

ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

CAMPUS DI CESENA

SCUOLA DI INGEGNERIA

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica

Contributo dell'imaging con tensore di diffusione per la prognosi della malattia policistica renale in pazienti atipici

Tesi di laurea in

Bioimmagini

Relatrice: Prof.ssa Cristiana Corsi

Correlatori: Prof.ssa Damiana Lazzaro, Dott.ssa Irene Capelli

Presentata da: Linnéa Valeri

Sessione
straordinaria

Anno accademico
2021-2022

Indice

Introduzione	5
1. Diffusion Tensor Imaging	7
1.1. La diffusione molecolare	7
1.1.1. La diffusione isotropa	8
1.1.2. La diffusione anisotropa	9
1.2. Il segnale RM	10
1.2.1. Modalità di acquisizione delle immagini	11
1.2.2. La sequenza SE (spin-echo)	13
1.2.3. La sequenza GE (gradient-echo)	14
1.3. Segnale RM di diffusione	15
1.3.1. Sequenza di Stejskal-Tanner	15
1.3.2. Diffusion Weighted Imaging (DWI)	16
1.4. La diffusion tensor imaging (DTI)	20
1.4.1. Metodo della matrice H	20
1.4.2. Metodo della matrice B	22
1.4.3. Confronto fra metodi	23
1.5. Estrazione di informazioni dal tensore di diffusione	24
1.5.1. Misure invarianti alla rotazione	25
1.5.2. Indici di anisotropia	27
2. Il rene policistico	30
2.1. Cenni di anatomia e fisiologia del rene	30
2.2. Il rene policistico nell'adulto	33
2.3. Anatomia patologica del rene policistico nell'adulto (ADPKD)	35
2.4. Prognosi nella pratica clinica	39
2.4.1. Classificazione MAYO	39
2.4.2. PROPKD score	41
2.5. Prognosi nei pazienti atipici	42

2.6. Terapie.....	50
3. La DTI nel Rene	51
3.1. Influenza delle modalità e dei protocolli di acquisizione, sugli indici di diffusione e anisotropia (DAIs).....	51
3.2. Studi sull'utilizzo dell'imaging del tensore di diffusione (DTI) in pazienti affetti da patologie renali.....	56
3.3. Risultati ottenuti dall'utilizzo della DTI in pazienti con patologie renali.....	70
4. Materiali e Metodi.....	75
4.1. Partecipanti allo studio	75
4.2. Protocollo DTI	76
4.3. Post-processing immagini DTI	76
4.3.1. Segmentazione dei volumi di interesse (VOI).....	76
4.3.2. Implementazione di algoritmi in ambiente Matlab	78
4.3.3. Mappa λ 1e Mappa ADC.....	81
4.3.4. Mappa FA	82
4.3.5. Mappa sRA e Mappa VR.....	82
4.3.6. Mappa <i>UAsurf</i> , <i>UAvol</i> , <i>UAvolsurf</i>	83
4.3.7. Mappa LI	83
3.4. Analisi Statistica	84
5. Risultati e discussione	85
5.1. Valori dei parametri DAIs	85
5.1.1. Capacità di discriminazione delle cisti dal parenchima	85
5.1.2. Confronto degli indici DTI con un controllo sano	88
5.2. Correlazione parametri DAIs con eGFR e Creatinina	90
Conclusioni	99
Riferimenti bibliografici	102

Introduzione

La malattia policistica autosomica dominante (ADPKD, Autosomal Dominant Polycystic Disease) è la più frequente nefropatia genetica, con un'incidenza di 1:500-1000 nuovi nati. Rappresenta un disordine sistemico, che oltre all'interessamento renale coinvolge altri organi e apparati. La patologia ha una manifestazione renale fenotipica molto eterogenea, che spazia dal quadro tipico, con insorgenza di cisti bilaterali diffuse, ad un quadro atipico, che può presentare cisti unilaterali, di grandezza anomala o anche atrofia renale. Con il progredire della malattia, le cisti finiscono per occupare sempre una parte più larga del parenchima, portando ad un aumento sostanziale del volume renale, che da un peso medio di 200-300g può arrivare a pesare 1 kg. Lo stadio terminale della malattia è rappresentato da ESRD (end stage renal disease) che porta il paziente a dialisi e trapianto renale.

Riuscire a fare una prognosi accurata della malattia policistica è molto importante per poter intervenire prontamente ed adeguatamente nel trattamento della patologia. Tuttavia, a causa di un meccanismo compensatorio del rene, i classici marcatori della funzionalità renale, quali eGFR e creatinina sierosa, non evidenziano la malattia nelle fasi più precoci, quando intervenire porterebbe il maggior beneficio. Solo quando la maggior parte del parenchima si trasforma in tessuto cistico e fibrotico, il meccanismo di compensazione viene sopraffatto e l'eGFR diminuisce in modo sostanziale, ma a questo punto almeno il 50% del parenchima è già distrutto.

Ad oggi è presente un modello prognostico (Mayo clinical), predittivo e quantitativo, largamente usato nella pratica clinica, che utilizza ht-TKV (il volume renale rapportato all'altezza) in funzione dell'età per la stadiazione della malattia. Tuttavia da questo modello vanno esclusi i pazienti con quadro atipico, in quanto in questi pazienti l'htTKV non è un marcatore della funzionalità renale efficace. Nel caso dei pazienti atipici, ad oggi si ricercano ancora marcatori prognostici alternativi all'htTKV.

La DTI (imaging del tensore di diffusione) è una tecnica che permette d'analizzare la direzionalità delle molecole d'acqua, che diffondono all'interno dei tessuti biologici. Applicata al rene si è dimostrata essere un valido approccio per lo studio della microstruttura del tessuto renale, che riflette lo stato di salute e la funzionalità del rene. Attraverso l'uso di indici di diffusione e anisotropia (DAIs) è possibile quantificare caratteristiche della microstruttura renale, rendendo lo studio di tali indici interessante da un punto di vista prognostico.

Lo scopo di questo elaborato di tesi è dare un contributo alla prognosi nei pazienti ADPKD atipici, attraverso diffusion tensor imaging (DTI) e l'analisi degli indici di diffusione e anisotropia (DAIs).

1. Diffusion Tensor Imaging

Nel corso degli ultimi 20 anni è stato dimostrato che dalle mappe quantitative della diffusione molecolare dell'acqua su scala macroscopica, si possono ottenere informazioni indirette sulle microstrutture dei tessuti biologici sfruttando l'imaging di risonanza magnetica. La risonanza magnetica funzionale ci permette di eseguire studi di diffusione molecolare in vivo sull'uomo. Si avvale di diverse e recenti tecniche di acquisizione come la Diffusion Weighted Imaging (DWI) e la Diffusion Tensor Imaging (DTI) con le quali esiste la possibilità di ottenere uno studio onnicomprensivo, sia morfologico sia funzionale, senza utilizzare alcun mezzo di contrasto e con un'eccellente risoluzione spaziale [1].

1.1. La diffusione molecolare

La “diffusione molecolare” è un fenomeno legato al movimento di traslazione termico delle molecole in sospensione in un fluido. Il risultato è un moto disordinato di cui non è possibile prevedere le direzioni delle traiettorie, ma soltanto lo spostamento quadratico medio compiuto dalla particella rispetto ad una posizione di partenza in un tempo di diffusione indicato come T_d :

$$\langle r^2 \rangle \geq 2 \cdot D \cdot T_d \quad [1-1]$$

È importante notare che lo spostamento quadratico medio (mm) ha una diretta proporzionalità con il tempo di diffusione $T_d(s)$ e il coefficiente di diffusione D (mm^2/s). Definiamo il coefficiente D grazie alla relazione di Stokes-Einstein [1-2] valutata nel caso di una particella sferica immersa in un fluido viscoso:

$$D = \mu \cdot KB \cdot T = \frac{KB \cdot T}{6 \cdot \pi \cdot r_p \cdot \eta} \quad [1-2]$$

KB è la costante di Boltzmann ($1,38054 \times 10^{-23} \text{ Joule/ K}$), T è la temperatura assoluta (gradi Kelvin) e μ è la mobilità della particella, inversamente proporzionale alla viscosità del mezzo η e al raggio della particella r_p . Se si considera l'acqua libera a 37° , il suo coefficiente di diffusione sarà pari a $3 \cdot 10^9 \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ ma a causa delle barriere fisiologiche presenti nel nostro corpo (membrane cellulari e fibre), la mobilità delle molecole d'acqua potrebbe essere vincolata; la presenza di vincoli comporta un decremento del valore del coefficiente di diffusione D . Con questo semplice esempio, risulta quindi evidente come tale coefficiente sia legato all'integrità e alla funzionalità stessa dei tessuti [2].

1.1.1. La diffusione isotropa

Ipotizziamo che le molecole d'acqua si muovano lungo l'asse x (caso monodimensionale) senza incontrare alcuno ostacolo; dopo un certo intervallo temporale, rappresentando la distribuzione delle posizioni assunte dalla molecola d'acqua con un istogramma, si osserva che seguirà una distribuzione di probabilità Gaussiana, la cui varianza è definita dalla legge di Einstein ($\sigma^2 = 2 \cdot D \cdot T d$):

$$P(r, t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{x^2}{2\langle r^2 \rangle}} = \frac{1}{\sqrt{(4 \cdot \pi \cdot D \cdot t)}} e^{-\frac{x^2}{4 D t}} \quad [1-3]$$

Per quanto riguarda il caso tridimensionale:

$$P(r, t) = \frac{1}{\sqrt{(4 \cdot \pi \cdot D \cdot t)^3}} e^{-\frac{r^2}{4 D t}} = \frac{1}{\sqrt{(4 \cdot \pi \cdot D \cdot t)}} e^{-\frac{x^2 + y^2 + z^2}{4 D t}} \quad [1-4]$$

Tale distribuzione individua una particolare superficie che, nel caso soddisfi la [1-5], è detta sfera di diffusione (Figura 1.1), il cui raggio coincide esattamente con il raggio medio ricavato dalla legge di Einstein:

$$x^2 + y^2 + z^2 = \sqrt{2 D t^2} \quad [1-5]$$

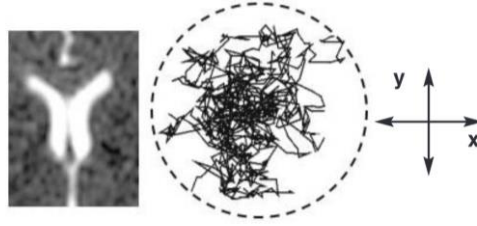


Figura 1.1: diffusione isotropica 2D [2]

In presenza di diffusione isotropa, il moto della particella è caratterizzato da un unico valore del coefficiente D , uguale in tutte le tre direzioni; è impossibile individuare una direzione preferenziale del moto stesso.

1.1.2. La diffusione anisotropa

Nel caso di diffusione anisotropa, la distribuzione di probabilità delle posizioni assunte dalle molecole è determinata dalla tipologia di vincoli imposti dall'ambiente. La distribuzione di probabilità in tal caso è descritta dalla formula [1-6] e identifica nello spazio un ellissoide di diffusione, il cui asse principale coincide con la direzione preferenziale delle molecole.

$$P(r, t) = \frac{1}{\sqrt{(4 \cdot \pi \cdot |D| \cdot t) \cdot 3}} e^{-\frac{r^T D^{-1} r}{4 t}} \quad [1-6]$$

Il valore del coefficiente di diffusione D sarà diverso lungo le direzioni considerate e risulterà maggiore proprio lungo l'asse principale (Figura 1.2).

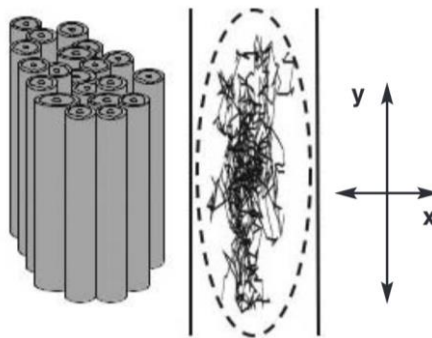


Figura 1.2: diffusione anisotropa in 2D [2]

Alla luce di questi motivi, per descrivere tale processo diffusivo, non è più sufficiente un solo valore di D scalare [1-7], bensì è necessario un tensore di diffusione che rappresenti l'andamento della diffusione nelle tre direzioni principali dello spazio:

$$D = \begin{bmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{yx} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{zx} & D_{zy} & D_{zz} \end{bmatrix} \quad [1-7]$$

1.2. Il segnale RM

Il segnale di diffusione si basa sui principi della RM, quindi, va fatto un breve cenno ai principi e all'origine del segnale RM. La Risonanza Magnetica si basa sulla proprietà di alcune specie di possedere un momento angolare intrinseco $\mathbf{I}$ (spin nucleare); in particolare, se nell'atomo il numero di protoni e neutroni non si uguagliano, come l'atomo di idrogeno, protagonista della risonanza magnetica, la specie nucleare possiede un momento angolare $\mathbf{I} \neq 0$. A causa della carica elettrica nucleare, al momento angolare è associato un momento magnetico di intensità $\mu = \gamma \mathbf{I}$, con γ rapporto giromagnetico (costante propria del nucleo). In assenza di campi magnetici esterni, i vari momenti magnetici hanno direzioni casuali, la cui risultante è nulla. Nel momento in cui viene applicato un campo magnetico esterno B_0 di elevata intensità e costante, il momento magnetico degli spin si allinea lungo di esso, generando un vettore di magnetizzazione $\mathbf{M}$, che precessa attorno a B_0 alla frequenza di Larmor. L'allineamento al campo esterno, nel caso dell'idrogeno può avvenire in due direzioni, parallela e antiparallela a B_0 (Figura 1.3).

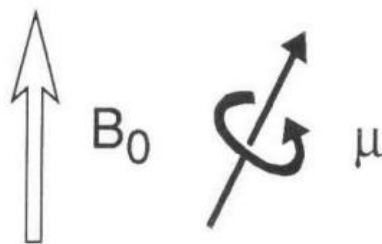


Figura 1.3: orientazione di un nucleo dotato di momento magnetico in un campo magnetico esterno B_0

Quando viene inviato un impulso a radio-frequenza B_1 (perpendicolare a B_0), alla frequenza di precessione di Larmor dell'atomo in questione, il vettore di magnetizzazione viene alterato di un angolo $\alpha = \gamma B_1 \tau$, con τ la durata dell'impulso. Una volta cessata l'applicazione dell'impulso, il vettore di magnetizzazione, continuando a precedere intorno a B_0 , cambia nel tempo il suo angolo di precessione, fino a tornare all'equilibrio. Durante il ritorno all'equilibrio, la magnetizzazione $\mathbf{M}$ induce in una bobina ricevente un segnale elettromagnetico, detto segnale di decadimento libero (Free Induction Decay, FID). Se il campo esterno B_0 è diretto lungo l'asse z e l'impulso a radio-frequenza è a 90° , la bobina ricevente è situata nel piano xy .

1.2.1. Modalità di acquisizione delle immagini

I sistemi per generare e ricevere impulsi RF (Radio Frequenza) possono essere caratterizzati da una o più bobine magnetiche e ne esistono di svariati tipi in base alle diverse esigenze diagnostiche e tecniche, distinguibili per numero di impulsi, angolo imposto alla magnetizzazione, durata, tempo TE ed altri parametri. La differenza essenziale tra un sistema NMR (Nuclear Magnetic Resonance) e un sistema MRI (Magnetic Resonance Imaging) è che quest'ultimo offre un set di gradienti che variano con la posizione spaziale. La generazione di immagini avviene attraverso un'acquisizione ripetuta dei segnali provenienti dal corpo con un'opportuna modulazione delle bobine di gradiente.

Essendo la frequenza di Larmor direttamente proporzionale al campo magnetico statico, applicando un gradiente ad esempio lungo la direzione z , la frequenza di Larmor degli atomi varierà linearmente lungo quella stessa direzione, suddividendo così il corpo all'interno del magnete, in piani isofrequenziali paralleli. Se contemporaneamente all'applicazione di tale gradiente, è inviato un impulso RF ad una frequenza specifica verrà eccitato un solo piano, lasciando tutti gli altri in condizione di equilibrio. Si riesce in pratica a "selezionare una specifica fetta". In Figura 1.4 viene descritto schematicamente il fenomeno per la selezione del piano da acquisire.

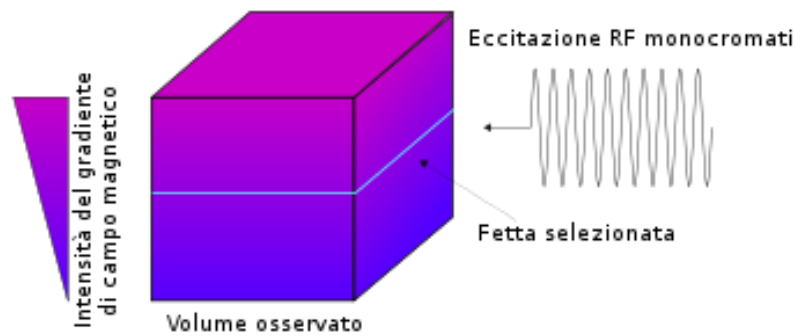


Figura 1.4: descrizione schematica del processo di selezione di un piano con gradiente asse z

Ma ogni voxel dell'immagine è necessario che abbia una frequenza e/o una fase diversa dagli altri voxels sul piano, così da distinguere i segnali da loro emessi. Si impongono allora altri due gradienti uno per la “codifica di frequenza” ad esempio lungo l’asse x, e l’altro per la “codifica di fase” lungo l’asse y (Figura 1.5).

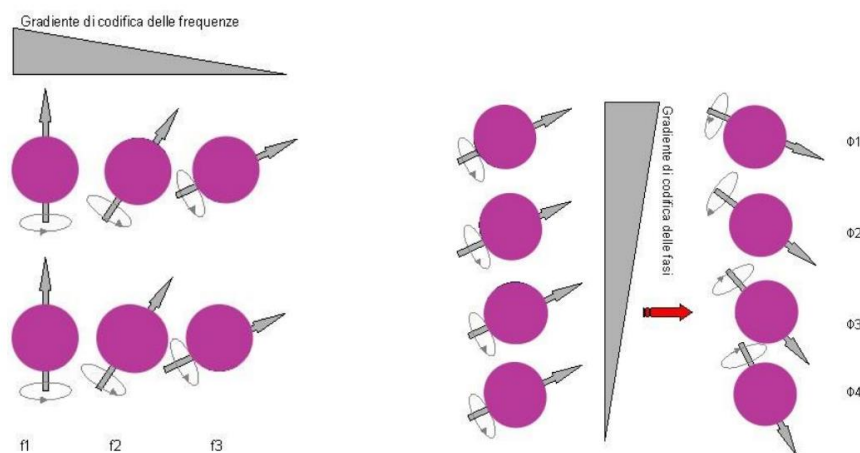


Figura 1.5: immagine a sinistra: codifica in frequenza; immagine a destra: codifica in fase

Il primo gradiente, applicato dopo l'impulso RF ma durante l’acquisizione del segnale emesso, varierà la frequenza di emissione da parte dei protoni linearmente lungo lo spazio, restituendo un segnale dato dalla somma di segnali a frequenze diverse. Il secondo è sempre applicato dopo l'impulso a radiofrequenza ma prima dell'acquisizione del segnale e farà in modo che gli spin lungo quella direzione al momento dell'acquisizione abbiano una determinata fase; è ovvio che per ottenere informazioni spaziali, una sola codifica di fase non è sufficiente, per questo è importante che la

sequenza venga ripetuta n-volte per ottenere un campionamento significativo lungo la direzione della fase [3].

In base alle caratteristiche di interesse, esistono e vengono utilizzate sequenze di impulsi elaborate che combinano successioni di impulsi RF con diversi angoli α e gradienti di campo magnetico in varie direzioni per manipolare il contrasto e la risoluzione dell'immagine. Nel seguito illustriamo brevemente le due sequenze più utilizzate:

1.2.2. La sequenza SE (spin-echo)

Il metodo spin-echo (SE) prevede l'applicazione di due impulsi a radiofrequenza, il primo a 90° e il secondo a 180° (Figura 1.6).

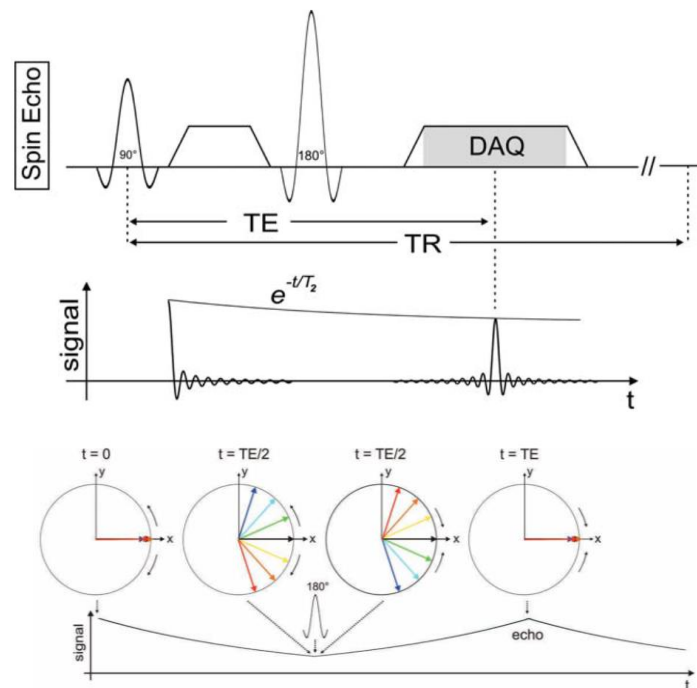


Figura 1.6: Sequenza Spin Echo [4]

Con il primo impulso, il vettore magnetizzazione M si porta nel piano ortogonale al campo B_0 ; una volta terminata l'applicazione del primo impulso il vettore magnetizzazione ritorna alla condizione iniziale con una certa perdita di magnetizzazione in un tempo T_2 , chiamato 'tempo di rilassamento trasversale' e produrrà il segnale FID. Dopo un tempo $TE/2$ dall'applicazione dell'impulso a 90° ,

viene applicato il secondo impulso a 180° , detto di rifocalizzazione, il quale permette di invertire il verso degli spin, capovolgendo il vettore magnetizzazione all'interno del piano trasversale. Questo comporta allo stesso tempo un rifasamento degli spin e la decadenza della magnetizzazione nel tempo T_2 . Al tempo TE si ottiene un echo del FID (Free Induction Decay). La tecnica spin-echo ha l'enorme vantaggio di non essere sensibile a possibili disomogeneità del campo statico.

1.2.3. La sequenza GE (gradient-echo)

Una sequenza Gradient-echo (GE) invece viene ottenuta mediante un singolo impulso di eccitazione e un gradiente bipolare (Figura 1.7). Il primo lobo del gradiente (di lettura) causa lo sfasamento. Il secondo lobo (di polarità opposta) compensa la sfasatura causata dal primo lobo del gradiente e rifasa i protoni. Le sequenze GE risultano sensibili alle disomogeneità del campo statico ma rispetto alla tecnica spin-echo, hanno il vantaggio di non applicare nessun impulso di rifocalizzazione. Ciò consente intervalli brevi tra più eccitazioni (tempo di ripetizione, TR), specialmente quando si usano angoli di vibrazione bassi.

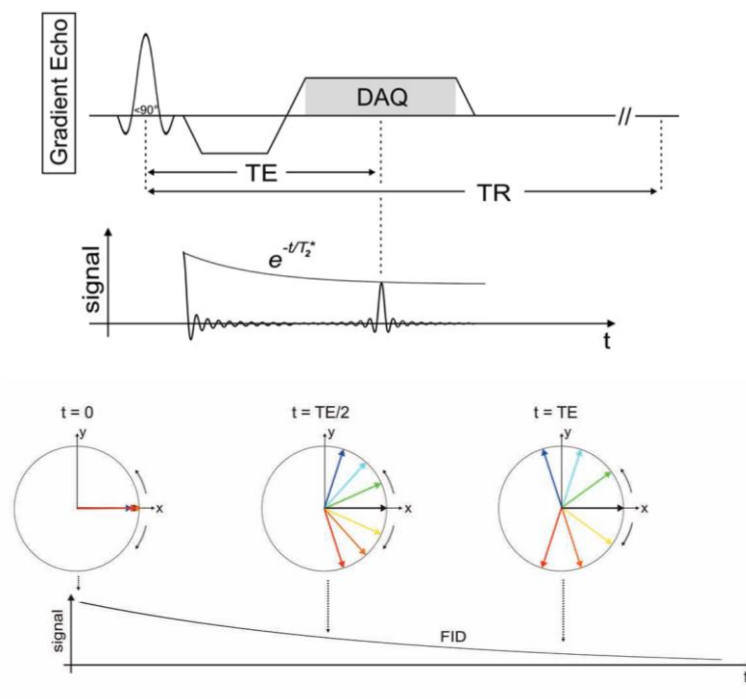


Figura 1.7: Sequenza Gradient Echo [4]

1.3. Segnale RM di diffusione

Il seguente paragrafo si concentrerà sull'applicazione del segnale RM nello studio della diffusione delle molecole d'acqua nei tessuti.

1.3.1. Sequenza di Stejskal-Tanner

L'intensità del segnale RM dipende da tanti fattori, tra cui il movimento delle molecole di acqua che produce intrinsecamente contrasto. La diffusione di molecole d'acqua in corrispondenza di un gradiente di campo magnetico provoca infatti uno sfasamento intra-voxel, con una corrispondente perdita di intensità del segnale (Figura 1.8).

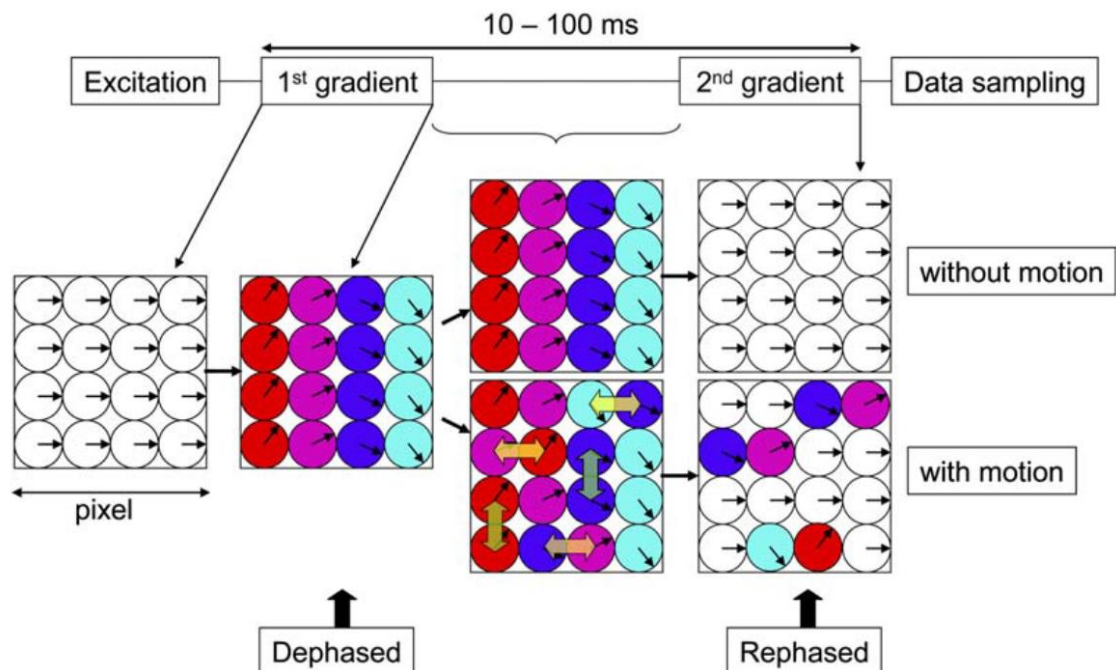


Figura 1.8: Relazione tra moto delle molecole dell'acqua e l'applicazione dei gradienti: ogni cerchio rappresenta molecole d'acqua in diverse posizioni all'interno di un pixel. I vettori nei cerchi indicano le fasi del segnale in ogni posizione. Se tra le due applicazioni di gradiente, le molecole d'acqua si muovono il secondo sfasamento non riesce perfettamente a rimettere a fuoco le fasi, il che porta alla perdita del segnale. Si noti che in questo esempio, movimento orizzontale (indicato dalla freccia gialla) conduce alla perdita di segnale, mentre il movimento verticale (freccia verde) non influisce sull'intensità del segnale. [5]

La tecnica di imaging sensibile al moto di diffusione delle molecole di acqua si avvale di una particolare sequenza del tipo Echo Planar Imaging (EPI), basata sulla Spin-Echo (SE) e conosciuta come la sequenza di Stejskal-Tanner [5]. Nell'imaging eco-planare

pesato in diffusione, l'acquisizione dell'immagine viene sensibilizzata alla diffusione di molecole d'acqua attraverso l'inserimento di impulsi di gradiente molto forti e molto brevi, nella sequenza di impulsi presenti di per sé nell'EPI. Lo schema di Steijskal-Tanner (Figura 1.9) consta, similmente alla sequenza spin-echo, nell'applicazione di due impulsi RF oscillanti a 90° e dopo un tempo pari a $TE/2$ a 180° , uguali in intensità ma opposti in direzione. I due gradienti, molto veloci, sono disposti infatti simmetricamente ai lati dell'impulso a 180° e hanno il compito di creare set di echi del segnale (come compete alle sequenze Eco-Planar, single shot-EPI), riducendo tutti gli effetti di artefatti dovuti a pulsazioni cardiache e ad artefatti da movimento. Il risultato di questo particolare schema è un segnale RM, S , legato al gradiente applicato (G), la sua durata (δ), al rapporto giromagnetico (γ), all'intervallo tra due impulsi (Δt) e al coefficiente di diffusione (D):

$$S = S_0 e^{-(\gamma \delta G)^2 (\Delta t - \frac{\delta}{3} D)} \quad [1-8]$$

dove S_0 è il segnale ottenuto senza applicazione del gradiente G (12).

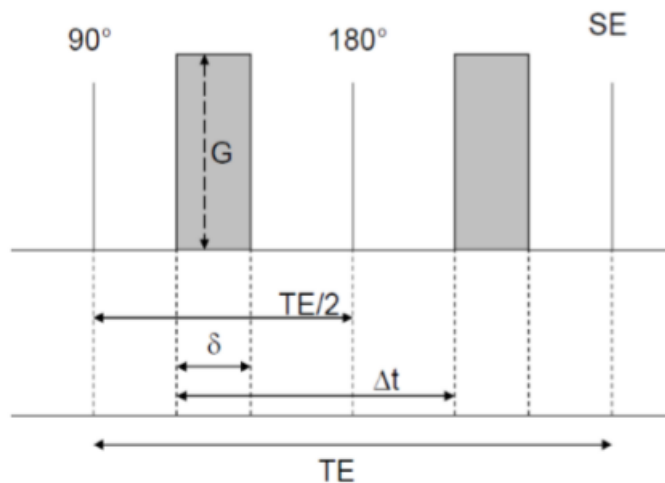


Figura 1.9: Impulsi nella sequenza di Steijskal-Tanner

1.3.2. Diffusion Weighted Imaging (DWI)

Come è stato già discusso nel caso di diffusione isotropa è sufficiente la determinazione del solo coefficiente di diffusione D per caratterizzare completamente un processo diffusivo. L'effetto della pesatura in diffusione è un'attenuazione del

segnale nelle regioni a maggiore diffusione: in un'immagine DWI l'intensità di ogni pixel è dipendente dall'entità della riduzione di segnale; pertanto, le zone a maggiore diffusione appaiono ipointense. Il parametro che quantifica il grado di pesatura in diffusione di una DWI è il b-value:

$$b = (\gamma\delta G)^2 t_d = (\gamma\delta G)^2 (\Delta t - \frac{\delta}{3}) \quad [1-9]$$

Il b-value è misurato in (s/mm^2) e risulta direttamente proporzionale al fattore giromagnetico γ , all'intervallo di tempo Δt che intercorre tra l'applicazione dei due gradienti, alla loro intensità G e durata δ . Si deve imporre inoltre che l'applicazione dei gradienti di campo magnetico abbia durata di molto inferiore al tempo che intercorre fra l'applicazione di un gradiente e l'altro, in modo da poter ipotizzare con buona approssimazione che non si verifichino fenomeni diffusivi anche durante l'applicazione dei gradienti stessi. Quindi per $\delta \ll \Delta t$, l'equazione [1-8] diventa:

$$S = S_0 e^{-(\gamma\delta G)^2 (\Delta t D)} \quad [1-10]$$

L'esponente di questa equazione a meno del segno e del coefficiente D , rappresenta il b-value:

$$b = (\gamma\delta G)^2 \Delta t \quad [1-11]$$

L'informazione della distanza percorsa dalle molecole d'acqua è contenuta nel prodotto $(\Delta t \cdot D)$ (*lunghezza²*) presente nell'esponente della [1-10] ma l'informazione più preziosa è in D , ottenibile una volta misurati S e S_0 e noto il b-value (s/mm^2) . Sostituendo la definizione di b-value [1-11] nella formula [1-10] otteniamo:

$$S = S_0 e^{-b \cdot D} \quad [1-12]$$

Da cui è possibile estrarre molto più semplicemente il coefficiente di diffusione:

$$D = -\frac{1}{b} \ln \left(\frac{S}{S_0} \right) \quad [1-13]$$

D è quindi interpretabile come il coefficiente angolare di una retta avente come variabile dipendente il logaritmo dei segnali misurati a diversi valori di b-value e come variabile indipendente i valori dei b-value stessi. In questo modo è sufficiente acquisire due immagini a b-value diversi per poter determinare tale retta e di conseguenza il valore di D, come mostrato in Figura 1.10.

