

ALMA MATER STUDIORUM – UNIVERSITA' DI BOLOGNA

CAMPUS DI CESENA

SCUOLA DI INGEGNERIA E ARCHITETTURA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN INGEGNERIA BIOMEDICA

Studio del tensore di diffusione per la differenziazione delle strutture renali

Elaborato in

Bioimmagini

Relatore

Prof.ssa Cristiana Corsi

Presentata da

Maria Francesca Pesare

Correlatori

Dott.Ing. Dario Turco

Dott.ssa Caterina Gaudiano

Dott.ssa Fiorenza Busato

Sessione **III**

Anno Accademico 2014/2015

*Ringrazio la relatrice e i correlatori
per l'aiuto, il supporto,
e la simpatia dimostrata durante questi mesi e
tutti coloro che mi hanno sostenuto in questo percorso.*

Indice

Introduzione	1
1 Diffusion Tensor Imaging	3
1.1 Principi di diffusione molecolare.....	3
1.1.1 Diffusione isotropa.....	4
1.1.2 Diffusione anisotropa.....	5
1.2 Il segnale RM di diffusione	6
1.2.1 Sequenza di Stejskal-Tanner	7
1.2.2 Diffusion Weighted Imaging (DWI).....	9
1.3 Determinazione del tensore di diffusione	11
1.3.1 metodo della matrice H	11
1.3.2 metodo della matrice B	12
1.3.3 confronto metodo matrice B e matrice H.....	14
1.4 Estrazione di informazioni dal tensore	14
1.4.1 Indici di diffusione anisotropa	15
2 Il rene	18
2.1 Il rene.....	18
2.2 Il rene policistico.....	21
2.3 Carcinoma renale	23
3 Lo stato dell'arte dell' <i>imaging</i> di diffusione dell'organo renale	24
3.1 Influenza delle modalità di acquisizione DTI nei parametri del diffusione	tensore di 25
3.2 Studio del tensore di diffusione nei reni sani e con lesioni	27
3.3 Confronto con la letteratura.....	37
4 Materiali e metodi	38
4.1 Soggetti esaminati.....	38
4.2 Modalità di acquisizione MRI	40
4.3 Algoritmo di elaborazione immagini MR in diffusione	41
4.3.1 Tensore e indici di diffusione:	41
4.3.2 Immagini DWI e mappe ADC.....	46
4.4 Analisi immagini e selezione ROI.....	48

4.4.1 Analisi dei reni sani.....	48
4.4.2 Analisi dei reni con ADPKD.....	50
4.4.3 Analisi dei carcinomi renali.....	52
4.4.4 Valutazione del grado di avanzamento della malattia con ADC.....	54
5 Risultati	57
5.1 Soggetti sani.....	57
5.2 Differenziazione delle diverse strutture renali.....	61
5.3 Risultati sui dati di follow-up dei pazienti con ADPKD.....	64
5.4 Altri risultati.....	68
Conclusioni	72
Progetti futuri	74
Bibliografia.....	75

Introduzione

L'*imaging* di diffusione è una promettente tecnica non invasiva, che sfrutta le tecnologie di risonanza magnetica sensibili agli spostamenti dell'acqua. Le sequenze di risonanza rilevano l'entità dei processi diffusivi che avvengono nei tessuti, misura direttamente legata alla struttura microscopica del tessuto stesso, ottenendo delle immagini pesate in diffusione (*Diffusion Weighted Imaging*, DWI). Grazie ad opportune sequenze di acquisizione è possibile ottenere il tensore di diffusione (DTI), il quale fornisce importanti informazioni riguardo alle direzioni principali di diffusione. La *Diffusion Tensor Imaging* è una pratica ormai consolidata nelle applicazioni neurologiche, ma rappresenta una metodica ancora da esplorare molto promettente, in ambito renale, per offrire informazioni per differenziare le diverse strutture renali; motivo per il quale questa tesi si è concentrata in questo settore.

