



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICHE E CHIRURGICHE -DIMEC

CORSO DI LAUREA IN
TECNICHE DI RADIOLOGIA MEDICA PER IMMAGINI E RADIOTERAPIA

**UTILIZZO DI UN SOFTWARE OPEN SOURCE
PER LA QUANTIFICAZIONE DEL FERRO
NEL PARENCHIMA EPATICO**

Tesi di laurea in Tecniche di Imaging RM

Relatore

Prof. Alessandro Sergenti

Presentata da

Angelo Matino

Correlatore

Prof. Gabriele Spoltore

Sessione I

Anno Accademico 2024/2025

Sommario

INTRODUZIONE	4
-1- ANATOMIA DEL FEGATO	6
-2- LA RISONANZA MAGNETICA: PRINCIPI GENERALI	8
2.1 Introduzione	8
2.2 Basi di risonanza magnetica	9
2.2.1 Principi fisici	9
2.2.2 Tempi di rilassamento	10
2.2.3 Sequenze di acquisizione	11
2.2.4 Formazione dell'immagine	14
-3- SOVRACCARICO DI FERRO	16
3.1 Metabolismo del ferro	16
3.2 Fisiopatologia del sovraccarico di ferro	17
3.3 Analisi di laboratorio	18
3.4 Biopsia epatica	18
3.5 Ecografia	19
3.6 Tomografia Computerizzata	20
3.7 Superconducting Quantum Interference Devices (SQUIDS)	20
-4- RUOLO DELLA RISONANZA MAGNETICA	21
4.1 Valutazione qualitativa	21
4.2 Tecniche SIR	22
4.3 Rilassometria quantitativa	22
4.3.1 Effetti dell'R2	23
4.3.2 Effetti dell'R2*	23
-5- RISONANZA MAGNETICA: LO STATO DELL'ARTE	25
5.1 Modelli di decadimento del segnale	25
5.1.1 Modello lineare mono-esponenziale	25
5.1.2 Modello non lineare mono-esponenziale	25
5.1.3 Modello bi-esponenziale	26
5.1.4 Modello con troncamento	26
5.2 Rilassometria R2	26
5.2.1 Modello di St Pierre	26
5.2.2 Modello di Wood (R2)	28
5.2.3 Limiti rilassometria R2	29

5.3 Rilassometria $R2^*$	30
5.3.1 Modello di Anderson	30
5.3.2 Modello di Wood ($R2^*$)	31
5.3.3 Modello di Hankins	32
5.3.4 Modello di Garbowski	34
5.3.5 Modello di Henninger	36
5.3.6 Modello di Hernando 1.5 T vs 3 T	38
5.4 Relazione tra $R2^*$ a 1,5 T e a 3 T	41
5.5 Classificazione clinica del LIC	42
-6- IL NOSTRO STUDIO	44
6.1 Disegno dello studio e popolazione in esame	44
6.2 Protocollo di studio della MRI	44
6.3 Analisi della MRI	44
6.3 Analisi statistica	45
6.4 Risultati	45
6.5 Discussione	48
CONCLUSIONI	50
BIBLIOGRAFIA	52

INTRODUZIONE

Le patologie del fegato rappresentano un rilevante problema di salute pubblica a livello globale, abbracciando un'ampia gamma di condizioni, con eziologie eterogenee che spaziano dalle infezioni virali alle condizioni ereditarie, fino alle epatopatie correlate a fattori metabolici, nutrizionali o all'abuso di alcol.

Il sovraccarico di ferro epatico è un elemento caratteristico comune a diversi quadri clinici: oltre alle forme genetiche, come l'emocromatosi, si osserva frequentemente in pazienti sottoposti a trasfusioni ripetute (emosiderosi secondaria) e in altre patologie croniche.

L'accumulo progressivo di ferro nel parenchima epatico rappresenta un fattore di rischio per complicanze severe, quali fibrosi, cirrosi, insufficienza epatica e, nei casi più gravi, carcinoma epatocellulare. Per questo motivo, un'accurata quantificazione dei livelli di ferro è fondamentale per la corretta gestione clinica, non solo in fase di diagnosi, ma anche per lo staging del sovraccarico e per il monitoraggio delle terapie.

Per valutare tali accumuli, la biopsia epatica è stata a lungo considerata il gold standard per la quantificazione del ferro (LIC, Liver Iron Concentration, o HIC, Hepatic Iron Concentration). Questa metodica, però, presenta dei limiti: la sua natura invasiva, i rischi associati e la possibile variabilità campionaria non la rendono adatta all'impiego routinario. Da qui nasce la necessità di strumenti alternativi che consentano valutazioni non invasive, affidabili e riproducibili.

L'imaging di risonanza magnetica (RM) si è progressivamente affermata come la soluzione a queste esigenze, sfruttando la sensibilità del segnale alle proprietà magnetiche del ferro.

Le tecniche di rilassometria hanno dimostrato particolare efficacia, e, tra queste, quelle basate sul parametro $R2^*$ si distinguono, rispetto ai protocolli $R2$, per rapidità di acquisizione, ampia copertura dell'organo e migliore adattabilità dalla pratica clinica.

Nonostante i progressi compiuti, limiti come le differenze nei protocolli di acquisizione, la scelta dei modelli matematici di fitting del segnale e la variabilità delle curve di calibrazione creano valori LIC non uniformi tra centri e tra apparecchiature. Inoltre, se da un lato i sistemi a 1,5 T rimangono lo standard clinico di riferimento, la crescente diffusione del 3 T necessita una verifica della concordanza, al fine di stabilire se i risultati siano comparabili e clinicamente equivalenti.

La presente tesi si propone di approfondire tali aspetti, analizzando lo stato dell'arte delle metodiche di quantificazione del ferro epatico e verificare, attraverso l'analisi dei modelli R2* - LIC a 1,5 T e a 3 T proposti da Hernando e colleghi, la concordanza dei risultati.

L'obiettivo è valutare quindi se le due metodiche possano essere impiegate in modo intercambiabile, senza compromettere l'accuratezza diagnostica né la classificazione clinica del sovraccarico di ferro.

-1- ANATOMIA DEL FEGATO

Il fegato è il più voluminoso dei visceri e uno degli organi metabolicamente più attivi: svolge un ruolo fondamentale sia nelle funzioni esocrine, attraverso la produzione di bile che partecipa alla digestione e all'assorbimento dei lipidi, sia in quelle metaboliche, contribuendo al mantenimento dell'omeostasi ematica grazie al sangue portale proveniente dall'apparato digerente e funzionando come deposito e filtro dei metaboliti [1].

Localizzato nello spazio sovramesocolico della cavità addominale, prevalentemente nell'ipocondrio destro, si estende nell'epigastrio e, in parte, nell'ipocondrio sinistro. Superiormente è in rapporto con il diaframma, che lo separa dal cuore e dai polmoni, mentre inferiormente e posteriormente si pone in continuità con stomaco, colon trasverso e rene destro. Presenta forma ovoidale, colore rosso-bruno e un peso medio di circa 1.400-1.500 grammi nell'adulto [2]. Dal punto di vista morfologico, la tradizionale suddivisione distingue quattro lobi (destro, sinistro, caudato e quadrato).

I lobi destro e sinistro sono separati dal legamento falciforme, tale suddivisione, non corrisponde alla reale organizzazione funzionale dell'organo. In ambito clinico e radiologico, infatti, è utilizzata la segmentazione proposta da Couinaud, che distingue otto segmenti funzionali, ognuno dei quali dotato di un proprio peduncolo portale, arterioso e biliare (fig.01).

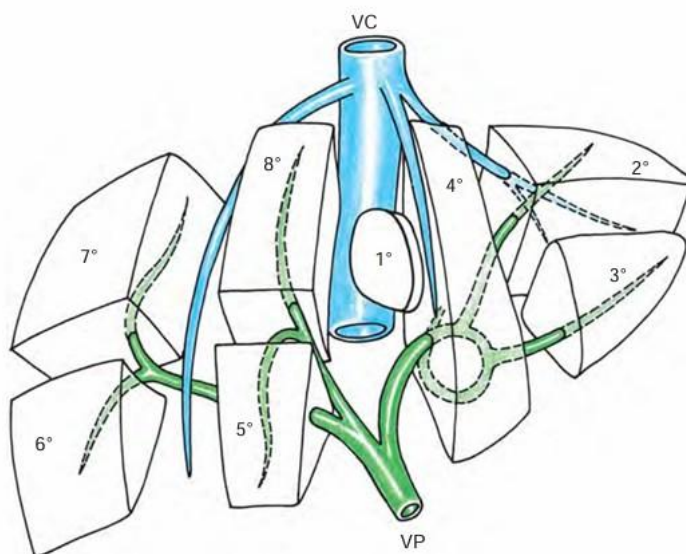


Figura 01: Schema tridimensionale raffigurante la segmentazione epatica secondo Couinaud [3].

Ogni segmento costituisce un'unità relativamente indipendente, aspetto che riveste particolare importanza in chirurgia e in diagnostica per immagini, fondamentale per la localizzazione delle lesioni e per la pianificazione terapeutica [3].

La vascolarizzazione epatica è caratterizzata da un doppio afflusso: circa il 70–75% del flusso proveniente dalla vena porta, che trasporta sangue ricco di nutrienti dall'apparato digerente, e il restante 25–30% dall'arteria epatica, che assicura l'apporto di ossigeno. Il deflusso avviene tramite le vene epatiche, le quali confluiscono nella vena cava inferiore. La complessa architettura vascolare, unita all'organizzazione lobulare del parenchima, permette di comprendere i meccanismi fisiopatologici che sottendono numerose epatopatie croniche [2].

Dal punto di vista microscopico (fig.02), il parenchima è organizzato in lobuli epatici, strutture poligonali al cui centro decorre la vena centrolobulare. Alla periferia dei lobuli si trovano gli spazi portali (o triadi portali), che comprendono un ramo della vena porta, un ramo dell'arteria epatica e un dotto biliare. Qui si realizza lo stretto collegamento tra sistema vascolare e vie biliari intraepatiche.

La bile prodotta dagli epatociti, principali cellule del fegato, viene secreta nei canalicoli biliari, piccoli spazi tra cellule contigue che confluiscono nei dotti interlobulari. Questi ultimi si riuniscono progressivamente nei dotti segmentari e infine nei due principali dotti epatici, destro e sinistro, che a livello dell'ilo convergono a formare il dotto epatico comune [2].

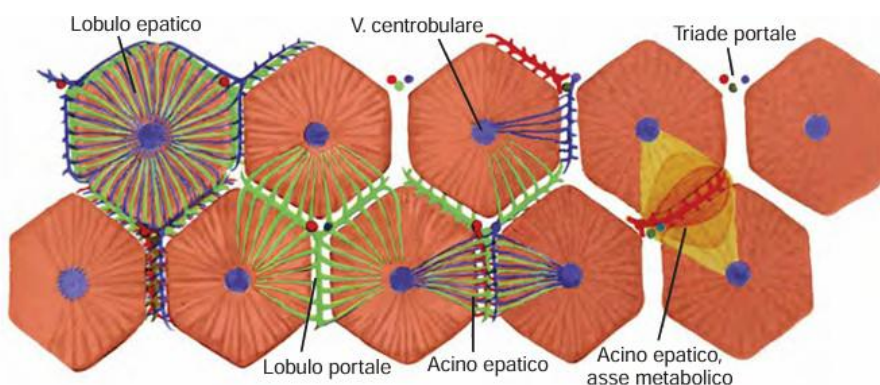


Figura 02: Architettura lobulare del fegato [3].

Questa organizzazione anatomico-funzionale trova una diretta corrispondenza anche nell'imaging, dove i rapporti vascolari e biliari costituiscono i principali landmark per la segmentazione radiologica e l'interpretazione delle patologie epatiche [3].

-2- LA RISONANZA MAGNETICA: PRINCIPI GENERALI

2.1 Introduzione

La RM rappresenta una delle tecniche di imaging più avanzate nello studio della anatomia e della fisiologia umana. La sua introduzione nella pratica clinica, avvenuta negli anni '80 è stata fondamentale nella diagnostica per immagini, consentendo valutazioni dettagliate con un approccio non invasivo e privo di radiazioni ionizzanti [4].

Negli anni successivi, la RM ha conosciuto un rapido sviluppo tecnologico e applicativo. Inizialmente impiegata nello studio del sistema nervoso centrale e dell'apparato muscoloscheletrico, si è progressivamente diffusa anche in ambito cardiologico, oncologico e addominale, diventando uno strumento di riferimento nella radiologia moderna [5].

Oggi la RM ha assunto un ruolo di primo piano in ambito epatico, affermandosi come metodica di riferimento accanto all'ecografia e alla tomografia computerizzata (TC) e mostrando una sensibilità e specificità superiori rispetto a quest'ultime nella caratterizzazione di lesioni focali. L'introduzione dei mezzi di contrasto epatospecifici (fig. 03) ha ulteriormente incrementato l'accuratezza diagnostica, soprattutto nella distinzione tra lesioni benigne e maligne [6].

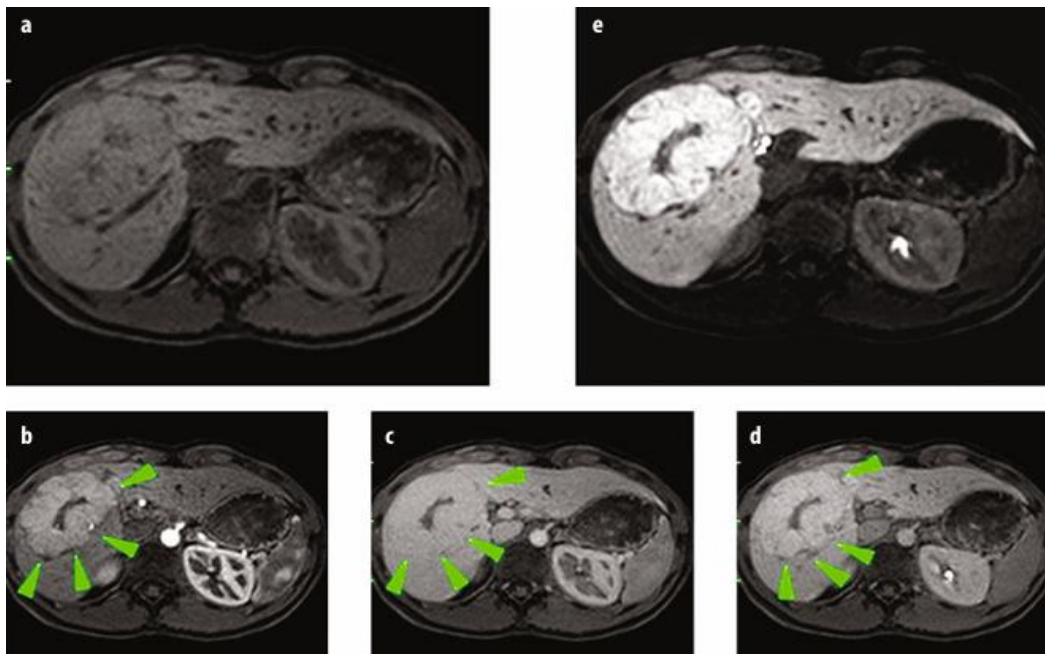


Figura 03: Studio dinamico contrastografico di una lesione focale epatica [8].