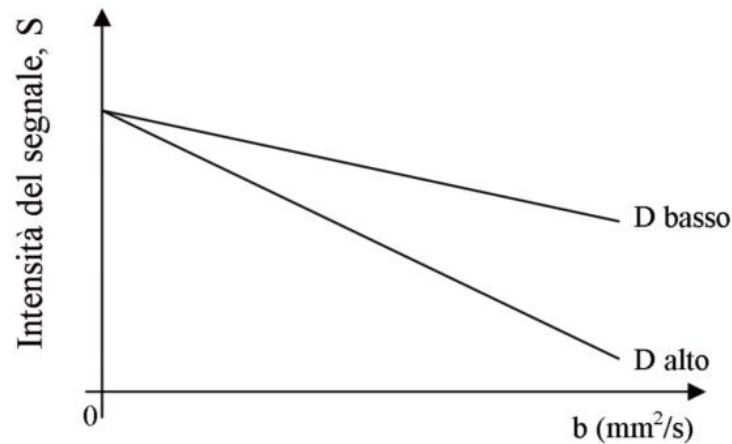


Figura 1.10: relazione fra applicazioni dei gradienti e perdita di segnale. Il coefficiente di diffusione D è la pendenza delle rette quando l'intensità del segnale è quantizzata come $\ln(S/S_0)$.

Come si vede in figura, la sensibilità delle sequenze DWI al movimento dell'acqua può essere variata cambiando l'ampiezza del gradiente, la sua durata e l'intervallo tra i due gradienti; il b-value, proporzionale a questi tre fattori, descrive quindi la sensibilità in diffusione. Più alto è il b-value, più forti sono gli effetti della diffusione rispetto a tutti gli altri processi (in particolare la perfusione) e quindi maggiore è la pesatura in diffusione, ma si riduce il rapporto segnale rumore (SNR) [1]. Per una singola scansione si utilizzano in genere almeno due valori di b-value diversi, uno solitamente pari 0 (s/mm^2) o comunque molto basso e l'altro di molto maggiore. Normalmente il valore utilizzato è $b=500$ (s/mm^2). Ponendo $b=1000$ (s/mm^2) invece è quasi del tutto minimizzata l'influenza sul segnale di micromovimenti più rapidi della diffusione, come la perfusione. Per un'analisi più approfondita del b-value si rimanda al capitolo 3.1 di questa tesi.

All'interno dello stesso voxel esistono più microstrutture, e quindi compartimenti con coefficiente D diverso. Ipotizzando che i tempi di diffusione siano molto piccoli, possiamo escludere fenomeni di diffusione fra voxel vicini, e la formulazione corretta sarebbe la seguente:

$$\frac{S}{S_0} = \sum_i (p_i e^{-bD_i}) \quad [1-14]$$

dove D_i e p_i sono rispettivamente i coefficienti di diffusione e la frazione di molecole che diffondono dall' i -esimo compartimento. Considerando l'impossibilità di calcolare i parametri dei compartimenti all'interno dei singoli voxel, il coefficiente di diffusione D teorico per ogni voxel è in realtà il coefficiente di diffusione apparente (Apparent Diffusion Coefficient, ADC) definito come segue:

$$ADC = \sum_i (p_i D_i) \quad [1-15]$$

Per cui, una volta ottenuti S_0 e S è possibile calcolare il coefficiente di diffusione apparente per ogni voxel, come mostrato nella formula [1.16].

$$\ln\left(\frac{S}{S_0}\right) = -ADC \cdot b \quad [1.16]$$

dove l'unica incognita è proprio ADC, determinabile (equivalentemente a quanto detto per D) come il coefficiente angolare di un modello lineare ($y = mx$).

Come accennato precedentemente, nel caso in cui il moto in analisi sia isotropo, questo viene caratterizzato con il solo coefficiente ADC, che rappresenta l'entità del processo diffusivo. Il coefficiente ADC (mm^2/s) è un parametro quantitativo calcolato da almeno due immagini DWI, una con e una senza l'applicazione di un gradiente di diffusione e rappresenta il logaritmo naturale negativo del rapporto tra le intensità di segnale delle due immagini: formula [1.17], analoga alla [1-13].

$$ADC = -\frac{1}{b} \ln\left(\frac{S}{S_0}\right) \quad [1-17]$$

1.4. La diffusion tensor imaging (DTI)

Nei tessuti biologici, le molecole d'acqua interagiscono con le strutture circostanti (pareti cellulari, matrice extracellulare), che fungono da barriere causando una direzionalità del flusso. La microstruttura del tessuto può anche contenere tubuli, vasi altre o strutture con preferenza direzionale, che guidano il movimento dell'acqua. La diffusione che si verifica all'interno di un tessuto biologico è quindi affetta da un certo grado di anisotropia [1, p. capitolo 11].

Nel caso in cui la diffusione sia anisotropa, non è più sufficiente ricavare il solo coefficiente di diffusione apparente per caratterizzare il moto, bensì è necessario ricavare un tensore di diffusione D . Il tensore di diffusione è una matrice simmetrica 3×3 , quindi è sufficiente ricavare solo 6 parametri per costruirla. Per ricavare i 6 parametri sono necessari una acquisizione non pesata in diffusione e almeno altre sei immagini pesate in diffusione. In generale chiamiamo N il numero di acquisizioni totali; M le acquisizioni a $b > 0$; $N-M$ le acquisizioni a $b = 0$. Di seguito verranno illustrati due metodi per calcolare il tensore di diffusione dalle immagini DWI, il metodo della matrice H e il metodo della matrice B [6]. In questo studio sono stati implementati entrambi i metodi con il software Matlab.

1.4.1. Metodo della matrice H

Il primo passo da fare nel metodo della matrice H è definire un vettore colonna d [1-18], di dimensione (6×1) , che raggruppa i sei coefficienti necessari per la costruzione del tensore di diffusione.

$$d = [D_{xx} \ D_{yy} \ D_{zz} \ D_{xy} \ D_{xz} \ D_{yz}]^T \quad [1-18]$$

Il vettore d è dunque il vettore delle incognite nel metodo H . Per ogni acquisizione vengono utilizzati gradienti diversi, gradienti che devono essere specificati lungo le tre direzioni tra loro ortogonali e che sono solitamente indicate come direzione x , y , e z . Normalizzate le componenti dei gradienti, queste costituiranno una matrice in cui, ogni riga H_i , di sei elementi, verrà combinata con le altre. In generale, si ottiene per ciascun voxel, una matrice H di dimensioni $M \times 6$ (dove M è il numero di direzioni del gradiente

con $b > 0$); si considera di seguito il caso più semplice con numero minimo di direzioni del gradiente a $b > 0$ (ovvero $M=6$), che darà origine a matrici quadrate: H 6×6 [1-19].

$$H = \begin{bmatrix} g_{x1}^2 & g_{y1}^2 & g_{z1}^2 & 2g_{x1}^2 g_{y1}^2 & 2g_{x1}^2 g_{z1}^2 & 2g_{y1}^2 g_{z1}^2 \\ \vdots & \ddots & \ddots & \ddots & \ddots & \vdots \\ g_{x6}^2 & g_{y6}^2 & g_{z6}^2 & 2g_{x6}^2 g_{y6}^2 & 2g_{x6}^2 g_{z6}^2 & 2g_{y6}^2 g_{z6}^2 \end{bmatrix} \quad [1-19]$$

Noto il valore del b -value, viene poi costruito, per ciascun voxel, un vettore Y , in cui sono inseriti i coefficienti di diffusione apparente (ADCs) ricavati da ogni immagine DWI acquisita e dall'immagine S_0 non pesata in diffusione

$$Y = \left[\frac{\ln(S_0/S_1)}{b}, \frac{\ln(S_0/S_2)}{b}, \dots, \frac{\ln(S_0/S_D)}{b} \right] \quad [1-20]$$

Moltiplicando entrambi i lati dell'equazione precedente per l'inversa della matrice H , H^{-1} , è possibile ottenere il vettore d :

$$(H^{-1}H)d = d = (H^{-1}Y) \quad [1-21]$$

Sono così ottenuti il vettore d e di conseguenza tutti i parametri per il calcolo del tensore di diffusione.

Se la matrice H non è esattamente quadrata perché i gradienti utilizzati sono più di sei, si moltiplicano entrambi i lati per la sua pseudo-inversa H^Ψ , ovvero quella matrice che moltiplicata per H restituisce una matrice identità quadrata. Per calcolare H^Ψ o si sfrutta la trasposta di H :

$$H^\Psi = (H^T H)^{-1} (H^T) \quad [1-22]$$

oppure si sfrutta la deviazione standard che scompone la matrice H nel prodotto di tre matrici, U ($M \times 6$, colonne ortogonali), V (6×6 , righe e colonne ortogonali), W (6×6 , diagonale), quindi la pseudo-inversa di H è:

$$H^\Psi = (V W^{-1})(U^T) \quad [1-23]$$

In questa tesi si è utilizzato il metodo SVD (Singular Value Decomposition) di riduzione della dimensionalità (capito 4.3.2).

1.4.2. Metodo della matrice B

Nel metodo della matrice B, il primo passo da fare è definire un vettore colonna, α , all'interno del quale sono contenuti non solo i sei elementi necessari per costruire il tensore ma anche il logaritmo naturale dell'immagine S0:

$$\alpha = [D_{xx} \ D_{yy} \ D_{zz} \ D_{xy} \ D_{xz} \ D_{yz} \ \ln(S_0)]^T \quad [1-24]$$

Dato che nella matrice B, rispetto alla matrice H, sono inserite le informazioni di tutte le immagini utilizzate, ovvero le sei immagini pesate in diffusione e l'immagine S0 non pesata in diffusione, la dimensione della matrice B è 7x7 (in generale B è Nx7):

$$B = \begin{bmatrix} -bg_{x0}^2 & -bg_{y0}^2 & -bg_{z0}^2 & -2bg_{x0}^2g_{y0}^2 & -2bg_{x0}^2g_{z0}^2 & -2bg_{y0}^2g_{z0}^2 & 1 \\ -bg_{x1}^2 & -bg_{y1}^2 & -bg_{z1}^2 & -2bg_{x1}^2g_{y1}^2 & -2bg_{x1}^2g_{z1}^2 & -2bg_{y1}^2g_{z1}^2 & 1 \\ \vdots & \ddots & \ddots & \ddots & \ddots & \ddots & \vdots \\ \vdots & \ddots & \ddots & \ddots & \ddots & \ddots & \vdots \\ -bg_{x6}^2 & -bg_{y6}^2 & -bg_{z6}^2 & -2bg_{x6}^2g_{y6}^2 & -2bg_{x6}^2g_{z6}^2 & -2bg_{y6}^2g_{z6}^2 & 1 \end{bmatrix} \quad [1-25]$$

Il valore del b-value è sfruttato direttamente nel calcolo della matrice B; avendo la prima immagine un b-value=0, i primi sei elementi della prima riga sono degli 0 mentre l'ultima colonna della matrice è una colonna di 1.

Per ciascun voxel viene costruito un vettore X [1-26] di dimensione (7x1), in cui vengono inseriti i logaritmi naturali del valore del voxel nelle sette immagini:

$$X = [\ln(S_0) \ \ln(S_1) \ \ln(S_2) \ \ln(S_3) \ \ln(S_4) \ \ln(S_5) \ \ln(S_6)] \quad [1-26]$$

In questo modo è possibile ottenere il vettore α moltiplicando entrambi i lati dell'equazione [1-27] per l'inversa della matrice B, B^{-1} , in quanto essa è una matrice quadrata.

$$(B^{-1}B)\alpha = \alpha = B^{-1}X \quad [1-27]$$

Una volta ottenuto il vettore α , sono stati ricavati tutti i parametri per costruire il tensore di diffusione. Se la matrice B non è esattamente quadrata perché i gradienti

utilizzati sono più di sei, si moltiplicano entrambi i lati per la sua pseudo - inversa, B^Ψ , seguendo lo stesso procedimento sviluppato per H. Sia nella matrice H sia nella matrice B, è importante dare maggiore peso al $\ln(S_i)$ con alti valori di S_i e meno al $\ln(S_i)$ con valori di S_i bassi. Nella matrice B, matematicamente questo si ottiene sostituendo α , con il valore che segue:

$$\alpha = (B^T \Sigma^{-1} B)^{-1} (B^{-1} \Sigma^{-1}) x \quad [1-28]$$

dove (Σ^{-1}) è una matrice diagonale detta matrice di covarianza NxN i cui elementi sono (S_i^2 / σ_i^2) e $(B^T \Sigma^{-1} B)$.

1.4.3. Confronto fra metodi

Kingsley et al. [6] hanno riscontrato che in linea di principio, l'approccio della matrice B presenta diversi vantaggi rispetto all'approccio della matrice H. La matrice B consente (1) l'uso di due o più b-value oltre a $b=0$, (2) di stimare il $\ln(S_0)$ con il metodo dei minimi quadrati pesati, (3) di inserire singolarmente le immagini con $b=0$ e (4) di creare una matrice di covarianza che può essere utilizzata per i calcoli di propagazione dell'errore e l'ottimizzazione dei parametri DTI. Nella pratica, il metodo della matrice H è comunque molto utilizzato, in quanto (1) solitamente il b-value sfruttato è singolo in DTI, (2) la stima di $\ln(S_0)$ dalle immagini a $b=0$ generalmente è adeguata.

Sebbene il metodo B presenti i vantaggi di cui si è parlato sopra, la matrice B è peggio condizionata rispetto alla matrice H. Nell'utilizzo di un metodo multidirezionale (in presenza di più di sei direzioni del gradiente, come in questa tesi) la risoluzione del sistema con la matrice B non ottiene risultati adeguati, se non pesata come nella formula [1-28], e anche quando pesata si ottengono risultati leggermente peggiori che con la matrice H (risultati valutati dalle mappe di anisotropia e diffusione ottenute tramite il tensore di diffusione). Per questo motivo, in questa tesi si è scelto di calcolare il tensore di diffusione mediante la matrice H (vedi capitolo 4.3.2).

1.5. Estrazione di informazioni dal tensore di diffusione

Le proprietà del tensore anisotropo possono essere visualizzate in termini di un ellissoide che descrive il probabile spostamento di una molecola d'acqua dopo un dato tempo di diffusione nelle diverse direzioni spaziali. Ogni voxel è caratterizzato da un ellissoide (Figura 1.11). Per caratterizzarlo è importante calcolare gli autovalori, λ_1 , λ_2 , λ_3 e i corrispondenti autovettori e_1 , e_2 , e_3 che rappresentano le loro direzioni. Per convenzione, si considera: λ_1 , λ_2 , λ_3 e pertanto l'autovettore e_1 corrispondente a λ_1 , è detto autovettore principale e rappresenta la direzione di massima diffusività nel nostro voxel.

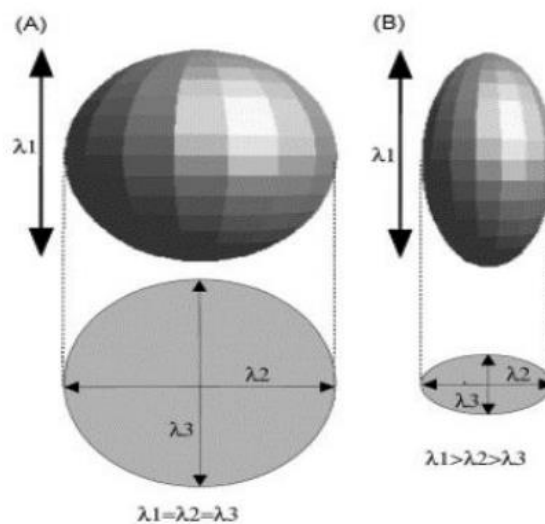


Figura 1.11: confronto fra sfera di diffusione ed ellissoide di diffusione. I tre autovalori del tensore di diffusione permettono di caratterizzare la condizione di isotropia e anisotropia. A) nel caso di uguaglianza dei tre autovalori il processo diffusivo è rappresentato da una sfera e non esiste una direzione preferenziale. B) caso in cui vi è disuguaglianza degli autovalori e la direzione preferenziale è rappresentata dall'autovettore con autovalore maggiore.

È molto importante capire che il tensore è definito in un sistema di coordinate specifico e che la rotazione del campione cambierà i suoi singoli componenti. Pertanto, benché il tensore sia in grado di caratterizzare completamente la diffusione in un mezzo anisotropo, questa descrizione non è unica ma dipende dall'orientamento. Per ricavare e visualizzare informazioni quantitative riguardanti il meccanismo di diffusione, è conveniente dunque utilizzare misure scalari, derivate matematicamente dal tensore di

diffusione, definite “invarianti” perché appunto indipendenti dal sistema di coordinate cui fanno riferimento [7].

1.5.1. Misure invarianti alla rotazione

Uno studio di Uluğ et al. [7] ha dimostrato che gli scalari invarianti del tensore si possono calcolare sia in termini di autovalori sia in termini di elementi del tensore, (senza diagonalizzazione del tensore), riportando relazioni dirette per il passaggio da una configurazione all'altra.

Il calcolo degli invarianti è un procedimento matematico in cui le costanti di diffusione sono aggiunte e/o moltiplicate e non risulta semplice confrontarle e discuterne il significato fisico; per questa ragione gli invarianti sono stati ridimensionati così da avere l'unità di misura di costanti di diffusione reali ($lunghezza^2/tempo$). Per capire perché gli invarianti tensoriali possono essere usati per descrivere le caratteristiche di diffusione del tessuto, possiamo riportare un semplice esempio: quando una piccola goccia di inchiostro viene collocata in un contenitore di acqua, il processo di diffusione causerà la dispersione della goccia. Se il vaso d'acqua è molto grande, in un tempo di diffusione sufficientemente breve, t_{diff} , la diffusione può essere considerata illimitata e la goccia d'inchiostro diventerà, nel tempo, un volume sferico. In un mezzo anisotropo invece questo volume diventerà un ellissoide e avrà assi più piccoli o uguali rispetto alla sfera. Una buona relazione tra gli invarianti e questa diffusione ellissoidale può essere ottenuta sfruttando l'espressione della distanza quadratica media [1-29] percorsa nel caso di diffusione libera:

$$r = \sqrt{6 D t_{diff}} \quad [1-29]$$

Come si può osservare nella Tabella 1.1, gli invarianti principali sono tre, a cui si aggiunge un quarto invariante, derivabile da essi. Il primo invariante, I_1 , detto anche traccia è proporzionale al quadrato dei raggi dell'ellissoide e rappresenta la diffusione media; il secondo invariante, I_2 è proporzionale invece al quadrato della sua superficie; il terzo invariante, I_3 , anche detto determinante, è proporzionale al quadrato del volume di superficie; il quarto invariante I_4 è il quadrato dell'ampiezza del tensore.

I valori ridimensionati ad essi corrispondenti sono la diffusività media (D_{av}), la diffusività di superficie (D_{surf}), la diffusività di volume (D_{vol}), e l'ampiezza di diffusione (D_{mag}), rispettivamente. Ovvio che nel caso di diffusione completamente isotropa, dovrebbero essere tutti di uguale intensità. Si conclude che l'ellissoide di diffusione può essere definito in modo univoco dai suoi tre assi oppure dal suo asse medio, dall'area superficiale e dal volume.

<i>Invarianti Principali</i>	<i>Invarianti Ridimensionati</i>
$I_1 = D_{11} + D_{22} + D_{33}$	$D_{av} = \frac{I_1}{3}$
$I_2 = D_{11}D_{22} + D_{22}D_{33} + D_{11}D_{33}$	$D_{surf} = \sqrt{\frac{I_2}{3}}$
$I_3 = D_{11}D_{22}D_{33}$	$D_{vol} = \sqrt[3]{\frac{I_3}{3}}$
$I_4 = I_1^2 - 2 I_2 = D_{11}^2 + D_{22}^2 + D_{33}^2$	$D_{mag} = \sqrt{\frac{I_4}{3}}$

Tabella 1.1: Parametri invariati alla rotazione principali e ridimensionati, espressi in termini di elementi del tensore. Le formule sono state ottenute ponendo $x, y, z \approx 1, 2, 3$. Formule tratte da Ulug et al.[7].

Dagli invarianti così definiti, è possibile risalire direttamente agli autovalori $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ del nostro ellissoide [8, p. 1]:

$$\lambda_1 = \frac{I_1}{3} + 2 v^{1/2} \cos \theta; \quad \lambda_2 = \frac{I_1}{3} + 2 v^{1/2} \cos(\frac{\pi}{3} + \theta); \quad \lambda_3 = \frac{I_1}{3} + 2 v^{1/2} \cos(\frac{\pi}{3} - \theta);$$

definendo v, θ ed s come:

$$v = \left(\frac{I_1}{3}\right)^2 - \frac{I_2}{3}; \quad \theta = \cos^{-1} \left[\frac{s}{v^{3/2}} \right] / 3; \quad s = \left(\frac{I_1}{3}\right)^3 - \frac{I_1 I_2}{6} + \frac{I_3}{2};$$

1.5.2. Indici di anisotropia

Il grado di anisotropia di un ellissoide di diffusione può essere quantificato in un singolo numero chiamato “indice di diffusione anisotropa” o DAIs. Dagli invarianti rotazionali D_{av} , D_{surf} , D_{vol} e D_{mag} , derivati dai tre invarianti fondamentali I_1 , I_2 e I_3 , sono stati rilevati tre indici intra-voxel di anisotropia, detti Ultimate Anisotropy, indipendenti dall’orientamento, ottenuti senza diagonalizzare il tensore e normalizzati nel range $[0\ 1]$, dove in 0 si ha la massima isotropia e in 1 la massima anisotropia.

Il primo indice è detto $U_{Asurf,av}$ oppure U_{Asurf} , proporzionale al rapporto tra la diffusione superficiale e quella media; il secondo indice è detto $U_{Avol,av}$ o semplicemente U_{Avol} ed è proporzionale al rapporto tra la diffusione volumetrica e quella media; e infine l’ultimo indice $U_{Asurf,vol}$, relaziona la diffusione volumetrica e quella superficiale dell’ellissoide. Nello studio di Ulug et al. [7] è stato mostrato come dagli stessi invarianti sia possibile calcolare anche altri indici più conosciuti. Nel seguito la loro descrizione.

Uno degli indici più utilizzati in DTI è detto Fractional Anisotropy (FA). La FA rappresenta una deviazione standard normalizzata delle diffusività lungo i tre assi; infatti, è calcolata confrontando ogni autovalore con la media dei tre autovalori del tensore. Il valore di FA è spesso usato per descrivere la forma del profilo di diffusione per mezzo di un unico scalare. Partendo da un valore nullo di FA (diffusione isotropica) in cui la forma dell’ellissoide è sferica, man mano che il valore di FA cresce la forma dell’ellissoide risulta sempre più allungata, fino a raggiungere la forma lineare per $FA=1$ (massima anisotropia). Contemporaneamente a FA, è stato introdotto un altro indice, detto Anisotropia Relativa Scalata (sRA), che rappresenta il rapporto fra la componente anisotropa e isotropa del tensore di diffusione. La sRA non è altro che il valore normalizzato tra 0 e 1 dell’indice di anisotropia relativa (RA), il quale non viene spesso utilizzato in quanto il suo range varia tra $[0, \sqrt{2}]$. L’ultimo indice intra-voxel di diffusione anisotropa, è il Rapporto Volumetrico (VR). Il VR rappresenta il rapporto tra il volume dell’ellissoide, rappresentato dal tensore di diffusione, e il volume di una sfera di diffusione con raggio pari a D_{av} (media degli autovalori dell’ellissoide) [9]. Il concetto di questi “indici intra-voxel di anisotropia” può essere esteso a una famiglia di misure di “inter-voxel” che consente di considerare insieme voxel vicini, appartenenti

ad una regione di interesse, senza perdere gli effetti di anisotropia derivanti dai diversi orientamenti delle fibre di ciascun voxel considerato. Da qui la definizione di una famiglia di misure scalari detta "reticolo scalare di anisotropia di diffusione". Una di queste misure scalari è il "Lattice Index" (LI) [10]. Nella Tabella 1.2 è possibile osservare le formule degli indici intravoxel e intervoxel citati. In letteratura, studi come quelli di Mori et al. [5] e Le Bihan et al. [11] illustrano l'enorme successo nell'applicazione dell'imaging del tensore di diffusione in ambito cerebrale. Grazie alla DTI sono state riscontrate differenze strutturali confrontando la materia bianca e grigia di soggetti ad esempio colpiti da sclerosi laterale amiotrofica, ictus ischemico sottocorticale, pazienti con malattia di Krabbe o anche con da tumori cerebrali rispetto soggetti sani. Anatomicamente parlando, compartimenti macromolecolari eterogenei e spazialmente ordinati caratterizzano anche il muscolo scheletrico, il muscolo cardiaco e i reni.

Indice inter-voxel di diffusione anisotropa:	$LI = \frac{(FA + FA^2)}{2}$
Indici intra-voxel di diffusione anisotropa:	$UA_{surf} = 1 - \sqrt{\frac{\lambda_1\lambda_2 + \lambda_2\lambda_3 + \lambda_3\lambda_1}{3}} / D_{av}$
	$UA_{vol} = 1 - \sqrt[3]{\frac{\lambda_1\lambda_2\lambda_3}{3}} / D_{av}$
	$UA_{vol,surf} = 1 - \sqrt[3]{\frac{\lambda_1\lambda_2\lambda_3}{3}} / \sqrt{\frac{\lambda_1\lambda_2 + \lambda_2\lambda_3 + \lambda_3\lambda_1}{3}}$
	$FA = \sqrt{\frac{3[(\lambda_1 - D_{av})^2 + (\lambda_2 - D_{av})^2 + (\lambda_3 - D_{av})^2]}{2(\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2)}}$
	$sRA = \sqrt{\frac{(\lambda_1 - D_{av})^2 + (\lambda_2 - D_{av})^2 + (\lambda_3 - D_{av})^2}{\sqrt{6} D_{av}}}$
	$VR = \frac{1 - \lambda_1\lambda_2\lambda_3}{D_{av}^3}$

Tabella 1.2: Indici inter-voxel ed intra-voxel di diffusione anisotropa.

Questa tesi mira in particolare ad estrapolare tramite gli indici di anisotropia sopra citati e le loro mappe di diffusione, possibili informazioni importanti al fine diagnostico e prognostico in ambito nefrologico; nello specifico, nel nostro studio sono trattati pazienti sottoposti a DTI nell'Ospedale Sant'Orsola di Bologna affetti da ADPKD, ovvero “rene policistico autosomico dominante” con manifestazione atipica della malattia.

2. Il rene policistico

2.1. Cenni di anatomia e fisiologia del rene

I reni eliminano i prodotti terminali del metabolismo e l'acqua in eccesso: funzioni essenziali per il controllo della concentrazione delle varie sostanze all'interno dell'organismo, in quanto mantengono più o meno costante il bilancio elettrolitico e idrico nei fluidi tissutali. I reni svolgono anche funzioni endocrine, producendo e rilasciando eritropoietina, coinvolta nella produzione degli eritrociti; renina, che influenza la pressione sanguigna; 1,25-di-idrossicolecalciferolo (la forma metabolicamente attiva della vitamina D), coinvolto nel controllo nel metabolismo minerale e vari altri composti solubili dotati di funzioni metaboliche.

Sono organi di forma ovoidale di colore bruno rossastro, localizzati posteriormente alla lamina parietale del peritoneo su ciascun lato della colonna vertebrale e circondati da tessuto adiposo. Superiormente, si trovano all'altezza della dodicesima vertebra toracica (T12); inferiormente, all'altezza della terza vertebra lombare (L3). A causa del suo rapporto col fegato il rene destro di solito è posto leggermente più in basso del rene sinistro, che è un po' più lungo e stretto. Le dimensioni tipiche del rene sono di 11-12 cm di lunghezza per 6 cm di larghezza e 3 cm di profondità, per un peso medio di 150 g per gli uomini e 135 g per le donne.

Descrivendo il rene da un punto di vista macroscopico (Figura 2.1), il sangue da filtrare arriva ai reni tramite le arterie renali e defluisce una volta filtrato attraverso le vene renali. L'urina, il prodotto di scarto derivante dalla filtrazione del sangue, viene secreta dalle papille renali e confluisce nei calici minori, che convogliano nei calici maggiori ed infine nella pelvi renale, un'espansione appiattita a forma di imbuto, il cui apice è in continuità con l'uretere. [12]

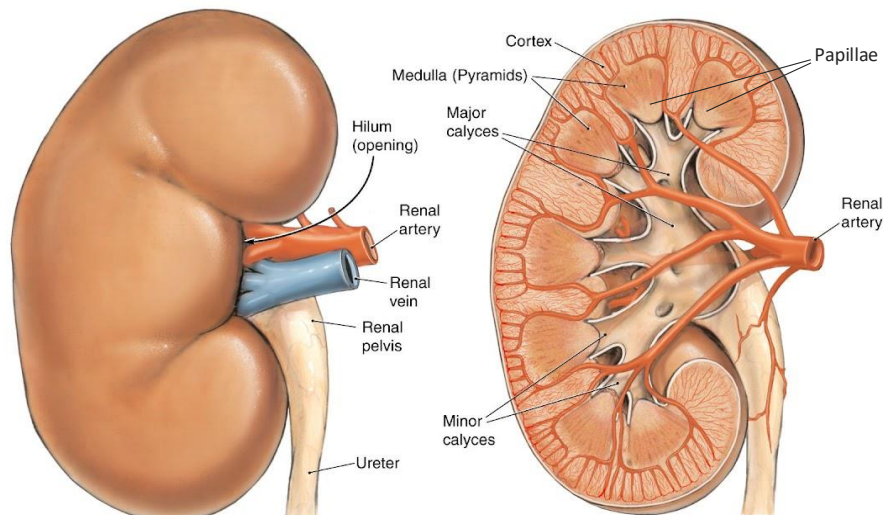


Figura 2.1: Anatomia dei reni

Esternamente il rene presenta una superficie liscia ed è racchiuso in una capsula fibrosa. Internamente, il rene può essere diviso in due regioni: sostanza midollare più interna e corticale più esterna. La regione midollare è formata dalle piramidi renali, i cui apici vengono detti papille renali; tali piramidi sono caratterizzate da una forma triangolare con la base rivolta verso la corticale e presentano un aspetto striato, poiché sono percorse assialmente dai dotti collettori e dotti papillari. La regione corticale renale è situata subito sotto la corteccia e contiene invece i corpuscoli renali.

La diversa struttura tra la midollare e la corticale è visualizzabile anche nelle immagini di risonanza magnetica.

Da un punto di vista microscopico abbiamo il nefrone (Figura 2.2), l'unità funzionale del rene, in cui avvengono i processi di filtrazione, riassorbimento e secrezione. Circa l'80% dei nefroni di un rene è contenuto quasi per intero nella corteccia (nefroni corticali), mentre il 20% penetra nell'area midollare (nefroni juxtamidollari). Ogni nefrone è composto da un glomerulo e da un tubulo renale, nel quale si possono suddividere quattro diverse porzioni: la capsula di Bowman, il tubulo prossimale, l'ansa di Henle e il tubulo distale. Ogni rene contiene circa un milione di nefroni che lavorano in parallelo, rendendo il rene un organo molto robusto a danni strutturali.