Il primo obiettivo di questo elaborato di tesi è la differenziazione di diverse strutture renali analizzate tramite tecnica DTI quali: la corteccia e la medulla dei reni sani, le cisti e il parenchima dei reni affetti dalla malattia policistica autosomica dominante (ADPKD), i carcinomi renali e le cisti ematiche.

Particolare attenzione è stata rivolta, in secondo luogo, ai reni affetti dalla malattia policistica su cui si concentrerà la seconda parte di questo elaborato di tesi. Tale malattia genetica, con un'incidenza di 1 su 1000 nati, è tra le più comuni ed è la principale causa di insufficienza renale dell'adulto. Nella pratica clinica, la funzionalità renale è valutata tramite la misurazione di creatinina, con la quale è possibile stimare in modo indiretto, il tasso di filtrazione glomerulare (eGFR); questo metodo non permette di valutare separatamente la funzionalità del rene destro e sinistro. Il secondo obiettivo di questa tesi è, quindi, valutare se la tecnica dell'*imaging* di diffusione potrebbe essere utile per fornire informazioni sullo stato della malattia e sul grado di avanzamento di essa, concentrandosi sui dati di follow-up dei pazienti. Le informazioni fornite dalle immagini DWI potrebbero essere utili per l'eventuale programmazione di un intervento farmacologico o per l'espianto di uno dei reni.

I risultati ottenuti in questa tesi sono stati presentati al congresso della Società Internazionale di Risonanza Magnetica (ISMRM) tenutosi a Bologna il 4-5 Febbraio 2016 a Bologna.

Per quanto riguarda i software utilizzati, l'algoritmo per la costruzione del tensore di diffusione e dell'analisi delle immagini DWI è stato implementato in Matlab.

La stesura di questa tesi è strutturata in cinque capitoli:

Nei primi due capitoli vengono presentate le principali caratteristiche della risonanza magnetica in diffusione, del tensore di diffusione, le caratteristiche estraibili da esso e una descrizione delle strutture renali analizzate.

Nel terzo capitolo è stato illustrato lo stato dell'arte dell'*imaging* di diffusione renale, e i valori utilizzati per il confronto con la letteratura.

Nel quarto capitolo viene descritta la parte implementativa di questa tesi, sia per quanto riguarda la costruzione del tensore, l'analisi delle immagini DWI e la metodologia adottata per la selezione delle ROI delle varie strutture di interesse.

Nel quinto capitolo vengono esposti i risultati riguardo ai soggetti sani, alle diverse strutture renali e all'analisi dei valori di follow-up dei pazienti policistici.

Capitolo 1

Diffusion Tensor Imaging

Nel seguente capitolo verranno descritte in una prima parte le principali caratteristiche della risonanza magnetica di diffusione e i principi fisici su cui essa si basa. In una seconda parte verranno descritti due metodi differenti per la costruzione del tensore di diffusione dalle immagini DWI e le informazioni di isotropia estraibili da esso.

1.1 Principi di diffusione molecolare

La diffusione molecolare è un fenomeno legato al movimento di traslazione termico delle molecole in sospensione in un fluido. Il risultato è un moto disordinato in cui le direzioni delle traiettorie non sono prevedibili, ma è possibile prevedere lo spostamento quadratico medio compiuto dalla particella rispetto a una posizione originale in un tempo T_D [1.1].

$$\langle r^2 \rangle = 2 \cdot D \cdot T_D \quad [1.1]$$

Come si evince dalla formula [1.1], lo spostamento quadratico medio (mm) è direttamente proporzionale al tempo di diffusione $T_D(s)$ e al coefficiente di diffusione D (mm^2/s). Quest'ultimo è definito dalla relazione di Stokes-Einstein [1.2] che valuta il caso di una particella sferica immersa in un fluido viscoso.