Un ulteriore punto di forza della metodica è rappresentato dall'approccio multiparametrico, che combina sequenze morfologiche, studi dinamici post-contrasto e valutazioni funzionali; questo consente una valutazione completa del parenchima epatico in un'unica sessione di esame, rendendo la RM particolarmente adatta anche alla valutazione delle malattie epatiche diffuse, come la steatosi, la fibrosi e il sovraccarico di ferro [6].

Negli ultimi anni si è inoltre assistito a un'evoluzione dall'imaging puramente qualitativo a quello quantitativo, in cui i parametri numerici derivati dalle sequenze (ad esempio T2 e T2*) possono essere correlati a dati biochimici e istologici. Questo ha reso la risonanza magnetica epatica non solo uno strumento diagnostico, ma anche un mezzo di monitoraggio terapeutico e di supporto alla medicina di precisione [7].

2.2 Basi di risonanza magnetica

La RM è una metodica di diagnostica per immagini basata sull'interazione tra campi magnetici e proprietà intrinseche dei nuclei atomici, in particolare dell'idrogeno, abbondantemente presenti nei tessuti biologici. Attraverso l'interazione tra campo magnetico statico, impulsi di radiofrequenza e gradienti di campo, è possibile generare segnali che, opportunamente elaborati, producono immagini ad alto contrasto e risoluzione [8].

2.2.1 Principi fisici

Alla base del fenomeno di risonanza vi è il concetto di momento magnetico nucleare, una proprietà intrinseca di ogni nucleo atomico dotato di un numero dispari di protoni o neutroni.

Quando un soggetto viene posto in un campo magnetico statico (B_0), gli spin tendono ad allinearsi lungo la direzione del campo. La maggior parte si dispone parallelamente al campo stesso, determinando la comparsa di una magnetizzazione longitudinale M_0 , risultante dalla somma dei vettori magnetici dei singoli nuclei. I protoni non rimangono fermi ma compiono un moto di precessione attorno all'asse del campo magnetico, con una frequenza caratteristica, detta frequenza di Larmor, proporzionale all'intensità del campo magnetico e descritta dall'equazione:

$$\omega_0 = \gamma \cdot B_0$$

Dove:

- ω_0 è la frequenza angolare di precessione,
- γ è il rapporto giromagnetico del protone (42,58 MHz/T per l'idrogeno),
- B_0 è l'intensità del campo magnetico statico.

La magnetizzazione totale può essere descritta come un vettore tridimensionale M , con una componente longitudinale (M_z) parallela a B_0 e due componenti trasversali (M_x , M_y) perpendicolari al campo. In condizioni di equilibrio prevale M_z , mentre M_x e M_y , oscillando alla frequenza di Larmor, sono responsabili della generazione del segnale misurabile.

Al fine di perturbare il sistema e ottenere un segnale misurabile, viene applicato un impulso di radiofrequenza (RF) alla frequenza di Larmor: viene così trasferita energia ai protoni, portandoli a uno stato eccitato e trasferendo parte della magnetizzazione nel piano trasversale, generando M_x e M_y . Una volta cessato l'impulso cessa, i protoni ritornano allo stato di equilibrio liberando energia sotto forma di segnale di risonanza, detto FID (Free Induction Decay) il quale viene rilevato dalle bobine riceventi [8].

2.2.2 Tempi di rilassamento

Questo ritorno all'equilibrio non avviene in maniera istantanea, ma secondo due distinti meccanismi di rilassamento: il recupero della magnetizzazione longitudinale (T_1) e il decadimento della magnetizzazione trasversale (T_2). Inoltre, in condizioni reali, alle interazioni intrinseche si sommano gli effetti delle disomogeneità del campo magnetico, che determinano un ulteriore tempo di rilassamento effettivo, definito T_2^* .

Il rilassamento T_1 , o spin-reticolo, descrive il processo con cui la magnetizzazione longitudinale M_z recupera progressivamente il suo allineamento lungo B_0 attraverso la cessione di energia degli spin all'ambiente molecolare circostante (reticolo).

Questo processo è descritto dalla funzione:

$$M_z(t) = M_0 \left(1 - e^{-\frac{t}{T_1}} \right)$$

Il tempo T_1 rappresenta la costante di tempo necessaria affinché raggiunga circa il 63% della magnetizzazione originaria. La sua durata dipende dalla natura dalle proprietà fisico-chimiche del tessuto e dall'intensità del campo magnetico: generalmente aumenta all'aumentare di B_0 . Tali differenze tra i tessuti rendono il T_1 un parametro fondamentale per la generazione del contrasto nelle immagini.

Il rilassamento T_2 , o spin-spin, riguarda invece la componente trasversale della magnetizzazione. Dopo l'eccitazione, i vettori degli spin si trovano inizialmente in fase, ma le interazioni reciproche determinano una progressiva perdita di coerenza e quindi una riduzione della magnetizzazione secondo la funzione:

$$M_{xy}(t) = M_0 e^{-\frac{t}{T_2}}$$

La costante di tempo T2 indica il tempo entro cui la magnetizzazione trasversale si riduce al 37% del suo valore iniziale. A differenza del T1, il rilassamento trasversale avviene più rapidamente, poiché legato all'interazione reciproca tra i nuclei e alla conseguente perdita di fase. Questo fa sì che sia meno influenzato dall'intensità del campo magnetico e maggiormente dalle caratteristiche microstrutturali del tessuto.

Oltre alle interazioni spin-spin, anche le disomogeneità macroscopiche e microscopiche del campo magnetico contribuiscono al decadimento del segnale trasversale. Questi effetti si traducono in un tempo di rilassamento effettivo, detto T2*. Poiché include sia le interazioni intrinseche (T2) sia gli effetti di suscettibilità e disomogeneità di campo (T2'), il T2* è sempre minore o uguale al T2, secondo la relazione:

$$\frac{1}{T2^*} = \frac{1}{T2} + \frac{1}{T2'}$$

Il T2* riveste particolare interesse clinico, poiché risulta molto sensibile alla presenza di sostanze paramagnetiche come il ferro, il cui accumulo determina un rapido decadimento del segnale. In definitiva, i tempi di rilassamento T1, T2 e T2* rappresentano i meccanismi fondamentali che modulano l'intensità del segnale RM e costituiscono la base fisica su cui si fonda la formazione del contrasto nelle immagini [8].

2.2.3 Sequenze di acquisizione

Il segnale di risonanza magnetica, generato dal tessuto a seguito della stimolazione con impulsi RF e inizialmente rilevato come FID, viene trasformato in immagini grazie a schemi di impulsi e gradienti noti come sequenze di acquisizione.

Ognuna di queste è definita da un ordine preciso di eventi al fine di ottenere immagini con contrasto e risoluzione adeguati allo studio dei tessuti. I parametri principali che determinano una sequenza sono:

- Tempo di ripetizione (TR): intervallo tra due eccitazioni consecutive.
- Tempo di eco (TE): intervallo tra l'impulso RF e il momento in cui viene registrato il segnale.
- Flip angle (FA): angolo di rotazione del vettore di magnetizzazione indotto dall'impulso RF rispetto a B₀.

La regolazione di questi parametri permette di ottenere immagini con prevalente pesatura in T1, T2, T2* o densità protonica, a seconda delle necessità cliniche, costituendo la base del contrasto in RM. Con il termine pesatura si intende il predominio di un determinato meccanismo di rilassamento nel determinare il contrasto dell'immagine.

Le principali sequenze sono distinte in spin echo (SE) e gradient echo (GRE), le quali sono alla base di sequenze più complesse [8].

2.2.3.1 Sequenze spin echo

Le sequenze SE rappresentano il modello di riferimento più classico della risonanza magnetica. In queste vengono utilizzati due impulsi RF: l'eccitazione avviene con un primo impulso a 90° , che porta la magnetizzazione nel piano trasversale; dopo un intervallo di tempo pari a metà TE, un secondo impulso a 180° rifocalizza la perdita di fase degli spin, compensando le disomogeneità di campo magnetico e generano l'eco. Il segnale, quindi, viene rilevato in corrispondenza del tempo TE, che coincide con il massimo dell'eco.

Durante la sequenza, il gradiente di codifica di fase viene applicato tra il primo e il secondo impulso RF, mentre il gradiente di frequenza viene applicato dopo l'impulso a 180° , in corrispondenza della rilevazione del segnale eco. Questo schema consente di compensare le disomogeneità del campo magnetico, restituendo un segnale fedele al rilassamento intrinseco del tessuto, ossia il T2 puro.

Il limite principale della SE è rappresentato dalla maggiore durata complessiva dell'acquisizione. Questo è dovuto alla necessità di utilizzare tempi TR più lunghi, necessari per permettere il completo recupero della magnetizzazione longitudinale, prima di procedere con la successiva eccitazione. Questo aspetto diventa particolarmente rilevante nei tessuti con tempi T1 molto lunghi. Un ulteriore punto di interesse è la possibilità di modulare i parametri TR e TE per variare la pesatura dell'immagine. In particolare:

- TR breve (450-700 ms) e TE breve (15-25 ms) daranno immagini pesate in T1, in cui il contrasto è determinato prevalentemente dalle differenze di rilassamento longitudinale;
- TR lungo (2500-3500 ms) e TE lungo (80-100 ms) daranno immagini pesate in T2, dove il contrasto riflette le differenze di rilassamento trasversale;
- TR lungo (2500-3500 ms) e TE breve (15-25 ms) genereranno immagini pesate in densità protonica, in cui prevale la dipendenza dal contenuto di idrogeno nei tessuti.

Questa flessibilità rende la sequenza SE uno strumento estremamente versatile, capace di ottenere immagini di elevata qualità e riproducibilità, con contrasto fortemente dipendente dai tempi di rilassamento intrinseci (T_1 e T_2), senza l'influenza delle irregolarità del campo [8].

2.2.3.2 Sequenze Gradient Echo

Le sequenze GRE rappresentano un'alternativa alle SE, caratterizzate da tempi di acquisizione molto brevi.

L'eccitazione avviene mediante impulsi RF con FA inferiore a 90° , che producono una magnetizzazione trasversale sufficiente alla generazione del segnale e, al tempo stesso, riducono i tempi di recupero della magnetizzazione longitudinale, consentendo l'impiego TR molto più brevi.

A differenza delle spin echo, l'eco non è ottenuto tramite un impulso a 180° , ma attraverso l'uso di gradienti di campo magnetico di polarità opposta, che inducono defasamento e successivo rifasamento degli spin, ristabilendo temporaneamente la coerenza e generando l'eco di gradiente.

Questo meccanismo non compensa le disomogeneità di campo, e quindi il decadimento del segnale riflette il tempo di rilassamento T_2^* e non T_2 puro. La possibilità di modulare TR, TE e FA consente di ottenere immagini con pesatura diversa:

- TR breve (30-60 ms), TE breve (5-10 ms) e FA medio-alto (30° - 60°) generano immagini pesate in T_1 ;
- TR lungo (100 ms), TE lungo (15-25 ms) e FA basso-medio (10° - 30°) danno origine a immagini pesate in T_2^* ;
- TR lungo (100 ms), TE breve (5-10 ms) e FA basso (10° - 20°) creano immagini con pesatura in densità protonica.

La flessibilità nella scelta di TR, TE e FA rende le GRE altamente modulabili, ma più suscettibili ad artefatti, soprattutto in prossimità di interfacce aria-tessuto o materiali metallici rispetto alle SE. Questa flessibilità, unita alla velocità di acquisizione, rende le GRE utili in studi dinamici e in applicazioni dove è richiesta alta sensibilità alle variazioni locali di suscettibilità magnetica come, ad esempio, studi di quantificazione del ferro [8].

2.2.4 Formazione dell'immagine

Il segnale di RM acquisito dalle bobine riceventi non è di per sé interpretabile come immagine. Contiene informazioni sull'intensità e sul decadimento del magnetismo nucleare, ma, in quanto segnale elettrico complesso, deve essere tradotto in informazioni spaziali attraverso un processo di elaborazione che comprende due passaggi fondamentali: la codifica spaziale, mediante la quale frequenze e fasi sono associate alla posizione dei nuclei eccitati, e la successiva organizzazione dei dati nel k-space, una matrice matematica che raccoglie il segnale grezzo da cui l'immagine viene ricostruita tramite trasformata di Fourier [8].

2.2.4.1 Codifica spaziale

L'attribuzione a ciascun punto anatomico di una specifica posizione nello spazio è resa possibile grazie all'impiego di gradienti di campo magnetico, variazioni controllate e lineari di intensità del campo magnetico statico B_0 lungo le tre direzioni cartesiane (x, y, z).

L'applicazione dei gradienti rende la frequenza di Larmor dipendente dalla posizione, variando quindi la frequenza di precessione dei protoni. In questo modo, le differenze di fase e frequenza indotte diventano univoche per ciascun punto nello spazio, permettendo così di associare la posizione spaziale alle caratteristiche del segnale. Il processo di codifica spaziale avviene attraverso tre fasi principali:

- Selezione di strato (slice selection): durante l'eccitazione, all'impulso RF viene associato un gradiente lungo un asse (di solito z) in grado di variare la frequenza di Larmor lungo quella direzione. In questo modo, solo i protoni la cui frequenza di precessione rientra nello spettro dell'impulso RF vengono eccitati. Lo spessore dello strato selezionato dipende dall'intensità del gradiente e dalla larghezza di banda (bandwidth) dell'impulso RF: una banda più ampia corrisponde a uno strato più spesso, mentre una banda stretta permette di selezionare strati sottili e quindi migliorare la risoluzione spaziale.
- Codifica di fase (phase encoding): un secondo gradiente viene applicato per un breve intervallo di tempo lungo un altro asse (ad esempio y), introducendo uno sfasamento, dato dalla differente velocità di precessione dei nuclei a seconda della loro posizione, che persiste anche dopo la cessazione del gradiente. In questo modo, protoni situati in posizioni diverse lungo l'asse saranno caratterizzati da fasi distinte, fornendo un'ulteriore informazione spaziale.

- Codifica di frequenza (frequency encoding o readout): durante l'acquisizione del segnale si applica un gradiente lungo il terzo asse (tipicamente x). Le differenti frequenze di precessione degli spin consentono di discriminare l'informazione spaziale lungo questa direzione.

L'insieme delle tre codifiche permette quindi di ricostruire l'origine spaziale del segnale e di associare a ogni pixel dell'immagine il contributo di un volume elementare di tessuto (voxel). È bene specificare, tuttavia, che le tre direzioni di codifica (z per la selezione di strato, x per la frequenza e y per la fase) sono denominazioni puramente convenzionali e non sempre coincidono con gli assi fisici del magnete o con l'orientamento delle bobine di gradiente [8].

