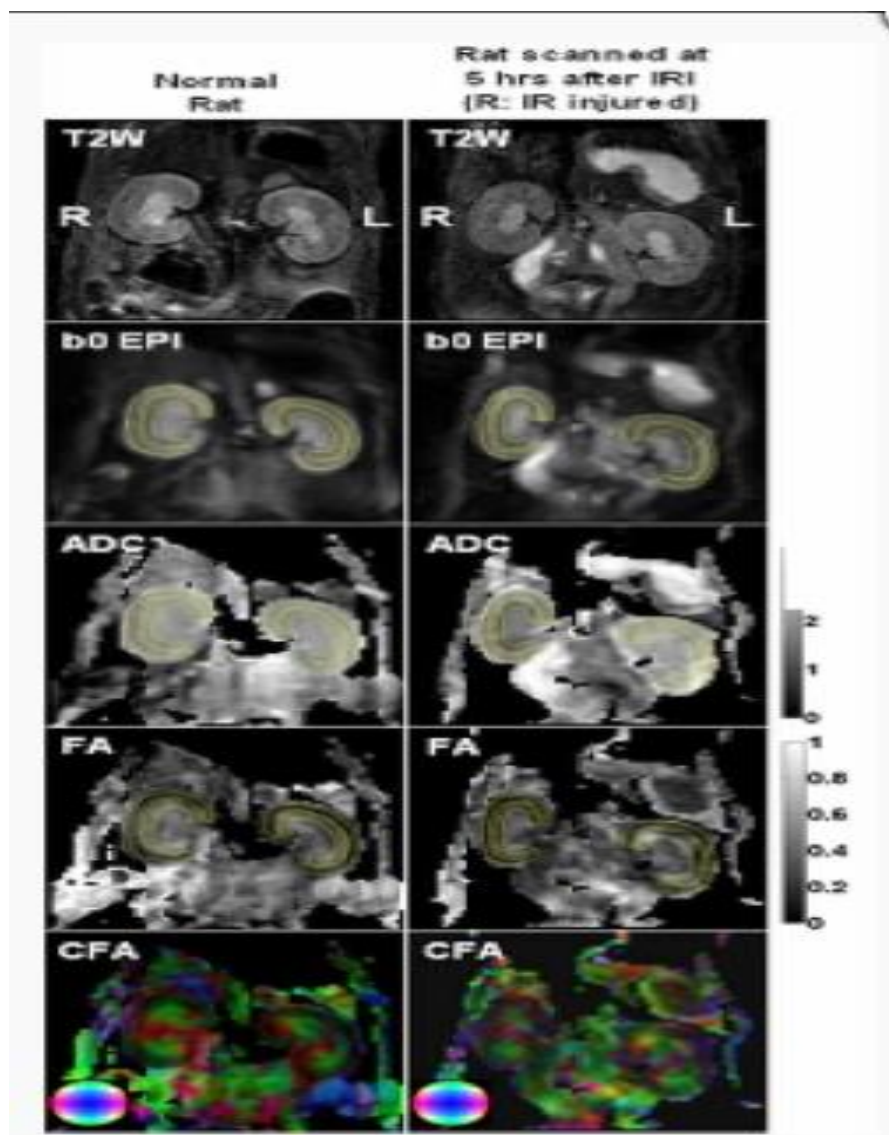


Fig.4.15 - DTI utilizzata per caratterizzare l'IRI renale in un modello sperimentale di ratto. DTI spin-echo eco-planare con b300 e 6 direzioni eseguite a 7 T con IRI renale unilaterale. ADC, diffusività direzionali e FA misurati nella fase acuta dell'IRI. L'ADC della corticale renale lesa è significativamente inferiore rispetto a quello della corticale intatta controlaterale. L'analisi del modello bi-compartimentale ha rivelato la diminuzione della frazione di perfusione, del coefficiente di diffusione renale e dell'anisotropia frazionaria nei reni con lesioni da ri-perfusione.