$$D = \mu \cdot K_B \cdot T = \frac{K_B}{6 \cdot \pi \cdot r_p \cdot \eta} \cdot T \quad [1.2]$$

dove μ è la mobilità della particella, inversamente proporzionale al raggio della particella r_p e alla viscosità del mezzo η , K_B è la costante di Boltzmann ($1,38054 \times 10^{-23} \text{ Joule/K}$) e T è la temperatura assoluta (gradi Kelvin). Prendendo ora in considerazione l'acqua libera a 37° , questa ha un valore di coefficiente di diffusione pari a $3 \cdot 10^{-9} m^2 s^{-1}$; tuttavia, a causa delle barriere fisiologiche presenti nel nostro corpo, come le membrane cellulari e le fibre stesse, la mobilità delle molecole d' acqua

potrebbe essere vincolata, con conseguente decremento del valore del coefficiente di diffusione D . Risulta quindi evidente come tale coefficiente sia legato all'integrità e funzionalità stessa dei tessuti e di conseguenza possa fornire informazioni su possibili deformazioni patologiche.

1.1.1 Diffusione isotropa

Prendendo in considerazione il caso monodimensionale, e assumendo che le molecole d'acqua si muovono senza ostacoli lungo l'asse x , il loro movimento seguirà una distribuzione di probabilità Gaussiana [1.3].

$$P(x, t) = \frac{1}{\langle r^2 \rangle \cdot \sqrt{2 \cdot \pi}} e^{-\frac{x^2}{2 \cdot \langle r^2 \rangle}} = \frac{1}{\sqrt{4 \cdot \pi \cdot D \cdot t}} e^{-\frac{x^2}{4 \cdot D \cdot t}} \quad [1.3]$$

La varianza della Gaussiana è rappresentata secondo la legge di Einstein ($\sigma^2 = 2 \cdot D \cdot T_D$). Per quanto riguarda invece il caso tridimensionale la distribuzione di probabilità assume la seguente formulazione [1.4]:

$$P(r, t) = \frac{1}{\sqrt{(4 \cdot \pi \cdot D \cdot t)^3}} e^{-\frac{r^T \cdot r}{4 \cdot D \cdot t}} = \frac{1}{\sqrt{(4 \cdot \pi \cdot D \cdot t)^3}} e^{-\frac{x^2 + y^2 + z^2}{4 \cdot D \cdot t}} \quad [1.4]$$

Tale distribuzione individua una superficie chiamata *sfera di diffusione* quando viene soddisfatta la seguente condizione:

$$x^2 + y^2 + z^2 = \sqrt{2Dt}^2 \quad [1.5]$$

Il raggio della sfera coincide con il raggio medio ricavato dalla legge di Einstein [15]. Nel caso di diffusione isotropa risulta, quindi, impossibile individuare una direzione preferenziale del moto della particella, di conseguenza il moto viene caratterizzato da un unico valore del coefficiente di diffusione D , uguale in tutte le tre direzioni.

Un esempio di una molecola che compie un moto diffusivo è una molecola d'acqua che si muove nel mezzo di un recipiente pieno d'acqua.

1.1.2 Diffusione anisotropa

Se il moto diffusivo delle molecole non è libero in tutte le direzioni dello spazio, ma vincolato, allora si parla di diffusione anisotropa. I vincoli imposti dall'ambiente impongono una direzione preferenziale al moto della particella, e quindi un valore maggiore di D in quella direzione. Nella figura 1.1 viene riportata una rappresentazione esemplificativa 2D di un moto anisotropo in cui i vincoli ambientali impongono una direzione di diffusione preferenziale lungo l'asse y .

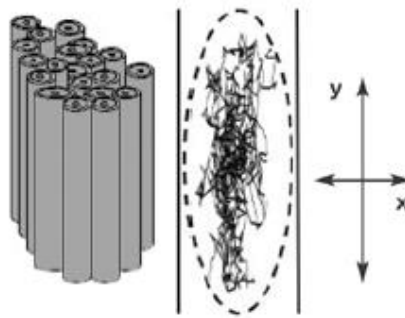


Figura 1.1: : rappresentazione esemplificativa 2D della diffusione anisotropa. Le fibre impongono al moto delle particelle una direzione preferenziale sul piano xy , condizione descritta dall'ellisse