2.2.4.2 K-space

Prima di ottenere l'immagine finale, i dati vengono registrati come una matrice matematica bidimensionale chiamata k-space. In questa matrice ogni linea corrisponde a un campionamento del segnale, e solo dopo l'applicazione di una trasformata di Fourier bidimensionale tali informazioni possono essere ricostruite in immagine; può essere interpretata come una mappa delle frequenze spaziali dell'immagine: i valori disposti al centro descrivono le componenti basse, ovvero le informazioni più rilevanti per il contrasto e la distribuzione di intensità globale dell'immagine, mentre le porzioni periferiche contengono le alte frequenze, le quali contribuiscono alla definizione dei dettagli fini e quindi alla risoluzione.

La modalità con cui il k-space viene riempito influenza direttamente la qualità dell'immagine: un maggior numero di linee campionate, soprattutto nella direzione di codifica di fase, aumenta la risoluzione spaziale, ma comporta tempi di acquisizione più lunghi; al contrario, un riempimento più rapido riduce i tempi ma può compromettere la definizione dei dettagli.

In definitiva, il k-space costituisce lo stadio in cui il segnale grezzo acquisito trova un ordine matematico; dalla sua corretta organizzazione dipendono contrasto, risoluzione e fedeltà dell'immagine che verrà infine ricostruita [8].

-3- SOVRACCARICO DI FERRO

3.1 Metabolismo del ferro

Il ferro è un elemento essenziale per l'organismo umano, coinvolto in numerosi processi biologici: il primo è il trasporto di ossigeno attraverso emoglobina e mioglobina, inoltre, riveste un ruolo fondamentale per il corretto funzionamento della catena respiratoria mitocondriale, per la sintesi del DNA e per la costituzione della struttura di tessuti e organi [9-11].

Nell'uomo adulto il ferro corporeo totale è compreso tra i 40 e i 50 mg/kg; coinvolge organi come il midollo osseo, l'intestino, il fegato e il sistema reticolo-endoteliale.

Circa il 70% è contenuto nei globuli rossi legato all'emoglobina, il 10% nella mioglobina e negli enzimi contenenti ferro (come i citocromi), il 10-20% è immagazzinato nei depositi intercellulari sotto forma di ferritina (proteina presente in piccole quantità anche nel sangue sotto forma di ferritina sierica), mentre solo lo 0,1-0,2 % circola nel sangue legato alla transferrina.

Quest'ultima veicola il ferro dal distretto in cui viene assorbito, l'intestino, a tutti gli organi che lo utilizzano (in particolare il midollo osseo in cui vengono prodotti i globuli rossi) o agli organi di deposito, il principale dei quali è fegato [9, 12].

In condizioni fisiologiche, l'assorbimento del ferro inorganico, introdotto con la dieta, avviene a livello intestinale, principalmente nel duodeno e nel digiuno prossimale, sulla base del fabbisogno sistemico (in media 1-2 mg al giorno).

In questo processo altamente regolato e complesso gioca un ruolo importante il DMT1 (Divalent Metal Transporter 1), che garantisce l'ingresso del ferro non-eme all'interno degli enterociti, mentre le proteine ferroportina ed eferlina regolano il trasferimento del ferro dalla mucosa intestinale al sangue [10, 12].

Una caratteristica peculiare del metabolismo del ferro è l'assenza di un meccanismo di eliminazione attiva: le perdite fisiologiche giornaliere sono minime avvengono solo attraverso la desquamazione cellulare o, nella donna in età fertile, con le mestruazioni. Per questa ragione, l'omeostasi del ferro è affidata esclusivamente alla regolazione dell'assorbimento intestinale e dal riciclo intracorporeo [9, 11, 12].

Questo delicato meccanismo di compensazione rende l'organismo vulnerabile: quando un aumento non compensato dall'assorbimento o un apporto esogeno eccessivo alterano questo equilibrio, il ferro in eccesso tende ad accumularsi nei tessuti. Il ferro libero tende a essere altamente reattivo e favorisce la produzione di radicali liberi e reazioni ossidative in grado di danneggiare le cellule, provocare fibrosi e la conseguente disfunzione dell'organo [11, 12].

3.2 Fisiopatologia del sovraccarico di ferro

La rottura di questo equilibrio genera quindi un sovraccarico del ferro, il quale non si manifesta come una condizione unica, ma può derivare da diversi meccanismi patologici, genetici o acquisiti [9-12].

Nelle forme primitive, o ereditarie, rappresentate principalmente dall'emocromatosi, vi è un difetto dei sistemi regolatori che governano l'omeostasi del ferro, in particolare della sintesi e funzione dell'epcidina e del suo recettore ferroportina, determinando incremento patologico dell'assorbimento intestinale e il rilascio di ferro da parte dei macrofagi [10-12]. Il risultato è una saturazione della transferrina e la comparsa di ferro non legato, altamente reattivo e responsabile del rapido deposito parenchimale, soprattutto a livello epatico, pancreatico e cardiaco [11].

Le forme acquisite o secondarie comprendono cause diverse, tra cui anemie trasfusione-dipendenti, quali talassemia major e sindromi mielodisplastiche, anemie con eritropoiesi inefficace e le epatopatie croniche avanzate [9-12]. In tali patologie, l'apporto di ferro dall'esterno o un aumento della richiesta eritropoietica prevalgono sui meccanismi di compensazione fisiologica, favorendo un progressivo sovraccarico.

Le trasfusioni ripetute rappresentano la causa maggiore di accumulo dal momento che ogni unità di sangue introduce circa 250 mg, di ferro, quantità che rapidamente eccede la capacità di deposito sicuro delle ferritine [12-13].

Indipendentemente dalla causa, l'accumulo di ferro viene ricondotto principalmente a tre cause principali: un eccesso dell'assorbimento intestinale, un eccesso di ferro esogeno oppure da un difetto di rilascio del ferro dai macrofagi [9-12]. In tutti i casi, quando la capacità delle proteine di deposito viene superata, l'eccesso di ferro promuove la formazione di radicali liberi e reazioni ossidative.

Il fegato costituisce la principale sede di accumulo e di danno, ma anche cuore, pancreas e ghiandole endocrine sono frequentemente coinvolti, determinando un coinvolgimento clinico multisistemico che caratterizza le forme più avanzate di malattia [9-13].

3.3 Analisi di laboratorio

Gli esami ematochimici sono il primo passo dell'iter diagnostico del sovraccarico di ferro grazie alla loro capacità di evidenziare alterazioni precoci del metabolismo marziale.

3.3.1 Ferritina sierica

La ferritina è la principale proteina di deposito del ferro intra cellulare e la sua concentrazione nel sangue riflette, in condizioni fisiologiche, la quantità delle riserve marziali di ferro [9, 10]. Un aumento persistente dei valori è un segnale importante di accumulo, soprattutto quando associato a saturazione della transferrina aumentata. La ferritina, tuttavia, non rappresenta un indice specifico in quanto può risultare elevata anche in presenza di processi infiammatori, epatopatie croniche, neoplasie e sindrome metabolica [11].

3.3.2 Saturazione della transferrina (TSAT)

Un parametro più sensibile per individuare precocemente un eccesso di ferro è rappresentato dalla saturazione della transferrina, calcolata come rapporto tra ferro sierico e capacità totale di legame. Valori superiori al 45% sono indice di un indice di sovraccarico marziale e, in particolare, di forme ereditarie [12].

L'associazione di elevati valori di TSAT e di ferritina costituisce il criterio biochimico principale per l'avvio dell'iter diagnostico. Nonostante ciò, questi parametri da soli non permettono di quantificare con precisione l'entità del sovraccarico né di definirne la distribuzione tissutale, rendendo necessario il ricorso a metodiche strumentali di secondo livello [9, 11, 13].

3.4 Biopsia epatica

Ad oggi, la biopsia epatica rappresenta il gold standard per la valutazione del sovraccarico di ferro per la sua capacità di fornire una stima diretta della HIC. Attraverso l'analisi istologica e la quantificazione biochimica del contenuto di ferro nel campione prelevato permette di ottenere informazioni sulla distribuzione del metallo nei diversi compartimenti cellulari e sul grado di danno a carico del parenchima [11, 12].

Un altro vantaggio è quello di distinguere le forme ereditarie da quelle secondarie e di valutare l'eventuale associazione con fibrosi o cirrosi, aspetti fondamentali nella prognosi e nella scelta terapeutica [13].

Il principale limite della metodica è rappresentato dalla sua natura invasiva, che porta a complicanze come dolore, emorragia e raramente a eventi più severi come la perforazione di organi adiacenti.

Per questo motivo, la sua indicazione nella pratica clinica è stata progressivamente ridotta. Inoltre, una distribuzione disomogenea del ferro può ridurre l'accuratezza della biopsia, rendendo il campione meno rappresentativo del reale carico epatico [12].

La biopsia viene pertanto riservata a casi selezionati, ovvero quando le metodiche non invasive risultano inconcludenti oppure quando sia necessario ottenere una valutazione istologica completa [12, 14].

3.5 Ecografia

Pur non essendo in grado di rilevare direttamente il sovraccarico di ferro, l'ecografia (fig.04) svolge un ruolo complementare nell'inquadramento clinico, consentendo di identificare le conseguenze del danno epatico come cirrosi, ipertensione portale ed epatocarcinoma [15].



Figura 04: Aspetto ecografico in un paziente sano.
Ecografia epatica eseguita durante tirocinio nel programma di mobilità internazionale Erasmus+

3.6 Tomografia Computerizzata

La tomografia computerizzata (TC) consente di identificare il sovraccarico di ferro grazie alla capacità di misurare l'attenuazione tissutale. In condizioni di accumulo, infatti, vi è un aumento della densità misurata nel parenchima epatico, con valori superiori a 75 HU in scansioni senza mezzo di contrasto (fig.05). Tuttavia, questa valutazione è esclusivamente qualitativa e perciò non può fornire una diagnosi affidabile. Inoltre, fattori come steatosi, fibrosi o accumulo di glicogeno possono alterare l'attenuazione [16].

Negli ultimi anni sono stati introdotti approcci più avanzati basati sulla TC a doppia energia (dual-energy CT), in grado di ottenere una quantificazione più accurata anche in presenza di questi fattori confondenti.

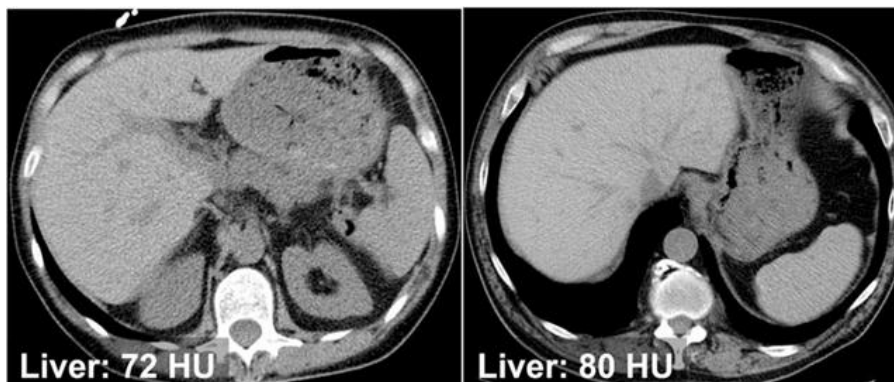


Figura 05: Esempi di immagini TC in pazienti con HIO, rispettivamente LIC=14,1 mg/g dry e LIC=13,8 mg/g dry [4].

L'uso clinico di questa metodica rimane comunque limitato per lo scarso numero di studi, oltre che per la diffusione di scanner dual-energy [17]. Inoltre, uno dei limiti della TC è l'impiego di radiazioni ionizzanti, rendendola poco indicata per il follow-up [16]. Ad oggi la TC non rappresenta una metodica di riferimento nello studio del sovraccarico di ferro, mantenendo però un ruolo complementare nella caratterizzazione del fegato e delle complicanze.

3.7 Superconducting Quantum Interference Devices (SQUIDS)

La suscettometria biomagnetica mediante SQUIDS è una tecnica in grado di ottenere una quantificazione diretta, in maniera non invasiva, del ferro epatico. La metodica ha mostrato un'ottima concordanza con la biopsia ma, a causa degli elevati costi, complessità tecnica e la disponibilità limitata di apparecchiature, il suo ruolo è limitato alla ricerca [6].

-4- RUOLO DELLA RISONANZA MAGNETICA

La risonanza magnetica rappresenta oggi la metodica non invasiva di riferimento nello studio del sovraccarico di ferro epatico. Vantaggi come l'assenza di radiazioni ionizzanti e la ripetibilità degli esami consentono una valutazione affidabile. Dalle prime applicazioni basate su valutazioni qualitative e semiquantitative (SIR) si è passati alle tecniche di rilassometria, che hanno progressivamente sostituito la biopsia nella pratica clinica [6].

4.1 Valutazione qualitativa

Il sovraccarico di ferro nel fegato può essere individuato anche in modo qualitativo tramite immagini pesate in T2 o T2*.

Per le immagini pesate in T2 si possono utilizzare sequenze fast spin echo (FSE), adattando il TE in base al contenuto di ferro epatico. In queste condizioni, le immagini mostrano una riduzione dell'intensità di segnale del fegato e di altri organi coinvolti, come la milza, a causa del più rapido decadimento T2 [13].

Le immagini pesate in T2*, invece, si ottengono con sequenze GRE a singolo eco e tempi di eco più lunghi (10–15 ms), così da incrementare la sensibilità al T2* [15]. Anche le sequenze in-phase e out-of-phase (fig.06), pur nate per la valutazione del grasso, possono fornire un contributo: la maggiore sensibilità al T2* dell'immagine in-phase può evidenziare la presenza di ferro, ma la coesistenza di steatosi epatica può complicare l'interpretazione, poiché la perdita di segnale dovuta alla cancellazione acqua-grasso nell'echo out-of-phase può mascherare l'effetto del ferro visibile nella in-phase [18].

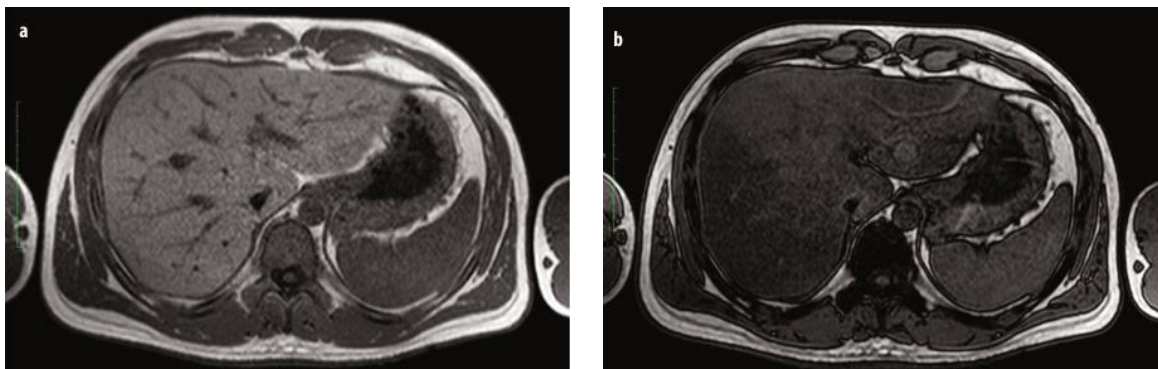


Figura 06: Esempio di sequenza dual-echo GRE-T1 pesata in-phase (a) e out of phase (b) [8].