Il processo di filtrazione avviene a livello del glomerulo, una fitta rete di capillari che riceve il sangue dall'arteriola afferente, racchiuso nella capsula di Bowman, estremità

del tubulo renale a fondo cieco. Al livello del glomerulo, il sangue proveniente dalle arteriole renali, subisce un processo di diffusione passiva, regolato dalla pressione collido-osmotica e dalla pressione idrostatica che spinge il plasma ad uscire dai vasi sanguigni verso il lume del nefrone. Il filtrato glomerulare ha una composizione e concentrazione molto simile a quella del plasma, tranne che per l'assenza di proteine plasmatiche, che non vengono filtrate.

Dopo questa fase il filtrato glomerulare scorre nel tubulo prossimale, dove ha luogo il processo di riassorbimento di acqua e soluti. Il riassorbimento è un processo sia attivo che passivo, dove i soluti vengono trasportati attivamente dal lume del tubulo al sangue che scorre nei capillari peritubulari, e l'acqua che segue per osmosi. Dopo aver lasciato il tubulo prossimale, il filtrato passa nell'ansa di Henle, il sito principale deputato alla diluizione delle urine. Durante questo tratto vengono riassorbiti più soluti che acqua e il filtrato diviene ipoosmotico rispetto al plasma nei capillari.

Dall'ansa di Henle il filtrato passa nel tubulo distale e quindi nel dotto collettore, che accoglie l'urina. In quest'ultima parte del tubulo avviene la secrezione, un processo attivo che rimuove selettivamente molecole dal sangue e le aggiunge al liquido presente nel lume.

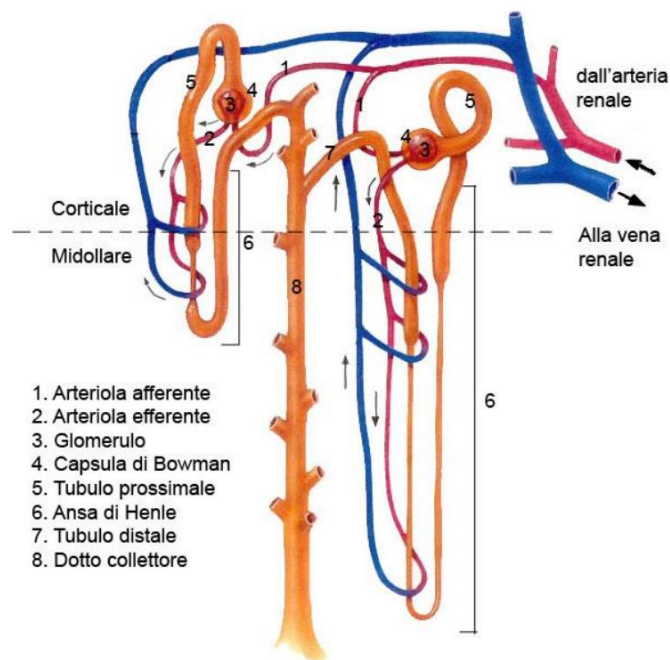


Figura 2.2: schema di due nefroni

2.2. Il rene policistico nell'adulto

La malattia policistica del rene può essere autosomica dominante (ADPKD), conosciuta anche con il nome anche di *malattia renale policistica nell'adulto*, o autosomica recessiva (ARPKD), anche detta *malattia renale policistica nel bambino*. In questa tesi ci si concentrerà sui pazienti ADPKD che hanno una manifestazione renale atipica, la cui prognosi è particolarmente complicata.

La malattia policistica autosomica dominante (ADPKD, Autosomal Dominant Polycystic Disease) è la più frequente nefropatia genetica, con un'incidenza di 1:500-1000 nuovi nati. Rappresenta un disordine sistemico, che oltre all'interessamento renale coinvolge altri organi e apparati. La nefropatia si caratterizza per lo sviluppo di cisti bilaterali (Figura 2.3) che progressivamente conducono all'uremia terminale.

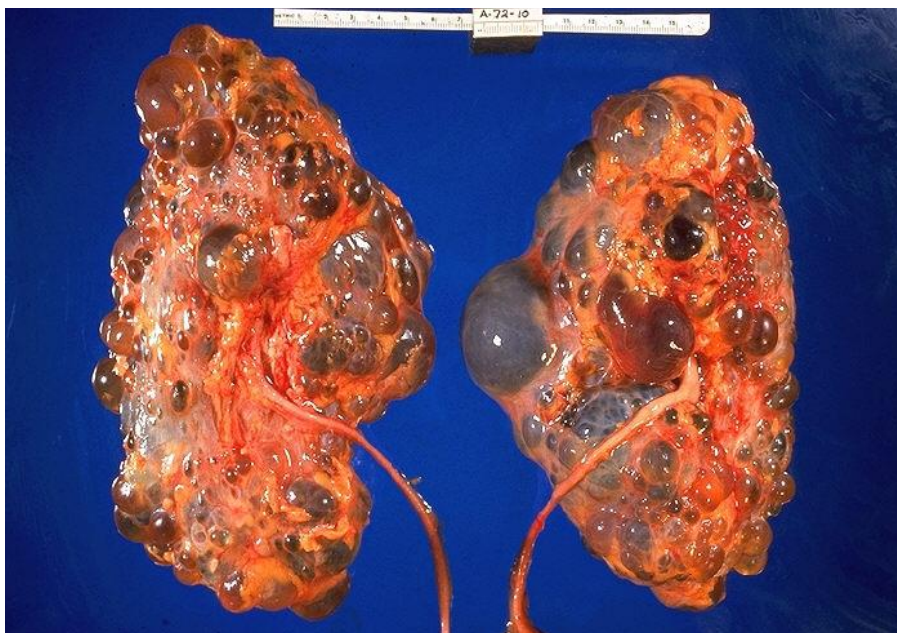


Figura 2.3: Malattia policistica renale

Le cisti tipicamente sono poco numerose prima dei 30 anni e si sviluppano progressivamente nel tempo fino a sostituire l'architettura tubulare, determinando l'aumento delle dimensioni del rene e la perdita della funzione renale dopo la quinta decade di vita. Tuttavia, la variabilità fenotipica è tale che la malattia può decorrere in maniera asintomatica ed essere misconosciuta per tutta la vita oppure nei casi più gravi può condurre all'uremia (sintomo di insufficienza renale cronica avanzata) in giovane

età. Le manifestazioni extrarenali più frequenti sono formazioni di cisti in altri organi (fra cui il fegato), valvulopatie, diverticoli intestinali, ernie inguinali e aneurismi intracranici.

La malattia è geneticamente eterogenea ed è causata dalla mutazione dei geni PKD1 e PKD2, situati rispettivamente sui cromosomi 16 e 14. In Europa l'85% dei casi è correlato alle alterazioni del gene PKD1 mentre il restante 15% è virtualmente associato alle mutazioni del gene PKD2. Sono stati descritti casi di famiglie di pazienti che non presentano mutazioni di questi due geni per cui non si esclude che altri geni possano essere implicati nell'eziologia di questo disordine. Non esiste una precisa correlazione genotipo-fenotipo, ma le forme PKD1-correlate sono tipicamente associate a una prognosi peggiore. Nonostante la malattia sia nella maggior parte dei casi di carattere familiare, esiste un 10-20% in cui è sporadica. In questi casi può essere sostenuta da una mutazione *de novo*, oppure da una forma familiare mai diagnosticata per la scarsa espressione fenotipica. [13]

I geni PKD1 e PKD2 codificano per le proteine di membrana policistina-1 (circa 460 kDa) e policistina-2 (circa 110 kDa). La policistina 1 è una proteina integrale di membrana espressa in vari organi, tra cui il sistema nervoso centrale, il fegato, il cuore, la muscolatura liscia vasale, il pancreas e il rene. Recentemente sono state descritte altre localizzazioni subcellulari, ma la principale localizzazione è a livello del ciglio primario. La policistina 2 è una proteina-canale non selettiva per cationi, permeabile al calcio ed espressa a livello della membrana plasmatica, del reticolo endoplasmatico e del ciglio primario. Un individuo che non presenta la patologia è genericamente eterozigote per l'allele mutato e la formazione delle cisti richiede l'inattivazione somatica del rene sano, secondo la teoria di Knudson. L'analisi genetica delle cisti ha infatti dimostrato che le cisti derivano dall'espansione clonale di cellule che hanno perso l'eterozigosità dell'allele mutato. La lesione biallelica della policistina 1 o 2 dà inizio al processo di cistogenesi, i cui meccanismi molecolari, tuttavia, non sono stati completamente definiti. Tali proteine sono essenziali nella trasduzione del segnale indotta dal ciglio primario. Le cellule tubulari renali, ad eccezione delle cellule intercalate, presentano un unico ciglio primario che protrude nel lume urinario. Esso

funge da meccanolettore capace di trasdurre il flusso urinario (uno stimolo meccanico) in uno stimolo chimico, attivando una cascata intracellulare che regola la proliferazione e la differenziazione cellulare. In assenza delle policistine, la struttura del ciglio è apparentemente inalterata; tuttavia la risposta intracellulare al flusso urinario è compromessa. Le policistine 1 e 2 mediano l'incremento del calcio intracellulare indotto dal flusso urinario attraverso il ciglio: un signaling pathway che ha un effetto antiproliferativo in risposta al fisiologico flusso urinario. Il deficit di funzione di tali proteine determina un'aberrante tubulogenesi, che dà origine alla formazione di cisti [13].

2.3. Anatomia patologica del rene policistico nell'adulto (ADPKD)

I reni dei pazienti affetti da ADPKD sono caratterizzati dalla presenza di numerose cisti, che comportano un aumento di peso e volume dei reni, i quali, partendo da un peso fisiologico di 200-300g, possono espandersi arrivando a pesare più di 1 kg. Le cisti possono raggiungere diversi centimetri di diametro e contengono liquido sieroso o macchiato di sangue. Come è possibile vedere dalle immagini istologiche (Figura 2.4), le cisti possono originarsi da tutti i tratti del nefrone. Espandendosi all'interno del tessuto renale, compromettono il parenchima interposto, portando a ischemia progressiva e danno ipertensivo [14].

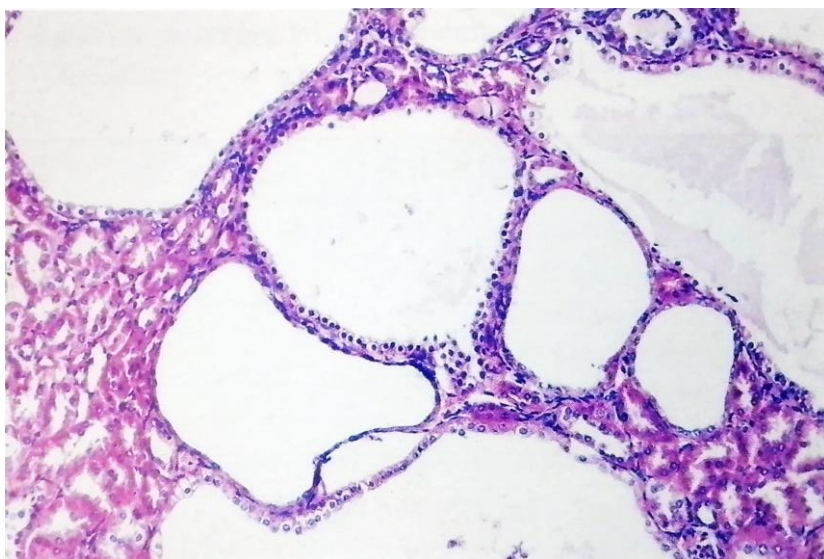


Figura 2.4: Esame istologico di un rene con malattia renale policistica ADPKD [14]

Dal punto di vista fenotipico, la malattia policistica dell'adulto presenta tipicamente un interessamento cistico bilaterale diffuso. I pazienti che presentano questo quadro clinico *tipico* appartengono alla classe 1. L'interessamento cistico può essere di varia natura, da più leggera a più importante, e nei casi più gravi le cisti possono arrivare a sostituire la maggior parte del tessuto renale (Figura 2.5 A e B).

Tuttavia la patologia ha una manifestazione fenotipica che può essere molto variabile. Ad oggi sono state classificate altre sei configurazioni atipiche in cui possono presentarsi i reni nell'ADPKD. I pazienti che presentano un quadro clinico *atipico* appartengono alla classe 2. Le forme atipiche generalmente possono comportare un interessamento cistico di diversa gravità nei due reni, presenza di cisti di grandezza anomala oppure atrofia renale. Secondo uno studio pubblicato nel 2015 dall'*American Society of Nephrology* [15], che ha proposto una classificazione via imaging delle forme atipiche, si possono dividere i casi atipici in due classi in base alla presenza o assenza di atrofia renale: la classe 2A che non la manifesta e la classe 2B che la manifesta. Più nello specifico nella classe 2A sono comprese le sottocategorie:

- *Unilateral*: interessamento cistico importante di solo un rene, che presenta un marcato aumento di volume. Rene controlaterale che presenta un volume normale con assenza cisti oppure presenza di massimo 1-2 cisti. (Figura 2.5 C)
- *Segmental*: interessamento cistico di solamente un polo di uno o di entrambi i reni con totale assenza di cisti nel restante tessuto renale. (Figura 2.5 D)
- *Asymmetric*: interessamento cistico diffuso di un rene, con marcato aumento di volume. Interessamento diffuso minimo o segmentale di natura leggera del rene controlaterale, definito da un numero piccolo di cisti (>2 ma <10) che occupano un volume intorno al 30% del TKV. (Figura 2.5 E)
- *Lopsided*: interessamento cistico bilaterale diffuso, moderata sostituzione del tessuto renale con cisti anomale, tale che ≤ 5 cisti costituiscono il $\geq 50\%$ del TKV. (Figura 2.5 F)

Alle sottocategorie sopracitate, uno studio pubblicato a febbraio del 2023 sul Scientific Reports, ha aggiunto due ulteriori sottocategorie alla classe 2A [16]:

- *Mild lopsided*: interessamento cistico bilaterale diffuso, moderata sostituzione del tessuto renale con cisti anomale, tale che 2-5 cisti costituiscono il 15-49% del TKV. (Figura 2.5)
- *Segmental sparing*: interessamento cistico bilaterale e diffuso con totale assenza di cisti in solo un polo di uno o entrambi i reni. (Figura 2.5)

La classe 2B è invece caratterizzata da reni atrofici e si possono distinguere le seguenti sottocategorie:

- *Interessamento bilaterale con atrofia unilaterale*: Interessamento cistico diffuso di un rene, con aumento di volume moderato o severo. Rene controlaterale con atrofia acquisita. (Figura 2.5 G)
- *Interessamento bilaterale con atrofia bilaterale*: Funzionalità renale compromessa (creatinina sierica ≥ 1.5 mg/dl), nessun ingrandimento significativo dei reni, definiti da una lunghezza media di 14.5 cm, sostituzione del tessuto renale con cisti con atrofia del parenchima. (Figura 2.5 H)

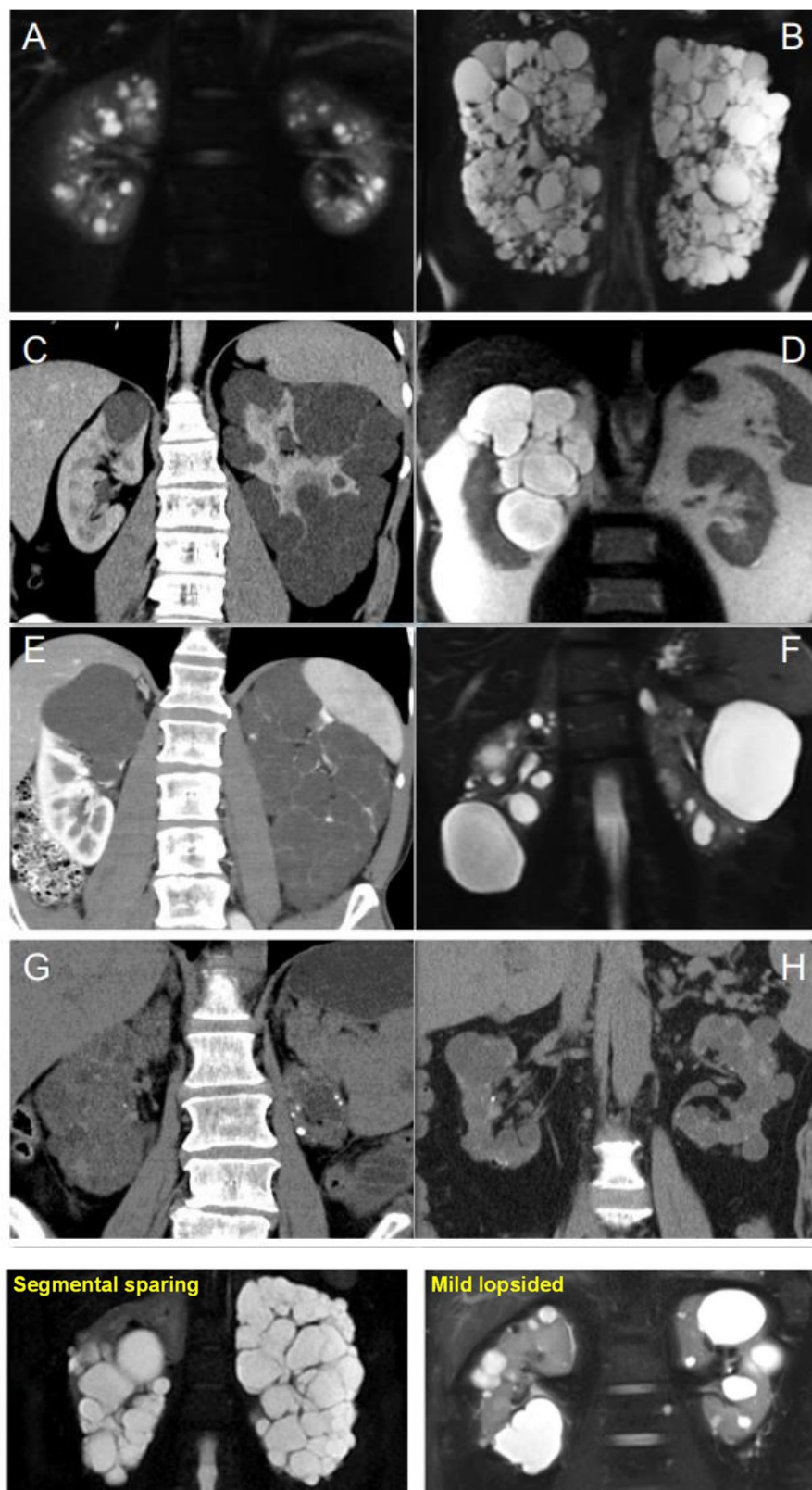


Figura 2.5: A,B: reni ADPKD tipici; interessamento moderato (A) e severo (B). C,D,E,F: reni ADPKD atipici di classe 2A; Unilateral (C), Segmental (D), Assymmetric (E), Lopsided (F), Segmental sparing, Mild lopsided. G,H: reni ADPKD atipici di classe 2B; Atrofia unilaterale (G), Atrofia bilaterale (H). [15]

2.4. Prognosi nella pratica clinica

Riuscire a dare una prognosi accurata della malattia policistica è molto importante per poter intervenire prontamente ed adeguatamente nel trattamento della stessa. Il decorso tipico della malattia policistica del rene nell'adulto è l'insorgenza entro il primo quinto della vita di Malattia renale cronica (CKD, Cronical Kidney Disease), di cui lo stadio finale è rappresentato da ESRD (End-Stage Renal Disease), che obbliga i pazienti alla dialisi oppure al trapianto di rene. Il monitoraggio e la stadiazione della CKD viene generalmente fatto tramite marcatori della funzionalità renale, come l'e-GFR (estimated glomerular filtration ratio) o la creatinina sierosa. Tuttavia, questi marcatori non si rivelano efficaci nella prognosi della malattia policistica renale, in quanto il rene mantiene una funzionalità normale nello stadio iniziale della malattia, rendendo difficile ai marcatori di funzionalità renale predirne il decorso. Questo è dovuto alla capacità dei nefroni di compensare la perdita di nefroni malati. Solo quando la maggior parte del parenchima si trasforma in tessuto cistico e fibrotico, il meccanismo di compensazione viene sopraffatto e il GFR diminuisce in modo sostanziale, ma a questo punto almeno il 50% del parenchima è già distrutto.

Un marcatore biologico che invece riesce a monitorare la progressione della malattia fin dai primi stadi e che viene ad oggi utilizzato come fattore prognostico nella pratica clinica, è il TKV (total kidney volume). La classificazione Mayo, uno dei principali modelli prognostici per l'ADPKD, utilizza proprio una variante del TKV, l'height-adjusted TKV, assieme all'età per definire delle classi di rischio. Il secondo modello prognostico attualmente utilizzato è il PROPKD score. A differenza del primo, questo metodo prende in considerazione dati clinici e genetici a cui sono attribuiti dei punteggi che sommati danno origine a uno score finale, a cui viene attribuita una classe di rischio.

2.4.1. Classificazione MAYO

Uno studio del 2015 condotto sui pazienti della *Mayo Clinic Translational Polycystic Kidney Disease Center (MTPC)* [15] ha proposto un modello semplice per la classificazione e la prognosi dei pazienti con ADPKD. Secondo questo modello i pazienti vengono innanzitutto ripartiti in tipici (classe 1) e atipici (classe 2) ed in seguito in sottocategorie. Per quanto riguarda i pazienti tipici, vengono suddivisi in ulteriori

cinque sottoclassi (1A–1E) in funzione dell'età e dell'Height Adjusted-TKV (HtTKV, (ml/m)), ovvero il volume renale rapportato all'altezza (Figura 2.6). Tali sottoclassi identificano un incremento annuale percentuale di volume che è stimato < 1.5% nella sottoclasse 1A, 1.5%-3% nella 1B, 3%-4.5% nella 1C, 4.5%-6% nella 1D e > 6% nella 1E. I pazienti delle sottoclassi 1A e 1B sono considerati a basso rischio, mentre quelli delle classi 1C, 1D e 1E sono considerati ad alto rischio. È disponibile un Tool on-line, utilizzato ad oggi nella pratica clinica, per la classificazione Mayo dei pazienti tipici (classe 1): fornendo l'età, l'altezza e il TKV del paziente, il Tool calcola l'HtTKV e restituisce automaticamente la sottoclasse di appartenenza del paziente ([ADPKD Classification \(mayo.edu\)](https://www.mayo.edu/ADPKD/Classification)).

Mentre è stato evidenziato per i pazienti tipici (classe 1) che la classificazione Mayo in funzione dell'età e dell'HtTKV costituisca un metodo prognostico quantitativo predittivo, in quanto è in grado di predire il declino dell'eGFR e la progressione verso lo stadio finale della malattia, per quanto riguarda i pazienti atipici (classe 2) non sono state riscontrate le stesse evidenze. Nei pazienti atipici non è stato infatti trovato un legame fra l'HtTKV e l'eGFR. La classificazione Mayo clinical per gli atipici si limita dunque ad una ripartizione qualitativa dei pazienti, in base all'aspetto dei reni nelle immagini RM. Troviamo infatti due sottoclassi principali (2A e 2B) che identificano l'assenza (2A) o la presenza (2B) di atrofia renale. Della classe 2A fanno parte le sottoclassi: unilateral, segmental, segmental sparing, lopsided, mild lopsided, asymmetric, descritte ampiamente nel paragrafo precedente. La classe 2B si suddivide invece in atrofia unilaterale e atrofia bilaterale. La classificazione Mayo non fornisce un quadro prognostico preciso per i pazienti di classe 2. Dallo studio è emerso solamente che la classe 2 manifesta una progressione più lenta della malattia rispetto alla classe 1 e che la classe 2A è associata ad un rischio più basso rispetto alla classe 2B.

Uno dei limiti principali della classificazione Mayo è che, essendo una classificazione via imaging, è necessaria una risonanza magnetica dei reni per riuscire a distinguere i pazienti tipici dagli atipici, escludere questi ultimi dal modello predittivo e riuscire a classificarli. Il secondo limite è che non fornisce un quadro prognostico preciso per i pazienti atipici.

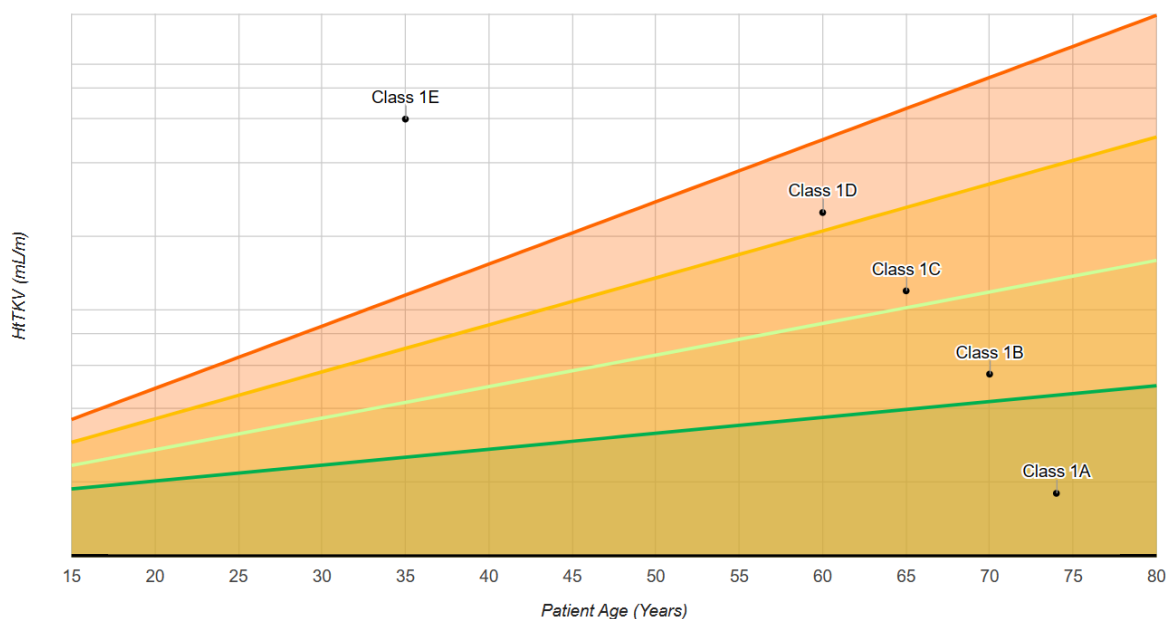


Figura 2.6 : classificazione Mayo per i pazienti tipici (classe 1)

2.4.2. PROPKD score

Il PROPKD score è un modello prognostico per i pazienti con ADPKD, che predice la velocità di progressione della malattia sulla base di dati clinici e genetici. Tale modello è stato proposto da uno studio condotto su 1341 pazienti facenti parte della coorte di Genkyst [17], sui quali è stata analizzata l'influenza di fattori genetici e clinici sulla sopravvivenza renale. Questo modello attribuisce uno score da 0 a 9 al paziente in base a quattro variabili che sono state dimostrate avere un'associazione significativa con l'età a cui si presenta l'ESRD (end-stage renal disease): sesso, ipertensione prima dei 35 anni, primo evento urologico prima dei 35 anni, mutazione genetica. I punteggi attribuiti ad ogni variabile sono riportati nella Tabella 2.1. In base al punteggio totale ottenuto dalla somma i pazienti vengono suddivisi in tre classi di rischio: basso, medio e alto rischio. Un punteggio ≤ 3 corrisponde alla classe a basso-rischio, associata a sviluppo di ESRD mediamente all'età di 70.6 anni, escludendone lo sviluppo prima dei 60 anni con una probabilità del 81.4%; un punteggio ≤ 6 corrisponde alla classe di medio-rischio, associata allo sviluppo di ESRD mediamente all'età di 56.9 anni con una probabilità del 90.9%; infine un punteggio ≤ 9 corrisponde alla classe ad alto-rischio, associato a sviluppo di ESRD mediamente all'età di 49 anni e ad una probabilità del 92% di insufficienza renale entro i 60 anni.

Un limite di questo metodo è che potrebbe non essere utile per la prognosi in pazienti di età inferiore ai 35 anni, a meno che non presentino già ipertensione e non abbiano già manifestato il primo evento urologico. Un secondo limite del modello è che necessita di analisi genetica, un'esame che richiede tempo per essere eseguito.

Factor	Points
Male	1
Hypertension before age 35 y	2
First urological event before age 35 y	2
PKD2 mutation	0
Nontruncating PKD1 mutation	2
Truncating PKD1 mutation	4

Tabella 2.1 : punteggi da attribuire ad ogni variabile. La somma dei tutti i punti costituisce il PROPKD score.

2.5. Prognosi nei pazienti atipici

Il modello di classificazione Mayo predittivo che utilizza l'età e il height-adjusted TKV per predire la velocità di progressione della malattia, costituisce un valido metodo per la prognosi dei pazienti tipici (classe 1) ed è ad oggi largamente utilizzato nella pratica clinica. Tuttavia da questo modello vanno esclusi gli atipici (classe 2), in quanto in questi pazienti l'htTKV non predice l'eGFR. Inoltre, se non riconosciuti correttamente come atipici e quindi esclusi, questi pazienti rischiano di essere classificati come classe 1 ad alto rischio (1C, 1D, 1E). Uno studio ha riportato che se non fossero stati riconosciuti, ben il 41.3% dei pazienti atipici sarebbe stato erroneamente classificato come classe 1 ad alto rischio [16]. Un'errata classificazione non solo porterebbe ad un'errata prognosi, ma potrebbe anche portare alla somministrazione di terapie farmacologiche in una categoria di pazienti che non è stata inclusa nei trials clinici di quei farmaci. Ad esempio il trattamento con Tolvaptan, un farmaco che rallenta la crescita del volume renale, consigliato per i pazienti di classe 1 ad alto rischio, non porterebbe beneficio ai pazienti di classe 2B con reni atrofici. La classificazione Mayo clinical per i pazienti atipici è di carattere qualitativo e sebbene sia stato dimostrato che i pazienti della classe 2A hanno un decorso della malattia più lento rispetto a quelli di classe 2B, non riesce comunque a fornire un quadro prognostico più

preciso. Per questi motivi la prognosi nei pazienti atipici rimane ancora difficile e attualmente si stanno ancora studiando modelli prognostici migliori.

Lo studio “*Expanded Imaging Classification of Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease*” pubblicato nel 2020 sul “*Journal of the American Society of Nephrology*” ha proposto una variante del modello di classificazione Mayo estendibile anche ai pazienti atipici [18]. Secondo questo studio i pazienti atipici potrebbero essere classificati mediante il modello Mayo predittivo a patto di utilizzare al posto del htTKV un htTKV ricalcolato, da cui vengono escluse le cisti esofitiche. Questo approccio si basa sull’evidenza che la maggioranza dei pazienti di classe 2 presentano cisti esofitiche prominenti, che protrudono dal parenchima, al contrario dei pazienti di classe 1, che presentano cisti bilaterali diffuse che si sviluppano all’interno del parenchima. Queste cisti esofitiche prominenti, oltre a modificare qualitativamente la morfologia del rene, facendolo apparire atipico, causano anche una sovrastima del TKV. Quindi l’utilizzo di un TKV modificato, da cui vengono escluse le cisti esofitiche, potrebbe essere un fattore prognostico migliore per i pazienti atipici.

Nel seguito questo studio viene illustrato con maggiore dettaglio.

Obbiettivo: Studiare la validità dell’htTKV ricalcolato come fattore prognostico per i pazienti atipici, al fine di poterli includere nella classificazione Mayo assieme ai pazienti tipici e fornire un modello prognostico predittivo anche per i pazienti atipici.