Conclusioni

La DWI è una tecnica di risonanza magnetica non invasiva sensibile al movimento browniano delle molecole d'acqua e alle restrizioni di questo movimento. Ha ampie applicazioni cliniche e sta diventando sempre più importante nell'imaging oncologico, dove è utile per la caratterizzazione delle lesioni. Tuttavia, la DWI non richiede alcuna somministrazione del mezzo di un contrasto esogeno ed è quindi adatto per l'imaging di pazienti con disfunzione renale, per cui l'uso del contrasto può essere controindicato. Sebbene la DWI si focalizzi principalmente sulla presenza di una restrizione della diffusione, la DTI, con più misurazioni, può anche sondare le principali direzioni di diffusione e la sua natura anisotropica. La DTI è particolarmente adatta per studiare il distretto renale a causa di un'organizzazione strutturale ben definita. Infatti, tubuli, dotti collettori e vasi sanguigni nella midollare producono una diffusione limitata delle molecole d'acqua, riflettendo così l'elevato grado di anisotropia rilevabile con DTI.

Il principale vantaggio della DTI renale è che permette di studiare la struttura dei tubuli renali ed il flusso attraverso di essi in modo non invasivo rendendo possibile un diverso approccio alla valutazione della funzionalità renale. Tuttavia, solo pochi gruppi hanno investigato la possibilità di utilizzare la DTI per la valutazione della funzionalità renale. Al momento è stata dimostrata una maggiore FA della midollare rispetto alla corticale renale in gruppi di volontari sani. Rimane in ogni caso da chiarire se le differenze nei valori FA siano dovuti alla struttura dei tubuli o piuttosto al flusso attraverso di essi. Il principale limite della tecnica è la risoluzione spaziale: il raggiungimento di un'elevata risoluzione spaziale nel DTI renale rimane difficile. La risoluzione spaziale delle immagini è limitata dal movimento respiratorio, dai grandi campi di vista utilizzati nell'addome e dalle lunghe letture nell'imaging in diffusione che sono suscettibili ad artefatti dovuti alle correnti parassite. Tuttavia, una maggiore risoluzione spaziale dovrebbe migliorare la caratterizzazione e la rappresentazione di piccole strutture all'interno del rene, comprese le piramidi midollari e il sottile strato corticale. In alcune situazioni, potrebbe essere vantaggioso immaginare un rene con una risoluzione più elevata, ad esempio in pazienti con rene resecato o in un protocollo di follow-up a singolo rene. Inoltre, la necessità di ottenere immagini DTI con un'adeguata risoluzione spaziale e angolare, porta a tempi di scansione prolungati, producendo così un maggiore movimento del soggetto tra e all'interno dei volumi DTI durante l'acquisizione. Per cui, sono state sviluppate diverse strategie di acquisizione e di elaborazione per affrontare le distorsioni delle correnti parassite e il movimento

del soggetto, oltre alla distorsione geometrica indotta dalla suscettibilità. Quest'ultimo artefatto può essere corretto, acquisendo un'immagine DTI aggiuntiva con direzione di codifica di fase inversa. In conclusione, utilizzando parametri di acquisizione e tecniche di elaborazione appositi, la DTI ad alta risoluzione spaziale può potenzialmente migliorare la caratterizzazione delle malattie renali.

Bibliografia

Borrelli.P, Cavaliere.C, Basso.L, Soricelli.A, Salvatore.M, Aiello.M (2019). *Diffusion tensor imaging of the kidney: design and evaluation of a reliable processing pipeline*. Scientific reports.

Caroli.A, Schneider.M, Friedli.I, Ljimini.A, De Seigneux.S, Boor.P, Gullapudi.L, Kazmi.I, Mendichovszky.I, Notohamiprodjo.M, Selby.N, Thoeny.H, Grenier.N, Vallée.J (2018): *Diffusion-weighted magnetic resonance imaging to assess diffuse renal pathology: a systematic review and statement paper*. Nephrology Dialysis Transplantation, (33):29-40.

Cei.L(2011): *Tecniche di tomografia computerizzata e di risonanza magnetica* (29): 573-576, SEU.

Chan.R, Von Deuster.C, Stoeck,C, Harmer.J, Punwani.S, Ramachandran.N, Kozerke.S, Atkinson .D (2014): *High-resolution diffusion tensor imaging of the human kidneys using a free-breathing, multi-slice, targeted field of view approach*. NMR Biomed, 27 (11): 1300-1312.

Coriasco.M, Rampado.O, Boris Bradac.G(2013): *Elementi di risonanza magnetica* (1): 1-20; 3: 55-67, Springer Verlag.

DeCarlo. LT(1997): *Sul significato e l'uso della curtosi*. Metodi psicologici, (2): 292-307.

<https://www.siemens-healthineers.com/magnetic-resonance-imaging/options-and-upgrades/clinical-applications/syngo-resolve/features>.