Nonostante la capacità di evidenziare la presenza di ferro, l'approccio qualitativo non consente di stimare con precisione l'entità del sovraccarico e pertanto non è sufficiente per guidare decisioni terapeutiche o monitorare la risposta al trattamento. In questi casi, sono necessari metodi quantitativi in grado di stimare del LIC lungo l'intero range clinico, indipendenti dal protocollo utilizzato, riproducibili e applicabili a diversi sistemi di risonanza magnetica [18].

4.2 Tecniche SIR

Le tecniche SIR (Signal Intensity Ratio) valutano la quantità di ferro nel fegato attraverso il confronto dell'intensità di segnale proveniente dal parenchima epatico con quella di un tessuto di riferimento che non accumula ferro (ad esempio il muscolo o il tessuto adiposo), oppure con il rumore di fondo presente nell'immagine.

Nel metodo sviluppato da Gandon e collaboratori, vengono acquisite cinque immagini GRE differenti durante brevi pause respiratorie, variando parametri come il FA e TE, in modo da ottenere diverse pesature T1 e T2*. Per ciascuna immagine viene calcolato il rapporto tra il segnale del fegato e quello del muscolo. La combinazione di questi rapporti, elaborata tramite un algoritmo dedicato, consente di stimare la quantità di ferro epatico [18, 19].

Nonostante il metodo si sia dimostrato accurato per valori di ferro compresi tra 0,17 e 20,9 mg/g di peso secco, presenta alcune limitazioni: i risultati possono variare in funzione del modello di scanner e delle impostazioni di acquisizione. Inoltre, la presenza di steatosi epatica può interferire con la misura, modificando l'intensità del segnale. Infine, concentrazioni di ferro superiori a circa 20,9 mg/g non sono misurabili, riducendo la capacità della tecnica di coprire l'intero range clinicamente rilevante [18].

4.3 Rilassometria quantitativa

La rilassometria è una tecnica di risonanza magnetica non invasiva e affidabile per la valutazione del sovraccarico di ferro epatico, sia in fase diagnostica sia per il monitoraggio dei pazienti sottoposti a terapie come salasso o chelazione [4, 14]. L'accumulo di ferro sotto forma di ferritina o emosiderina modifica le proprietà magnetiche dei tessuti, determinando un'accelerazione dei processi di rilassamento e una conseguente riduzione dei tempi T2, T2* e T1 [9, 14, 25].

Spesso, al posto dei tempi di rilassamento, si utilizzano i corrispondenti tassi di rilassamento, definiti come il reciproco del tempo stesso:

$$R1 = \frac{1000}{T1} \quad R2 = \frac{1000}{T2} \quad R2^* = \frac{1000}{T2^*}$$

dove i tempi T1, T2 e T2* sono misurati in millisecondi (ms) e i relativi tassi R1, R2 e R2* in Hertz (Hz) [8, 25]. L'incremento più rilevante è quello dei valori di R2 e R2*, che costituiscono i parametri principali per stimare la concentrazione di ferro nel fegato tramite MRI [18, 25].

4.3.1 Effetti dell'R2

L'R2 aumenta in modo monotono, anche se non linearmente, con il LIC. Per spiegare il meccanismo sono state avanzate due ipotesi.

La prima si basa sul fatto che gli spin dei protoni all'interno di un voxel si spostano per diffusione tra l'eccitazione e la formazione dell'echo e, a causa delle disomogeneità indotte dalla presenza di ferro al campo magnetico B0, ognuno di questi cambia la frequenza di precessione tra l'impulso di eccitazione e quello di rifocalizzazione. In questo modo, dopo quest'ultimo impulso, la fase non viene recuperata completamente e crea quindi un effetto simile a una pesatura in diffusione delle immagini SE [20, 21].

La seconda spiegazione si basa sul rilassamento indotto dallo scambio chimico tra i protoni dell'acqua libera e quelli legati a proteine contenenti ferro. L'aumento dell'R2 è dato dall'interazione degli elettroni del ferro con i protoni dell'acqua associata a queste proteine [20-23].

4.3.2 Effetti dell'R2*

Il ferro induce disomogeneità microscopiche del campo magnetico statico, determinando una rapida perdita di fase del segnale nelle sequenze GRE. Questo si traduce in un aumento del valore di R2*.

È stato dimostrato, prima a livello teorico e poi sperimentalmente, che esiste una relazione lineare tra R2* e la concentrazione di ferro nel fegato, secondo l'equazione:

$$LIC = a \times R2^* + b$$

Sia R_2 che R_2^* possono quindi fornire una stima della concentrazione di ferro epatico (fig.07), a patto di essere applicati con protocolli di acquisizione e modelli di analisi adeguati [4, 25].

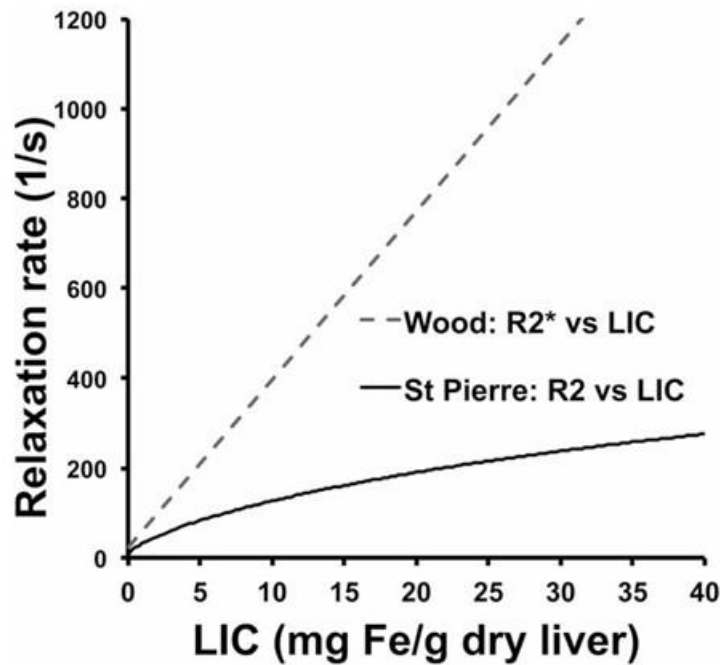


Figura 07: Confronto tra LIC e i tassi di rilassamento, R_2 e R_2^* , come misurati rispettivamente da St Pierre e Wood [4].

-5- RISONANZA MAGNETICA: LO STATO DELL'ARTE

5.1 Modelli di decadimento del segnale

I valori di T2 e T2* acquisiti con la RM sono inversamente proporzionali alla concentrazione di ferro nei tessuti: minore è il tempo di rilassamento trasversale, maggiore è la presenza di ferro. Entrambi i parametri seguono gli stessi modelli matematici di decadimento del segnale, con differenze legate principalmente al tipo di sequenza utilizzata (SE per T2, GRE per T2*).

Gli studi di He e collaboratori (tab.01) si basano sul confronto di diversi modelli matematici per il calcolo del T2* e la valutazione del sovraccarico di ferro cardiaco in pazienti affetti da talassemia major, andando a individuarne principalmente tre [26, 27].

Tabella 01: Modelli matematici di decadimento del segnale per la stima di T2 e T2*

Modello lineare mono-esponenziale	$S(TE) = S_0 e^{-TE/T2^*}$
Modello non lineare mono-esponenziale con offset (<i>offset model</i>)	$S(TE) = S_0 e^{-TE/T2^*} + C$
Modello bi-esponenziale (<i>bi-exponential model</i>)	$S(TE) = S_{0(1)} e^{-TE/T2^{*(1)}} + S_{0(2)} e^{-TE/T2^{*(2)}} + C$

TE (echo time in msec), S (TE) = intensità di segnale al TE; S0 = intensità di segnale al TE = 0 escludendo il contributo del rumore; T2* = valore del T2* in msec; C = intensità di segnale a infiniti echo time

5.1.1 Modello lineare mono-esponenziale

Il modello lineare mono-esponenziale risulta essere molto accurato e riproducibile in dati che non risentono di artefatti (curve di decadimento senza il plateau), assumendo che la decadenza del segnale nel tempo (TE) segua una legge esponenziale pura. Il limite sta nel segnale residuo che si manifesta all'interno della curva di decadimento come un plateau. Questo è causato principalmente da rumore, artefatti di movimento e contaminazione del T2* per la presenza di tessuti diversi da quello in esame [26].

5.1.2 Modello non lineare mono-esponenziale

Il modello non lineare mono-esponenziale aggiunge una costante C (offset) per far sì che il plateau, osservato a lunghi TE, sia modellato consentendo una misura più oggettiva. Tuttavia, la costante tende a sottostimare il T2*, il quale è più breve nei pazienti con sovraccarico di ferro, e quindi porta a una sovrastima del rischio e una scarsa riproducibilità. Inoltre, questo modello è più sensibile a rumore e artefatti, i quali hanno comportamento casuale [26].

5.1.3 Modello bi-esponenziale

Il modello bi-esponenziale è teoricamente valido per separare contributi di segnale da tessuti diversi, come ad esempio il miocardio dal sangue o il tessuto epatico in esame da quello steatosico. Esso, però, si riduce ad una costante e quindi non apporta un reale vantaggio a quello che è il modello con offset in termini di riproducibilità e accuratezza [27].

5.1.4 Modello con troncamento

Date queste considerazioni, è auspicabile l'utilizzo di un modello lineare mono-esponenziale con troncamento (*truncation model*). In questo modello l'operatore può selezionare i punti a lunghi TE, nei quali il segnale è più basso. In particolare, nei pazienti con T2* molto brevi, dove i dati a TE lunghi sono fortemente distorti dal rumore, questo modello fornisce una stima più stabile e accurata rispetto ai modelli con offset o bi-esponenziali [27].

5.2 Rilassometria R2

Per eseguire la rilassometria R2, si acquisiscono i dati tramite sequenze SE, variando progressivamente il TE. In questo modo, la diminuzione del segnale in funzione del TE viene modellata come un decadimento mono-esponenziale (i modelli di calcolo del T2* affrontati in precedenza possono essere applicati anche al T2).

In alternativa si può applicare un modello bi-esponenziale per distinguere due diversi componenti (componente veloce e componente lenta) del decadimento R2. Tuttavia, affinché possa garantire una stima stabile, richiede un SNR elevato o un maggior numero di TE; per questo motivo, l'utilizzo di questo modello è limitato principalmente nell'ambito del neuroimaging [28].

I primi studi condotti sulla risonanza magnetica che hanno cercato di stabilire una relazione tra il parametro R2 e il LIC mostravano un andamento lineare [29, 30]. Tuttavia, essendo basati su campioni limitati, queste ricerche non permettevano di cogliere la natura non lineare di questa relazione. Alcuni tentativi successivi hanno incluso anche approcci alternativi, come la spettroscopia a singolo voxel (MRS) per stimare il T2 epatico [31].

5.2.1 Modello di St Pierre

Successivamente, St. Pierre e colleghi [18] hanno messo a punto un metodo più avanzato, testato su oltre 100 pazienti che dovevano effettuare un prelievo biotico per la valutazione di sovraccarico di ferro a livello epatico.

Il protocollo (tab.02) prevede l'acquisizione di cinque immagini T2 pesate con TE crescenti, durante respirazione libera. Per garantire l'accuratezza, viene utilizzato un oggetto di riferimento esterno che consente di correggere eventuali variazioni del segnale tra le immagini. Per gli esami sono state utilizzate apparecchiature da 1,5 T e bobine toraciche phased array.

Tabella 02: Protocollo di acquisizione dello studio di St Pierre.

Sequenza	Multislice single SE
Orientamento	Assiale
TR	2500 ms
TE	6, 9, 12, 15 e 18 ms
Spessore di strato	5 mm, gap 5 mm
Matrice	256
FOV	350-400mm

Ogni sequenza è stata eseguita con un'impostazione di guadagno fissa, determinata sulla base dell'acquisizione con TE di 6 ms. Per ridurre il tempo di acquisizione, i dati sono stati raccolti in modalità Half Fourier con una sola acquisizione. Non è stata applicata alcuna soppressione del grasso. Ogni soggetto è stato posizionato in modo che il fegato risultasse centrato rispetto alla bobina toracica e per ognuno sono state acquisite 19 sezioni, con un gap tra ciascuna di 5 mm affinché si potesse garantire l'intera copertura del volume epatico.

In fase di analisi, dopo aver applicato diverse correzioni per migliorare la qualità del dato (correzioni per il movimento respiratorio e per rumore di fondo tramite algoritmo smoothing), per ciascun soggetto viene scelta come regione di interesse, l'immagine assiale più ampia del fegato, cercando di farla coincidere con il sito di prelievo biotico. Per ogni voxel, applicando un modello di decadimento bi-esponenziale, è stato calcolato il valore medio di R2, da cui si ricava un valore rappresentativo del LIC.

Una relazione tra R2 e il LIC misurato tramite la biopsia è stata ottenuta attraverso una curva di calibrazione, definita modellando i dati utilizzando algoritmi di regressione non lineare, che hanno permesso di adattare al meglio l'andamento dei dati sperimentali. Tale equazione di calibrazione è:

$$R2 = a + b \cdot x^d + c \cdot x^{2d}$$

Dove R2 rappresenta il valore medio del rilassamento trasversale R2 nel fegato, espresso in secondi⁻¹ (s⁻¹); x è la concentrazione media di ferro epatico, espressa in milligrammi di ferro per grammo di tessuto secco [(mg Fe) / (g tessuto secco)]; a, b, c e d sono costanti definite come a = 6,88 s⁻¹, b= 26,06 s⁻¹ (mg Fe)^{-0,701} (g tessuto secco)^{1,402}, c = 0,438 s⁻¹ (mgFe)^{-1,402} (g tessuto secco)^{-0,701}, d = 0,701.

Questo metodo ha dimostrato un'elevata accuratezza nel coprire un ampio intervallo di concentrazioni di ferro, con una correlazione molto alta (coefficiente di correlazione di Pearson pari a r = 0,98) tra R2 e LIC. In particolare, la curva di calibrazione si è dimostrata sensibile anche ai valori più bassi del LIC, permettendo una stima affidabile anche nei pazienti con accumulo lieve.

Un'ulteriore analisi statistica tramite il modello Bland-Altman ha verificato la coerenza tra i valori R2 stimati e quelli ottenuti tramite una biopsia in quanto le differenze medie tra i due metodi non erano significativamente diverse da zero

Ad oggi il modello di St Pierre e colleghi ha ricevuto l'approvazione della Food and Drug Administration (FDA) ed è disponibile commercialmente con il nome di *FerriScan*, fornito dalla società Resonance Health. L'azienda offre un servizio di analisi a pagamento del LIC a partire dalle immagini acquisite secondo il protocollo dedicato.

5.2.2 Modello di Wood (R2)

Al fine di stimare direttamente il LIC a partire dal parametro R2, Wood e colleghi [25] hanno ricavato un'espressione empirica inversa a partire dalla calibrazione non lineare formulata da St Pierre e colleghi [18].