Materiali e metodi: Allo studio hanno partecipato 558 pazienti adulti affetti da ADPKD, di cui è stata fatta la classificazione Mayo via imaging per tutti quelli in possesso di una RM. Per i pazienti con cisti esofitiche è stato ricalcolato l’htTKV escludendo le cisti esofitiche (è stata definita una ciste esofitica come una ciste il cui baricentro cade al di fuori del contorno ipotizzato del parenchima renale) ed è stata rifatta la classificazione (Figura 2.7). I pazienti classificabili Mayo, di cui era disponibile il follow-up sulla stadiazione della CKD a 5 anni, sono stati inclusi nell’analisi statistica sulla stadiazione

della CKD; tali soggetti sono quindi stati etichettati come “pazienti”¹ (soggetti che hanno sviluppato CKD allo stadio 3 (CKD3) in 5 anni) o come “controlli” (soggetti che non hanno sviluppato CKD3 in 5 anni). Infine, 516 soggetti, di cui si conosceva un follow-up sull’andamento temporale della GFR, sono stati inclusi nell’analisi delle traiettorie dell’eGFR.

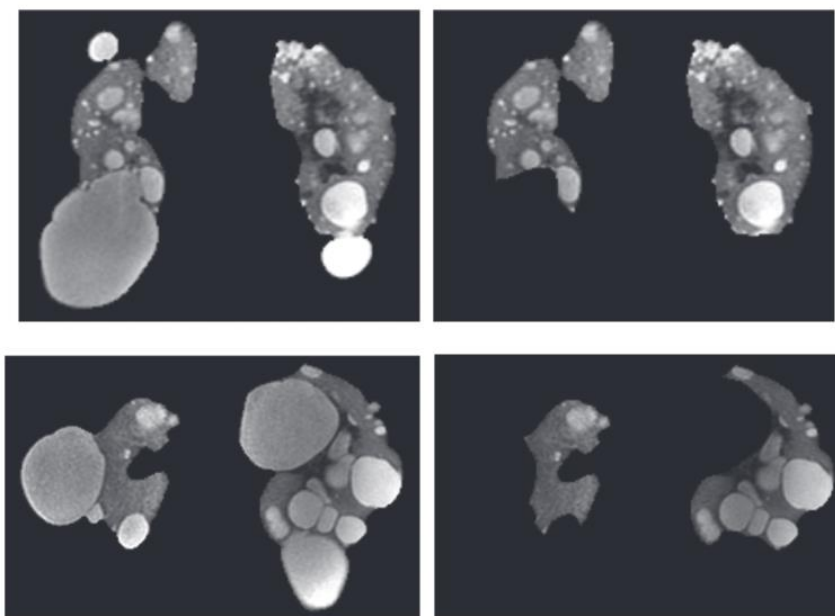


Figura 2.7: Esempio di segmentazione del TKV originale e del TKV ricalcolato escludendo le cisti esofitiche.

Analisi statistica descrittiva

Sono state calcolate le classi Mayo (1A-1E) per tutti i pazienti utilizzando l’htTKV originale e poi ricalcolate per i pazienti con cisti esofitiche di classe 1 e classe 2Ae utilizzando l’htTKV ricalcolato.

Analisi della prognosi di CKD associata con i cambiamenti nella classificazione

Questa parte dell’analisi statistica si pone l’obiettivo di valutare l’effetto dell’htTKV ricalcolato nel prevedere lo sviluppo di CKD nei pazienti atipici di classe 2Ae. Per farlo

¹ Di seguito verrà usato il termine pazienti per indicare anche in modo generale tutti partecipanti allo studio, in quanto affetti da ADPKD; sarà specificato dall’uso delle virgolette quando il termine “pazienti” verrà usato per identificare la classe di soggetti etichettati, contrapposta alla classe dei “controlli”.

sono stati utilizzati due modelli di regressione logistica, entrambi modellati sui pazienti di classe 1. Il primo, più semplice, ha modellato lo sviluppo di CKD allo stadio 3 (CKD3) a 5 anni di follow-up in funzione solo dell'htTKV nei pazienti di classe 1 (modello *unadjusted*). Il secondo modello è stato poi ottenuto ottimizzando il primo mediante l'aggiunta di ulteriori features, quali: eGFR, età, sesso, indice di massa corporea e razza (modello *adjusted*). Entrambi i modelli restituiscono una probabilità da 0 a 1 di manifestare CKD3 in 5 anni.

- È stata calcolata l'area sotto la curva ROC per valutare la bontà di entrambi i modelli (*adjusted* e *unadjusted*), confrontando i risultati ottenuti dando in ingresso htTKV originali e htTKV modificati.

- Infine è stata fatta la calibrazione e valutato il fitting dei modelli: (1) valutando la probabilità predetta media nelle classi dei “pazienti” (ovvero soggetti che al follow-up di 5 anni avevano già sviluppato CKD3) e nelle classi dei “controlli” (ovvero soggetti che al follow-up di 5 anni non avevano ancora sviluppato CKD3), per l'htTKV originale e ricalcolato (nei modelli *adjusted* e *unadjusted*), (2) valutando la capacità dei modelli, posti a un valore di cutoff di 0.5, di classificare i soggetti come CKD3 (pazienti che svilupperanno CKD3 in 5 anni) o non-CKD3 (pazienti che non svilupperanno CKD3 in 5 anni), attraverso il calcolo della %CKD3 (percentuale di pazienti classificati come CKD3), per l'htTKV originale e ricalcolato (per i modelli *adjusted* e *unadjusted*), (3) eseguendo il test di HosmerLemeshow per la valutazione del fitting dei modelli.

Analisi delle traiettorie dell'eGFR associata con i cambiamenti nella classificazione

Questa parte dell'analisi statistica si pone l'obiettivo di valutare l'effetto dell'htTKV ricalcolato nella previsione della traiettoria dell'eGFR per i pazienti di classe 2Ae. È stato quindi utilizzato un modello misto lineare (per tenere conto della correlazione intra-soggetto) per valutare le traiettorie dell'eGFR. Le curve eGFR predetta sono state modellate sui pazienti di classe 1. Per valutare la differenza fra la eGFR predetta e la eGFR osservata è stata svolta un'analisi di bootstrap (una tecnica statistica di ricampionamento con reimmissione per approssimare la distribuzione campionaria di una statistica). Sono stati utilizzati 1000 campioni di bootstrap generati selezionando casualmente un soggetto in un momento temporale casuale. Sono quindi stati stimati il

bias e la variabilità fra le distribuzioni di eGFR osservata e eGFR predetta. L'analisi è stata eseguita per (1) solamente i pazienti della classe 2Ae, (2) sia i pazienti di classe 2Ae sia di classe 1, (3) solamente i pazienti di classe 1. Per i pazienti di classe 2Ae e di classe 1 con cisti esofitiche prominenti, l'analisi è stata eseguita prima utilizzando l'htTKV originale e la classificazione originale, poi ripetuta utilizzando l'htTKV ricalcolato e la classificazione ricalcolata.

Risultati:

La classificazione dei pazienti ha riconosciuto 435 pazienti tipici (classe 1) e 30 atipici (classe 2: tutti erano pazienti di classe 2A nessun paziente appartenente alla classe 2B). Dei 30 pazienti di classe 2A, 25 presentavano cisti esofitiche prominenti (classe 2Ae) e 5 erano senza cisti prominenti (classe 2Ane). Sono stati inclusi nell'analisi statistica per la prognosi di CKD 458 soggetti (435 di classe 1, 23 di classe 2Ae) e nell'analisi delle traiettorie dell'eGFR 516 soggetti, di cui si conosceva un follow-up sull'andamento temporale della GFR.

Analisi descrittiva

Risultati della classificazione con htTKV ricalcolati, più piccoli degli htTKV originali: sono stati declassati alla classe subito inferiore 23 dei 25 pazienti di classe 2Ae: 4 (da 1E a 1D), 2 (da 1D a 1C), 1 (da 1D a 1B), 9 (da 1C a 1B), e 7 (da 1B a 1A); e 14 dei 43 pazienti di classe 1 con cisti esofitiche: 1 (da 1E a 1D), 3 (da 1D a 1C), 8 (da 1C a 1B), and 2 (da 1B a 1A). (Figura 2.8)

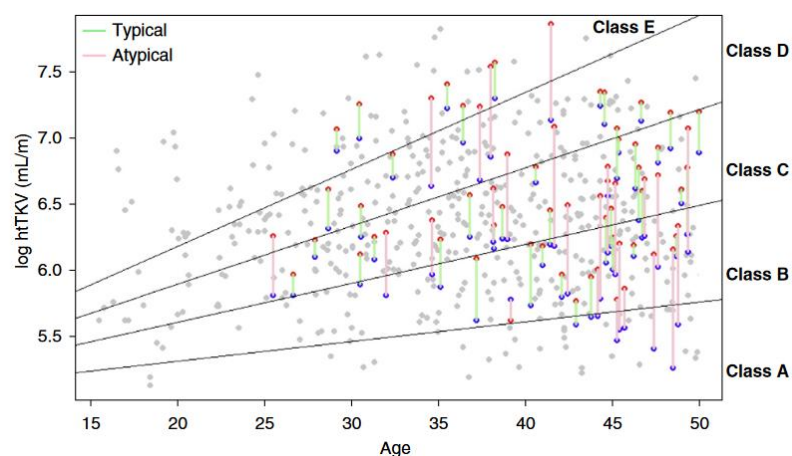


Figura 2.8: in rosso la classificazione Mayo svolta con il htTKV originale, in blu la riclassificazione Mayo svolta con il htTKV ricalcolato, per tutti i pazienti aventi cisti esofitiche.

Analisi della prognosi di CKD associata con i cambiamenti nella classificazione.

- L'utilizzo del htTKV ricalcolato rispetto all'htTKV originale *non* è risultato influire significativamente sulla bontà di classificazione in nessuno dei due modelli, infatti l'area sotto la curva ROC non è risultata significativamente differente (per entrambi i modelli) al variare dell'htTKV utilizzato.

1) L'utilizzo dell'htTKV ricalcolato *non* ha influito in maniera significativa sulla probabilità media predetta dai modelli né nelle classi dei “pazienti” (soggetti che hanno sviluppato CKD3 in 5 anni) né nelle classi di “controllo” (soggetti che non hanno sviluppato CKD3 in 5 anni). In tutti i casi la probabilità media predetta era fra il 15-40% maggiore nei “pazienti” rispetto ai “controlli” (ricordando che probabilità predetta uguale a 1 corrisponde alla certezza di sviluppare CKD3 in 5 anni e 0 alla certezza di non svilupparla).

2) Seppure in maniera non significativa, l'utilizzo dell'htTKV ricalcolato ha diminuito la %CKD3 predetta (ovvero la percentuale di soggetti classificati CKD3) nella classe 2Ae per entrambi i modelli, avvicinando la %CKD3 predetta alla percentuale osservata, pari a 13.0% per la classe 2Ae. La %CKD3 predetta per i soggetti di classe 2Ae è passata infatti dal 39.1% e da 63.6% (rispettivamente nei modelli unadjusted e adjusted) con gli htTKV originali a 17.4% e 45.45% con gli htTKV ricalcolati. I risultati riportati nella Tabella 2.2.

Model	All participants	Class 1	Class 2Ae
Unadjusted, original htTKV	29.91% (25.75, 34.34)	29.43% (25.18, 33.95)	39.13% (19.71, 61.46)
Unadjusted, recalculated htTKV	30.57% (26.38, 35.01)	31.26% (26.93, 35.85)	17.39% (4.95, 38.78)
Adjusted, original htTKV*	44.52% (39.85, 49.26)	43.53% (38.76, 48.39)	63.64% (40.66, 82.80)
Adjusted, recalculated htTKV*	44.07% (39.41, 48.81)	44.00% (39.22, 48.86)	45.45% (24.39, 67.79)

*Covariates in the adjusted model: baseline age, eGFR, BMI, sex and race
Predicted probability > 0.5.

Tabella 2.2: %CKD predetta con i volumi originali vs i volumi ricalcolati

3) Infine, il fitting del modello nella classe 2Ae, valutato utilizzando il test di Hosmer-Lemeshow (dove un risultato significativo, p-value basso, implica la mancanza

di fitting), è migliorato: passando da 0,014 e 0,003 (rispettivamente unadjusted e adjusted) con gli htTKV originali a 0,83 e 0,31 con gli htTKV ricalcolati (Tabella 2.3).

Model	All participants	Class 1	Class 2Ae
Unadjusted, original htTKV	0.4598	0.7164	0.0138
Unadjusted, recalculated htTKV	0.5967	0.4805	0.8260
Adjusted, original htTKV*	0.2749	0.4322	0.0025
Adjusted, recalculated htTKV*	0.2411	0.1883	0.3130

*Covariates in the adjusted model: baseline age, eGFR, BMI, sex and race
Less significance implies better fit.

Tabella 2.3: Bontà del fitting del modello, valutata con il test di Hosmer-Lemeshow

Analisi delle traiettorie dell'eGFR associata con i cambiamenti nella classificazione

- L'utilizzo delle classi ricalcolate (usando l'htTKV ricalcolato) ha avvicinato l'eGFR predetta all'eGFR osservata, diminuendo il bias (da 17.6 ml/min per 1.73 m² a 4.0 ml/min per 1.73 m²) e la varianza (da 27.20 a 7.94).

- L'utilizzo delle classi ricalcolate (usando l'htTKV ricalcolato) ha migliorato il fitting fra eGFR predetta e osservata nei pazienti di classe 2Ae, rendendolo paragonabile al fitting dei pazienti di classe 1 (ricordando che il fitting per la classe 2Ae con la classificazione originale era significativamente peggiore di quello per la classe 1). Le rappresentazioni grafiche delle traiettorie eGFR mostrano un miglioramento nel fitting con la riclassificazione. Ad esempio, si può vedere chiaramente che con gli htTKV ricalcolati, il fitting delle traiettorie eGFR migliora per i pazienti di classe 2Ae declassati dalla classe E alla classe D: dalla Figura 2.9 si possono notare le traiettorie osservate si sovrappongono strettamente alla traiettoria prevista; gli stessi risultati sono stati ottenuti analogamente per gli altri pazienti declassati della classe 2Ae:

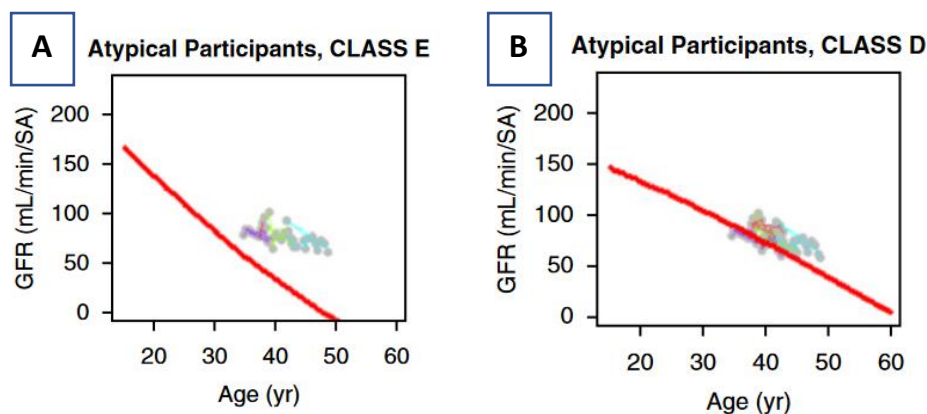


Figura 2.9: A) pazienti atipici 2Ae di classe E, con classificazione originale. B) pazienti atipici 2Ae di classe D, con la classificazione ricalcolata. In rosso la eGFR predetta dalla modellazione del gruppo di pazienti tipici (classe 1) per le classi E e D. Con la riclassificazione dei pazienti, utilizzando l'htTKV ricalcolato, molti pazienti che appartenevano alla classe E sono stati declassati in classe D; si può osservare come il fitting della eGFR osservata negli atipici sia migliorato con la declassazione da E a D.

Conclusioni:

L'effetto degli htTKV ricalcolati dopo l'esclusione delle cisti esofitiche nei partecipanti di classe 2Ae (e, secondariamente, di classe 1) è stato valutato in termini di due analisi statistiche: (1) previsione dello sviluppo di CKD3 e (2) previsione della traiettoria dell'eGFR. Il fitting dei modelli per la previsione di CKD è significativamente migliore per i soggetti di classe 2Ae utilizzando htTKV ricalcolati rispetto a htTKV originali. L'utilizzo delle classi ricalcolate migliora anche le traiettorie eGFR, che si avvicinano di più a quelle osservate.

I limiti di questo studio risiedono nel fatto che la mancanza di un campione numeroso di pazienti atipici non consente di sviluppare un modello direttamente su di loro, infatti tutti i modelli e le curve di previsione della GFR sono state modellate sui pazienti tipici di classe 1. Un altro limite dello studio è la totale mancanza di pazienti di classe 2B (atipici con atrofia), per cui le evidenze riscontrate valgono solamente per la classe 2Ae (pazienti atipici di classe 2A con cisti esofitiche).

In conclusione, è stato dimostrato un miglioramento nella previsione di CKD3 e delle traiettorie eGFR in pazienti che presentano cisti esofitiche prominenti, utilizzando il htTKV ricalcolato. Questo implica che l'uso di htTKV ricalcolati facilita l'inclusione dei pazienti di classe 2 con cisti esofitiche prominenti nella classificazione di Mayo e aiuta a migliorare la prognosi in pazienti di classe 1 con cisti esofitiche prominenti.

2.6. Terapie

Attualmente non sono disponibili delle terapie per la cura della malattia del rene policistico: è possibile rallentare la progressione della malattia, trattare e alleviare determinati sintomi, ricorrere alla dialisi quando il paziente entra in insufficienza renale cronica, o all'intervento chirurgico, che può consistere in un trapianto di reni o nello svuotamento delle cisti. Numerosi studi basandosi sull'identificazione dei geni PKD1 e PKD2 come responsabili dell'ADPKD, hanno investigato sullo sviluppo di agenti terapeutici, come niacinamide ad alte dosi, inibitori della tirosin-chinasi, inibitori del target della rapamicina nei mammiferi (mTOR), il blocco del sistema renina-angiotensina-aldosterone e l'adenosina ciclica 3' - 5' monofosfato. Particolare interesse è stato dedicato dagli antagonisti del recettore della vasopressina V2 (V2R): studi su modelli animali hanno dimostrato l'efficacia di tali antagonisti nel trattamento dell'ADPKD. Sulla base di questi risultati il Tolvaptan, un antagonista V2R, è stato testato in pazienti ADPKD. Lo studio clinico si basa sui risultati ottenuti nell'arco di 3 anni su 1445 adulti affetti dalla malattia autosomica dominante del rene. I risultati hanno evidenziato una più lenta progressione della malattia negli individui a cui è stato somministrato il farmaco rispetto a quelli trattati con il placebo. In particolare, Tolvaptan è riuscito a ridurre significativamente il tasso di aumento del volume renale totale di circa 50% rispetto al placebo, con una riduzione statisticamente significativa del rischio di peggioramento della funzione renale, infezioni e dolore. Tolvaptan ha ricevuto l'autorizzazione europea all'immissione in commercio nel maggio 2015.

3. La DTI nel Rene

Il seguente capitolo si pone l'obiettivo di fare una revisione della letteratura sull'utilizzo dell'imaging del tensore di diffusione (DTI) nel rene, concentrandosi principalmente su due aspetti: 1) trattare l'effetto che hanno le modalità e i protocolli di acquisizione sui parametri della DTI; 2) esporre i principali risultati ottenuti dall'uso della DTI in pazienti renali e di controllo, concentrandosi sui parametri di diffusione e anisotropia.

3.1. Influenza delle modalità e dei protocolli di acquisizione, sugli indici di diffusione e anisotropia (DAIs)

Nel seguente capitolo è stato analizzato l'effetto delle modalità e dei protocolli di acquisizione sui valori ottenuti negli indici di diffusione e anisotropia (DAIs), sulla qualità delle mappe e in generale sulla qualità dei risultati ottenuti. Le variabili analizzate sono state divise per argomento.

Influenza del b-value

Il b-value è un parametro espresso in s/mm^2 , strettamente legato alle specifiche hardware della macchina di risonanza magnetica, che può variare da 0 a circa 1000 s/mm^2 . È un parametro direttamente proporzionale alle caratteristiche dei gradienti, alla loro durata e al tempo che intercorre tra l'applicazione del primo gradiente e il successivo. La scelta del b-value ha un ruolo molto importante in quanto un aumento del b-value aumenta la pesatura in diffusione, ma al contempo riduce il rapporto segnale-rumore (SNR) ed aumenta i tempi di acquisizione. Un diverso b-value influenza inoltre la natura del segnale diffusivo rilevato nelle immagini DWI. Un b-value basso ($<200 s/mm^2$) evidenzia gli effetti di pseudodiffusione, un b-value alto ($>1000 s/mm^2$)

evidenzia gli effetti di diffusione non gaussiana, mentre la diffusione gaussiana è massima per valori medi del b-value (Figura 3.1) [1, Cap. 11].

Lo studio Chuck et al. [19] ha analizzato l'influenza del b-value (per valori pari a 300, 500 e 700 s/mm^2) sul valore degli indici DTI e sul rapporto segnale rumore. Secondo questo studio la scelta del b-value avrebbe un effetto significativo prevalentemente sui valori di ADC: che diminuiscono all'aumentare del b-value sia nella corteccia che nella medulla. In accordo con la letteratura infatti, un valore del b-value più basso porterebbe alla manifestazione degli effetti di pseudodiffusione, che porterebbero ad una sovrastima dell'indice di diffusione. Per quanto riguarda invece FA, il b-value non è risultato avere nessun effetto né nella zona della corteccia né nella zona della medulla. Si può quindi desumere che non ci siano cambiamenti significativi di FA per valori del b-value nel range fra 300-700 s/mm^2 , ma nulla si può dire per range più ampi, soprattutto per valori di b-value attorno a 1000 s/mm^2 dove comincia a scomparire la componente di diffusione gaussiana e comparire quella di diffusione non gaussiana. È importante notare inoltre che il b-value è solo uno degli aspetti che influenza i DAIs, assieme al tempo di diffusione, il ritardo e altri parametri delle direzioni del gradiente.

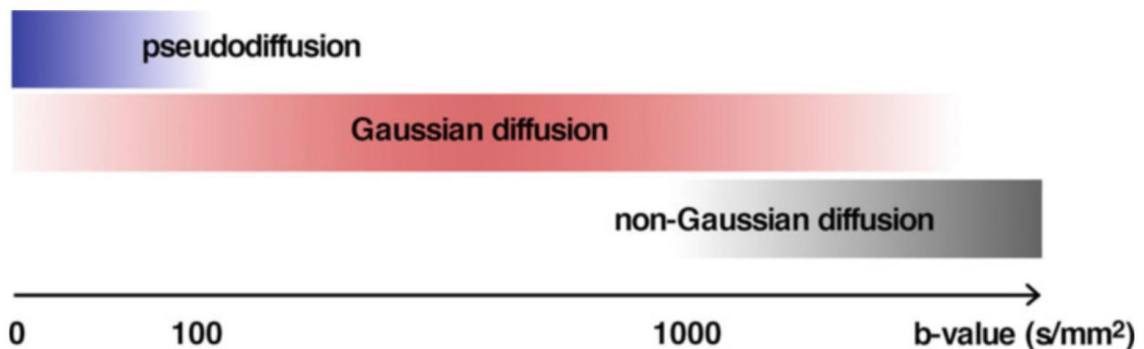


Figura 3.1: rappresentazione sommaria dei segnali di diffusione misurati in funzione del b-value utilizzato. 1) pseudodiffusione misurata per b-value bassi, che riflette il flusso attraverso vasi e tubuli; 2) diffusione gaussiana (o isotropa), che riflette la diffusione delle molecole d'acqua nel tessuto renale e quindi informa sulla microstruttura e sul tessuto renale; 3) diffusione non gaussiana, osservata a valori b elevati e che fornisce informazioni aggiuntive sulla microstruttura dei tessuti.

Si è inoltre evinto dallo studio, ed è noto dalla letteratura, che un aumento del b-value provoca una diminuzione dell'intensità del segnale e un peggioramento dell'immagine, quantificabili in termini di rapporto segnale-rumore (SNR) e livello di contrasto fra

corteccia e medulla. La Figura 3.2 mostra la diminuzione del rapporto segnale rumore (SNR) e la diminuzione del rapporto contrasto-rumore nella zona cortico-medullare (CNR): si può notare che entrambi vanno a peggiorare con l'aumento del b-value.

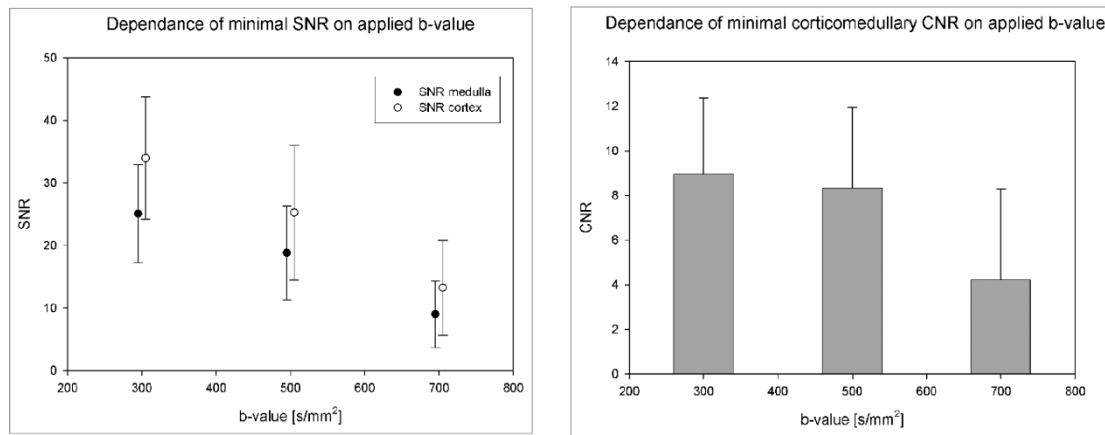


Figura 3.2: Andamento del SNR e del CNR all'aumentare del b-value

Numero di direzioni di diffusione del gradiente

Il numero di direzioni del gradiente utilizzate sembra avere un'influenza sia sulla qualità visiva delle mappe dei parametri DTI, sia sui valori medi degli stessi parametri. Lo studio di Chuck et al. [19] ha evidenziato un miglioramento della qualità visiva (valutata in base alla presenza di artefatti, distorsione e capacità di distinguere la corteccia dalla medulla) in particolare sulla mappa della Fractional Anisotropy (FA), che è risultata essere migliore per 15 e 32 direzioni del gradiente rispetto a quella ottenuta con 6; secondo lo stesso studio, non è stata invece trovata una differenza significativa tra le mappe di ADC ottenute al variare del numero di direzioni. Il numero di direzioni ottimale potrebbe dunque essere 15, che massimizza la qualità della mappa e minimizza il tempo di acquisizione.

Per quanto riguarda i valori medi degli indici ADC e FA è stato trovato un cambiamento principalmente per quanto riguarda il valore di ADC nella medulla (risultato minore nell'acquisizione con 6 direzioni rispetto a quelle con 15 e 32 direzioni), mentre nessun cambiamento significativo è stato rilevato per i valori di ADC nella corteccia o di FA di medulla e corteccia.

Acquisizioni a 1.5 e 3 Tesla

Uno studio di Notohamiprodjo et al. [20] sui protocolli di acquisizione a 1.5 Tesla e 3 Tesla ha evidenziato l'effetto dell'intensità del campo magnetico esterno sul rapporto segnale-rumore (SNR) e il rapporto fra rumore e contrasto cortico-medullare (CNR). In particolare, l'acquisizione a 3T comporta SNR e CNR migliorati. È infatti visivamente evidente, confrontando le immagini senza pesatura in diffusione ($b=0$), che i dati acquisiti a 3T mostrano una discriminazione cortico-medollare nettamente migliore e una riduzione del rumore rispetto alle immagini acquisite a 1.5T. Anche quantitativamente (Figura 3.3), analizzando il valore SNR e il CNR, si riscontrano valori significativamente maggiori a 3 T che a 1.5 T.

L'intensità del campo magnetico sembra invece non avere nessun effetto sui valori di ADC e FA. Tuttavia, sebbene gli indici non risultino teoricamente influenzati dal campo magnetico esterno, non è da escludere che l'aumento del rapporto segnale rumore non possa alterare i parametri della DTI e rimane dunque un aspetto da tenere in considerazione.

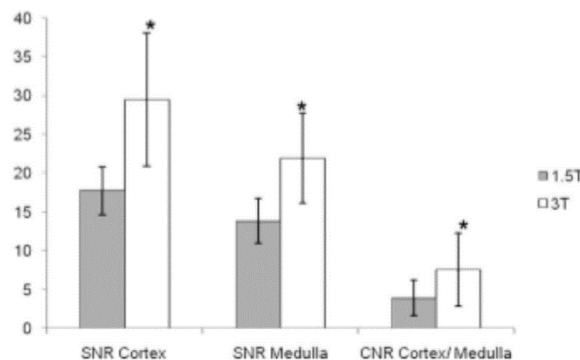


Figura 3.3: SNR e CNR a 1.5T e 3T

Protocolli di respirazione

Uno degli ostacoli maggiori nell'utilizzo dell'imaging di diffusione applicato all'addome consiste negli artefatti di movimento legati alla respirazione. Per questo motivo sono stati implementati protocolli per minimizzarli, come il respiratory-trigger (un sistema che fa partire automaticamente la sequenza di acquisizione triggerata dal respiro) e il breath-hold (acquisizioni in apnea). Uno studio di Notohamiprodjo et al.

[20] si è posto l'obiettivo di indagare l'effetto di questi protocolli a confronto con il free-breathing (acquisizioni a respiro libero) nella DTI renale.

Tutti i protocolli evidenziano una differenza tra i valori di ADC corticali e medullari e FA corticali e medullari: con valori di FA maggiori nella medulla e valori di ADC maggiori nella corteccia. In linea generale però i valori di ADC e FA nei protocolli a respiro libero e a respiro trattenuto sono significativamente più alti rispetto a quelli ottenuti nei protocolli respiratory-triggered (Tabella 3.1).

	FA Cortex	FA Medulla	ADC Cortex	ADC Medulla
Respiratory triggered 1.5T	0.24 ± 0.03	0.43 ± 0.05	2.71 ± 0.22	2.40 ± 0.22
Respiratory triggered (2b6d) 3T	0.22 ± 0.04	0.41 ± 0.05	2.70 ± 0.16	2.44 ± 0.07
Respiratory triggered (3b6d) 3T	0.23 ± 0.03	0.41 ± 0.06	2.55 ± 0.15	2.34 ± 0.11
Respiratory triggered (2b12d) 3T	0.19 ± 0.04	0.40 ± 0.08	2.79 ± 0.20	2.48 ± 0.14
Breath-hold 3T	0.29 ± 0.06	0.39 ± 0.09	2.91 ± 0.33	2.72 ± 0.27
Free-breathing 3T	0.27 ± 0.45	0.41 ± 0.08	2.89 ± 0.39	2.63 ± 0.14

Tabella 3.1: confronto FA e ADC corticali e medullari per tutti i protocolli. 2b, 3b si riferiscono all'uso di 2 o 3 b-value; 6d,12d si riferiscono al numero di direzioni del gradiente usate.

Inoltre, la scelta del protocollo ha un effetto sulla riproducibilità e il bias dei risultati. Il protocollo respiratory-triggered è quello che risulta avere una riproducibilità maggiore e un bias minore, rispetto ai protocolli breath-hold e free-breathing, con il free-breathing che è affetto dal bias più alto. Infine, il protocollo respiratory-triggered è anche quello che presenta la minore variabilità intra-osservatore, dimostrandosi il protocollo migliore dei tre analizzati.

3.2. Studi sull'utilizzo dell'imaging del tensore di diffusione (DTI) in pazienti affetti da patologie renali

Di seguito verranno riportati tre studi che utilizzano la tecnica di imaging del tensore di diffusione (DTI) per indagare la disfunzione renale. Il primo studio si concentrerà genericamente sulla valutazione della funzione renale in pazienti affetti da diverse patologie renali, il secondo e il terzo studio si concentreranno invece sulla malattia renale policistica, in particolare il secondo sulla malattia policistica autosomica dominante (ADPKD) e il terzo sulla malattia policistica autosomica recessiva (ARPKD). Alla fine dei tre studi verranno tratte le conclusioni sull'applicazione dell'imaging del tensore di diffusione nello studio della disfunzione renale.

1) “Diffusion tensor imaging and tractography of the kidneys: Assessment of chronic parenchymal diseases”

Questo studio è di Gaudiano et al. ed è stato pubblicato nel 2013 dall'European Radiology. [21]

Obiettivo: Lo scopo di questo studio è valutare la disfunzione renale in pazienti affetti da diverse patologie renali come: stenosi dell'arteria renale, malattia cistica medullare o insufficienza renale cronica, utilizzando l'imaging del tensore di diffusione (DTI).