Jeffrey I. Berman, Matthew R. Lanza, Lisa Blaskey, J. Christopher Edgar, Timothy PL Roberts(2013): *Probabilistic tractography of high-resolution angular auditory radiation (HARDI)*. AJNR Am J Neuroradiol. 34 (8): 1573-1578.

Jensen.JH, Helpert.JA, Ramani. A, Lu.H, Kaczynski.K.*Diffusional kurtosis imaging: the quantification of non-gaussian water diffusion by means of magnetic resonance imaging*. Magn Reson Med, (53):1432–1440.

John G. Webster, E. Russell Ritenour, Slavik Tabakov, Kwan-Hoong Ng(2017): *Advanced MR Neuroimaging*, (1):1- 22; (2): 30-50, CRC Press.

Kjølby.B.F, Khan.A.R, Chuhutin.A, Pedersen.L.Jensen.J.B, Jakobsen.S, Zeidler.D, Sangill.R, Nyengaard.J.R, Jespersen.S.N, Han sen(2016): *Fast diffusion kurtosis imaging of fibrotic mouse kidneys*. NMR Biomed, 29(12): 1709–1719.

Lazar.M, Jensen.JH, Xuan. L, Helpert.JA(2008): *Estimation of the orientation distribution function from diffusional kurtosis imaging*. Magnetic Resonance in Medicine, (60): 774-781.

- Lu. H, Jensen.JH, Ramani. A, Helpert.JA(2006): *Three-dimensional characterization of non-gaussian water diffusion in humans using diffusion kurtosis imaging*. NMR Biomed, (19): 236-247.
- Mannelli.L, Valentino.M, Laffi.G, Lomas.D, Sigmund.E, Raz.E, Chandarana.H (2010): *Risonanza magnetica funzionale dei reni*. Functional MRI of the kidney, 27 (6): 599-608.
- Mckinley.M, Valerie Dean O' Loughlin(2014): *Anatomia umana*, (27): 820-828, Piccin-Nuova Libreria.
- Notohamiprodjo.M, Dietrich.O, Horger.W, Horng.A, Helck.A, Herrmann.K, Reiser.M, Glaser.C(2010): *Diffusion Tensor Imaging (DTI) of the Kidney at 3 Tesla-Feasibility, Protocol Evaluation and Comparison to 1.5 Tesla*. Investigative Radiology, 45(5): 245-254.
- Stecco.A, Ragozzino.A, Carriero.A(2011): *L'essenziale...nell'imaging RM di diffusione* (1): 15-27.
- Tabesh.A, Jensen.JH, Ardekani. BA, Helpert. JA(2011): *Estimation of tensors and tensor-derived measures in diffusional kurtosis imaging*. Magn Reson Med, (65): 823-836.
- Thoeny.H, De Keyzer.F (2011): *Diffusion-weighted MR imaging of native and transplanted kidneys*. Radiology, (1):25-38.
- Wedeen.VJ, Wang..RP, Schmahmann..JD, Benner.T, Tseng.WY, Dai.G, Pandya.DN, Hagmann.P, D'Arceuil.H, de Crespigny.AJ(2008). *Diffusion spectrum magnetic resonance imaging (DSI) tractography of crossing fibers*. NeuroImage, 41(4):1267-1277.
- Yuan.M, Quian Quian.N, Zhen.J, Meng.L(2019): *Multiparametric Functional Magnetic Resonance Imaging for Evaluating Renal Allograft*. Korean J Radiol, 20(6):894-908.

Ringraziamenti

Giunto al termine di questo percorso di studi, desidero ringraziare ed esprimere la mia riconoscenza nei confronti di tutte le persone che, in modi diversi, mi sono state vicine e hanno permesso e incoraggiato sia i miei studi che la realizzazione e la stesura di questa tesi.

Prima di tutto, desidero ringraziare il mio relatore, il dottor Vincenzo Alfano, per avermi seguito con costanza in questi mesi, senza mai farmi mancare il suo sostegno e i suoi preziosi consigli.

Non posso non ringraziare i miei genitori che mi hanno permesso con il loro sostegno economico e morale di completare questo ciclo di studi e di raggiungere questo traguardo.

Ringrazio, inoltre, mio fratello Mario, che anche se con ironia mi ha dimostrato di essere sempre presente al mio fianco.

Ringrazio con affetto la mia fidanzata Ilaria, che è stata capace di comprendermi e di calmarmi quando l'ansia prendeva il sopravvento e per avermi supportato e sopportato in ogni passo di questo cammino.