Questa nuova formula, infatti, pur essendo una semplificazione dell'originale, risultata più efficace per l'applicazione clinica ed è stata validata per descrivere con buona precisione il comportamento del LIC rispetto al parametro R2, anche in presenza di accumuli elevati.

La formula è la seguente:

$$|Fe| = \left(29,75 - \sqrt{900,7 \div 2,823R2}\right)^{1,424}$$

Uno dei limiti principali del modello di St. Pierre [18] risiede nel fatto che esso si basa su parametri di imaging specifici (tab.03) per esami condotti a 1.5 T, rendendo la calibrazione non direttamente applicabile ad altre sequenze o protocolli di risonanza magnetica per la misurazione di R2. Al contrario, nella curva di calibrazione proposta da Wood [25], sono stati utilizzati parametri differenti che ne estendono la versatilità.

Tabella 03: Confronto tra il protocollo di Wood e il protocollo di St Pierre.

Parametri	Modello di Wood	Modello di St. Pierre
Sequenza utilizzata	Single echo Hahn-echo 120°-120°	SE
TR	300 ms	2500 ms
TE	3.5, 5, 8, 12, 18 e 30 ms	6, 9, 12, 15 e 18 ms
Spessore di strato	15 mm, gap 5 mm	5 mm, gap 5 mm
Matrice	64	256
FOV	480x240 mm	350-400 mm
Modello di decadimento del segnale	Mono-esponenziale con offset costante	Bi-esponenziale

L'utilizzo di una sequenza Hahn-echo permette di ottenere TE significativamente più brevi rispetto alla classica combinazione di impulsi 90°-180°. Questo ha reso possibile una valutazione del ferro epatico su un intervallo molto più ampio di concentrazioni.

Un'altra differenza con lo studio di St. Pierre è l'utilizzo di un modello mono-esponenziale con offset costante invece di un modello bi-esponenziale. Tale offset consente di ridurre eventuali fattori esterni che potrebbero contaminare il segnale, come rumore o tessuti con diversa concentrazione di ferro.

5.2.3 Limiti rilassometria R2

Sebbene si sia dimostrato che le tecniche di rilassometria R2 riescano a produrre una stima non invasiva, riproducibile e clinicamente rilevante del LIC, queste non mancano di limiti. Il primo di questi è la complessità nella calibrazione tra i valori R2 e LIC ottenuti dalla biopsia, dato il loro rapporto non lineare. Inoltre, ad alti valori di LIC, il debole incremento del parametro R2 riduce la precisione della misura nei pazienti con elevato accumulo di ferro [4].

L'utilizzo di sequenze single SE fa sì che ci vogliano lunghi tempi di scansione, da 5 a 20 min, introducendo un numero potenzialmente elevato di artefatti da movimento se si esegue a respiro libero [25]. Questo porta delle complicazioni nella definizione manuale delle ROI e quindi del processo di quantificazione [18]. Per ridurre gli artefatti da movimento si possono quindi utilizzare il trigger respiratorio, oppure delle sequenze con minor tempo di acquisizione.

5.3 Rilassometria R2*

Grazie all'utilizzo di sequenze GRE in grado di fornire un'intera copertura del fegato con l'assenza di artefatti di movimento in un singolo breath-hold, le tecniche di rilassometria R2* sono in grado di superare quelli che sono i limiti delle tecniche R2 [32].

Il vantaggio principale risiede nel fatto che le misure dell'R2* sono stabili anche in presenza di disturbi magnetici a lungo raggio, e ciò porta a una relazione lineare tra R2* e LIC, permettendo calibrazioni più precise [33].

5.3.1 Modello di Anderson

Tra i primi studi sulla stima della concentrazione di ferro nei tessuti attraverso tecniche T2* figura quello di Anderson e colleghi [34], il quale cerca di validare questa relazione attraverso un confronto con i livelli di ferro misurati chimicamente in 30 pazienti con talassemia beta sottoposti a biopsia epatica.

Successivamente si è studiato il legame tra il ferro accumulato nel cuore e la funzione del ventricolo sinistro in un campione di 106 pazienti affetti da talassemia major.

Gli esami di risonanza magnetica, effettuati su un apparecchio da 1,5 T, prevedevano la misurazione del T2* epatico e miocardico (tab.04). A questo si aggiunge la valutazione di volume, massa e funzione ventricolare, arrivando a una durata totale di 45 minuti per sessione. Il T2* miocardico è stato poi calcolato su una regione che comprendeva tutto lo spessore del setto interventricolare, lontano dalle vene cardiache per evitare artefatti.

In entrambe le acquisizioni i T2* sono stati ricavati attraverso un software dedicato: i segnali sono stati corretti per il rumore di fondo e analizzati per costruire una curva di decadimento esponenziale da cui si ricava il T2*. Sono stati quindi ottenuti i valori normali di T2*: cuore 52 ± 16 ms, fegato 33 ± 7 ms, muscolo scheletrico 30 ± 5 ms e milza 56 ± 22 ms.

Effettuando il confronto con i prelievi bioptici si è osservata una correlazione inversa, significativa e curvilinea tra i valori di T2* epatico e il LIC nei campioni analizzati. Tale correlazione è risultata migliore nei campioni non fibrotici rispetto a quelli fibrotici [34].

Nello studio di Henninger e colleghi [35], tale relazione è stata calcolata attraverso l'analisi della regressione.

$$LIC \left[\frac{mgFe}{g} \right] = 0,0170R2^* - 0,347$$

Tabella 04: Protocolli di acquisizione per fegato e per miocardio nello studio di Anderson.

Parametri	Fegato	Miocardio
Sequenza	GRE	GRE
Orientamento	Assiale	Assiale (ventricolo sinistro, livello medio)
TR	200 ms	18,8-23,8 ms
TE	8 TE (2,2–20,1 ms)	9 TE (5,6–17,6 ms)
FA	20°	35°
Slice	10 mm	10 mm
Matrice	96x128	128x256
FOV	35 cm	35 cm
Bandwidth	125 kHz	250 kHz
Breath-hold	10-13 s	8-13 s
Modello T2*	Mono-esponenziale con troncamento	Mono-esponenziale con troncamento

Dai risultati è emerso che all'aumentare del ferro miocardico si osserva un peggioramento della frazione di eiezione. Tutti i pazienti con disfunzione cardiaca avevano un T2* miocardico inferiore a 20 ms. L'analisi statistica ha successivamente indicato il T2* del cuore come il fattore più rilevante per prevedere la necessità di cure specifiche, nonostante questo non sia correlato né alla ferritina sierica né al ferro epatico.

5.3.2 Modello di Wood (R2*)

L'articolo di Wood e colleghi [25], già discusso nel paragrafo sulla rilassometria R2, ha come scopo quello di confrontare le due tecniche di rilassometria, R2 e R2*, utilizzate per misurare l'HIC in pazienti affetti da anemie da trasfusione.

L'analisi è stata eseguita su 102 pazienti con sovraccarico di ferro e 13 soggetti sani. Inoltre, 22 pazienti hanno effettuato una biopsia epatica per il calcolo delle curve di calibrazione.

Le acquisizioni del fegato (tab.05) sono state eseguite su un'apparecchiatura di risonanza magnetica da 1,5 T attraverso una bobina toracica a 4 elementi. L'esame comprendeva sia la valutazione dell'R2* che dell'R2 epatici.

Tabella 05: Protocollo di acquisizione dello studio di Wood (R2*).

Sequenza	GRE, single echo
Orientamento	Assiale
TR	25 ms
TE	0,8-4,8 ms
Delta TE	0,25 ms
FA	20°
Slice	15 mm
Matrice	64x64
FOV	48x24 cm
Bandwidth	83 kHz
Modello T2*	Mono-esponenziale con offset costante

Come per le immagini R2, anche quelle R2* sono state analizzate attraverso una curva di decadimento del segnale nel tempo. Per correggere eventuali distorsioni dovute al rumore e alla presenza di tessuti poveri di ferro è stata aggiunta una costante. In questo modo si è garantita una misurazione più accurata.

Al fine di stimare il LIC, sono state ottenute le curve di calibrazione. Attraverso modelli di regressione lineare si è ottenuta la formula di relazione con l'R2*.

$$LIC \left[\frac{mgFe}{g} \right] = 0,0254R2^* + 0,202$$

5.3.3 Modello di Hankins

In uno studio successivo, Hankins e colleghi [36] hanno valutato l'efficacia della risonanza magnetica R2* (R2*-MRI) nel quantificare in modo non invasivo il contenuto di ferro nel fegato (HIC), in pazienti con sovraccarico di ferro. Rispetto a quelli precedenti condotti da Anderson [34] e Wood [25], rappresenta un confronto più esteso tra misurazioni R2*-MRI e biopsia epatica.

Sono stati analizzati 43 pazienti (32 con anemia falciforme, 6 con talassemia major e 5 con insufficienza midollare), con un'età mediana di 14 anni, una durata mediana di trasfusioni di 15 mesi e valori di ferritina sierica >1000 ng/ml nei tre mesi precedenti.

Tutti i pazienti hanno eseguito un esame R2*-MRI (tab.06) e una biopsia epatica entro 30 giorni per l'analisi istopatologica e la quantificazione del ferro.

Tabella 06: Protocollo di acquisizione dello studio di Hankins.

Sequenza	Multi-echo GRE
Orientamento	Assiale (centrato sull'origine della vena porta)
TR	Non menzionato
TE	20 echo (1,1-17,3 ms)
Slice	10 mm
Modello T2*	Mono-esponenziale con troncamento

Al fine di ottenere le mappe quantitative T2* sono state disegnate manualmente delle ROI che corrispondevano ad aree omogenee del lobo epatico destro, evitando vasi sanguigni e dotti biliari. Tre revisori indipendenti, ciechi rispetto ai dati clinici e alle valutazioni altrui, hanno effettuato le analisi delle ROI.

Le misurazioni R2* sono state considerate valide solo se almeno il 25% dei pixel nella ROI presentava un fitting riuscito. I risultati sono stati ottenuti tramite l'utilizzo di indicatori statistici quali il coefficiente di correlazione interclasse (ICC), per valutare l'accordo delle misurazioni dei tre revisori, e il coefficiente di correlazione di Spearman (rs) per analizzare la correlazione tra R2*-MRI, fibrosi e HIC.

La relazione tra R2* e HIC è stata ottenuta tramite un modello di regressione lineare robusto, il quale tende a fornire valori R² più bassi rispetto alla regressione classica. Questo modello è riportato nell'articolo di Henninger come:

$$LIC \left[\frac{mgFe}{g} \right] = 0,0270R2^* - 0,294$$

Il contenuto medio di ferro epatico (HIC) era di $10,9 \pm 6,8$ mg Fe/g (range 0,6–27,6) e la correlazione con l'R2* era molto forte (rs 0.96 e 0.98; P < .001). Inversamente la correlazione della ferritina sierica media, il cui valore era di 2718 ± 1994 ng/ml, con il parametro R2* era debole (rs = 0.41–0.48), confermando che la ferritina non è un indicatore affidabile del ferro epatico e non dovrebbe essere usata da sola nelle decisioni cliniche.

Dall'analisi dei risultati biotici e quelli ottenuti dalla risonanza magnetica non è emersa alcuna correlazione tra fibrosi lieve e misure $R2^*$, indicando che la presenza di fibrosi iniziale non altera il segnale MRI.

I risultati ottenuti sono in linea con quanto osservato negli studi precedenti, confermando l'affidabilità del metodo $R2^*$ -MRI, che risulta anche meno sensibile alla variabilità tra dispositivi rispetto, ad esempio, al rapporto di intensità del segnale. L'equazione di calibrazione ottenuta si avvicina a quella proposta da Wood et colleghi [25], ma si discosta da quella di Anderson e colleghi [34], probabilmente per differenze nei protocolli adottati.

La coerenza dei risultati tra operatori, una volta completata la formazione, suggerisce che la tecnica sia riproducibile e poco dipendente dall'esperienza individuale, rendendola adatta a studi multicentrici.

Nei pazienti con livelli di ferro molto elevati ($HIC > 25$ mg/g), tuttavia, la tecnica attuale presenta dei limiti, poiché il segnale $R2^*$ decade troppo rapidamente per consentire una stima precisa. In questi casi, saranno necessari approcci più sensibili con tempi di eco molto brevi per migliorare l'accuratezza.

Infine, le caratteristiche favorevoli dei pazienti inclusi, quali età giovane, fibrosi lieve e bassa esposizione alla chelazione, hanno favorito una calibrazione solida, confermando il metodo come un valido strumento non invasivo per stimare il contenuto di ferro epatico.

5.3.4 Modello di Garbowski

Lo studio di Garbowski e colleghi [37] si concentra sulla valutazione del ferro epatico al fine di comprendere i livelli di sovraccarico di ferro associati e complicanze epatiche ed extra-epatiche. La tecnologia utilizzata negli studi precedenti non era abbastanza avanzata per fornire una stima accurata della concentrazione di ferro tramite tecnica $T2^*$: il primo TE era troppo lungo per catturare i segnali nei pazienti con molto ferro, e il TR non era costante, generando errori legati agli effetti del ferro sul segnale (effetto T1). Un altro svantaggio è rappresentato dall'acquisizione a più respiri che causava un disallineamento delle immagini.

Questi limiti sono stati superati con le moderne risonanze magnetiche con le quali oggi è possibile acquisire tutte le immagini in un unico respiro, con TE molto più brevi (<1 ms) e un TR costante, garantendo una maggiore precisione, soprattutto nei pazienti con livelli di ferro molto elevati.

In questo contesto, lo studio si propone di ricalibrare la tecnica T2* utilizzando sequenze aggiornate e confrontandole con i valori di LIC ottenuti da biopsie epatiche. Inoltre, è stato analizzato quanto i risultati ottenuti con questa nuova tecnica T2* siano in linea con quelli ottenuti tramite metodo R2-LIC (FerriScan).

Per calibrare il metodo T2*, sono stati confrontati retrospettivamente i risultati di 50 biopsie epatiche su 25 pazienti affetti da emosiderosi da trasfusione, utilizzando una regressione lineare.

È stata inoltre valutata la riproducibilità del metodo in 96 esami, coprendo un ampio range di LIC (fino a 42 mg/g peso secco), tramite analisi di Bland-Altman. Successivamente, il nuovo metodo T2* è stato confrontato con la tecnica R2 (FerriScan) in 92 esami su 54 pazienti, utilizzando modelli statistici misti.

Una coorte di 31 volontari sani è stata coinvolta nello studio per definire i valori di riferimento. Gli esami RM (tab.07) sono stati effettuati utilizzando un apparecchio da 1,5 T con bobina phased array a 4 canali.

Tabella 07: Protocollo di acquisizione dello studio di Garbowsky.

Sequenza	Multi-echo GRE
Orientamento	Assiale
TR	Non menzionato
TE	20 echo (0,93-16,0 ms)
Slice	10 mm
Modello T2*	Mono-esponenziale con troncamento

L'analisi del T2* è stata eseguita con un software selezionando aree omogenee del parenchima epatico ed evitando vasi sanguigni o artefatti. Per migliorare la precisione, veniva applicato un metodo di troncamento per correggere il rumore di fondo.