Metodi e metodi

Partecipanti

Allo studio hanno partecipato un totale di 67 soggetti, dei quali 50 (28 uomini e 22 donne) affetti da diverse disfunzioni renali (riassunte nella Tabella 3.2), di età media 58 ± 17 anni, in un range di età che andava da 18 a 85 anni; e 17 (6 uomini e 11 donne) di controllo, di età media 33 ± 12 anni, in un range di età da 18 a 66 anni. I volontari sani erano senza storia di malattia renale, ipertensione, diabete o altre malattie vascolari. Per ogni paziente è stata misurata la creatinina sierica e calcolata l'eGFR.

Causes of renal disease	No. of pts (%)
Nephroangiosclerosis	9 (19)
Renal artery stenosis	8 (17)
Medullary kidney cystic disease	8 (17)
Diabetic nephropathy	3 (6)
Pyelonephritis, lithiasis	4 (9)
Acute glomerulonephritis	3 (6)
Chronic renal failure due to analgesic abuse	3 (6)
Interstitial nephritis due to cyclosporine toxicity	2 (4)
Wegener granulomatosis	1 (2)
Lupus nephritis	2 (4)
Chronic renal failure due to diuretic abuse	4 (9)

Tabella 3.2: patologie renali del gruppo di studio che causano CKD

Protocollo MRI

Il protocollo seguito prevedeva una MRI a 16 canali e 1.5T e acquisizioni respiratory-triggered secondo la sequenza EPI-single-shot (SS). Per le acquisizioni DTI è stato utilizzato un b-value pari a 500 s/mm^2 e 6 diverse direzioni del gradiente (più un'acquisizione a $b=0 \text{ s/mm}^2$).

Imaging post-processing

Per ogni soggetto sono state calcolate le dimensioni renali (diametro e spessore del parenchima) ed è stata valutata dalle immagini pesate T1 la differenziazione cortico-medullare (CMD, cortico-medullary differentiation); il CMD è stato valutato utilizzando una scala qualitativa assegnando un punteggio da 1 a 3: 1, differenza assente (non visibile); 2, differenza ridotta (è visibile ma non chiara); 3, normale (chiara distinzione fra zone di corteccia e medulla).

Gli indici di diffusione (ADC) e di anisotropia (FA) sono stati valutati nelle seguenti regioni di interesse (ROI): per ogni rene di ogni soggetto sono state tracciate (sull'immagine DTI a $b=0$) due ROI circolari, una nella corteccia e una nella medulla, ricavate nella sezione assiale centrale del rene, a livello dell'ilo renale. Per ogni soggetto si sono dunque ottenute un totale di 4 ROI.

Si sono ottenuti i valori di ADC e FA nella zona di corteccia e nella zona di medulla, valutando il valor medio e la deviazione standard complessivamente sulle 2 ROI medullari e sulle 2 ROI corticali.

Trattografia

Partendo dalle ROI selezionate è stata effettuata l'analisi trattografica nelle zone di corteccia e medulla utilizzando come valore minimo di FA: 0.18, valore massimo di ADC: 0.01 (mm^2/s), e uno step-value massimo di 160.

Analisi Statistica

Per l'analisi statistica dei risultati sono stati utilizzati diversi test: il t-test a due code per confrontare i valori medi di ADC e FA fra medulla e corteccia, considerando come valore significativo un valore di $p < 0.05$; il test ANOVA, per valutare l'esistenza di una differenza statistica significativa nelle medie di ADC e FA per tre classi di reni malati, differenziate in base al valore di eGFR; infine il test di correlazione di Spearman per correlare i valori medi di ADC e FA nella corteccia e nella medulla con il valore di eGFR. La Tabella 3.3 mostra la divisione dei pazienti in sottogruppi (classi CKD), basati sull'eGFR, secondo le linee guida di National Kidney Foundation Disease Outcomes Quality Initiative (NKF-KDOQI). Nella popolazione studiata non sono stati trovati pazienti con CKD I e V.

Stage	Description	GFR level (mL/min)	No. of patients
1	Kidney damage with normal or high GFR	≥ 90	0
2	Kidney damage and mild decrease in GFR	60–89	13
3	Moderate decrease in GFR	30–59	20
4	Severe decrease in GFR	15–29	12
5	Kidney failure	<15 or on dialysis	0

GFR glomerular filtration rate

Tabella 3.3: stadiazione della CKD in funzione della eGFR

Risultati

I valori medi e le deviazioni standard degli indici ADC e FA sono riportati nella Tabella 3.4.

	ADC ($\times 10^{-3}$ mm ² /s)		FA	
	Cortex	Medulla	Cortex	Medulla
Control group	2.55 $\pm$ 0.18	2.25 $\pm$ 0.24	0.308 $\pm$ 0.071	0.389 $\pm$ 0.067
Study group	2.54 $\pm$ 0.42	2.31 $\pm$ 0.32	0.293 $\pm$ 0.109	0.326 $\pm$ 0.131

Tabella 3.4: valori di ADC e FA nella corteccia e nella medulla espressi come media e deviazione standard

Gruppo di controllo

- La dimensione renale e il CMD sono risultati normali in tutti i soggetti e non sono state osservate altre anomalie parenchimali. A tutti i soggetti è stato attribuito il CDM massimo, pari a 3.
- Il valor medio di ADC è risultato significativamente maggiore nella corteccia rispetto alla medulla ($p=0.00003$).
- Il valor medio di FA è risultato significativamente maggiore nella medulla rispetto alla corteccia ($p= 0.0000003$).
- Infine, l'analisi trattografica mostra un andamento radiale nella zona della medulla, mentre nessuna direzione preferenziale per la corteccia.

Gruppo di studio

- In due pazienti non è stato possibile distinguere la zona di corteccia dalla zona di medulla (CDM=1), sono quindi stati esclusi dallo studio.
- Il valor medio di ADC è risultato significativamente maggiore nella corteccia rispetto alla medulla ($p=0.0000013$).
- Il valor medio di FA è risultato significativamente maggiore nella medulla rispetto alla corteccia ($p= 0.006$).

Confronto fra gruppo di studio e gruppo di controllo

- Valor medio di FA nella medulla significativamente minore nel gruppo di studio ($p=0.0149$).
- Non sono state trovate differenze significative nei valori di ADC e di FA corticale.

Analisi Statistica

- Test ANOVA: il test non ha mostrato una correlazione statisticamente significativa tra ADC e FA, e eGFR, sebbene il valore di FA midollare tenda a diminuire dallo stadio 2 allo stadio 4.
- Test di Spearman: il test di correlazione di Spearman non ha mostrato una correlazione statisticamente significativa tra l'ADC e FA corticale e midollare, e l'eGFR. Sono state osservate correlazioni positive tra FA midollare e eGFR ($r = 0.21$) e ADC corticale e eGFR ($r = 0.21$), ma senza significatività statistica ($p = 0.09$ e $P = 0.10$, rispettivamente).

Trattografia

La rappresentazione della trattografia mostrava pattern variabili; in generale, i pazienti con stadio 2 presentavano un simile orientamento di diffusione rispetto ai soggetti di controllo, con una disposizione regolare dei tratti. Nei pazienti con stadi 3 e 4, la trattografia ha mostrato vari schemi di rottura di questa organizzazione, presumibilmente a seguito di una ridotta diffusione diretta (Figura 3.4)



Figura 3.4: trattografia nel rene sano (A), nella CKD di stadio 2 (B), nella CKD di stadio 3-4

2) *“3 Tesla-Diffusion Tensor Imaging in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease: The Nephrologist’s Point of View”*

Questo studio è di Lupica et al. ed è stato pubblicato nel 2016 sul Nephron. [22]

Obiettivo: Valutare le applicazioni della 3T-DTI (3 Tesla – diffusion tensor image) nei pazienti con ADPKD, correlando gli indici di diffusione (ADC) e anisotropia (FA) a biomarker della funzionalità renale e test di funzionalità renale.

Materiali e metodi

Partecipanti

Lo studio è stato fatto su una corte di 15 soggetti (da cui uno è stato escluso per eccesso di artefatti di movimento nell’esame di DTI), di cui 6 soggetti sani che costituivano il gruppo di controllo (gruppo A) e 8 soggetti affetti da ADPKD (gruppo B). Non sono stati inclusi nello studio pazienti trattati con diuretici o affetti da altre condizioni rilevanti che potevano costituire fattori di confusione. È stata definita condizione di ipertensione una pressione sanguigna $> 135/85$ mm Hg.

Per tutti i pazienti è stata misurata la creatinina sierosa e stimata eGFR (estimated glomerular filtration rate).

Protocollo MRI

Per le acquisizioni MRI è stata utilizzata una risonanza magnetica a 3 Tesla (3T RMI). Per le acquisizioni DTI è stato utilizzato un b-value di 600 s/mm^2 e 15 diverse direzioni del gradiente (più un’acquisizione a $b=0 \text{ s/mm}^2$).

Imaging post-processing

Sono stati calcolate le mappe di diffusione (ADC, apparent diffusion coefficient) e l’indice di fractional anisotropy (FA) nei seguenti volumi di interesse (VOI): per i pazienti sani è stato ricavato per ogni rene un “whole-kidney VOI”, che comprendeva tutto il tessuto renale escluse delle pelvi, un “medulla-only VOI”, che comprendeva solo le zone medullari, e un “cortex-only VOI”, che comprendeva solo le zone corticali; per i pazienti con ADPKD, in cui era impossibile distinguere zone di corteccia e medulla, è

stato solo considerato il “whole-kidney VOI” (volume renale complessivo, ad esclusione delle pelvi, composto da cisti e parenchima).

Trattografia

La trattografia è stata eseguita con DSI-Studio64 utilizzando un algoritmo di razionalizzazione deterministico. Per la trattografia è stato utilizzato il "whole-kidney VOI". È stato scelto di utilizzare come soglia minima per FA e angolo massimo tra l'autovettore primario di 2 tracce consecutive rispettivamente 0.1 e 55. La trattografia è stata sovrapposta alle immagini di risonanza magnetica per una migliore visualizzazione.

Analisi Statistica

Per ogni VOI studiato, i dati sono stati espressi come media e deviazione standard in caso di distribuzione gaussiana (secondo il test di Kolmogorov–Smirnov) e come mediana e intervallo interquartile nel caso di distribuzione non gaussiana. Le differenze fra i gruppi sono state valutate con il t-test o dall'analisi delle varianze seguita dal di Bonferroni (nel caso di distribuzioni gaussiane) e dall'analisi Kruskal-Wallis seguita dal test di Dunn per valori non parametrici.

Risultati

Indici ADC e FA nei due gruppi

I risultati ottenuti sugli indici di ADC e FA sono riportati nella tabella sottostante (Tabella 3.5). Per i soggetti sani è stata trovata una differenza fra corteccia e medulla: il valor medio di FA era maggiore nella medulla (non molto significativo, $p=0.05$); e il valor medio di ADC era maggiore nella corteccia (significativo, $p=0.04$) (Figura 3.5). Confrontando invece i dati ottenuti fra gruppo A (di controllo) e il gruppo B (con ADPKD) sul “whole-kidney VOI” è stato visto che:

- Il valor medio di FA è risultato minore nei pazienti con ADPKD rispetto al controllo (significativo, $p=0.02$).
- Non è stata trovata una differenza significativa nei valori di ADC fra i due gruppi ($p = 0,27$).

	Group A healthy subjects (n = 6)	Group B ADPKD (n = 8)
Men	4	6
Women	2	2
Blood hypertension	0	6
Anti-hypertensive therapy	0	6
Serum creatinine, mg/dl	0.99±0.12*	2.04±1.69
eGFR, ml/min/1.73 m ²	123±1.41**	73.78±36.14
FA cortex	0.19±0.007	No detectable
FA medulla	0.24±0.01	No detectable
ADC cortex, ×10 ⁻³	2.28±0.04	No detectable
ADC medulla, ×10 ⁻³	2.26±0.13	No detectable
ADC mean values, ×10 ⁻³	2.28±0.09	2.48±0.16
FA mean values	0.22±0.01 [#]	0.17±0.03

* p = 0.001; ** p = 0.001; [#] p = 0.02.

Tabella 3.5: risultati clinici e radiologici in pazienti sani e malati

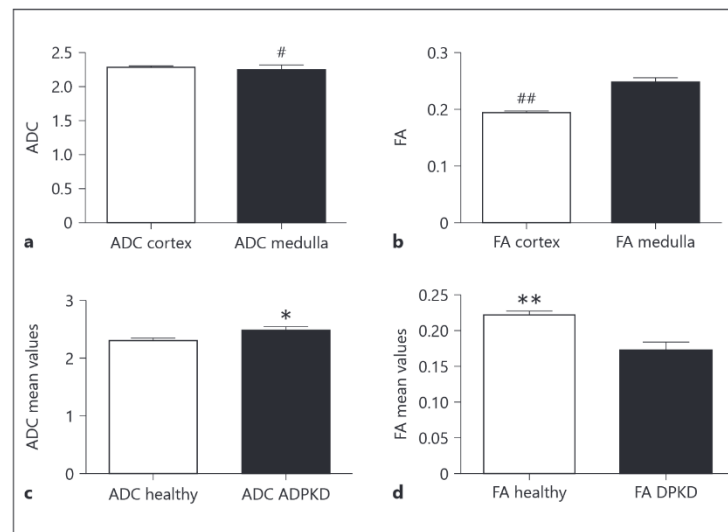


Figura 3.5: Parametri DTI in 14 soggetti sottoposti a RM renale. Nei soggetti sani (a, b) l'ADC è più alto nella corteccia ([#] p = 0,04); La FA è più alta nella medulla, ma non in modo significativo (## p = 0,05). Nei pazienti con ADPKD (c, d) i valori medi di ADC sono più alti ma non statisticamente significativi rispetto ai controlli (* p = 0,27), mentre i valori medi di FA sono inferiori (** p = 0,02).

Correlazioni

- Il valor medio di FA e il valor medio di ADC sono risultati correlati alla creatinina sierosa (ADC: $\rho = 0.79$; $p = 0.0006$; FA: $\rho = -0.77$; $p = 0.001$) e all'eGFR (ADC: $\rho = -0.620$; $p = 0.01$; FA: $\rho = 0.82$; $p = 0.0003$). (Figura 3.6)

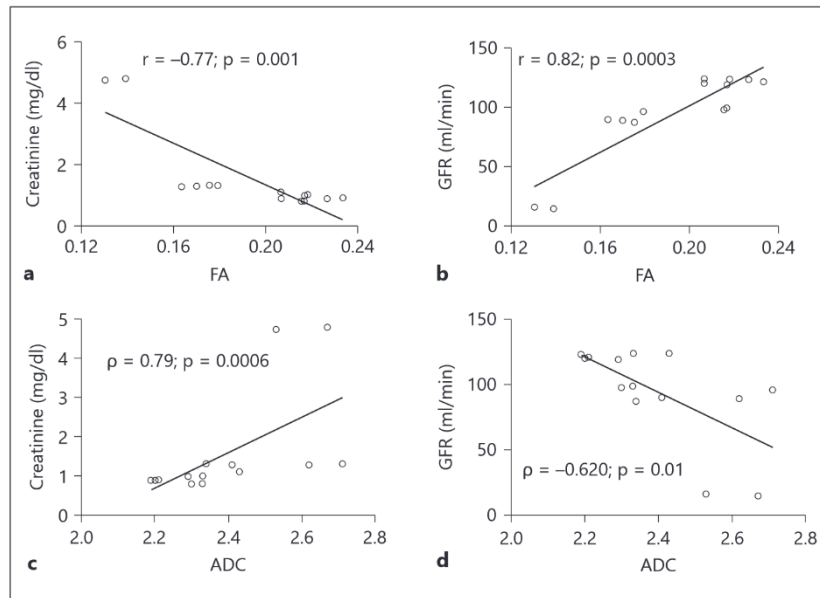


Figura 3.6: Correlazione tra parametri DTI e indici di funzionalità renale clinica: valori medi FA (a, b) diminuiscono e valori medi ADC (c, d) aumentano con il peggioramento della funzione renale.

- Il valor medio di ADC correlato positivamente al TKV ($r = 0.90$; $p < 0.0001$), mentre il valor medio di FA è risultato correlato negativamente al TKV ($\rho = -0.85$; $p = 0.0001$). (Figura 3.7)

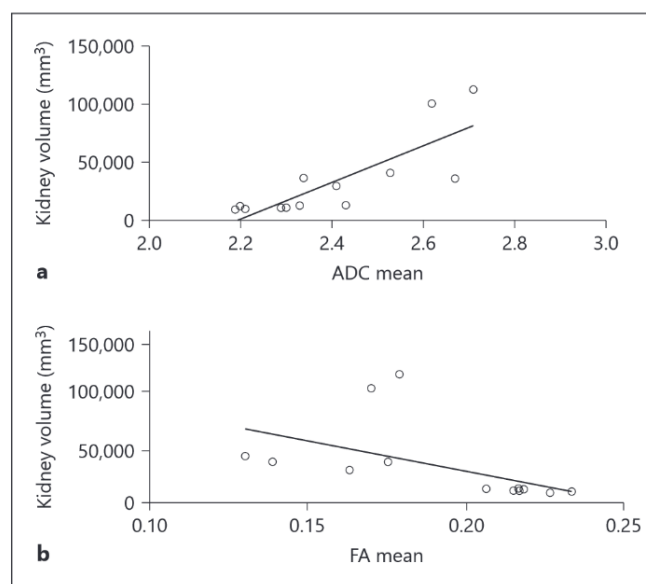


Figura 3.7: La correlazione tra i parametri DTI e il volume renale ha stabilito una correlazione negativa con il valor medio di FA e una correlazione positiva con il valor medio di ADC.

Trattografia

La trattografia nei reni sani in confronto ai reni affetti da ADPKD ha dimostrato qualitativamente la differenza strutturale fra i due gruppi. Dalla trattografia nel rene sano si possono infatti notare la fisiologica distribuzione radiale delle piramidi medullari nel rene. Al contrario nei reni pieni di cisti dei pazienti con ADPKD distribuzione non è più visibile, evidenziando un cambiamento a livello strutturale dei tubuli del rene, e si evidenzia un'interruzione della ricostruzione trattografica in prossimità delle cisti. (Figura 3.8)

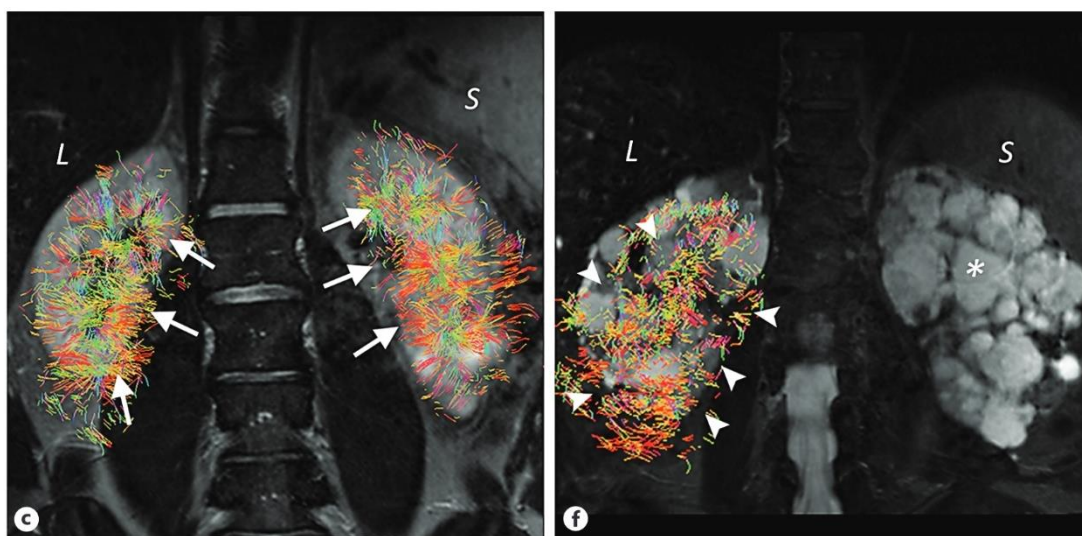


Figura 3.8: (c) Trattografia nel rene sano sovrapposta all'immagine RMI in T2 (i colori dipendono dalle direzioni di diffusione), si può notare la fisiologica distribuzione radiale delle piramidi del Malpighi (freccie). L = Fegato; S = milza. (d) Trattografia nel rene destro di un paziente affetto da ADPKD sovrapposta all'immagine RMI in T2, non si nota più la struttura radiale delle piramidi del Malpighi e il flusso appare interrotto dalle cisti (punte di freccia).

3) *Diffusion tensor imaging of the kidney in healthy controls and in children and young adults with autosomal recessive polycystic kidney disease:*

Questo studio è di Serai et al. ed è stato pubblicato nel 2019 dal Abdominal Radiology. [23]

Obiettivo: Valutare l'uso della DTI e dei suoi parametri derivati nei reni di bambini con malattia renale policistica autosomica recessiva (ARPKD) rispetto a controlli sani.

Materiali e Metodi

Partecipanti

Hanno partecipato allo studio 8 soggetti sani e 6 pazienti affetti da ARPKD, tutti i partecipanti avevano età ≤ 21 anni. Non sono stati inclusi nello studio pazienti che avevano subito trapianto di rene o sottoposti a dialisi. I partecipanti al controllo sono stati scelti senza storia clinica di ipertensione, obesità, malattie ematologiche o reumatologiche e senza storia familiare di malattie renali o epatiche.

Solo per i pazienti affetti da ARPKD è stata calcolata la eGFR.

Protocollo MRI

La DTI-MRI del rene è stata ottenuta utilizzando una sequenza fat-suppressed spin-echo eco-planar (TR/TE 2600-3900/64-74 ms) in una risonanza magnetica a 3 Tesla (3T RM). Per le acquisizioni in DTI è stato utilizzato un b-value di 400 s/mm² e 20 direzioni del gradiente (più una acquisizione a b=0 s/mm²).

Imaging post-processing

Sono stati studiati gli indici di anisotropia (FA) e diffusione (ADC) sul “whole-kidney VOI”, ovvero l'intero volume renale, ad esclusione delle pelvi. Per i soggetti sani il “whole-kidney VOI” comprende solo il parenchima, mentre per i soggetti con ARPKD comprende il parenchima con cisti diffuse. È stato calcolato il volume totale renale segmentato (TKV, total kidney volume; detto anche *Tract volume* in questo studio).

Trattografia

Le fibre sono state ricostruite utilizzando un algoritmo deterministico di tracciamento delle fibre con una soglia di FA minima di 0,10 e un angolo di rotazione massimo di 55° tra due voxel adiacenti. È stato calcolato il *Tract length*. Il Tract length si riferisce alla distanza in millimetri tra i due punti estremi di un tratto continuo, in cui il tracciamento non può più seguire la direzione della diffusività verso i voxel vicini entro la soglia dell'angolo impostata dalla ricostruzione dell'immagine.

Analisi Statistica

I dati sono stati espressi come percentuali, oppure con media e deviazione standard (SD). Le differenze tra ARPKD e gruppi di controllo sono state calcolate utilizzando il test della somma dei ranghi di Wilcoxon per le variabili continue e il test di Fisher per le variabili binarie. La significatività statistica posta a $p < 0,05$.

Risultati

Indici ADC e FA nei due gruppi: Il confronto fra gli indici ADC e FA, calcolati sul “whole-kidney VOI”, nel gruppo di controllo e nel gruppo con ARPKD ha portato ai risultati brevemente elencati di seguito e riportati in tabella (Tabella 3.6, Figura 3.9):

- Valor medio di FA è risultato significativamente minore nei pazienti con ARPKD rispetto al controllo ($p=0.002$).
- Non è stata trovata una differenza significativa nei valori di ADC fra i due gruppi ($p=0.7$).

Inoltre i pazienti con ARPKD hanno dimostrato avere un volume renale (Tract Volume) significativamente maggiore rispetto ai controlli.

Sono poi stati confrontati gli indici ADC e FA al variare dell'eGFR all'interno del gruppo di pazienti con ADPKD. I 6 pazienti con ARPKD sono quindi stati divisi in due gruppi: 3 con eGFR alta ($\geq 80 \text{ mL/min/1.73 m}^2$), 3 con eGFR bassa ($< 80 \text{ mL/min/1.73 m}^2$). Non sono state trovate evidenze significative fra queste due popolazioni così piccole.

DTI parameter (mean $\pm$ SD)	Controls $n = 8$	ARPKD $n = 6$	p value
Mean ADC (mm^2/s)	$2.02 \pm 0.16 \times 10^{-3}$	$2.07 \pm 0.26 \times 10^{-3}$	0.7
Mean FA	0.33 ± 0.03	0.25 ± 0.02	0.002
Mean track length (mm)	16.73 ± 3.43	11.61 ± 1.29	0.005
Mean track volume (cm^3)	165.70 ± 39.87	355.38 ± 223.24	0.005

Tabella 3.6: parametri DTI nel gruppo di controllo e nei pazienti ARPKD

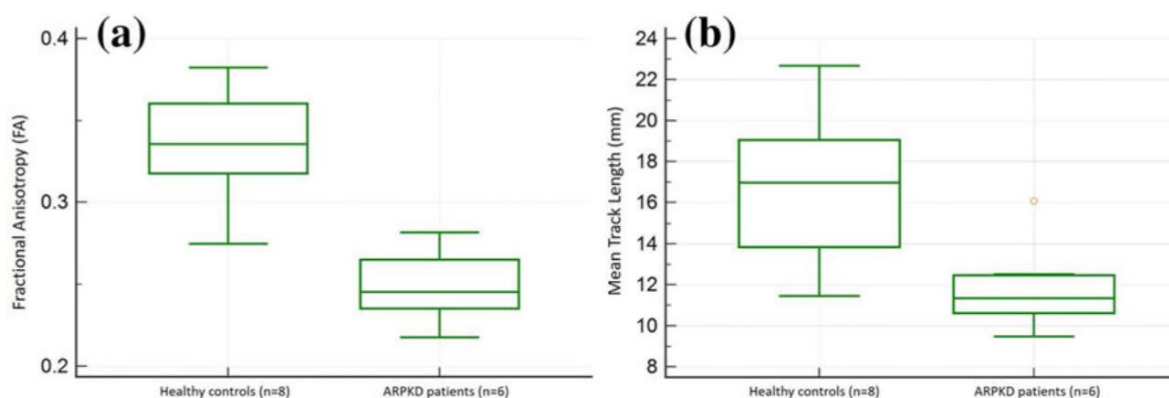


Figura 3.9: Boxplot di (a) FA medio ($p < 0,001$), (b) Tract Length ($p = 0,005$) nei controlli rispetto ai pazienti con ARPKD. I boxplot sono rappresentati con mediana, intervallo interquartile (iqr), quartile inferiore - $1.5 \times \text{iqr}$ (linea orizzontale bassa), quartile superiore + $1.5 \times \text{iqr}$ (linea orizzontale alta), i cerchi sono valori che non rientrano nell'intervallo interquartile di 1,5 ma all'interno dell'intervallo interquartile di 3.

Trattografia

Le immagini trattografiche (Figura 3.10) mostrano un'alterazione della struttura renale nei pazienti affetti da ARPKD rispetto al controllo, evidenziata da una frammentazione e una mancanza di un orientamento coerente dei tratti. A dimostrazione di questa osservazione qualitativa, si è visto che il Tract length medio era significativamente più basso nei pazienti con ARPKD. (Tabella 3.6)

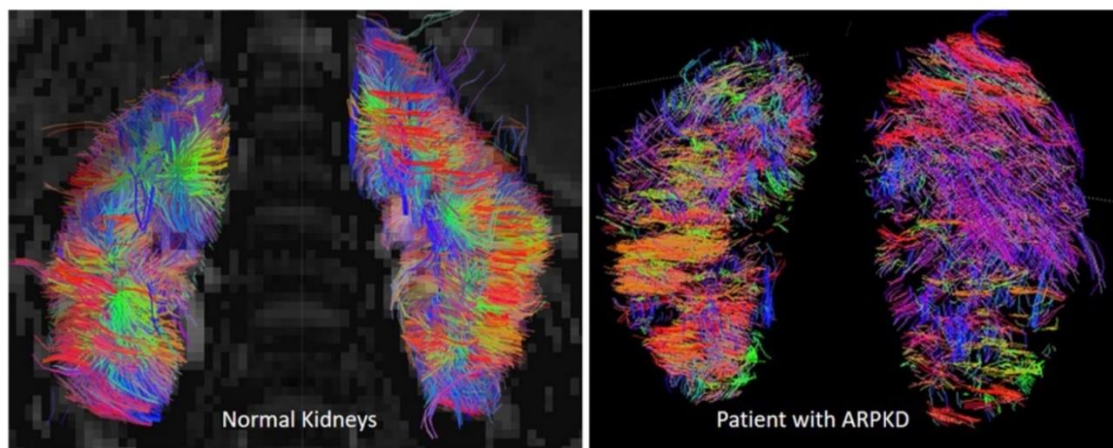


Figura 3.10: trattografia in un paziente del gruppo di controllo (a) e in un paziente ARPKD (b)

3.3. Risultati ottenuti dall'utilizzo della DTI in pazienti con patologie renali

Da tutti e tre gli studi considerati è emerso che l'imaging del tensore di diffusione (DTI) costituisce un ottimo approccio, non invasivo, per lo studio dello stato di salute renale. Inoltre gli indici derivati dalla DTI di anisotropia e di diffusione potrebbero avere un valore prognostico per diverse patologie renali. Di seguito verranno riportate le principali evidenze riscontrate dall'utilizzo della DTI nei reni e alcune considerazioni riguardanti la scelta delle regioni per la valutazione degli indici. I risultati degli studi considerati sono stati riassunti per comodità di consultazione nella Tabella 3.7 per i gruppi di studio e nella Tabella 3.8 per i gruppi di controllo.

Scelta delle regioni di interesse

La scelta delle regioni di interesse è un aspetto fondamentale da considerare quando si vogliono valutare gli indici della DTI. I valori di tali indici, infatti, vengono solitamente espressi come media e deviazione standard, o mediana e intervallo interquartile, su una determinata regione di interesse. Nel rene sano si possono distinguere due zone fondamentali del tessuto parenchimale: corteccia e medulla. Tuttavia, nel caso di reni patologici, la struttura del tessuto renale risulta modificata e non è più possibile distinguere queste due regioni (come accade per i pazienti affetti da malattia policistica). Nel caso di soggetti sani, facenti parte di un gruppo di controllo, o di pazienti che ancora presentano una distinzione fra zona corticale e medullare, è quindi possibile studiare gli indici separatamente nella zona di corteccia e medulla; invece nel caso di pazienti che non presentano più tale distinzione questo approccio non è possibile ed occorre considerare una ROI del parenchima in generale. In ogni caso dovrebbero comunque essere escluse le strutture vascolari, le pelvi, zone di bordo, artefatti, aree in cui l'intensità del segnale eterogenea e, nel caso si voglia studiare strettamente il parenchima, andrebbero escluse cisti e lesioni [24].

Nel primo studio riportato [21], dove sono stati coinvolti soggetti sani e pazienti affetti da differenti patologie renali, in cui però era ancora distinguibile la zona medullare dalla zona corticale, si è potuto studiare il valore degli indici separatamente nella zona di corteccia e di medulla. Nel secondo e nel terzo studio invece [22], [23], che ha preso in esame pazienti affetti da malattia policistica, questo approccio non è

stato possibile. Il confronto fra pazienti sani e malati è infatti stato fatto su un volume di interesse (VOI) che comprendeva tutto il rene (ad esclusione dell'apparato collettore). In questo caso il volume considerato comprendeva tutto il rene, senza distinzione fra cisti e parenchima per i pazienti policistici. Un'osservazione da fare proprio nel caso di pazienti policistici è la possibilità di studiare gli indici DTI separatamente sul parenchima e sulle cisti, potendo in questo modo confrontare solamente il tessuto parenchimale nel rene sano e malato (approccio che non è stato adottato da nessuno dei due studi considerati).