Nel caso di diffusione anisotropa non è più sufficiente un solo valore di D per caratterizzare il moto della particella, bensì è necessario calcolare un tensore di diffusione che rappresenti l'andamento della diffusione nelle tre direzioni dello spazio.

$$D = \begin{bmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{yx} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{zx} & D_{zy} & D_{zz} \end{bmatrix} \quad [1.6]$$

Il tensore di diffusione è simmetrico, ovvero $D_{ij} = D_{ji}$ con $i \neq j$; questa caratteristica è molto importante perché permette di ricavare il tensore attraverso la stima di sei parametri, anziché nove. Per quanto riguarda la distribuzione delle particelle, queste identificano nello spazio una superficie che viene chiamata *ellissoide di diffusione*, il cui asse principale ha la direzione del coefficiente di diffusione maggiore e la distribuzione di probabilità è descritta dalla formula [1.7].

$$P(\mathbf{r}, t) = \frac{1}{\sqrt{(4 \cdot \pi \cdot |D| \cdot t)^3}} e^{-\frac{\mathbf{r}^T \cdot D^{-1} \mathbf{r}}{4 \cdot t}} \quad [1.7]$$

1.2 Il segnale RM di diffusione

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

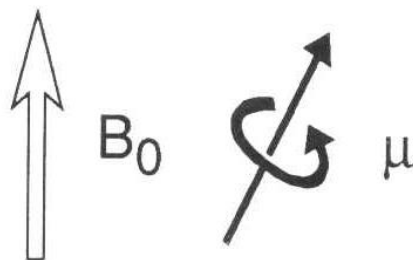


Figura 1.2: orientazione di un nucleo dotato di momento magnetico in un campo magnetico esterno B_0

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

1.2.1 Sequenza di Stejskal-Tanner

La sequenza di Stejskal-Tanner è una particolare sequenza spin-echo, in grado di ottenere un segnale MRI legato al coefficiente di diffusione D . La sequenza spin-echo per immagini MRI prevede l'applicazione di due impulsi a radiofrequenza, il primo a 90° e il secondo a 180° . Con il primo impulso, il vettore magnetizzazione si porta nel piano ortogonale al campo B_0 , e una volta terminata l'applicazione del primo impulso la magnetizzazione ritorna alla condizione iniziale attraverso la perdita di magnetizzazione spin-spin con un tempo T_2 , chiamato 'tempo di rilassamento trasversale'. Dopo un tempo $TE/2$ dall'applicazione dell'impulso a 90° , viene applicato il secondo impulso a 180° , il quale permette di invertire il verso degli spin. Dopo un tempo di circa 10-100 ms, chiamato tempo di echo TE , si misura il segnale MRI di perdita di magnetizzazione residua. Per riuscire ad ottenere un segnale MRI sensibile al moto di diffusione delle molecole è necessario applicare una coppia di gradienti speciali di breve durata, chiamati 'diffusione sensitizing gradients', a cavallo dell'impulso RF di 180° . Tali impulsi di gradiente hanno stessa direzione ma verso opposto. Di seguito l'immagine schematizzata della sequenza di Stejskal-Tanner.