Ogni misura di T2* veniva effettuata tre volte da due osservatori indipendenti, ciechi rispetto ai risultati delle biopsie o alle analisi dell'altro, ciascuno dei quali selezionava tre diverse regioni (anteriore, laterale/media e posteriore).

Nei 31 volontari sani, il valore medio di R2* era di $37.0 \pm 1.1 \text{ s}^{-1}$, con una deviazione standard di 6.1 s^{-1} e un intervallo compreso tra 28.7 e 54.4 s^{-1} . Le sequenze per la misura del R2-LIC (FerriScan) sono state ottenute sullo stesso apparecchio RM.

Per verificare la riproducibilità del metodo $R2^*$, l'analisi di Bland-Altman ha mostrato una buona concordanza tra i due osservatori nelle misurazioni dell' $R2^*$ epatico, soprattutto per valori inferiori a 400 s^{-1} .

Dai risultati si evince una forte correlazione lineare tra il logaritmo del $T2^*$ e quello del LIC, portando alla seguente equazione di calibrazione:

$$LIC \left[\frac{mgFe}{g} \right] = 31,94(T2^*)^{-1,014}$$

Questa nuova calibrazione stima valori di LIC circa 2,2 volte più alti rispetto al vecchio metodo $T2^*$, correggendone la sottostima. La relazione tra $R2^*$ e LIC, invece, sebbene apparisse inizialmente lineare, non consente l'uso di modelli di regressione semplici per via di una distribuzione non normale dei residui.

La trasformazione logaritmica ha permesso di ottenere una buona correlazione ma con un errore più elevato rispetto al modello $T2^*$. La curva di calibrazione ricavata è data dall'equazione:

$$LIC \left[\frac{mgFe}{g} \right] = 0,0320R2^* - 0,140$$

Infine, dal confronto tra il metodo $T2^*$ e il metodo $R2$ emerge che i due approcci forniscono risultati simili per valori di LIC fino a 10 mg/g peso secco, ma mostrano una scarsa concordanza per valori più elevati.

Queste discrepanze non sembrano derivare da problemi di riproducibilità, bensì da differenze intrinseche tra le due tecniche (come la sensibilità al rumore, la distribuzione del ferro nei tessuti e il tipo di ferro misurato). Ciò dimostra che i due metodi non dovrebbero essere utilizzati in modo interscambiabile nella pratica clinica.

5.3.5 Modello di Henninger

A fronte della molteplicità di curve di calibrazione proposte dai diversi studi, ottenute mediante protocolli eterogenei, con parametri di scansione e tecniche di stima del $R2^*$ differenti, lo studio di Henninger e colleghi [35] propone di dimostrare la trasferibilità dei dati di calibrazione e raccomandare l'uso di un protocollo specifico per un'applicazione clinica affidabile.

L'obiettivo dell'articolo è verificare se le varie curve di calibrazione pubblicate possano essere utilizzate per stimare il LIC senza ricorrere necessariamente alla validazione determinata dalla biopsia epatica, confrontando i risultati con quelli presenti in letteratura.

Lo studio ha incluso 17 pazienti, ciascuno dei quali è stato sottoposto a risonanza magnetica per la quantificazione del ferro epatico, seguita da biopsia epatica.

Tutti i pazienti presentavano livelli elevati di ferritina sierica o saturazione della transferrina, e non avevano ricevuto trasfusioni né terapie tra i due esami.

L'esame RM è stato eseguito con un'apparecchiatura da 1.5 T, utilizzando una bobina di superficie a matrice di fase. L'analisi delle immagini è stata eseguita offline. Le mappe $R2^*$ sono state calcolate a livello di singolo pixel tramite fitting esponenziale (modello a troncamento), escludendo manualmente i TE con segnale inferiore al rumore. In ciascun paziente sono state posizionate tre ROI (due nel lobo destro, una nel sinistro), evitando vasi maggiori; la media dei tre valori $R2^*$ è stata considerata come rappresentativa.

Tabella 08: Protocollo di acquisizione dello studio di Henninger.

Sequenza	Multi-echo GRE
Orientamento	Assiale
TR	200 ms
TE	12 echo (0,99 ms) con delta-TE 1,41 ms
FA	20°
Slice	10 mm
Matrice	128x128
FOV	380x380 mm
Bandwidth	83 kHz
Modello T2*	Mono-esponenziale con troncamento

Nel gruppo di pazienti analizzato, la concentrazione media di ferro epatico (LIC) era pari a 4,947 mg/g di peso secco, con valori compresi tra 0,917 mg/g e 11,646 mg/g. I valori di $R2^*$ misurati mediante RM variavano da 56,4 s⁻¹ a 471,6 s⁻¹, con una media di 191,8 s⁻¹.

Per la correlazione tra $R2^*$ e LIC è stato applicato un modello di regressione lineare mostrando una chiara relazione lineare tra i due valori.

L'equazione risultante è:

$$LIC \left[\frac{mgFe}{g} \right] = 0,0240R2^* - 0,277$$

I valori di $R2^*$ ottenuti sono stati messi in relazione con i dati della biopsia e confrontati con sei studi pubblicati che riportavano curve di calibrazione tra $R2^*$ e LIC (Wood [25], Anderson [34], Hankins [36], Virtanen [38], Christoforidis [39], Garbowski [37]).

Il confronto statistico tra le curve di regressione dello studio e quelle dei dati pubblicati ha dimostrato una buona sovrapponibilità. In particolare, non sono state riscontrate differenze significative tra i dati di Henninger e quelli degli studi di Hankins, Wood e Garbowski.

Questa concordanza è spiegata dal fatto che questi studi sono basati su biopsia epatica e sequenze RM con TE iniziale vicino a 1 ms, a differenza di quelle basate su metodi alternativi o sequenze diverse. Questo parametro potrebbe rappresentare un requisito tecnico essenziale per aggregare dati provenienti da più centri o studi e rendere la stima non invasiva del ferro epatico più uniforme e trasferibile.

Riguardo al modello di fitting del decadimento del segnale, il modello di troncamento, utilizzato in questo studio, si è dimostrato più accurato rispetto ad altri modelli (esponenziale semplice o con offset), in linea con quanto riportato da He et al [26, 27].

In conclusione, l'articolo di Henninger e colleghi ribadisce la necessità di studi multicentrici, per approfondire e confermare la trasferibilità delle misurazioni del ferro epatico con RM tra diverse strutture e apparecchiature.

5.3.6 Modello di Hernando 1.5 T vs 3 T

La maggior parte degli studi di calibrazione di $R2^*$ è stata effettuata a 1.5 T. Tuttavia, è stato dimostrato che esiste una relazione ben definita tra le misure di $R2^*$ a 1.5 T e quelle a 3 T: i valori a 3 T risultano circa il doppio rispetto a quelli a 1.5 T.

Lo studio di Hernando e colleghi [40] si pone l'obiettivo di valutare le prestazioni e la riproducibilità della mappatura $R2^*$ nell'ambito della quantificazione della concentrazione di ferro nel fegato (LIC), utilizzando la risonanza magnetica (RM) sia a 1.5 T che a 3.0 T.

Nello studio sono stati inclusi 50 pazienti: 40 pazienti con sospetto o accertato sovraccarico di ferro e 10 soggetti sani di controllo. Ognuno di questi è stato sottoposto a degli esami RM con diversi protocolli di acquisizione per la mappatura $R2^*$, a entrambe le intensità di campo magnetico, e ponendo come riferimento un metodo basato su $R2$ a 1,5T (FerriScan).

Per l'indagine RM sono stati utilizzati scanner da 1.5 T e da 3.0 T con bobine toraciche multicanale. Sono stati quindi utilizzati quattro diversi protocolli di scansione per la mappatura R2* per entrambe le intensità di campo magnetico.

I vari protocolli (tab.09-10), attraverso variazioni di parametri come risoluzione spaziale, orientamento delle immagini, spaziatura degli echi e numero di echo, mirano a valutare l'effetto di questi su bias e variabilità del R2*. Il protocollo R2-LIC (FerriScan) è stato eseguito sull'apparecchiatura da 1,5 T.

Per ovviare ai limiti delle tecniche R2* basate sull'intensità del segnale ("magnitude based"), le quali sono soggette a diversi fattori di disturbo (effetto del rumore di fondo, presenza di grasso e disomogeneità del campo magnetico, soprattutto in prossimità di interfacce aria-tessuto) sono state utilizzate tecniche Chemical Shift-Encoded (CSE) complesse, che utilizzano sia l'ampiezza che la fase del segnale GRE. Quest'ultime hanno dimostrato di poter correggere questi artefatti, rendendo la mappatura R2* più accurata e affidabile.

Tabella 09: Protocolli di acquisizione dello studio di Hernando a 1.5T

	FerriScan	Protocollo 1	Protocollo 2	Protocollo 3	Protocollo 4
Orientamento	Assiale	Assiale	Assiale	Coronale	Assiale
Slice (mm)	6	8	6	5	8
Numero di slice	11	32	36	40	32
FOV (cm)	40x33	40x36	40x36	40x36	40x36
Matrice	256x256	256x160	256x160	256x160	144x128
Voxel size mm	1.7×1.7×6.0	2.5×1.6×8.0	2.5×1.6×8.0	5.0×2.5×1.6	3.1×2.8×8.0
FA	90	5	5	5	5
TR (ms)	1000	14,1	14,1	14,1	11,0
Numero di echo	5	6	6	6	12
ETL	1	6	6	6	6
TE	6	1,2	1,2	1,2	0,9
Delta TE	3	2,0	2,0	1,0	0,7
durata	17:00	0:19	0:21	0:21	0:22

Alle acquisizioni ricavate sono stati successivamente applicati cinque diversi algoritmi, distinguendo tra fitting basato su magnitudo o su segnali complessi, e con o senza correzione del segnale del grasso, per un totale di 40 mappe R2* (2 intensità di campo × 4 protocolli × 5 algoritmi).

Ciascuna delle mappe R2* è stata analizzata tracciando delle ROI in ognuno dei segmenti epatici e nella milza, cercando di evitare strutture vascolari, lesioni o artefatti. Le ROI sono state copiate tra le diverse mappe per garantire coerenza nella misurazione. È stato inoltre calcolato il valore medio di R2* epatico.

Tabella10: Protocolli di acquisizione dello studio di Hernando a 3.0T

	Protocollo 1	Protocollo 2	Protocollo 3	Protocollo 4
Orientamento	Assiale	Assiale	Coronale	Assiale
Slice (mm)	8	6	5	8
Numero di slice	32	32	40	32
FOV (cm)	40x32	40x32	40x40	40x32
Matrice	256x144	256x144	256x144	128x128
Voxel size mm	2,8×1,6×8,0	2,8×1,6×8,0	5,0×2,8×1,6	3,1×3,1×8,0
FA	4	4	4	4
TR (ms)	8,6	8,6	8,6	5,9
Numero di echo	6	6	6	8
ETL	3	3	3	4
TE	1,2	1,2	1,2	0,6
Delta TE	1,0	1,0	1,0	0,6
durata	0:22	0:22	0:23	0:20

Le immagini SE sono invece state inviate a un laboratorio centrale (Resonance Health) per l'ottenimento dei valori di LIC di riferimento su parametro R2.

I risultati hanno mostrato un'elevata riproducibilità delle misurazioni R2* tra i diversi protocolli di acquisizione, con valori di ICC > 0.91 e nessuna differenza statisticamente significativa nella maggior parte dei confronti. Inoltre, è stata riscontrata un'elevata capacità predittiva nell'identificare soglie clinicamente rilevanti di LIC (AUC > 0.95).

Sono state costruite curve di calibrazione mediante regressione lineare semplice, e sono stati utilizzati modelli misti lineari per confrontare i valori di $R2^*$ tra 1.5 T e 3.0 T, ottenendo le seguenti equazioni:

A 1,5 T:

$$LIC \left[\frac{mgFe}{g} \right] = 0,0262R2^* - 0,04$$

A 3 T:

$$LIC \left[\frac{mgFe}{g} \right] = 0,0141R2^* + 0,00$$

Grazie alla calibrazione effettuata, le mappe LIC sono risultate indipendenti dal campo magnetico, dimostrando che la corretta quantificazione del $R2^*$ fornisce risultati riproducibili, indipendentemente da variazioni di risoluzione, orientamento o TE, sia a 1.5 T che a 3 T. Inoltre, la buona correlazione con la quantificazione LIC- $R2$ conferma l'affidabilità e la robustezza di entrambi i metodi.

Lo studio di Hernando si distingue per l'approccio innovativo nell'analizzare le differenze di performance delle tecniche MRI in relazione all'intensità del campo magnetico dello scanner. Se il campo a 1.5 T rappresenta attualmente lo standard per la quantificazione del ferro, nuove calibrazioni per il 3 T potrebbero favorirne l'adozione nella pratica clinica.

Tuttavia, una limitazione rilevante a 3 T è rappresentata dal più rapido decadimento del segnale. Questo fenomeno può ridurre il range dinamico utile per una quantificazione accurata del ferro epatico basata su $R2^*$, rendendo l'analisi più complessa nei casi di sovraccarico severo. Tale limite potrebbe essere superato mediante l'adozione di tecniche UTE (ultra-short TE), che offrirebbero un range dinamico più ampio.

Tra le ulteriori limitazioni dello studio si annoverano la mancata analisi dell'effetto dell'eziologia del sovraccarico di ferro e delle terapie in corso. Inoltre, l'impiego di un singolo scanner e il numero limitato di pazienti con sovraccarico di ferro estremo evidenziano la necessità di ulteriori studi multicentrici per confermare l'applicabilità clinica del metodo.

5.4 Relazione tra $R2^*$ a 1,5 T e a 3 T

In linea con le osservazioni di Hernando e colleghi [40], diversi studi successivi hanno cercato di stabilire una relazione tra i valori di $R2^*$ misurati a 1,5 T e quelli ottenuti a 3 T al fine di fornire uno strumento di confronto dei risultati in modo indipendente dall'intensità di campo magnetico utilizzato.

In questo contesto, lo studio di Alam e colleghi [41], condotto su 124 soggetti (104 pazienti con sovraccarico da trasfusione e 20 volontari sani), ha dimostrato come la media dei valori di $R2^*$ epatico acquisiti a 3 T risulti circa il doppio rispetto a quelli a 1,5 T, evidenziando una relazione lineare molto forte tra i due campi.

Dallo studio è emerso, però, un limite importante: la valutazione di un sovraccarico severo di ferro a 3 T risulta meno sensibile a causa del rapido decadimento del segnale.

Successivamente Pickles e colleghi [42], in uno studio su 30 partecipanti, ciascuno dei quali sottoposto a entrambi i campi (1,5 T e 3 T), hanno confermato tale relazione attraverso il confronto dell'analisi di regressione lineare con quella dello studio di Alam. È stata quindi ricavata la formula di conversione del parametro $R2^*$ per i due campi:

$$R2^*_{3T} = 2.051R2^*_{1.5T} - 25.4276$$

Ciò dimostra come, in realtà, quella tra 1,5 T e 3 T non si tratti di un semplice rapporto di proporzionalità ma necessita di una correzione per migliorare l'accuratezza, soprattutto nei pazienti con valori di ferro più bassi. Queste evidenze rappresentano quindi una possibilità per una futura applicazione nella pratica clinica della risonanza magnetica a 3 T nella valutazione del ferro epatico, mentre l'attenzione principale deve essere rivolta alla scelta del migliore metodo di conversione del parametro $R2^*$ a LIC [42].