Un'altra distinzione che è possibile fare è lo studio degli indici su un volume (VOI, volume of interest) o su una regione piana (ROI, region of interest). Il primo approccio sicuramente consente di mediare su una regione renale più ampia, ottenendo una misura rappresentativa di tutto il rene e meno a rischio di bias, ma è più oneroso, in quanto richiede una segmentazione scrupolosa del volume con l'esclusione delle pelvi. Il secondo approccio è sicuramente più veloce (in quanto non richiede la segmentazione di tutto un volume) e può essere utile per esaminare zone precise.

DTI nel gruppo di controllo

Tutti gli studi hanno dimostrato l'utilità degli indici DTI come metodo per indagare la microstruttura del tessuto renale, che riflette il suo stato di salute e la sua funzionalità. In particolare, un rene sano presenta un'organizzazione in due regioni distinte, corteccia e medulla. Tali regioni hanno una struttura microscopica diversa, con la medulla che presenta un'organizzazione dei microtubuli radiale, anche visibile dalle immagini di trattografia. La diffusione dell'acqua all'interno del parenchima renale è infatti anisotropa, a causa dell'eterogeneità della struttura e della presenza dei tubuli: compartimenti separati da membrane cellulari che “guidano” l'acqua secondo una direzione. L'indice Fractional Anisotropy (FA) riflette la quantità di anisotropia e può quindi essere utilizzato come misura indiretta dell'integrità delle strutture di microtubuli sottostanti. Nel rene sano il valore medio di FA risulta essere maggiore nella medulla, caratterizzata da una forte organizzazione radiale dei microtubuli nelle piramidi del Malghini, rispetto alla corteccia; ma questo valore risulta alterato nel caso di patologie

renali. Il valore di ADC, legato alla perfusione, risulta invece essere maggiore nella corteccia rispetto alla medulla, anche se non sempre significativamente.

DTI in pazienti affetti da patologie renali

Nei pazienti affetti da una patologia renale la microstruttura del rene va mano a mano ad alterarsi e questo è visto riflettersi sugli indici di anisotropia, in particolare la Fractional Anisotropy (FA). Tutti e tre gli studi [21]–[23] che sono stati considerati hanno infatti riscontrato un valore di FA minore nei pazienti malati in confronto al gruppo di controllo. In particolare, il primo studio riportato [21], che ha considerato un gruppo di studio formato da pazienti affetti da varie patologie renali a confronto con un gruppo di controllo sano, ha rilevato un valor medio di FA nella medulla significativamente ($p=0.0149$) minore nel gruppo di studio rispetto al controllo. Tale diminuzione probabilmente riflette alterazioni strutturali del parenchima, quali fibrosi interstiziale, atrofia tubulare e infiltrazione cellulare, soprattutto nella medulla renale. Lo stesso studio non ha invece riscontrato cambiamenti nell'FA corticale fra gruppo di studio e gruppo di controllo.

Inoltre nei pazienti affetti da patologie renali la differenziazione intra-renale fisiologica fra corteccia e medulla va ad affievolirsi. Questo è visibile anche solo qualitativamente dalle immagini RM, ma anche dimostrato quantitativamente da valori di FA simili fra corteccia e medulla.

Il motivo per cui invece alcuni studi non rilevano cambiamenti di ADC è stato suggerito da Hueper et al. [25], che ha ipotizzato che la maggior parte delle patologie renali che colpiscono il parenchima probabilmente alterano la diffusione diretta (FA) prima della diffusione libera (ADC).

Infine, l'alterazione della microstruttura renale è stata evidenziata anche da immagini trattografiche, che forniscono una rappresentazione grafica della diffusione all'interno del tessuto renale. La trattografia in pazienti affetti da una lieve insufficienza renale (eGFR fra 60-89 mL/min) ha mostrato un orientamento delle linee di flusso vicino a quello fisiologico, con un organizzazione delle linee radiale all'interno delle piramidi; tuttavia in pazienti affetti da insufficienza renale moderata (eGFR fra 30-59 mL/min) o

grave (eGFR fra 15-29 mL/min) sono stati riscontrati vari schemi di rottura delle linee di flusso e linee di flusso più rade, a dimostrazione di una scarsa diffusione diretta.

DTI in pazienti affetti da rene policistico

Gli studi effettuati su pazienti policistici non hanno potuto analizzare il valore dei parametri DTI separatamente su corteccia e medulla, in quanto in questi pazienti tale differenziazione non è più presente. I parametri sono quindi stati calcolati su tutto il volume renale. Coerentemente alle considerazioni tratte sopra, i pazienti policistici presentano una microstruttura alterata, evidenziata da valori di FA significativamente minori rispetto quelli del gruppo di controllo sano. Per quanto riguarda i valori di ADC non sono state riscontrate differenze significative in nessuno dei due studi ($p=0.27$ e $p=0.7$), sebbene entrambi abbiano evidenziato valori più alti nei pazienti policistici. È importante notare che i due studi riportati hanno calcolato i DAIs sull'intero volume renale, senza distinzione fra cisti e parenchima.

La trattografia ha mostrato una microstruttura renale alterata, con mancanza di organizzazione e frammentazione dei tratti, evidenziata da un Tract-length medio significativamente inferiore al controllo nei pazienti con ARPKD (11.61 ± 1.29 vs 16.73 ± 3.43 , $p=0.005$) [23], e un'interruzione della ricostruzione trattografica in prossimità delle cisti in pazienti con ADPKD [22].

Tabella 3.7: Risultati degli studi considerati sui gruppi di studio.

Studio	Patologia	Protocollo MRI/DTI	FA corteccia	FA medulla	FA total kidney	ADC corteccia ($\times 10^{-3}$)	ADC medulla ($\times 10^{-3}$)	ADC total kidney ($\times 10^{-3}$)
Gaudiano et al.	Varie patologie renali	1.5 T b=500 6 direz.	0.293 ± 0.109	0.326 ± 0.131	-	2.54 ± 0.42	2.31 ± 0.32	-
Lupica et al.	ADPKD	3 T b=600 15 direz.	-	-	0.17 ± 0.03	-	-	2.48 ± 0.16
Serai et al.	ARPKD	3 T b=400 20 direz.	-	-	0.25 ± 0.02	-	-	2.07 ± 0.26

Tabella 3.8: Risultati degli studi considerati sui gruppi di controllo.

Studio	Patologia	Protocollo MRI/DTI	FA corteccia	FA medulla	FA total kidney	ADC corteccia (x10 ⁻³)	ADC medulla (x10 ⁻³)	ADC total kidney (x10 ⁻³)
Gaudiano et al.	controllo	1.5 T b=500 6 direz.	0.308±0.071	0.389±0.067	-	2.55±0.18	2.25±0.24	-
Lupica et al.	controllo	3 T b=600 15 direz.	0.19±0.007	0.24±0.01	0.22±0.01	2.28±0.04	2.26±0.13	2.28±0.09
Serai et al.	controllo	3 T b=400 20 direz.	-	-	0.33±0.03	-	-	2.02±0.16

4. Materiali e Metodi

Nel seguente capitolo verranno esposte le caratteristiche del gruppo di studio, le modalità di acquisizione, le modalità di elaborazione delle immagini e le analisi statistiche fatte sul gruppo di studio.

4.1. Partecipanti allo studio

Il gruppo di studio si compone di 12 pazienti affetti da ADPKD con quadro atipico, 8 donne e 4 uomini, di età media 54.4 ± 13.0 anni (range di 32-71 anni). Gli esami MR-DTI sono stati tutti eseguiti al Policlinico Sant'Orsola-Malpighi di Bologna. Due dei 12 pazienti sono stati scartati dall'analisi dei parametri DTI per mancanza di conoscenza del b-value e delle direzioni del gradiente. Per tutti gli altri 10 pazienti è stato utilizzato un b-value di $800 \frac{s}{mm^2}$, per 5/10 pazienti sono state usate 6 direzioni del gradiente, mentre gli altri 5/10 sono state usate 15 direzioni del gradiente.

Dai dati clinici si evidenzia che nell'58.33% dei casi è confermata una storia familiare positiva del paziente, mentre solo il 33.33% dei pazienti è risultato positivo al test genetico. Durante la prima visita di controllo, sono stati registrati i parametri fisici di ogni paziente: altezza, peso, età e sesso e sono stati rilevati i valori di creatinina nel sangue. Note tali informazioni per tutti i 12 pazienti è stato possibile stimare il rispettivo tasso di filtrazione glomerulare (eGFR), secondo la formula di Cockcroft-Gault:

$$eGFR(ml/min) = (140 - \text{età}) \times \frac{\text{peso (kg)}}{72 \times sCr (mg/dl)} \quad [4-1]$$

Se il paziente è di sesso femminile, il risultato va moltiplicato per 0.85. Il valore medio di creatinina risultante è pari a 0.97 ± 0.24 mg/dl (range di 0.70-1.4 mg/dl) e il valore medio di eGFR pari a 74.5 ± 15.2 ml/min (range di 47-100 ml/min).

Infine, i 10 pazienti inclusi nello studio dei parametri DTI sono stati classificati con la classificazione Mayo imaging qualitativa per i pazienti di classe 2 (vedi capitolo 2.3).

4.2. Protocollo DTI

Le acquisizioni in DTI sono state effettuate sul piano coronale con un sistema a 1.5T (Signa HDxt; General Electric, Milwaukee, USA). Per lo svolgimento dell'esame è stato seguito un protocollo a respiro libero, il quale prevede 6 o 15 direzioni di gradiente, con b-value ($0-800 \text{ s/mm}^2$) e una sequenza spin-echo single-shot echo-planar (SSEPI), con parametri: TR=2111 ms, TE=94 ms, flip-angle= 90° , spessore della fetta 3-4.5 mm, risoluzione dell'immagine 560-352 voxel per lato. Il numero di fette totale per il volume acquisito risulta variabile tra le 30 e le 66 fette, a seconda della dimensione del rene policistico che si sta analizzando.

4.3. Post-processing immagini DTI

L'elaborazione delle immagini è stata svolta in principalmente in tre passi: (1) segmentazione di volumi di interesse (VOI), (2) implementazione in Matlab del tensore di diffusione e delle singole mappe, (3) analisi statistica.

4.3.1. Segmentazione dei volumi di interesse (VOI)

L'analisi delle mappe è stata fatta su tre volumi di interesse: TK-VOI (total kidney, comprendeva il volume di tutto il rene ad esclusione delle pelvi), cyst-VOI (volume che comprendeva solo le cisti), par-VOI (volume che comprendeva tutto il parenchima); i volumi citati sono stati ottenuti considerando entrambi i reni. Tutti i volumi sono stati segmentati piano per piano sulle immagini DTI a $b=0 \text{ s/mm}^2$, in quanto mostrano un'anatomia del rene più chiara rispetto alle immagini pesate con $b>0 \text{ s/mm}^2$. La segmentazione è stata fatta manualmente tramite un tool di Matlab, ImageSegmenter. Attraverso il supporto di MicroDicom, un software che permette di visualizzare immagini Dicom ed estrapolarne le informazioni, sono state visualizzate contemporaneamente le immagini in T2 a migliore risoluzione, per chiarire eventuali dubbi riguardo alla morfologia renale, la disposizione delle cisti, del parenchima e delle pelvi. La Figura 4.1 mostra alcuni piani del volume TKV-VOI (Figura 4.1.a), del cyst-VOI e del par-VOI (Figura 4.1.b) segmentati per un paziente.

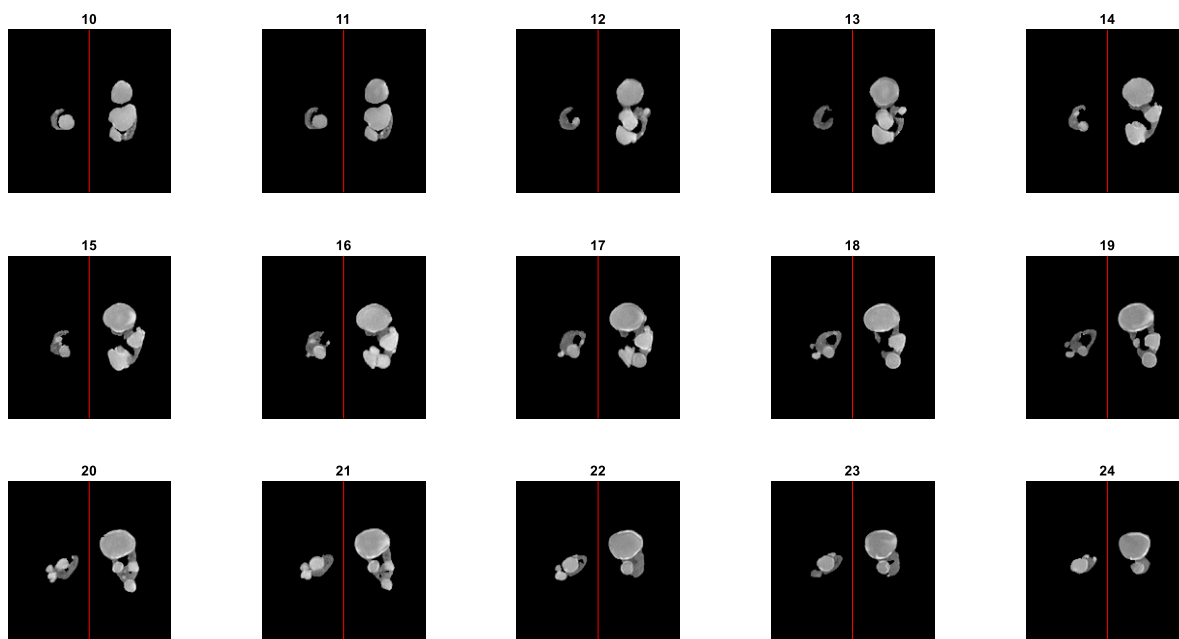


Figura 4.1.a: alcuni piani del TKV-VOI (Total Kidney ad esclusione dell'apparato collettore) segmentato su un paziente. La linea rossa separa il rene destro dal rene sinistro.

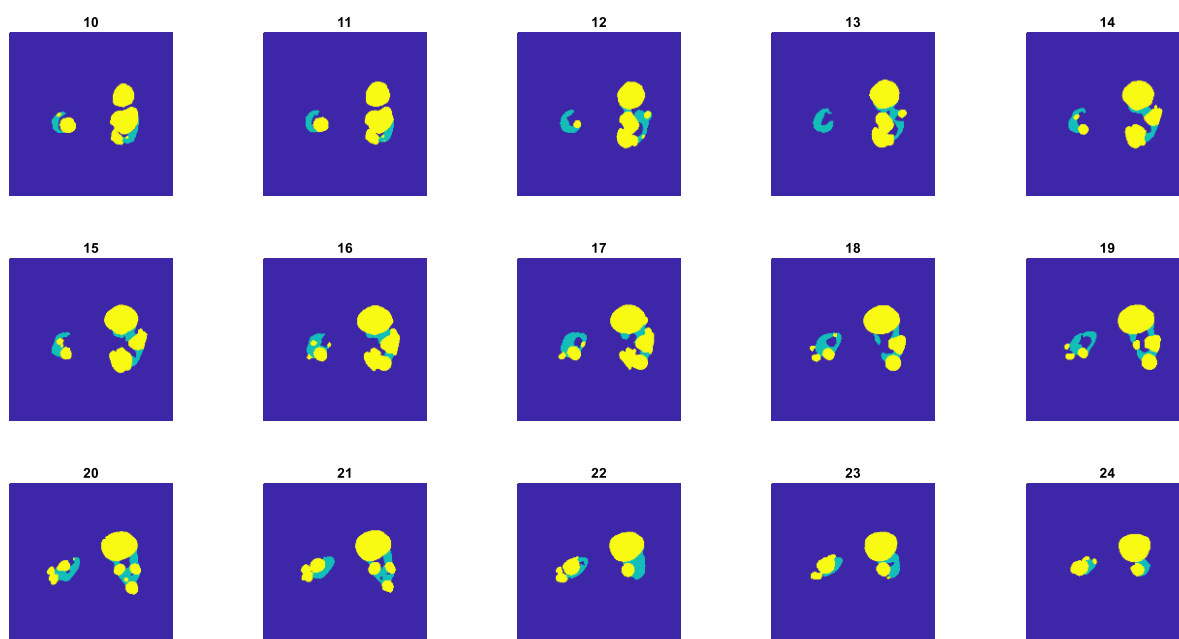


Figura 4.1.b: alcuni piani del cyst-VOI (in giallo) e del par-VOI (in azzurro) segmentato su un paziente.

Per ogni rene si sono poi calcolati il volume totale, il volume delle cisti e il volume del parenchima; e di conseguenza anche la percentuale di cisti e la percentuale di parenchima (calcolata in rapporto con tutto il volume renale, pelvi incluse).

4.3.2. Implementazione di algoritmi in ambiente Matlab

Il secondo passo è stato l'implementazione di algoritmi in ambiente Matlab per l'elaborazione delle immagini e l'estrapolazione di informazioni utili da esse. Sono state calcolate le mappe sui volumi di interesse, ottenendo una mappa volumetrica (una mappa per ogni piano segmentato).

È importante sottolineare che per ogni piano del volume DTI analizzato, corrispondono D+1 (o D+2) immagini: #D immagini DWI pesate con $b\text{-value}=800 \text{ s/mm}^2$ acquisite con le D diverse direzioni del gradiente, più una a $b\text{-value}=0 \text{ s/mm}^2$ e gradiente nullo, ed eventualmente un'altra a $b\text{-value}=800 \text{ s/mm}^2$ e gradiente nullo (per la valutazione del rumore). (Figura 4.2)

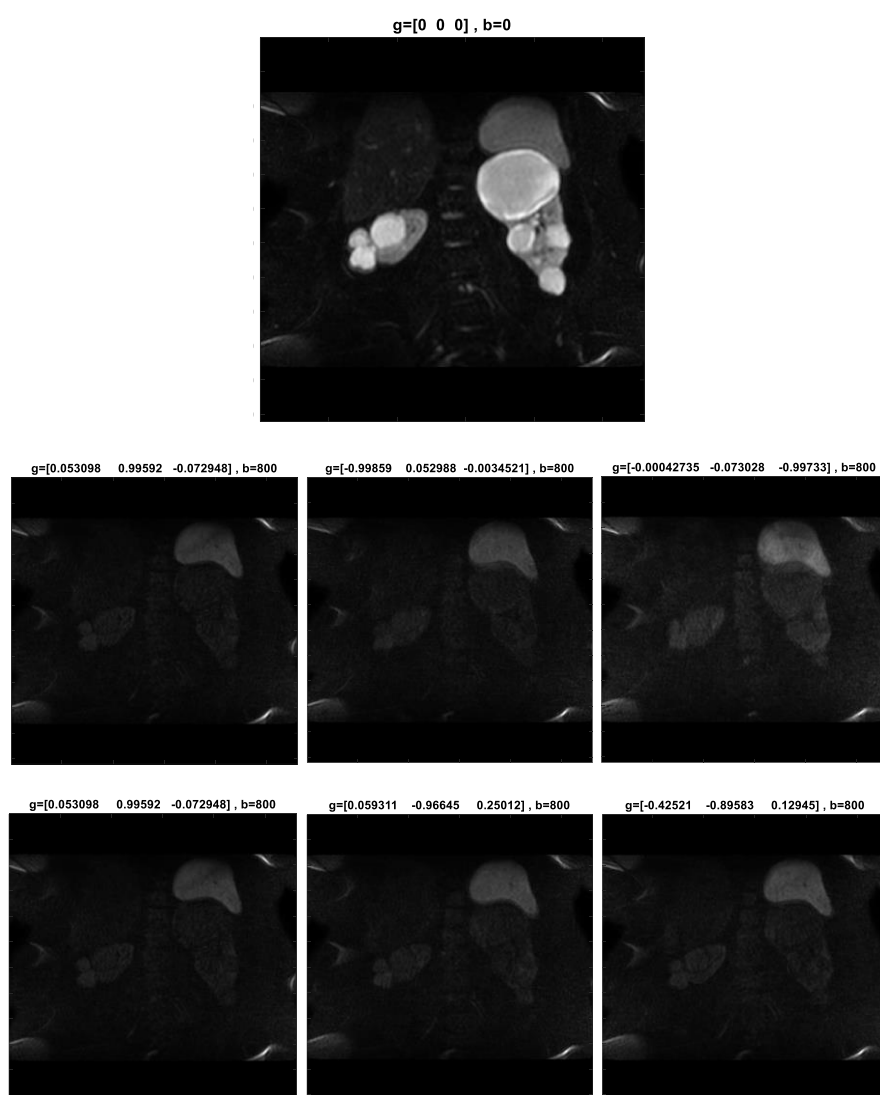


Figura 4.2: esempio di acquisizione DTI con 6 direzioni del gradiente, più l'immagine b -value uguale a zero e gradiente nullo.

Per il calcolo del corrispondente tensore di diffusione sono stati implementati sia il metodo B sia il metodo H, ampiamente descritti nel paragrafo 1.4. Dato che la metà dei pazienti presentavano più di 6 direzioni del gradiente, per questi pazienti le matrici B ed H non erano quadrate: matrice B di dimensioni (D+1)x7; matrice H di dimensioni D x 6. Si è quindi dovuto implementare il metodo multidirezionale per ottenere il tensore di diffusione, utilizzando il metodo SVD (Singular Value Decomposition) per la riduzione della dimensionalità. Di seguito è riportato il problema SVD per il sistema con la matrice H e per il sistema con la per la matrice B pesata con la matrice Σ^{-1} (metodo Weighted Linear Least-Square Fit).

$$d = \min_d \|H \cdot d - Y\|^2 \quad [4-2]$$

$$\alpha = \min_{\alpha} \|\sqrt{\Sigma^{-1}} \cdot \alpha - \sqrt{\Sigma^{-1}} \cdot X\|^2 \quad [4-3]$$

Equazioni 4-2/3: si trovano i vettori d- α come vettori che minimizzano la norma 2 dell'argomento dentro alla norma.

Di seguito viene riportato il codice Matlab utilizzato per la soluzione dei sistemi con il metodo SVD:

```
tol= 1e-12;           % tolleranza
Dh6 = solve_SVD(H,Y,tol);

BB = sqrt(SIGMA)*B;
XX = sqrt(SIGMA)*X;
alfa = solve_SVD(BB,XX,tol);
Db6 = alfa(1:end-1); % solo le prime 6

function [a]=solve_SVD(H,y,tol)
[m,n]=size(H);
z=zeros(n,1);
[U,S,V]=svd(H);
sigma = diag(S,0);
d=U'*y;
i=sigma>tol;
z(i)=d(i)./sigma(i);
% select singular values >tol
a=V*z;
end
```

Si è scelto poi di procedere utilizzando il tensore di diffusione ottenuto con il metodo H (Dh) in quanto, valutando qualitativamente le mappe dei DAIs (indici di anisotropia e diffusione), dava origine a immagini più pulite, con una migliore distinzione fra cisti e parenchima; inoltre i DAIs presentavano meno outliers (valutati come valori che cadono al di fuori del 25-esimo e del 75-esimo percentile meno/più $1.5 \times$ l'intervallo interquartile).

Sono state calcolate e visualizzate le mappe dell'autovalore principale e di tutti gli indici inter-voxel ed intra-voxel per le cui definizioni e formule si rimanda al paragrafo 1.5. Per ogni paziente si sono ottenute per ogni indice calcolato, tante mappe quanti i piani segmentati. (Figura 4.3)

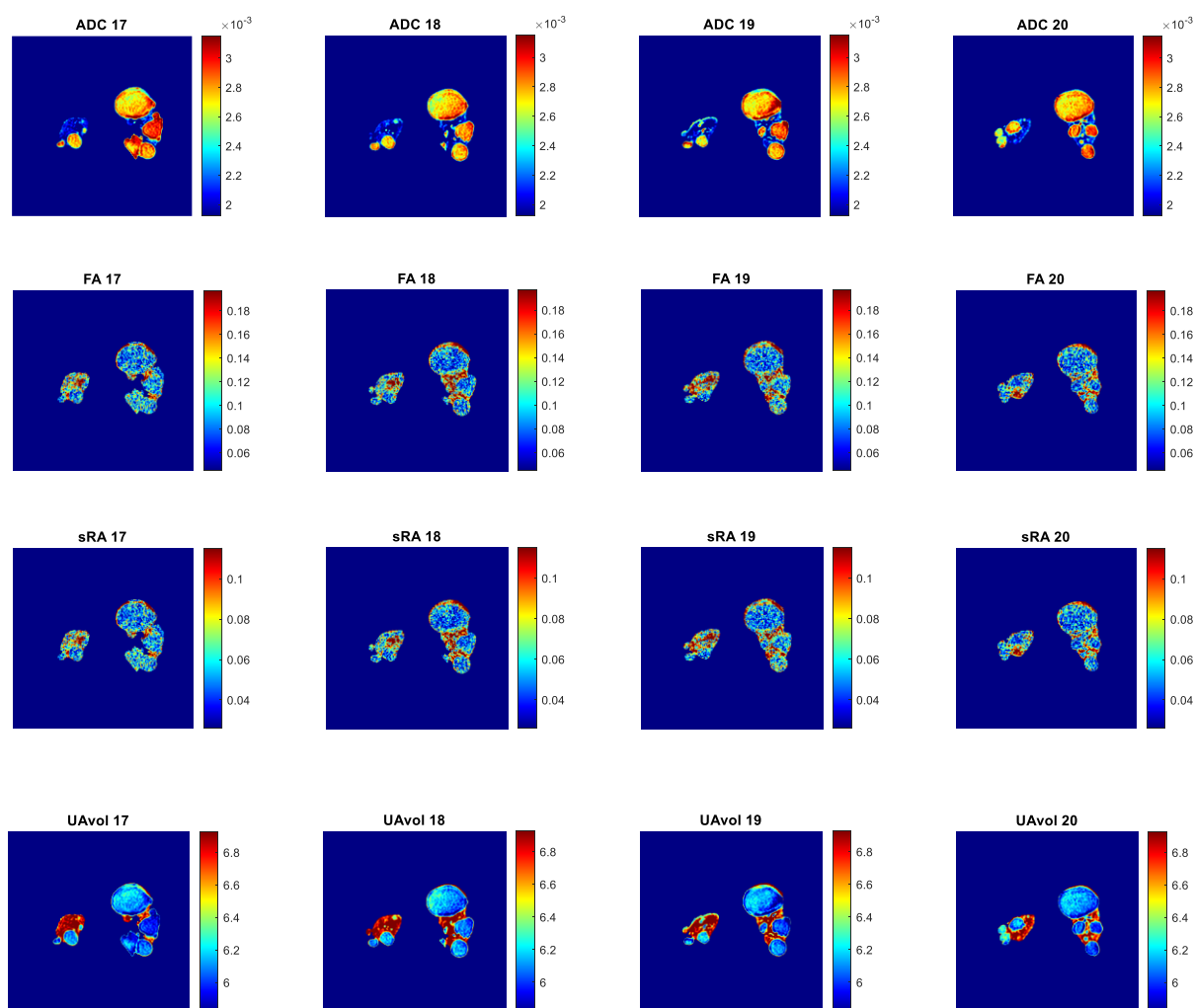


Figura 4.3: esempio delle mappe di alcuni indici DAIs (ADC, FA, sRA, VF, UAvol) ottenute per i piani 17-20.

Si ricorda che tali indici sono stati ottenuti con un procedimento che esclude la diagonalizzazione del tensore. È bene sottolineare che alcuni di essi, sRA , VR , $UAsurf$, $UAvol$, $UAvolsurf$ e LI , sono stati utilizzati esclusivamente in analisi DTI in ambito cerebrale fino ad ora, al contrario di λ_1 , ADC e FA , i quali sono stati discussi in ambito renale ma per lo più su soggetti sani concentrandosi sulle differenze tra la zona di corteccia e la zona di medulla. Nel caso di reni ADPKD, distinguere la zona della corteccia dalla zona della medulla non è possibile, a causa della presenza di cisti. Nei prossimi paragrafi, a titolo di esempio, si analizza e visualizza qualitativamente, per ogni indice estratto, la mappa derivata.

4.3.3. Mappa λ_1 e Mappa ADC

La mappa λ_1 (Figura 4.5) e la mappa ADC (Figura 4.4) hanno come obiettivo quello di offrire un'informazione sulla diffusività nelle diverse zone renali. La mappa ADC permette, nei reni sani, una migliore differenziazione tra la zona della corteccia e la zona della medulla rispetto a quella offerta ad esempio dalla mappa ricavata da λ_1 , che rappresenta nello specifico la direzione preferenziale di diffusione. Se nei reni sani la corteccia risulta essere a diffusività meno intensa rispetto alla medulla a causa della presenza in quest'ultima dei tubuli renali, nei reni ADPKD, l' ADC risulta essere molto più intenso nelle cisti che nel resto del parenchima funzionante, quindi si evince in esse una maggiore diffusività.

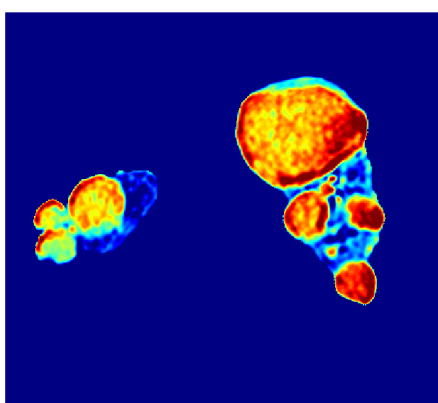


Figura 4.4: Mappa ADC

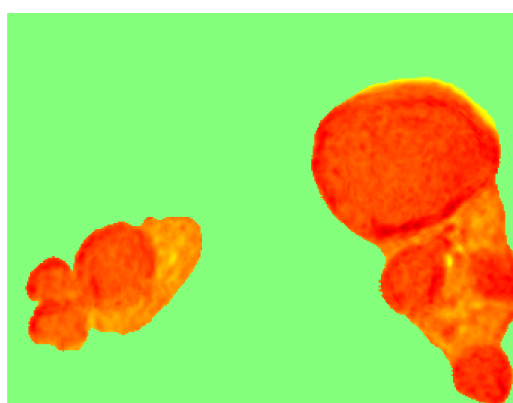


Figura 4.5: Mappa del primo autovalore

4.3.4. Mappa FA

La mappa FA (Figura 4.6) indica i valori di anisotropia frazionaria e varia tra 0 e 1, dove 0 sono le zone isotrope, 1 sono le zone anisotrope. Più i valori di FA sono alti, maggiore è l'anisotropia. Nei reni sani, la zona della medulla è più anisotropa della corteccia, a causa dei tubuli renali che indirizzano le molecole di acqua. Nei reni ADPKD si ha invece un valore di FA minore nelle cisti rispetto al parenchima (per quanto questo sia visibile); le cisti risultano zone molto più isotrope del parenchima.

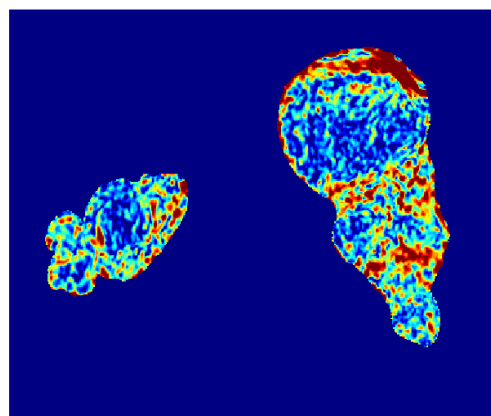


Figura 4.6: Mappa FA

4.3.5. Mappa sRA e Mappa VR

Le mappe sRA e VR (Figura 4.7) restituiscono anch'esse informazioni sull'anisotropia e sull'isotropia delle diverse zone renali considerate. Come già anticipato, se la mappa sRA rappresenta il rapporto fra la componente anisotropa e isotropa del tensore di diffusione, la VR rappresenta il rapporto tra il volume dell'ellissoide e il volume di una sfera con raggio di diffusione pari a D_{av} . Come si può constatare dalle immagini le cisti risultano caratterizzate da valori molto bassi in entrambe, in accordo con la mappa FA.