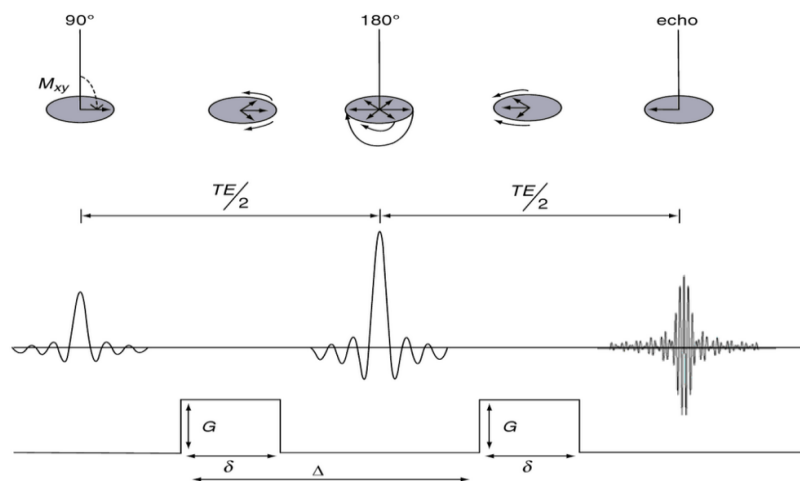


Figura 1.3 : Rappresentazione schematica della sequenza di acquisizione di Stejskal-Tanner. Nella parte superiore è rappresentato il comportamento degli spin ai vari impulsi, il primo di 90° e il secondo a 180° . Nella parte inferiore la rappresentazione dei gradienti di campo magnetico di durata δ , intensità G e applicati a un intervallo Δ

Quando viene applicato un impulso di gradiente lungo una direzione, per esempio la direzione x , i momenti magnetici μ associati allo spin in coordinata x_i subiscono uno sfasamento Φ_i , che si quantifica secondo la formula [1.8]:

$$\Phi_i = \int_0^\delta \gamma G x_i dt \quad [1.8]$$

Dove G rappresenta l'intensità del gradiente applicato lungo la direzione x e δ la sua durata. Se lo spin è stazionario lungo la direzione x , quindi non subisce nessun moto diffusivo in tale direzione, lo sfasamento Φ_i dovuto al primo gradiente viene annullato grazie allo sfasamento dovuto al secondo gradiente nella stessa direzione ma di verso opposto; quindi lo sfasamento totale è nullo. Al contrario, se durante il tempo Δt , che intercorre tra i due impulsi di gradiente, lo spin ha subito fenomeni di moto diffusivo lungo la direzione x , lo sfasamento totale non è nullo, ma è proporzionale alla distanza percorsa Δx secondo i seguenti passaggi:

$$\Delta \Phi = \Phi_1 - \Phi_2 = \gamma G x_1 - \gamma G x_2 = \gamma G \Delta x \quad [1.9]$$

Riassumendo, se i nuclei non sono soggetti a movimenti diffusivi durante l'applicazione dei due gradienti non ci sarà alcun sfasamento, mentre se, a causa dei moti diffusivi, i nuclei avranno cambiato la loro posizione lo sfasamento non sarà nullo. Nella figura di seguito un'immagine semplificata della sequenza Stejskal Tanner, nella quale vengono applicati i due gradienti lungo l'asse x , e si può notare come gli unici che hanno uno sfasamento rispetto alla condizione iniziale sono i nuclei con un moto in direzione orizzontale.

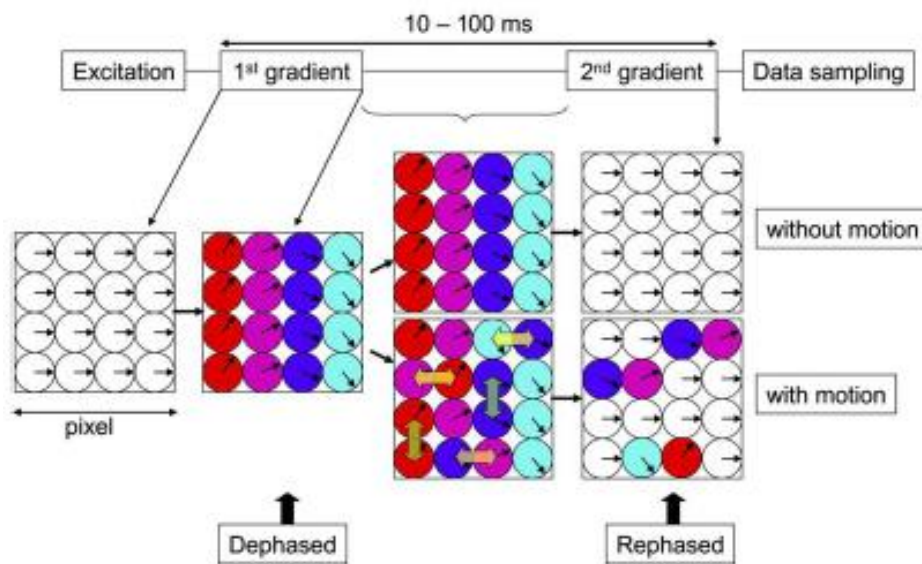


Figura 1.4: schema semplificato della sequenza Stejskal Tanner: effetti sugli spin