5.5 Classificazione clinica del LIC

La concentrazione di ferro epatico ricavata dalle tecniche di rilassometria rappresenta un parametro fondamentale per la valutazione del sovraccarico marziale, ma per definirne la rilevanza diagnostica e terapeutica, deve essere interpretata all'interno di un quadro clinico strutturato. A tale scopo, si è sviluppata una classificazione dedicata, ripresa dalle linee guida EASL [43] e adottata successivamente da Henninger e colleghi [44].

Queste classificazioni distinguono più gradi di accumulo, con soglie quantitative che descrivono una fascia di rischio, come riportato nella tabella 12, fornendo così un linguaggio comune che permette di collegare direttamente il LIC alla corretta gestione clinica del paziente, in termini di prognosi, trattamento e monitoraggio.

Un elemento metodologico da considerare è l'unità di misura del LIC: esso, infatti, può essere espresso sia in micromoli di ferro per grammo di fegato secco ($\mu\text{mol/g}$), sia in milligrammi per grammo (mg/g).

Considerando la massa atomica del ferro, pari a 55,845 u, si è in grado di stabilire l'equivalenza di $1 \text{ mg/g} \approx 18 \text{ } \mu\text{mol/g}$. Ne consegue che il cut-off clinico di riferimento, $36 \text{ } \mu\text{mol/g}$, equivale a 2 mg/g .

Tabella 12: classificazione del grado di sovraccarico in base al valore del LIC [44].

Categoria	LIC ($\mu\text{mol/g}$ fegato)	LIC (mg/g fegato)	Commento clinico
Normale	$0 < > 36$	$0 < > 2$	Nessun sovraccarico
Insignificante	$36 < > 75$	$2 < > 4$	Generalmente senza trattamento (eccetto HH) solo follow-up
Lieve	$75 < > 100$	$4 < > 6$	Il trattamento dipende dal profilo clinico
Moderato	$100 < > 150$	$6 < > 8$	Generalmente il trattamento è richiesto
Moderato-severo	$150 < > 300$	$8 < > 16$	Tipico di HH o cause ematologiche
Severo	> 300	> 16	Rischio cardiaco

Nel nostro studio, questa classificazione è stata adottata come riferimento, poiché rappresenta la modalità più affidabile e condivisa per interpretare i valori di LIC, consentendo di valutare la concordanza tra le metodiche utilizzate sulla base delle differenze clinicamente significative riscontrate.

-6- IL NOSTRO STUDIO

6.1 Disegno dello studio e popolazione in esame

È stato condotto uno studio monocentrico di tipo retrospettivo presso l'Unità Operativa di Radiologia dell'IRCSS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna. Nello studio sono stati inclusi tutti i pazienti, sottoposti ad una MRI, con quesito clinico di malattia da accumulo epatico di ferro; i criteri di esclusione sono riferiti alla sola presenza di artefatti nelle immagini.

6.2 Protocollo di studio della MRI

Le immagini sono state acquisite con una MRI 1.5 T General Electric Signa HDxt Medical Systems) da 1,5 T, mediante l'uso di una bobina phased array denominata torso.

La sequenza MFGRE T2* utilizzata per la quantificazione del ferro presenta le seguenti caratteristiche tecniche: TR di 125 ms; TE crescenti pari a 1,2 ms, 2,1 ms, 3,0 ms, 3,9 ms, 4,8 ms, 5,7 ms, 6,6 ms, 7,5 ms; flip angle di 20°; spessore delle slices di 8 mm; spaziatura tra le slices di 15 mm.

6.3 Analisi della MRI

Dalla lettura dei referti delle MRI, acquisite con sistema a 1.5T, sono stati estrapolati alcuni dati demografici e clinici dei pazienti. Le corrispettive sequenze MFGRE saranno elaborate, utilizzando un software Open Source (pMRI) [45], per ottenere le mappe di R2*.

Sulle immagini rappresentanti le mappe R2* verranno misurate, in zone anatomiche con patologia diffusa, 5 ROI circolari con area di circa 4 cm²; la media ottenuta sarà la nostra misura di riferimento. Tali misure saranno convertite, applicando la formula di Pickles [42], per ottenere i corrispettivi valori di R2* a 3.0 T.

Dai valori di R2* applicando la formula $T2^* = (1 / R2^*) \times 1000$ si ricaverà il corrispettivo valore di T2*. Applicando le formule di Hernando 1.5T [40], Hernando 3.0 T [40] e Wood [25], si ricaveranno i corrispettivi valori di LIC quantificati in mg di ferro su grammo di parenchima epatico.

6.3 Analisi statistica

I dati saranno digitalizzati mediante il software Microsoft Excel 365, mentre le successive elaborazioni statistiche saranno eseguite mediante software “SPSS” v26.

I dati riferiti all'età, R2*, T2*, LIC saranno descritti riportando il valore mediano ed il range interquartile, per il valore del LIC sarà riportato anche il valore medio e l'intervallo di confidenza al 95%.

L'analisi statistica termina con l'esecuzione di un test di t-student per verificare la significatività statistica delle misure effettuate. I valori dei LIC saranno suddivisi ed accorpati in base alla classificazione proposta dalla EASL [43, 44].

6.4 Risultati

Retrospectivamente sono state analizzate 32 MRI; dallo studio tre pazienti sono stati esclusi per la presenza di artefatti nella sequenza. I 29 pazienti inclusi (tab.11) presentano una età mediana di 37 anni.

Tabella 11: Caratteristiche demografiche e cliniche dei pazienti inclusi nello studio.

Pazienti n = 29	valore
Età (anni), mediana [IQR]	37 [29 – 43]

Dalle misure ed elaborazioni effettuate abbiamo ottenuto per gli R2* (tab.12), un valore mediano pari a 78.40 Hz (MRI a 1.5 T) e 35.40 Hz (MRI 3.0 T); i corrispondenti valori di T2* sono 12.80 ms (MRI a 1.5 T) e 7.40 ms (MRI 3.0 T).

I valori medi di LIC (tab.13) determinati con i metodi di Hernando 1.5T, Hernando 3.0T e Wood sono pari a 2.98 mg/g, 2,97 mg/g e 3.13 mg/g, mentre i valori mediani sono pari a 2.01 mg/g, 1.91mg/g e 2.19 mg/g.

I test t-student (tab.14) mostrano assenza di differenze statisticamente significative tra i LIC ottenuti con i metodi di Hernando ($p=0.939$), mentre sono presenti differenze statisticamente significative nei confronti tra i metodi di Hernando e Wood ($P < 0.001$ e $P=0.034$).

La classificazione dei valori di LIC ottenuti (tab.15), secondo il metodo EASL mostra un risultato analogo con tutti e tre i metodi utilizzati (fig.08, fig.09 e fig.10).

Tabella 12: Valori mediani dei R2* e del T2*.

	R2* [IQR] Hz	T2* [IQR] msec
MRI 1.5 T	78.40 [38.10 – 127.00]	12.80 [7.85 – 26.20]
MRI 3.0 T	135.40 [52.80 – 236.00]	7.40 [4.20 – 18.90]

Tabella 13: LIC calcolati secondo le tre modalità differenti.

	LIC mediano [IQR] mg / g	LIC medio [CI 95%] mg / g	LIC somma mg / g
Hernando 1.5 T	2.01 [0.96 – 3.30]	2.98 [1.92 – 4.03]	86.3
Hernando 3.0 T	1.91 [0.74 – 3.33]	2.97 [1.80 – 4.14]	86.4
Wood	2.19 [1.17 – 3.44]	3.13 [2.10 – 4.15]	90.7

Tabella 14: p-value dei test t-student.

confronto	P value
Hernando 1.5 T vs Hernando 3.0 T	0.939
Hernando 1.5 T vs Wood	< 0.001
Hernando 3.0 T vs Wood	0.034

Tabella 15: Suddivisione per classi dei LIC calcolati secondo le tre modalità differenti.

	NO	INSIGNIFICANT	MILD	MODERATE	MODERATE SEVERE
Hernando 1.5 T (n)	15	8	1	2	3
Hernando 3.0 T (n)	15	8	1	2	3
Wood (n)	14	9	1	2	3

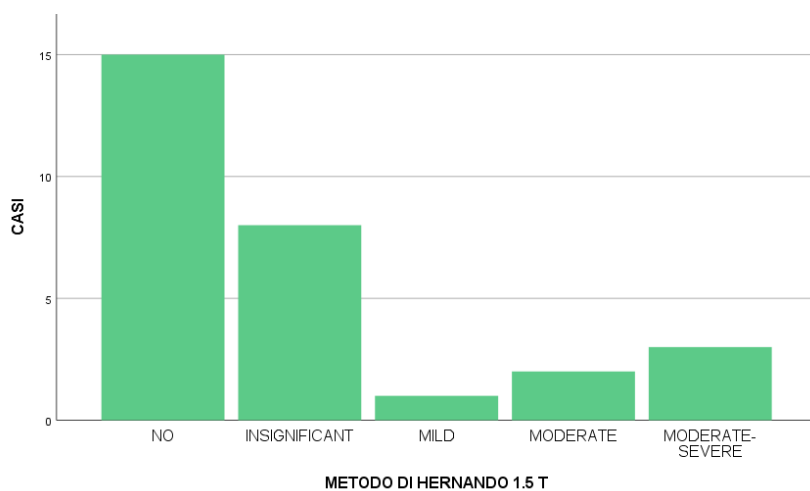


Figura 08: Suddivisione per classi del metodo di Hernando 1.5 T.

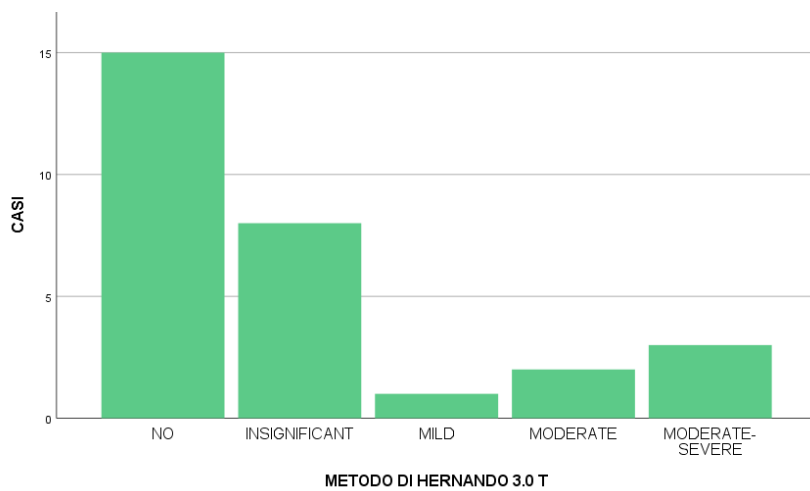


Figura 09: Suddivisione per classi del metodo di Hernando 3.0 T.

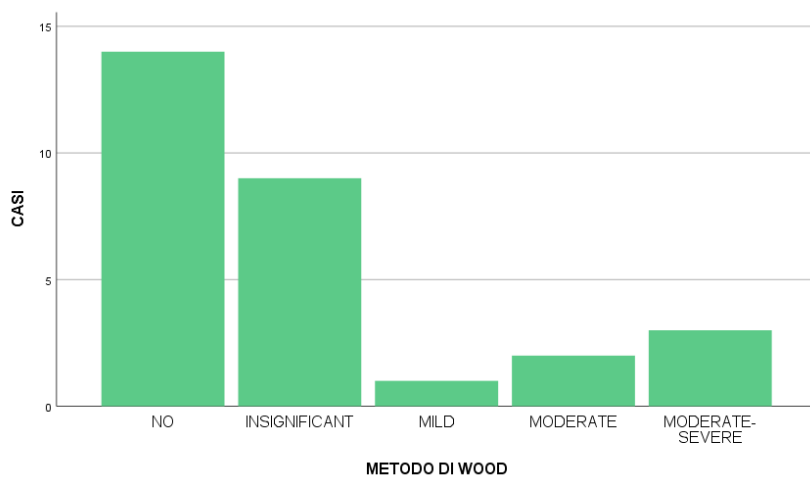


Figura 10: Suddivisione per classi del metodo di Wood.

6.5 Discussione

Nel presente studio, un limite metodologico rilevante è rappresentato dalla modalità con cui sono stati ricavati i dati: i valori di $R2^*$ a 3 T non sono stati acquisiti direttamente, ma ottenuti a partire dalla conversione dei dati misurati a 1,5 T attraverso la formula di conversione proposta da Pickles e colleghi.

Questo fa sì che i valori di LIC calcolati con la calibrazione di Hernando a 3 T non rappresentino misure indipendenti, in quanto derivano dagli stessi dati di partenza a 1,5 T.

Questo aspetto va considerato per l'interpretazione dei risultati, poiché il confronto tra i due metodi di Hernando non equivale a un'analisi tra variabili indipendenti. Lo studio si pone dunque l'obiettivo di valutare, a partire da una verifica della coerenza interna, la potenziale intercambiabilità dei due metodi.

L'analisi descrittiva delle distribuzioni evidenzia una differenza tra i valori medi e mediani di LIC nei tre metodi considerati, in quanto i primi risultano sistematicamente più elevati rispetto ai secondi.

L'andamento è indicativo di una distribuzione asimmetrica dei dati, causata dalla presenza di un numero esiguo di valori elevati di LIC, che tendono ad aumentare la media, mentre la mediana, collocata su valori bassi, descrive meglio la concentrazione tipica della maggioranza dei soggetti.

L'osservazione è coerente con l'eterogeneità clinica dei pazienti, in cui i pochi casi con accumulo severo di ferro condiziona in maniera marcata le statistiche globali.

Dal confronto tra i valori di LIC di Hernando a 1,5 T e Hernando a 3 T attraverso il test t-student non sono emerse differenze statisticamente significative ($p = 0,939$), confermando la sostanziale sovrapponibilità dei due metodi.

Un'ulteriore conferma è dimostrata dalla completa concordanza della classificazione clinica secondo le soglie EASL, e dimostrando l'intercambiabilità dal punto di vista clinico, in quanto non vi è impatto sul rischio e sulle decisioni terapeutiche.

Diverso è invece il confronto con il metodo di Wood, il quale si discosta dai risultati ottenuti con Hernando, evidenziando valori medi più elevati (3,13 rispetto a 2,98 e 2,97 mg/g) e differenze statisticamente significative ($p < 0.001$ e $p = 0.034$).

Tali differenze sono da ricercare nelle diverse metodologiche tra i metodi: curve di calibrazione (intercetta positiva e nel modello di Wood, negativa e pari a zero nei modelli di Hernando), parametri di acquisizione (TE minimo, numero di echo), approcci di fitting (mono-esponenziale con offset costante per Wood, mono-esponenziale con troncamento per Hernando) e popolazione di riferimento nei vari studi.