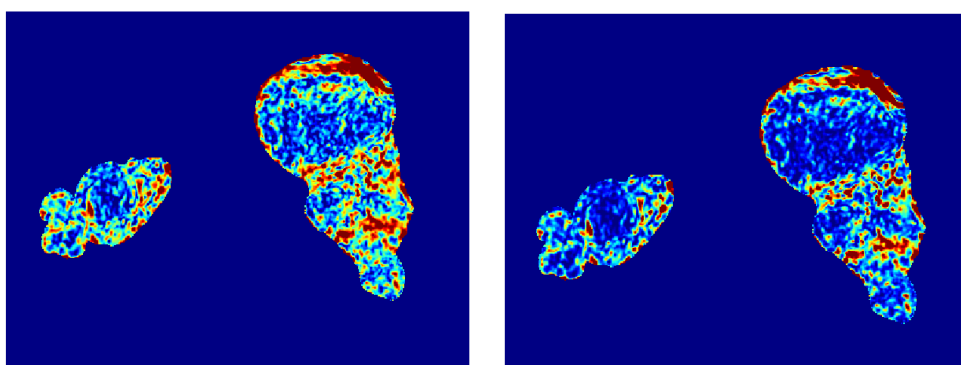


Figura 4.7: a sinistra la mappa sRA, a destra la mappa VR

4.3.6. Mappa $UAsurf$, $UAvol$, $UAvolsurf$

Le mappe $UAsurf$, $UAvol$, $UAvolsurf$ (Figura 4.8) rappresentano invece il rapporto tra la diffusione media e quella superficiale, la diffusione media e quella volumetrica, la diffusione volumetrica e quella superficiale, rispettivamente. Nelle mappe gli indici sono rappresentati normalizzati fra 0 e 1, si può notare come le cisti siano caratterizzate da valori più approssimabili a 0 rispetto al resto del tessuto renale;

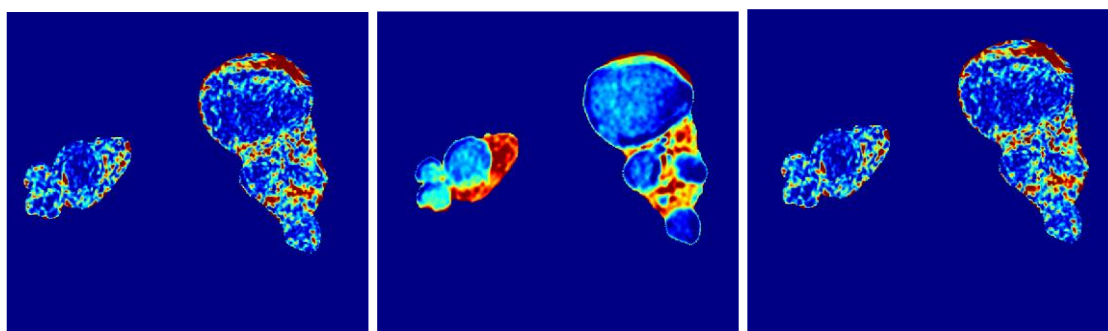


Figura 4.8: In ordine le mappe: $UAsurf$, $UAvol$, $UAvolsurf$

4.3.7. Mappa LI

Il coefficiente LI (Lattice index, Figura 4.9) è una misura "inter-voxel", ovvero una misura che consente di considerare insieme voxel vicini. Il "Lattice Index" ha una gamma dinamica particolarmente buona per diversi livelli di anisotropia di diffusione e un piccolo bias. Si nota che in questa mappa, la differenza fra il tessuto cistico e il tessuto parenchimale è ben definita.

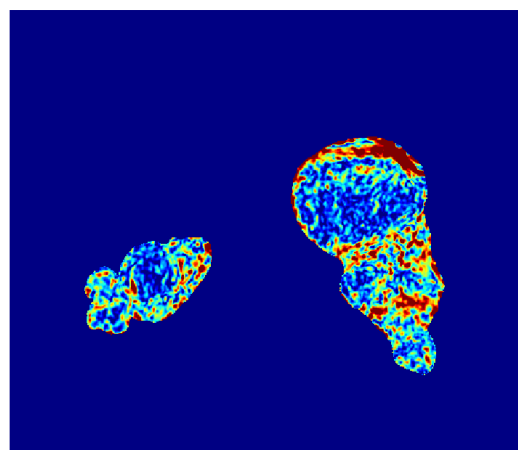


Figura 4.9: Mappa LI

Per le mappe sRA , VR , $UAsurf$, $UAvol$, $UAvolsurf$ e LI non essendoci una letteratura di riferimento e non avendo nel presente gruppo di studio pazienti sani, non è stato possibile effettuarne delle analisi qualitative e quantitative di confronto.

3.4. Analisi Statistica

Indici DAIs

Si sono valutati gli indici DTI su ogni volume di interesse segmentato; i valori di tali indici è stato quindi espresso in termini di media e deviazione standard (in caso di distribuzioni gaussiane) o di mediana e intervallo interquartile (in caso di distribuzioni non gaussiane). Si è poi fatto il t-test per valutare la differenza fra i valori medi (o mediani) ottenuti per cisti e parenchima, per tutti gli indici DTI calcolati; si è considerato significativo un p-value <0.05.

Confronto con un controllo sano

Si sono confrontati i valori medi (o mediani) degli indici ottenuti con i controlli sani presenti in letteratura.

Correlazioni

Infine, è stata valutata la correlazione fra le medie (o mediane) degli indici DTI calcolate sui tre volumi di interesse, rispetto ai valori di eGFR e di creatinina. Si è poi ripetuta la stessa analisi per le deviazioni standard (o intervalli interquartili). Per ultima è stata valutata la correlazione dei valori medi (o mediani) degli indici con la percentuale di cisti. La correlazione è stata valutata attraverso l'indice di Pearson, un indice compreso fra -1 e +1, che si avvicina tanto più a 1 quanto più i dati giacciono su una retta di pendenza positiva e a -1 quanto più i dati giacciono su una retta a pendenza negativa.

5. Risultati e discussione

5.1. Valori dei parametri DAIs

5.1.1. Capacità di discriminazione delle cisti dal parenchima

Tutti gli indici DTI calcolati sono stati rappresentati come mediana e intervallo interquartile, in quanto non erano distribuiti normalmente e non c'era dunque coincidenza fra media e mediana (come dovrebbe essere in una distribuzione gaussiana). I valori degli indici sono rappresentati in Tabella 5.1.

	TKV	Parenchima	Cisti	p-value
ADC ($\times 10^{-3}$)	2.71 ± 0.0004	2.11 ± 0.0003	2.86 ± 0.0003	7.3×10^{-12}
FA	0.127 ± 0.079	0.184 ± 0.098	0.112 ± 0.063	0.00013
sRA ($\times 10^{-1}$)	0.74 ± 0.047	1.08 ± 0.059	0.65 ± 0.037	0.00013
VF ($\times 10^{-2}$)	1.75 ± 0.023	3.62 ± 0.041	1.31 ± 0.016	0.00032
UAsurf ($\times 10^{-3}$)	2.93 ± 0.004	6.11 ± 0.007	2.19 ± 0.003	0.00030
UAvol	-6.17 ± 0.37	-6.76 ± 0.34	-6.04 ± 0.21	1.0×10^{-11}
UAvolsurf ($\times 10^{-3}$)	2.94 ± 0.004	6.13 ± 0.007	2.19 ± 0.003	0.00035
LI ($\times 10^{-1}$)	0.72 ± 0.051	1.10 ± 0.069	0.62 ± 0.039	0.00016

Tabella 5.1: indici DTI rappresentati come mediana e intervallo interquartile; p-value relativo al t-test fra valori mediani nelle cisti e nel parenchima.

Si è innanzitutto potuto osservare che tutti gli indici DTI sono in grado di discriminare significativamente le cisti dal parenchima, con un p-value maggiore di 0.05. Si può inoltre notare che, fra tutti gli indici DTI, l'indice ADC e UAvol in particolare presentano un p-value significativamente più basso degli altri (rispettivamente dell'ordine di 10^{-12} e 10^{-11}) e sono dunque in grado di meglio distinguere le cisti dal parenchima rispetto agli altri indici.

L'ottima discriminazione fra cisti e parenchima si può notare anche solo da un'analisi qualitativa delle mappe ADC e UAvol. (Figura 5.1)

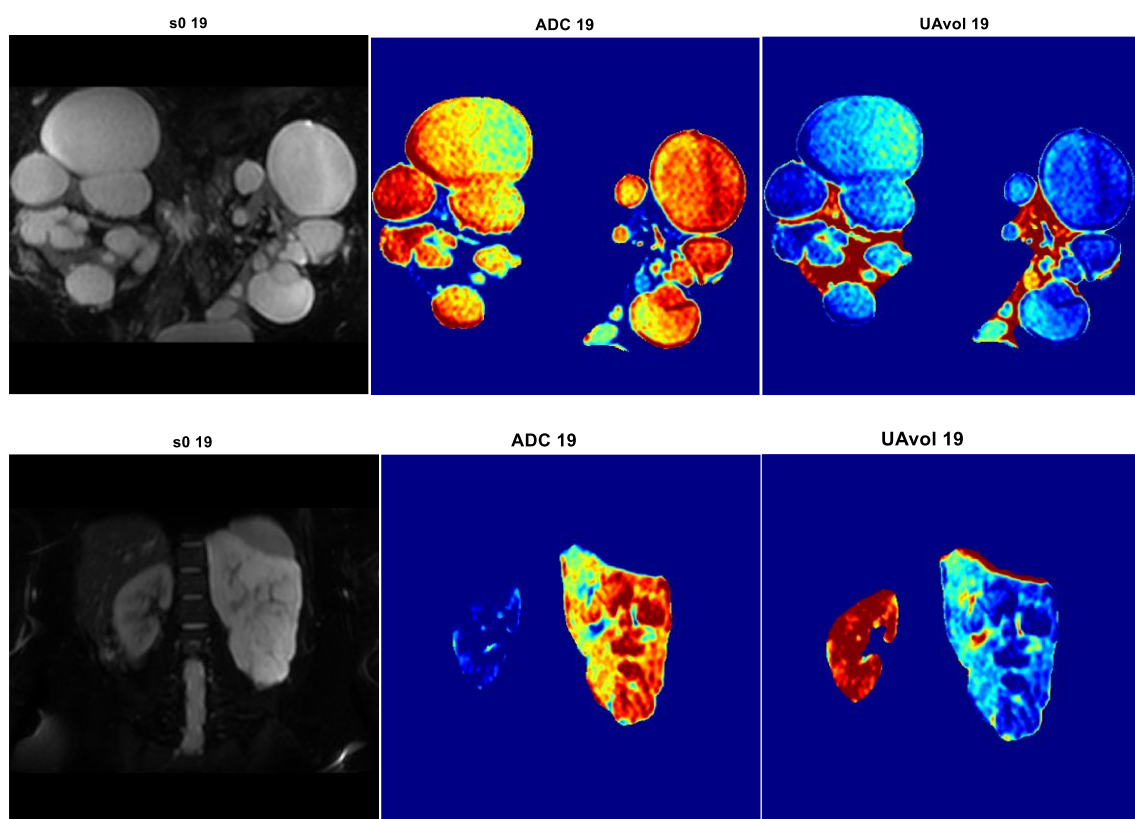


Figura 5.1: esempio delle mappe ADC e FA per un piano del volume segmentato (casualmente il 19-esimo per entrambi). Entrambe le mappe sono nell'intervallo che va dal 5-95esimo percentile dei valori per ogni mappa.

A dimostrazione di questa osservazione qualitativa si è evidenziata una forte correlazione positiva fra valori mediiani sul TKV-VOI e percentuale di cisti, per gli indici ADC e UAvol (Figura 5.2). Questo significa che il valore complessivo dell'indice sul Total Kidney aumenta all'aumentare del numero delle cisti, e di conseguenza se per le cisti l'indice assume un valore più alto, questo si riflette, proporzionalmente alla percentuale di cisti presenti, sul valore complessivo della mediana sul TKV.

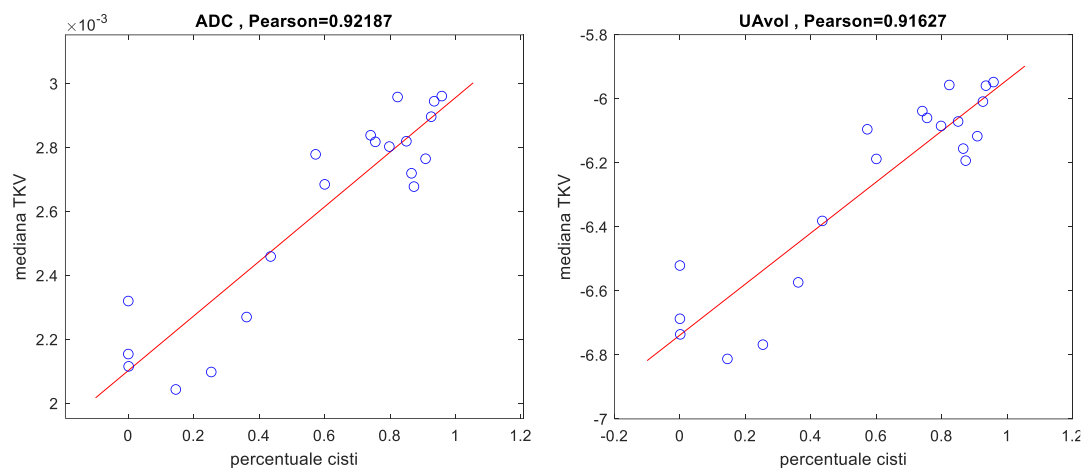


Figura 5.2: correlazione fra i valori mediani di ADC e UAvol con la percentuale di cisti, per ogni rene.

Ad una osservazione poco attenta potrebbe sembrare che si tratti dello stesso grafico, poiché la dispersione dei punti è molto simile. Anche quantitativamente risulta infatti che le mediane degli indici ADC e UAvol hanno una correlazione altissima, quasi perfetta, fra di loro (indice di Pearson 0.9991). Il motivo è che i due indici, sebbene leggermente diversi, differiscono sostanzialmente per un fattore di scala e la somma di una costante (vedi formule nel capitolo 1.5).

Una osservazione interessante nasce invece dal confronto degli indici DTI fra il gruppo di studio analizzato (di pazienti ADPKD *atipici*) con i pazienti ADPKD *tipici*, presi in analisi nella tesi “*Contributo dell'imaging con tensore di diffusione per la prognosi della malattia policistica renale*” di Ricciuti Pina. Da questa tesi è emerso infatti che l'indice ADC è in grado di discriminare le cisti dal parenchima con una buona significatività, migliore per $b\text{-value}=1000 \text{ s/mm}^2$ rispetto a $b\text{-value}=500 \text{ s/mm}^2$ (rispettivamente $p=5 \times 10^{-6}$ e $p=1.32 \times 10^{-8}$); mentre lo stesso risultato non è altrettanto accentuato per l'indice UAvol, che riesce comunque a discriminare cisti da parenchima, ma con p-value più bassi (rispettivamente $p=0.037$ e $p=0.013$). Sembrerebbe dunque che nei pazienti tipici l'indice che meglio discrimina cisti da parenchima sia ADC, mentre UAvol è in linea con gli altri indici calcolati; a differenza dai pazienti atipici dove UAvol e ADC avevano un potere discriminante maggiore rispetto agli altri parametri.

In generale si evince che gli indici DTI discriminino meglio le cisti dal parenchima nei pazienti atipici, rispetto ai pazienti tipici: si osservano p-value generalmente più bassi per i pazienti tipici. (Tabella 5.2)

<i>b=500</i>	<i>Media</i>	<i>Var.</i>	<i>P-value</i>	<i>b=1000</i>	<i>Media</i>	<i>Var.</i>	<i>P-value</i>
<i>ADC,p</i>	0,003	7E-08	5E-06	<i>ADC,p</i>	0,0017	7E-08	1,32E-08
<i>ADC,c</i>	0,0022	5E-08		<i>ADC,c</i>	0,0022	4E-08	
<i>FA,p</i>	0,4545	0,0051	0,0243	<i>FA,p</i>	0,3057	0,0039	3,9E-05
<i>FA,c</i>	0,381	0,0011		<i>FA,c</i>	0,2359	0,0005	
<i>sRA,p</i>	0,2959	0,0034	0,0275	<i>sRA,p</i>	0,1864	0,0022	0,0002
<i>sRA,c</i>	0,2375	0,0006		<i>sRA,c</i>	0,1405	0,0002	
<i>VF,p</i>	0,2643	0,0075	0,0369	<i>VF,p</i>	0,1179	0,0034	0,0008
<i>VF,c</i>	0,1839	0,0011		<i>VF,c</i>	0,0688	0,0002	
<i>UAsurf,p</i>	0,0568	0,0006	0,0344	<i>UAsurf,p</i>	0,0218	0,0003	0,0103
<i>UAsurf,c</i>	0,0342	7E-05		<i>UAsurf,c</i>	0,0121	7E-06	
<i>UAvol,p</i>	0,1239	0,0031	0,0373	<i>UAvol,p</i>	0,0461	0,0013	0,0133
<i>UAvol,c</i>	0,0723	0,0003		<i>UAvol,c</i>	0,0252	3E-05	
<i>UAvolsurf,p</i>	0,077	0,0016	0,0409	<i>UAvolsurf,p</i>	0,0262	0,0006	0,0288
<i>UAvolsurf,c</i>	0,0409	0,0001		<i>UAvolsurf,c</i>	0,0137	1E-05	
<i>Li,p</i>	0,3442	0,0051	0,0273	<i>Li,p</i>	0,2067	0,0033	0,0001
<i>Li,c</i>	0,2723	0,0009		<i>Li,c</i>	0,1504	0,0003	

Tabella 5.2: indici DTI, rappresentati come media e deviazione standard, in pazienti ADPKD tipici per $b\text{-value}=500\text{ s/mm}^2$ e $b\text{-value}=1000\text{ s/mm}^2$.

5.1.2. Confronto degli indici DTI con un controllo sano

Per poter fare un paragone con un controllo sano, non presente in questo studio, si riporta qui sotto una tabella (Tabella 5.3) che riassume gli studi DTI sul rene sano presenti in letteratura. Al fine di poter ottenere un buon confronto, bisogna tenere conto di alcuni aspetti: 1) gli studi ad oggi effettuati sulla DTI nel rene trattano solamente l'indice di diffusione apparente (ADC) e l'indice fractional anisotropy (FA); 2) per poter avere un confronto fra parenchima nei reni sani e nei reni affetti da ADPKD, è stato ottenuto un valore complessivo sul parenchima sano come media fra corteccia e medulla; 3) Il valore degli indici può variare col $b\text{-value}$, per cui gli studi di Zheng et al. e Chen et al., che sono stati fatti con $b\text{-value}$ pari ad 800 s/mm^2 , costituiscono un confronto più valido in quanto annullano una variabile in gioco. Un'ultima cosa importante da notare è che tutti gli studi in letteratura riportano i parametri come media e deviazione standard, mentre questo studio li riporta come mediana e intervallo interquartile; tuttavia dovrebbe

comunque essere possibile fare un confronto, in quanto la media corrisponde con la mediana in caso di distribuzioni gaussiane, e tutti gli studi sottocitati riportano di avere ottenuto valori degli indici distribuiti normalmente. Quello di seguito è quindi un confronto fra valori mediani.

AUTORE		Gaudio [21]	Hueper [25]	Lupica [22]	Zheng [26]	Chen [27]
ANNO		2013	2011	2015	2014	2022
SOGGETTI SANI		17	14	6	73	20
b-VALUE		0-500	0-600	0-600	0-800	0-800
TESLA		1.5	1.5T	3T	3T	3T
DIREZIONI a b>0		6	6	15	6	-
ADC	Corteccia	2.55 ± 0.18	2.32 ± 0.16	2.28 ± 0.04	2.23 ± 0.14	2.29 ± 0.1
	Medulla	2.25 ± 0.24	2.34 ± 0.19	2.26 ± 0.13	2.06 ± 0.14	2.20 ± 0.09
	TK	2.4 ± 0.21 *	2.33 ± 0.18 *	2.28 ± 0.09	2.15 ± 0.14 *	2.25 ± 0.1 *
FA	Corteccia	0.308 ± 0.071	0.165 ± 0.01	0.19 ± 0.007	0.24 ± 0.05	0.31 ± 0.02
	Medulla	0.389 ± 0.067	0.415 ± 0.046	0.24 ± 0.01	0.32 ± 0.05	0.44 ± 0.03
	TKV	0.35 ± 0.069 *	0.29 ± 0.056 *	0.22 ± 0.01	0.28 ± 0.05 *	0.38 ± 0.025 *

Tabella 5.3: DTI applicata ai reni sani. Studi presenti in letteratura. NB: dove non era presente il dato sul Total Kidney (TK) è stata calcolata la media fra i valori di corteccia e medulla (*). Gli studi sono stati ordinati per b-value crescenti, si noti come i valori di ADC generalmente diminuiscano con l'aumentare del b-value, coerentemente alla letteratura (capitolo 3.1).

Nel controllo di pazienti sani di Zheng e di Chen, acquisiti con b-value=800 s/mm², si è stimato un valore medio di ADC sul parenchima rispettivamente di 2.15 e 2.25. Confrontandolo con i pazienti di questo studio, che presentano un valore mediano di 2.71 per il Total Kidney, 2.11 per il parenchima e 2.86 per le cisti, si può osservare che il valore medio di ADC sul Total Kidney si alza nei pazienti con ADPKD, in accordo con la letteratura sui pazienti policistici (capitolo 3.3). Confrontando invece solamente il parenchima, ciò che si nota è una diminuzione nei valori di ADC, a testimonianza di una minore perfusione del tessuto parenchimale.

Per quanto riguarda gli indici FA invece gli studi di Zheng et al. e Chen et al. riportano valori medi di FA stimati sul parenchima rispettivamente di 0.28 e 0.38; a confronto con i pazienti atipici di questo studio che presentano valori mediani di 0.13 per il Total Kidney, 0.18 per il parenchima e 0.11 per le cisti. Si nota subito che i valori della FA si abbassano per i pazienti con ADPKD, anche questo in accordo con la letteratura (capitolo 3.3).

5.2. Correlazione parametri DAIs con eGFR e Creatinina

La seconda parte dello studio ha analizzato la correlazione fra i valori mediاني e gli intervalli interquartili dei DAIs con i valori di di eGFR e di creatinina sierosa (tutti i plot di correlazione sono per completezza riportati a fine capitolo).

La Tabella 5.4 mostra gli indici di Pearson ottenuti dalla correlazione dei valori mediاني per ogni indice, per i tre VOI analizzati, con i valori di eGFR e di creatinina.

Le correlazioni con gli intervalli interquartili non sono molto significative e non sono state riportate.

	<i>ADC</i>	<i>FA</i>	<i>sRA</i>	<i>VF</i>	<i>UAsurf</i>	<i>UAvol</i>	<i>UAvol surf</i>	<i>LI</i>	
<i>eGFR TKV</i>	-0.3564	0.1617	0.1630	0.1982	0.2000	-0.3624	0.1981	0.1694	-0,6 ÷ -0,45
<i>Creat. TKV</i>	0.1892	-0.1978	-0.1930	0.3072	-0.2293	0.2090	-0.1851	-0.2053	-0,45 ÷ -0,3
<i>eGFR Par.</i>	0.5980	-0.0227	-0.0266	-0.0918	-0.0852	0.5932	-0.1033	-0.0378	-0,3 ÷ -0,15
<i>Creat. Par.</i>	-0.5276	-0.1382	-0.1106	0.3069	-0.0376	-0.5488	0.0474	-0.1172	-0,15 ÷ 0
<i>eGFR cisti</i>	-0.1910	-0.0211	-0.0207	-0.0073	-0.0062	-0.2004	-0.0083	-0.0185	0 ÷ 0.15
<i>Creat. cisti</i>	-0.0777	-0.0306	-0.0352	-0.2682	-0.0967	-0.0376	0.1239	-0.0399	0.15 ÷ 0.3
									0.3 ÷ 0.45
									0.45 ÷ 0.6

Tabella 5.4: indici di Pearson rappresentanti la correlazione fra valori mediاني nei VOI analizzati con eGFR e creatinina sierosa. Ad esempio la prima cella in alto a sinistra della tabella si legge come: indice di Pearson relativo alla correlazione del valore mediano della mappa ADC nel TKV-VOI con l'eGFR.

Osservando la tabella si può notare che il valore mediano nel Total Kidney presenta una correlazione, anche se molto poco significativa, generalmente positiva con l'eGFR e generalmente negativa con la creatinina, per tutti gli indici; fanno eccezione gli indici ADC e UAvol, che assumono valori maggiori nelle cisti rispetto al parenchima (Tabella 5.1), e le correlazioni risultano invertite. Questo rispecchia il fatto che generalmente col progredire della malattia (calo di eGFR e aumento di creatinina sierosa) la quantità di cisti aumenta, quindi danno un contributo maggiore al valore mediano sul Total Kidney Volume.

Le correlazioni più significative che sono state riscontrate riguardano invece il parenchima, nello specifico per i valori mediاني di ADC e UAvol (Figura 5.3).

I valori mediاني di entrambi gli indici dimostrano avere una correlazione migliore con eGFR, indice ritenuto più affidabile come marcatore di CKD (Malattia renale cronica) in quanto tiene conto della creatinina sierosa rapportata all'età, al peso e al sesso del paziente (formula 4-1).

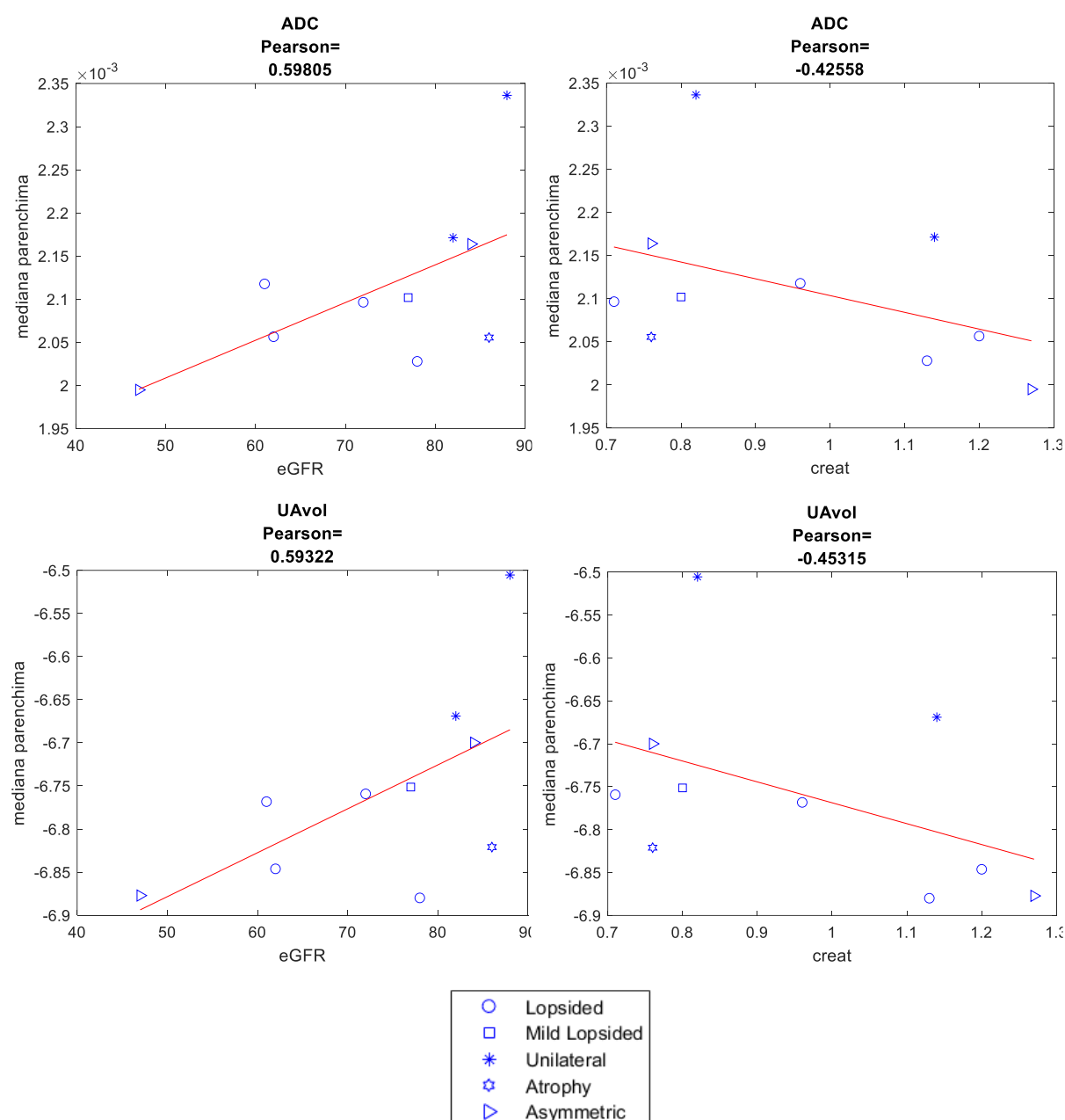
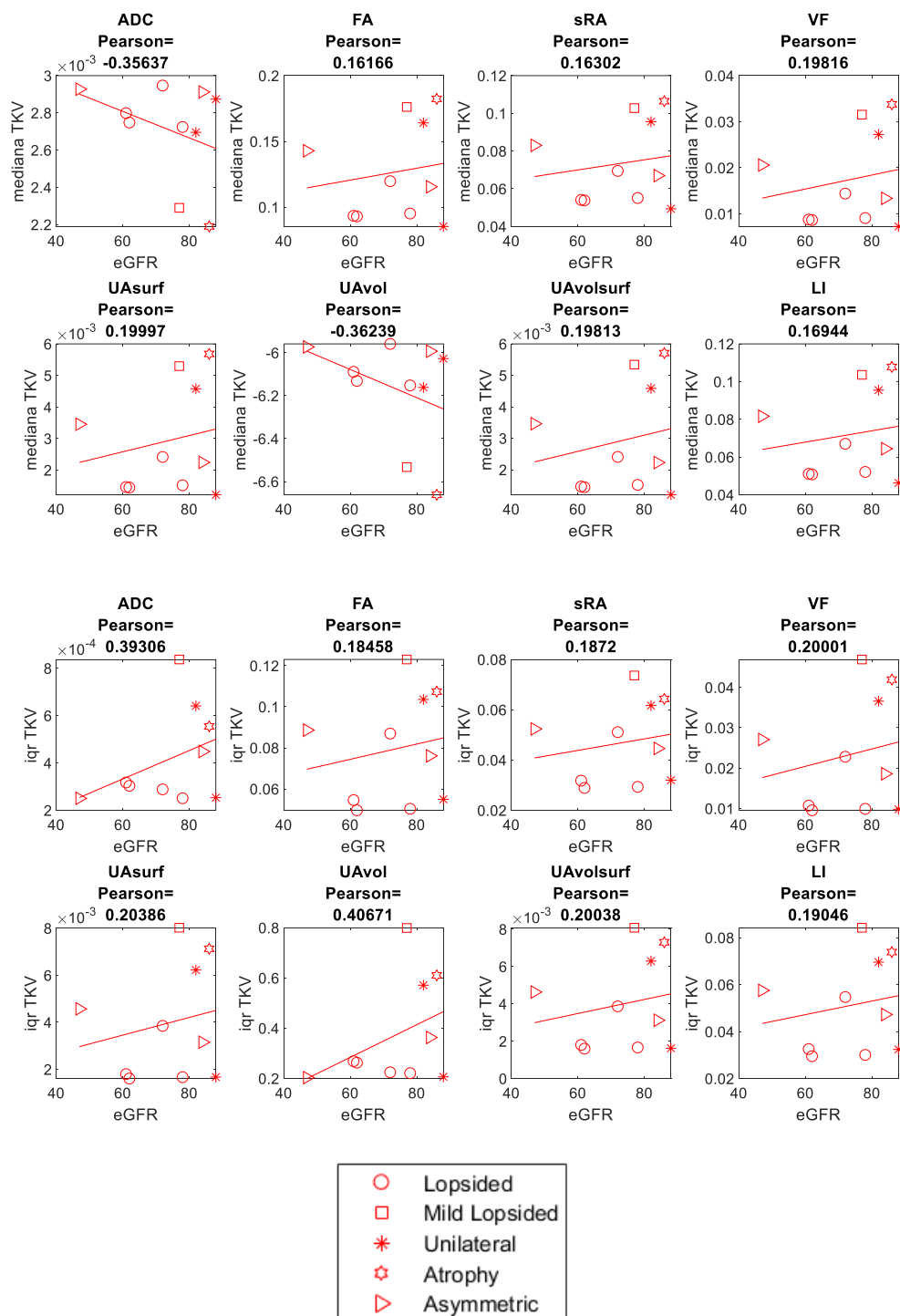


Figura 5.3: regressione lineare fra eGFR e creatinina con i valori mediاني di ADC e UAvol nel parenchima.