1.2.2 Diffusion Weighted Imaging (DWI)

Con la sequenza di acquisizione appena presentata è possibile ottenere un segnale MRI direttamente proporzionale al segnale non pesato in diffusione S_0 , al coefficiente di diffusione D e al b-value secondo la seguente relazione:

$$S = S_0 e^{-b \cdot D} \quad [1.10]$$

Se fossimo in presenza di un moto isotropo, con la sola acquisizione delle immagini S_0 ($b=0 \text{ mm}^2/s$) e S saremmo in grado di caratterizzare completamente il modo diffusivo con il solo coefficiente D . Per quanto riguarda il *b-value*, questo è un parametro direttamente proporzionale alle caratteristiche dei gradienti, alla loro durata e al tempo che intercorre tra l'applicazione del primo gradiente e il successivo.

$$b = (\gamma \delta G)^2 t_d = (\gamma \delta G)^2 \left(\Delta t - \frac{\delta}{3} \right) \quad [1.11]$$

È necessario imporre che la durata dei gradienti sia molto inferiore al tempo che intercorre tra un gradiente e l'altro, in questo modo è possibile ipotizzare con una buona approssimazione che non avvengano moti diffusivi durante l'applicazione dei gradienti. Assumendo quindi $\delta \ll \Delta t$, il *b-value* assume la forma:

$$b = (\gamma \delta G)^2 \Delta t \quad [1.12]$$

La scelta del b-value ha un ruolo molto importante: l'aumento del b-value aumenta, infatti, la pesatura in diffusione [14], riduce il SNR ed aumenta il tempo di acquisizione. È necessario, quindi, un compromesso ottimale al fine di massimizzare il contrasto in diffusione tra il segnale S_0 e S e il rapporto segnale rumore. Nella figura di seguito la relazione tra il b-value e l'intensità del segnale.

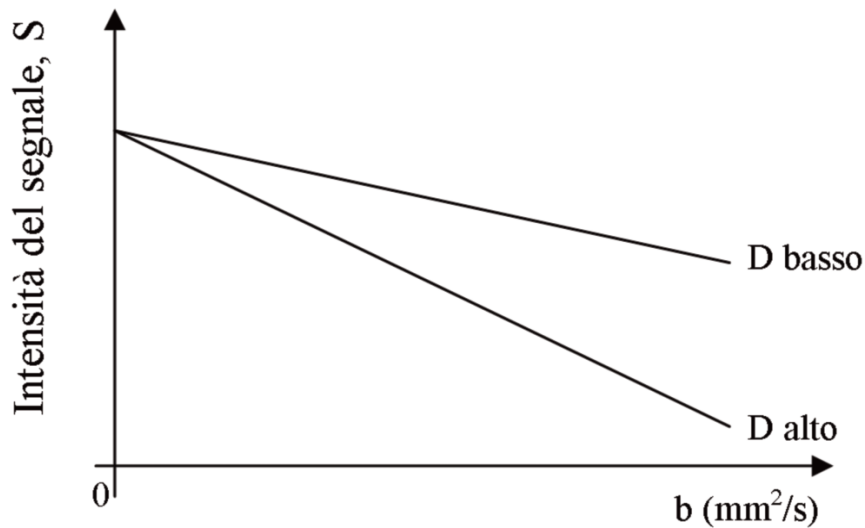


Figura 1.5: Relazione tra applicazione die gradienti, perdita di segnale e coefficiente di diffusione.