Ciò dimostra che i vari metodi non siano direttamente interscambiabili pur mantenendo una finalità clinica analoga.

In sintesi, i dati raccolti indicano che, nonostante la presenza di alcune divergenze metodologiche, i modelli di Hernando per 1,5 T e per 3 T sono clinicamente sovrapponibili, poiché le differenze non si traducono in variazioni nella classificazione proposta.

Il confronto con Wood, invece, evidenzia come la scelta della curva di calibrazione possa influenzare sensibilmente il valore numerico del LIC. È importante, perciò, utilizzare curve di calibrazione coerenti e ripetibili per una corretta valutazione, soprattutto nel follow-up dei pazienti.

CONCLUSIONI

La quantificazione del ferro epatico rappresenta un aspetto fondamentale nella pratica clinica, in quanto la gestione terapeutica dei pazienti affetti da sovraccarico di ferro è strettamente legata ad un corretto inquadramento, sia in fase di diagnosi che di monitoraggio. Negli ultimi anni la risonanza magnetica si è affermata come metodica non invasiva di riferimento, offrendo un'alternativa alla biopsia epatica per le sue caratteristiche di accuratezza, sicurezza e ripetibilità.

All'interno delle tecniche disponibili, quelle di rilassometria quantitativa basate su parametri $R2$ e $R2^*$ hanno mostrato affidabilità e ampia applicabilità. Tra queste, i protocolli basati su $R2^*$ hanno evidenziato dei vantaggi concreti grazie ai tempi di acquisizione più rapidi. Ciò si traduce in una maggiore tollerabilità per il paziente e possibilità di acquisire volumi più ampi di fegato in un'unica scansione, rendendo la metodica $R2^*$ particolarmente adatta all'applicazione clinica quotidiana.

Il nostro studio si è concentrato, in particolare, sul confronto tra i modelli proposti da Hernando, a 1,5 T e a 3 T. Attraverso l'applicazione della formula di Pickles per la conversione di $R2^*$ da 1,5 T in valori equivalenti a 3 T, è stato possibile mettere direttamente a confronto le due calibrazioni. Dall'analisi dei risultati è emersa una sostanziale concordanza in quanto non si sono evidenziate differenze statisticamente significative ($p = 0,939$), e, soprattutto, non vi sono state variazioni nella classificazione clinica dei soggetti secondo i criteri EASL. Questo risultato conferma l'intercambiabilità dei due approcci e che, quindi, la scelta tra 1,5 T e 3 T, almeno in questo contesto, non modifica le decisioni cliniche.

Dal punto di vista delle prospettive future, quanto detto si traduce nel possibile impiego degli scanner a 3 T nella pratica quotidiana. Sebbene il 1,5 T resti ad oggi lo standard clinico di riferimento, la diffusione crescente di scanner 3 T nei centri ospedalieri e universitari potrebbe rappresentare un'alternativa.

Il vantaggio principale risiede nel migliore rapporto segnale-rumore, che permette una maggiore risoluzione delle immagini e in una potenziale sensibilità superiore nell'individuare sovraccarichi di ferro di entità lieve, offrendo quindi un beneficio concreto nei pazienti in fase precoce di malattia o durante il monitoraggio terapeutico.

Tuttavia, il più rapido decadimento del segnale in presenza di sovraccarico severo suggerisce la necessità di sequenze dedicate.

Un ulteriore punto è rappresentato dal confronto con modelli di calibrazione alternativi, come quello di Wood, il quale ha svolto un ruolo utile soprattutto come termine di paragone. Le differenze osservate rispetto a Hernando mettono in luce quanto la scelta della calibrazione e del modello di decadimento del segnale abbiano un impatto rilevante sulla stima finale del LIC, portando ad una variabilità dei risultati nei diversi studi.

In conclusione, il lavoro presentato ha confermato, attraverso la revisione della letteratura, che la risonanza magnetica basata su $R2^*$ rappresenta una metodica affidabile, rapida e clinicamente significativa per la quantificazione del ferro epatico. La dimostrazione della sovrapponibilità tra i protocolli di Hernando a 1,5 T e a 3 T apre la strada ad un impiego più flessibile delle apparecchiature disponibili.

Resta dunque fondamentale la promozione di ulteriori studi multicentrici e mirati, condotti su coorti numerose e diversificate per eziologia, in modo da creare standard diagnostici e permettere un monitoraggio più preciso delle terapie, così da garantire a ogni paziente la stessa qualità diagnostica, ovunque venga seguito.

BIBLIOGRAFIA

1. Widmaier EP, Raff H, Strang KT. *Vander Fisiologia*. A cura di: Imeri L, Ricci V, Rivolta I. Bologna: Zanichelli Editore; 2018. ISBN 978-88-08-28002-2.
2. Martini FH, Timmons MJ, Tallitsch RB. *Anatomia Umana*. A cura di: Cocco L, Gaudio E, Manzoli L, Zummo G, Arcari ML, Bandiera P, et al. Napoli: EdiSES; 2016. ISBN 978-88-7959-911-5.
3. Golfieri R., M. Renzulli, V. Lucidi Fegato e vie biliari. In: *Diagnostica per immagini*. Napoli: Idelson-Gnocchi; 2018. cap. 16, p. 712-716.
4. Edelman RR. The history of MR imaging as seen through the pages of radiology. *Radiology*. 2014;273(2 Suppl):S181-S200. doi:10.1148/radiol.14140706
5. Taouli B, Ehman RL, Reeder SB. Advanced MRI methods for assessment of chronic liver disease. *AJR Am J Roentgenol*. 2009;193(1):14-27. doi:10.2214/AJR.09.2601
6. Hernando D, Levin YS, Sirlin CB, Reeder SB. Quantification of liver iron with MRI: state of the art and remaining challenges. *J Magn Reson Imaging*. 2014;40(5):1003-1021. doi:10.1002/jmri.24584
7. Reeder SB, Cruite I, Hamilton G, Sirlin CB. Quantitative Assessment of Liver Fat with Magnetic Resonance Imaging and Spectroscopy. *J Magn Reson Imaging*. 2011;34(4):729-749. doi:10.1002/jmri.22775
8. Coriasco A, Rampado O, Bradac GB, Boris G. *Elementi di risonanza magnetica (RM) – Dal protone alle sequenze per le principali applicazioni diagnostiche*. Milano: Springer Italia; 2014. ISBN 978-88-470-5640-4.
9. Lieu PT, Heiskala M, Peterson PA, Yang Y. The roles of iron in health and disease. *Mol Aspects Med*. 2001;22(1-2):1-87. doi:10.1016/s0098-2997(00)00006-6
10. Andrews NC, Schmidt PJ. Iron homeostasis. *Annu Rev Physiol*. 2007;69:69-85. doi:10.1146/annurev.physiol.69.031905.164337
11. Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis--a new look at an old disease. *N Engl J Med*. 2004;350(23):2383-2397. doi:10.1056/NEJMra031573
12. Articoli Piperno, www.emocromatosi.it
13. Siegelman ES, Mitchell DG, Semelka RC. Abdominal iron deposition: metabolism, MR findings, and clinical importance. *Radiology*. 1996;199(1):13-22. doi:10.1148/radiology.199.1.8633135
14. Wood JC. Use of magnetic resonance imaging to monitor iron overload. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2014;28(4):747-vii. doi:10.1016/j.hoc.2014.04.002
15. Gandon Y, Olivie D, Guyader D, et al. Non-invasive assessment of hepatic iron stores by MRI. *Lancet*. 2004;363(9406):357-362. doi:10.1016/S0140-6736(04)15436-6
16. Rofsky NM, Fleishaker H. CT and MRI of diffuse liver disease. *Semin Ultrasound CT MR*. 1995;16(1):16-33. doi:10.1016/0887-2171(95)90012-8
17. Fischer MA, Reiner CS, Raptis D, et al. Quantification of liver iron content with CT-added value of dual-energy. *Eur Radiol*. 2011;21(8):1727-1732. doi:10.1007/s00330-011-2119-1

18. St Pierre TG, Clark PR, Chua-anusorn W, et al. Noninvasive measurement and imaging of liver iron concentrations using proton magnetic resonance. *Blood*. 2005;105(2):855-861. doi:10.1182/blood-2004-01-0177
19. Gandon Y, Guyader D, Heautot JF, et al. Hemochromatosis: diagnosis and quantification of liver iron with gradient-echo MR imaging. *Radiology*. 1994;193(2):533-538. doi:10.1148/radiology.193.2.7972774
20. Ghugre NR, Wood JC. Relaxivity-iron calibration in hepatic iron overload: probing underlying biophysical mechanisms using a Monte Carlo model. *Magn Reson Med*. 2011;65(3):837-847. doi:10.1002/mrm.22657
21. Jensen JH, Chandra R. Theory of nonexponential NMR signal decay in liver with iron overload or superparamagnetic iron oxide particles. *Magn Reson Med*. 2002;47(6):1131-1138. doi:10.1002/mrm.10170
22. Gossuin Y, Muller RN, Gillis P. Relaxation induced by ferritin: a better understanding for an improved MRI iron quantification. *NMR Biomed*. 2004;17(7):427-432. doi:10.1002/nbm.903
23. Brooks RA, Moyny F, Gillis P. On T2-shortening by weakly magnetized particles: the chemical exchange model. *Magn Reson Med*. 2001;45(6):1014-1020. doi:10.1002/mrm.1135
24. Gossuin Y, Roch A, Muller RN, Gillis P, Lo Bue F. Anomalous nuclear magnetic relaxation of aqueous solutions of ferritin: an unprecedented first-order mechanism. *Magn Reson Med*. 2002;48(6):959-964. doi:10.1002/mrm.10316
25. Wood JC, Enriquez C, Ghugre N, et al. MRI R2 and R2* mapping accurately estimates hepatic iron concentration in transfusion-dependent thalassemia and sickle cell disease patients. *Blood*. 2005;106(4):1460-1465. doi:10.1182/blood-2004-10-3982
26. He T, Gatehouse PD, Smith GC, Mohiaddin RH, Pennell DJ, Firmin DN. Myocardial T2* measurements in iron-overloaded thalassemia: An in vivo study to investigate optimal methods of quantification. *Magn Reson Med*. 2008;60(5):1082-1089. doi:10.1002/mrm.21744
27. He T, Gatehouse PD, Kirk P, Mohiaddin RH, Pennell DJ, Firmin DN. Myocardial T*2 measurement in iron-overloaded thalassemia: an ex vivo study to investigate optimal methods of quantification. *Magn Reson Med*. 2008;60(2):350-356. doi:10.1002/mrm.21625
28. Clark PR, Chua-anusorn W, St Pierre TG. Bi-exponential proton transverse relaxation rate (R2) image analysis using RF field intensity-weighted spin density projection: potential for R2 measurement of iron-loaded liver. *Magn Reson Imaging*. 2003;21(5):519-530. doi:10.1016/s0730-725x(03)00080-8
29. Bulte JW, Miller GF, Vymazal J, Brooks RA, Frank JA. Hepatic hemosiderosis in non-human primates: quantification of liver iron using different field strengths. *Magn Reson Med*. 1997;37(4):530-536. doi:10.1002/mrm.1910370409
30. Kaltwasser JP, Gottschalk R, Schalk KP, Hartl W. Non-invasive quantitation of liver iron-overload by magnetic resonance imaging. *Br J Haematol*. 1990;74(3):360-363. doi:10.1111/j.1365-2141.1990.tb02596.x
31. Wang ZJ, Haselgrove JC, Martin MB, et al. Evaluation of iron overload by single voxel MRS measurement of liver T2. *J Magn Reson Imaging*. 2002;15(4):395-400. doi:10.1002/jmri.10080

32. Westwood M, Anderson LJ, Firmin DN, et al. A single breath-hold multiecho T2* cardiovascular magnetic resonance technique for diagnosis of myocardial iron overload. *J Magn Reson Imaging*. 2003;18(1):33-39. doi:10.1002/jmri.10332
33. Tanimoto A, Oshio K, Suematsu M, Pouliquen D, Stark DD. Relaxation effects of clustered particles. *J Magn Reson Imaging*. 2001;14(1):72-77. doi:10.1002/jmri.1153
34. Anderson LJ, Holden S, Davis B, et al. Cardiovascular T2-star (T2*) magnetic resonance for the early diagnosis of myocardial iron overload. *Eur Heart J*. 2001;22(23):2171-2179. doi:10.1053/euhj.2001.2822
35. Henninger B, Zoller H, Rauch S, et al. R2* relaxometry for the quantification of hepatic iron overload: biopsy-based calibration and comparison with the literature. *Rofo*. 2015;187(6):472-479. doi:10.1055/s-0034-1399318
36. Hankins JS, McCarville MB, Loeffler RB, et al. R2* magnetic resonance imaging of the liver in patients with iron overload. *Blood*. 2009;113(20):4853-4855. doi:10.1182/blood-2008-12-191643
37. Garbowski MW, Carpenter JP, Smith G, et al. Biopsy-based calibration of T2* magnetic resonance for estimation of liver iron concentration and comparison with R2 Ferriscan. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2014;16(1):40. Published 2014 Jun 10. doi:10.1186/1532-429X-16-40
38. Virtanen JM, Komu ME, Parkkola RK. Quantitative liver iron measurement by magnetic resonance imaging: in vitro and in vivo assessment of the liver to muscle signal intensity and the R2* methods. *Magn Reson Imaging*. 2008;26(8):1175-1182. doi:10.1016/j.mri.2008.01.028
39. Christoforidis A, Perifanis V, Spanos G, et al. MRI assessment of liver iron content in thalassamic patients with three different protocols: comparisons and correlations. *Eur J Haematol*. 2009;82(5):388-392. doi:10.1111/j.1600-0609.2009.01223.x
40. Hernando D, Cook RJ, Qazi N, Longhurst CA, Diamond CA, Reeder SB. Complex confounder-corrected R2* mapping for liver iron quantification with MRI. *Eur Radiol*. 2021;31(1):264-275. doi:10.1007/s00330-020-07123-x
41. Alam MH, Auger D, McGill LA, et al. Comparison of 3 T and 1.5 T for T2* magnetic resonance of tissue iron. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2016;18(1):40. Published 2016 Jul 8. doi:10.1186/s12968-016-0259-9
42. Pickles E, Kumar S, Brady M, Telford A, Pavlides M, Bulte D. Comparison of liver iron concentration calculated from R2* at 1.5 T and 3 T. *Abdom Radiol (NY)*. 2023;48(3):865-873. doi:10.1007/s00261-022-03762-4
43. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines on haemochromatosis. *J Hepatol*. 2010;77(2):479-502. doi:10.1016/j.jhep.2022.03.033
44. Henninger B, Alustiza J, Garbowski M, Gandon Y. Practical guide to quantification of hepatic iron with MRI. *Eur Radiol*. 2020 Jan;30(1):383-393. doi: 10.1007/s00330-019-06380-9. Epub 2019 Aug 7. PMID: 31392478; PMCID: PMC6890593.
45. Khrichenko, D. (n.d.). pMRI Instruction Manual: Open Beta v1.0 (pp. 35-39). Parametric MRI. Ricavato da: <http://www.parametricmri.com>