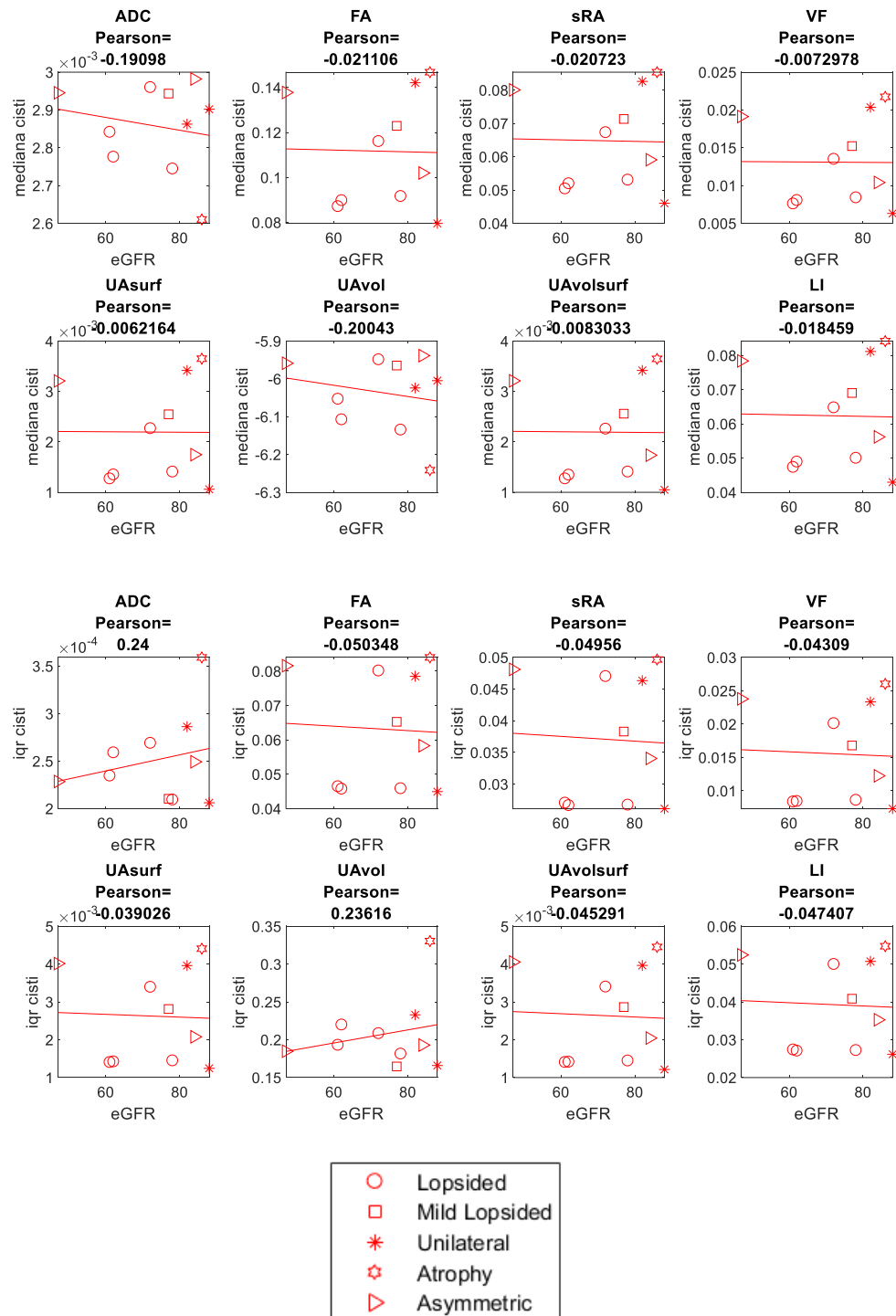
Potrebbe inoltre essere interessante fare alcune osservazioni riguardo alla classificazione Mayo dei pazienti nel gruppo di studio (capitolo 2, classificazione Mayo imaging per pazienti atipici). Dai plot si nota infatti che i pazienti classificati come “*Unilateral*” (che quindi presentano totale assenza della patologia in un uno dei due reni) presentano valori mediani del parenchima più alti sia per ADC che per UAvol. Secondo lo stesso studio Mayo (riportato sempre nel capitolo 2) i pazienti Unilateral fanno parte dei pazienti di classe 2A, associati a progressione più lenta della patologia rispetto a quelli di classe 2B; coerentemente a questa osservazione il paziente “*Anisotropy*” di classe 2B, associata a una prognosi peggiore, presentano valori mediani del parenchima inferiori sia per ADC che per UAvol. In accordo con le osservazioni appena fatte, si aggiunge anche il confronto fatto poco prima tra l’ADC parenchimale nei i pazienti sani in confronto al gruppo di studio, che ha evidenziato valori mediani dell’ADC più alti nei pazienti sani.

Sembrerebbe dunque che il valore mediano dell’ADC, e di conseguenza anche dell’UAvol, nel parenchima potrebbe costituire un valido indice prognostico, unito alla classificazione Mayo imaging, per la malattia policistica ADPKD nei pazienti atipici.

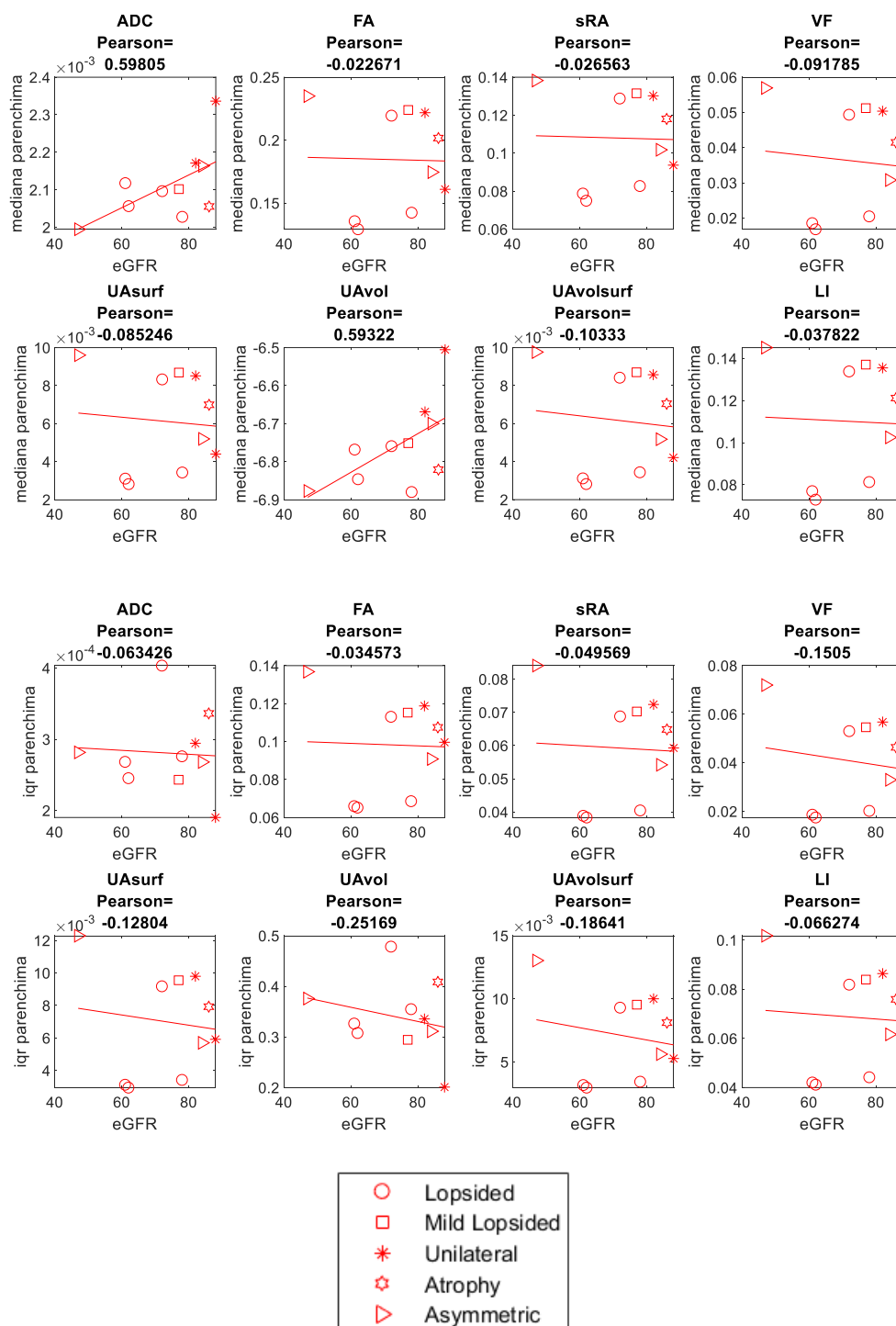
Correlazione eGFR – DAIs nel Total Kidney VOI



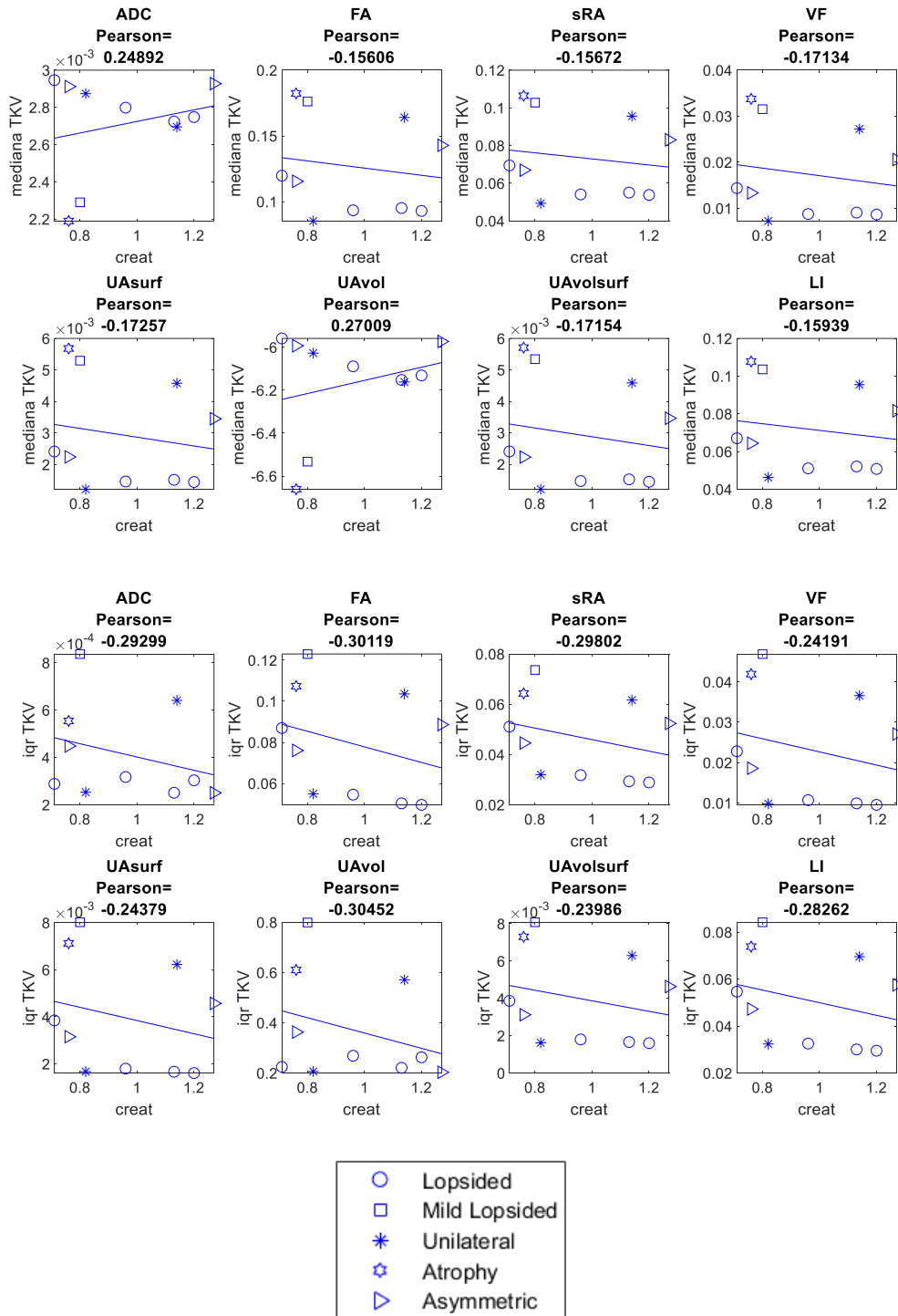
Correlazione eGFR – DAIs nel VOI cisti



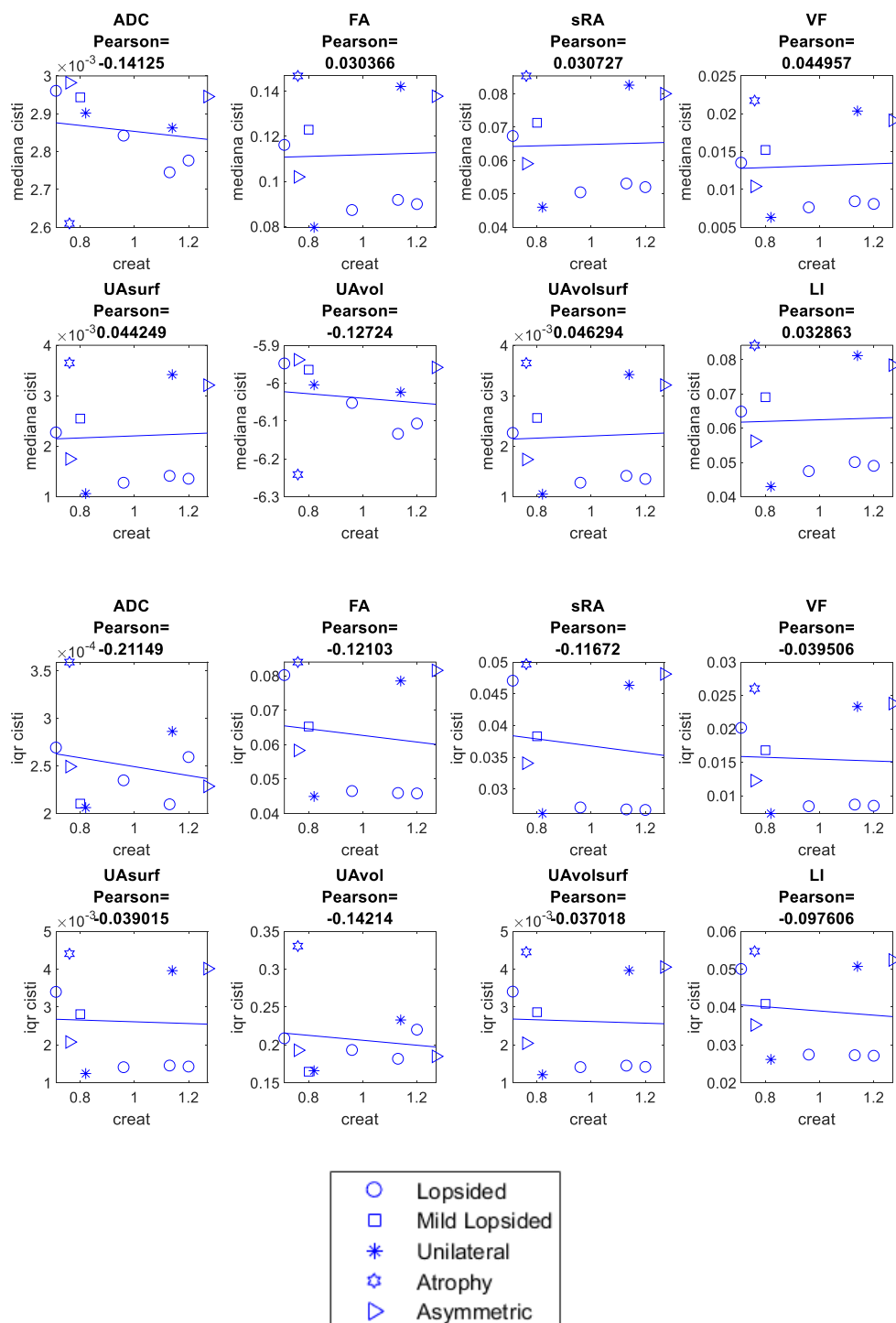
Correlazione eGFR – DAIs nel VOI parenchima



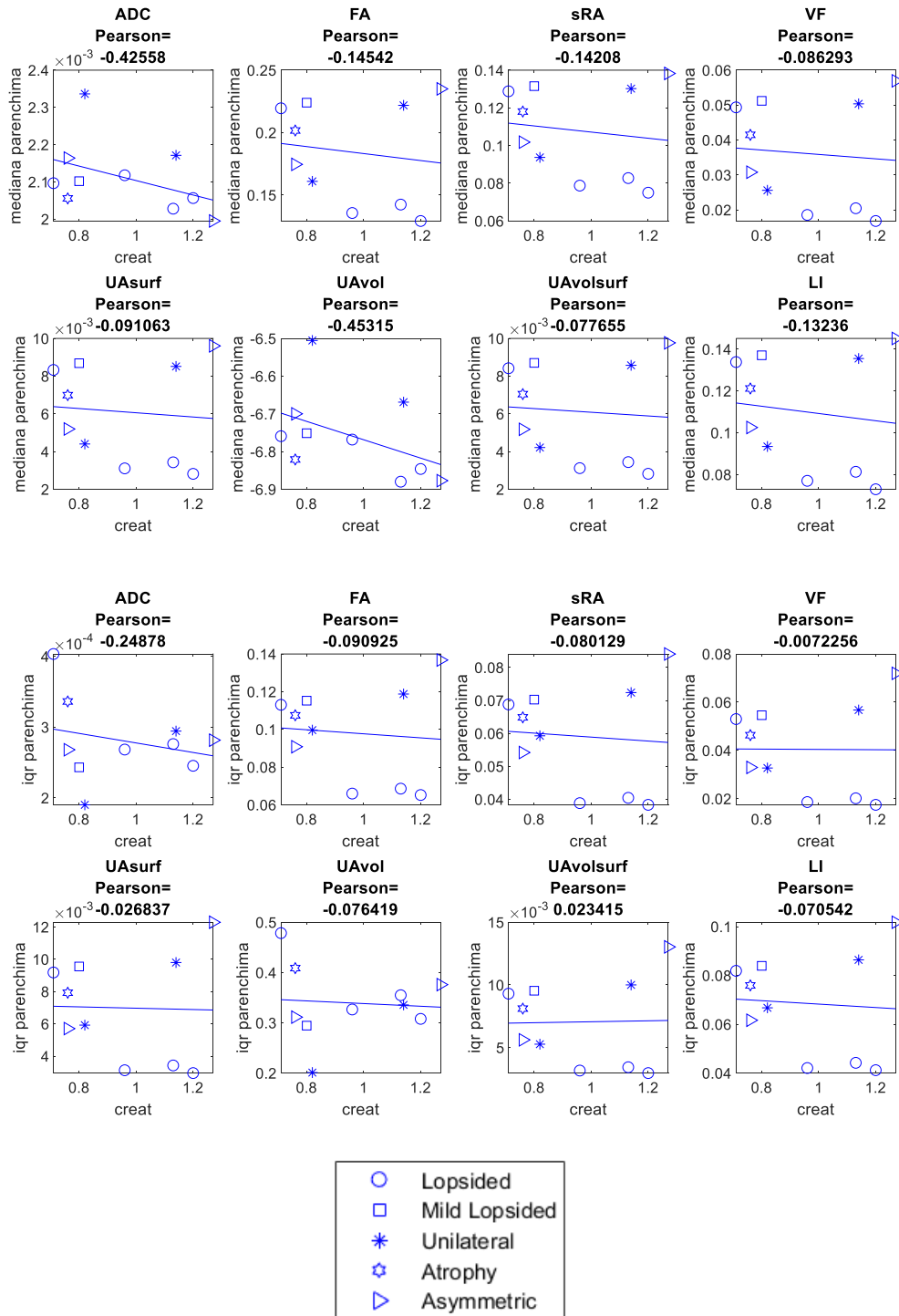
Correlazione creatinina – DAIs nel Total Kidney VOI



Correlazione creatinina – DAIs nel VOI cisti



Correlazione creatinina – DAIs nel VOI parenchima



Conclusioni

Questo elaborato di tesi si è concentrato sull'analisi tramite diffusion tensor imagin (DTI) degli indici di diffusione ed anisotropia (DAIs) nei pazienti ADPKD atipici con l'obiettivo di dare un contributo alla prognosi.

Dai risultati si è evidenziato che tutti gli indici analizzati (*ADC*, *FA*, *sRA*, *VF*, *UAsurf*, *UAvol*, *UAvolsurf*, *LI*) hanno una buona capacità di discernimento fra tessuto cistico e parenchimale, in particolare *ADC* e *UAvol*, i cui valori mediani sul Total Kidney Volume sono risultati fortemente correlati alla percentuale di cisti nel rene. Dal confronto con i pazienti tipici è risultato inoltre che, nei pazienti atipici, i DAIs abbiano una capacità addirittura superiore di distinguere le cisti dal parenchima. Questa capacità li rende un parametro degno di interesse, in quanto è in grado di riflettere la composizione del volume renale in tessuto cistico e tessuto parenchimale, legandoli strettamente allo stadio di avanzamento della malattia; permettendo potenzialmente di evitare la fase di segmentazione di rene e cisti, operazione che richiede un lungo tempo se fatta manualmente da un operatore.

Nel confronto con reni sani, su parametri DTI tratti dalla letteratura, è emerso che i pazienti ADPKD atipici manifestano valori di *ADC* mediamente più alti su tutto il rene, ma più bassi nel parenchima. Questo riflette la massiva presenza di cisti, caratterizzate da alta diffusività, che si rispecchia in un valore di *ADC* complessivamente più alto sul TKV; e una minore capacità di perfusione dell'acqua nel parenchima.

Il valore della Fractional Anisotropy (*FA*) è invece risultato molto più basso nei pazienti del gruppo di studio, che rispecchia la perdita di anisotropia derivante dall'alterazione della microstruttura renale a causa delle cisti.

Gli studi presenti in letteratura sull'applicazione della DTI nel rene policistico (riportati nel capitolo 2 di questa tesi) hanno calcolato il valore degli indici di diffusione

(ADC) e anisotropia (FA) sul volume totale del rene, senza distinzione fra cisti e parenchima, riportando risultati analoghi a questa tesi per quanto riguarda il valore degli indici sul TKV (ADC più alto e FA più basso rispetto al rene sano); tuttavia questo è il primo studio, assieme a quello svolto da questo stesso gruppo di lavoro sui pazienti tipici, che per primo analizza gli indici separatamente fra cisti e parenchima nei pazienti policistici. E si è potuto quindi evincere per la prima volta che l'ADC più alto complessivamente su tutto il rene, non rispecchia il valore dell'ADC nel parenchima.

L'importanza di questa evidenza è accentuata dal fatto che proprio l'ADC nel parenchima è risultato essere l'indice maggiormente correlato alla funzionalità renale, in particolare con la Glomerular Filtration Rate (eGFR). La stessa correlazione è stata riscontrata anche nel parametro UAvol parenchimale.

Inoltre un'analisi più attenta dei plot di correlazione ha evidenziato valori di entrambi i parametri più alti per i pazienti di classe 2A, associati ad una prognosi migliore secondo l'attuale metodo di classificazione via imaging Mayo; e valori più bassi per i pazienti di classe 2B, associati a una prognosi peggiore. Sebbene queste evidenze vadano ulteriormente consolidate aumentando il numero del campione di pazienti, questo risultato suggerisce che l'ADC e l'UAvol parenchimale, associati alla classificazione via imaging, potrebbero costituire un valido indice prognostico, predittivo, quantitativo, per i pazienti atipici.

La limitazione principale di questo studio consiste nel ristretto numero di partecipanti, che riflette la minore percentuale di pazienti atipici, costituenti solo il 5-10% dei pazienti affetti da ADPKD. L'esiguo numero di casi e la manifestazione atipica della patologia, meno standardizzabile e prevedibile, sono i fattori che ad oggi causano ancora più difficoltà nella ricerca di un metodo prognostico per questa classe di pazienti.

Sviluppi futuri potrebbero includere uno studio più approfondito sulla diversità nella manifestazione della malattia nei due reni, che spesso caratterizza i pazienti atipici; una maggiore comprensione di questo effetto sulla funzionalità renale e riuscire a quantificarla potrebbe portare un contributo rilevante alla prognosi in questi pazienti.

Inoltre, sarebbe interessante studiare la correlazione degli indici DAIs con il TKV ricalcolato escludendo le cisti esofitiche, dal momento che, secondo lo studio di Bae et al. [18], costituisce per i pazienti atipici un migliore marcatore di Malattia Cronica Renale rispetto al normale TKV.

Infine, sarebbe di interesse fare un'analisi di follow-up sui pazienti, per valutare se con gli indici DAIs è possibile prevedere l'insorgere di una cisti.

Riferimenti bibliografici

- [1] A. Pohlmann e T. Niendorf, A. c. di, *Preclinical MRI of the Kidney: Methods and Protocols*, vol. 2216. in *Methods in Molecular Biology*, vol. 2216. New York, NY: Springer US, 2021. doi: 10.1007/978-1-0716-0978-1.
- [2] M. Rosenbloom e A. Pfefferbaum, «Using Magnetic Resonance Imaging and Diffusion Tensor Imaging to Assess Brain Damage in Alcoholics», vol. 27, fasc. 2, 2003.
- [3] M. Poustchi-Amin, S. A. Mirowitz, J. J. Brown, R. C. McKinstry, e T. Li, «Principles and Applications of Echo-planar Imaging: A Review for the General Radiologist», *RadioGraphics*, vol. 21, fasc. 3, pp. 767–779, mag. 2001, doi: 10.1148/radiographics.21.3.g01ma23767.
- [4] M. Markl e J. Leupold, «Gradient echo imaging», *J. Magn. Reson. Imaging*, vol. 35, fasc. 6, pp. 1274–1289, giu. 2012, doi: 10.1002/jmri.23638.
- [5] S. Mori e J. Zhang, «Principles of Diffusion Tensor Imaging and Its Applications to Basic Neuroscience Research», *Neuron*, vol. 51, fasc. 5, pp. 527–539, set. 2006, doi: 10.1016/j.neuron.2006.08.012.
- [6] P. B. Kingsley, «Introduction to diffusion tensor imaging mathematics: Part III. Tensor calculation, noise, simulations, and optimization», *Concepts Magn. Reson.*, vol. 28A, fasc. 2, pp. 155–179, mar. 2006, doi: 10.1002/cmr.a.20050.
- [7] A. M. Ulug e P. C.M. van Zijl, «Orientation-independent diffusion imaging without tensor diagonalization: Anisotropy definitions based on physical attributes of the diffusion ellipsoid».
- [8] P. B. Kingsley, «Introduction to diffusion tensor imaging mathematics: Part I. Tensors, rotations, and eigenvectors», *Concepts Magn. Reson.*, vol. 28A, fasc. 2, pp. 101–122, mar. 2006, doi: 10.1002/cmr.a.20048.
- [9] P. B. Kingsley, «Introduction to diffusion tensor imaging mathematics: Part II. Anisotropy, diffusion-weighting factors, and gradient encoding schemes», *Concepts Magn. Reson.*, vol. 28A, fasc. 2, pp. 123–154, mar. 2006, doi: 10.1002/cmr.a.20049.
- [10] C. Pierpaoli e P. J. Basser, «Toward a quantitative assessment of diffusion anisotropy», *Magnetic Resonance in Medicine*, vol. 36, fasc. 6, pp. 893–906, 1996, doi: 10.1002/mrm.1910360612.
- [11] D. Le Bihan, R. Turner, e J. R. MacFall, «Effects of intravoxel incoherent motions (IVIM) in steady-state free precession (SSFP) imaging: application to molecular diffusion imaging», *Magn Reson Med*, vol. 10, fasc. 3, pp. 324–337, giu. 1989, doi: 10.1002/mrm.1910100305.
- [12] K. L. Moore, A. D. Dalley, e A. M. R. Agur, «Anatomia umana e orientamento clinico. Con Contenuto digitale (fornito elettronicamente)».
- [13] C. Rugarli e A. Piero Stella, *Rugarli. Medicina interna sistemica. Estratto: Malattie del rene e delle vie urinarie.*, Sesta edizione. 2010.

- [14] C. S. Herrington, «Herrington Anatomia Patologica di MUIR».
- [15] M. V. Irazabal *et al.*, «Imaging Classification of Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease: A Simple Model for Selecting Patients for Clinical Trials», *Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 26, fasc. 1, pp. 160–172, gen. 2015, doi: 10.1681/ASN.2013101138.
- [16] I.-A. Iliuta *et al.*, «Atypical Polycystic Kidney Disease as defined by Imaging», *Sci Rep*, vol. 13, p. 2952, feb. 2023, doi: 10.1038/s41598-022-24104-w.
- [17] E. Cornec-Le Gall *et al.*, «The PROPKD Score: A New Algorithm to Predict Renal Survival in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease», *Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 27, fasc. 3, pp. 942–951, mar. 2016, doi: 10.1681/ASN.2015010016.
- [18] K. T. Bae *et al.*, «Expanded Imaging Classification of Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease», *JASN*, vol. 31, fasc. 7, pp. 1640–1651, lug. 2020, doi: 10.1681/ASN.2019101121.
- [19] N. C. Chuck, G. Steidle, I. Blume, M. A. Fischer, D. Nanz, e A. Boss, «Diffusion Tensor Imaging of the Kidneys: Influence of b-Value and Number of Encoding Directions on Image Quality and Diffusion Tensor Parameters», *Journal of Clinical Imaging Science*, vol. 3, p. 53, nov. 2013, doi: 10.4103/2156-7514.122323.
- [20] M. Notohamiprodjo *et al.*, «Diffusion Tensor Imaging (DTI) of the Kidney at 3 Tesla–Feasibility, Protocol Evaluation and Comparison to 1.5 Tesla», *Investigative Radiology*, mag. 2010.
- [21] C. Gaudiano *et al.*, «Diffusion tensor imaging and tractography of the kidneys: assessment of chronic parenchymal diseases», *Eur Radiol*, vol. 23, fasc. 6, pp. 1678–1685, giu. 2013, doi: 10.1007/s00330-012-2749-y.
- [22] R. Lupica *et al.*, «3 Tesla-Diffusion Tensor Imaging in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease: The Nephrologist’s Point of View», *Nephron*, vol. 134, fasc. 2, pp. 73–80, 2016, doi: 10.1159/000442296.
- [23] S. D. Serai, H. J. Otero, J. S. Calle-Toro, J. I. Berman, K. Darge, e E. A. Hartung, «Diffusion tensor imaging of the kidney in healthy controls and in children and young adults with autosomal recessive polycystic kidney disease», *Abdom Radiol*, vol. 44, fasc. 5, pp. 1867–1872, mag. 2019, doi: 10.1007/s00261-019-01933-4.
- [24] A. Caroli *et al.*, «Diffusion-weighted magnetic resonance imaging to assess diffuse renal pathology: a systematic review and statement paper», *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 33, fasc. suppl_2, pp. ii29–ii40, set. 2018, doi: 10.1093/ndt/gfy163.
- [25] K. Hueper *et al.*, «Diffusion-Weighted imaging and diffusion tensor imaging detect delayed graft function and correlate with allograft fibrosis in patients early after kidney transplantation», *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, vol. 44, fasc. 1, pp. 112–121, 2016, doi: 10.1002/jmri.25158.
- [26] Z. Zheng, H. Shi, J. Zhang, e Y. Zhang, «Renal Water Molecular Diffusion Characteristics in Healthy Native Kidneys: Assessment with Diffusion Tensor MR Imaging», *PLoS ONE*, vol. 9, fasc. 12, p. e113469, dic. 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0113469.
- [27] Y.-X. Chen *et al.*, «Clinical study on the use of advanced magnetic resonance imaging in lupus nephritis», *BMC Med Imaging*, vol. 22, fasc. 1, p. 210, nov. 2022, doi: 10.1186/s12880-022-00928-w.