Nel caso di studio è stato utilizzando un $b\text{-value}=500$ (mm^2/s).

Una volta acquisite le immagini S e S_0 e noto il $b\text{-value}$, è possibile ricavare il coefficiente di diffusione grazie alla formula [1.13]:

$$\ln\left(\frac{S}{S_0}\right) = -D \cdot b \quad [1.13]$$

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

$$\frac{S}{S_0} = \sum_i p_i e^{-bD_i} \quad [1.14]$$

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

$$ADC = \sum_i p_i D_i \quad [1.15]$$

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

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

Come accennato precedentemente, nel caso in cui il moto in analisi sia isotropo, questo viene caratterizzato con il solo coefficiente ADC.

1.3 Determinazione del tensore di diffusione

Nei tessuti in cui si ha diffusione anisotropa, non è più sufficiente ricavare il solo coefficiente di diffusione apparente per caratterizzare il moto, bensì è necessario ricavare il tensore di diffusione D . Il tensore di diffusione è una matrice simmetrica 3×3 , quindi è sufficiente ricavare solo sei parametri per costruirla. Per ricavare i sei parametri sono necessari una acquisizione non pesata in diffusione e almeno altre sei immagini pesate in diffusione. Di seguito verranno illustrati due metodi per calcolare il tensore di diffusione dalle immagini DWI, il metodo della matrice H e il metodo della matrice B [11]. In questo studio sono stati implementati entrambi i metodi con il software Matlab.

1.3.1 metodo della matrice H

I sei elementi necessari per ricavare il tensore sono contenuti all'interno del vettore d [1.17], l'incognita del metodo H .

$$d = [D_{xx} \ D_{yy} \ D_{zz} \ D_{xy} \ D_{xz} \ D_{yz}]^T \quad [1.17]$$

Per ottenere un'immagine DWI sono stati utilizzati tre gradienti nelle tre direzioni dello spazio. Per ognuna della sei immagini sono stati utilizzati dei gradienti diversi. Le informazioni dei gradienti sono contenute all'interno dell'intestazione dei file DICOM delle immagini DWI, e per ciascun voxel è necessario costruire una matrice H [1.18], di dimensioni 6×6 , che contiene una combinazione di tutte le componenti normalizzate dei gradienti utilizzati:

$$H = \begin{pmatrix} g_{x1}^2 & g_{y1}^2 & g_{z1}^2 & 2g_{x1}g_{y1} & 2g_{x1}g_{z1} & 2g_{y1}g_{z1} \\ g_{x2}^2 & g_{y2}^2 & g_{z2}^2 & 2g_{x2}g_{y2} & 2g_{x2}g_{z2} & 2g_{y2}g_{z2} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ g_{x6}^2 & g_{y6}^2 & g_{z6}^2 & 2g_{x6}g_{y6} & 2g_{x6}g_{z6} & 2g_{y6}g_{z6} \end{pmatrix} \quad [1.18]$$

Una volta ricavato il *b-value*, viene costruito per ciascun voxel il vettore Y [1.19] in cui vengono inseriti gli *apparent diffusion coefficients* (ADCs) ricavati da ogni immagine DWI e dall'immagine S0 non pesata in diffusione.

$$Y = [\ln(S_0/S_1)/b, \ln(S_0/S_2)/b, \dots, \ln(S_0/S_6)/b]^T \quad [1.19]$$

Per ogni acquisizione è contemplato del rumore, per cui la relazione che lega il vettore d, e Y e la matrice H è la seguente:

$$Y = Hd + \eta \quad [1.20]$$

A causa dell'impossibilità di distinguere il rumore η dal vettore d che si vuole ricavare, è necessario porre $\eta=0$. In questo modo, è possibile ottenere il vettore d moltiplicando entrambi i lati dell'equazione precedente per l'inversa della matrice H, H^{-1} [1.21].

$$(H^{-1}H)d = d = H^{-1}Y \quad [1.21]$$

Una volta ottenuto il vettore d, sono stati ricavati tutti i parametri per costruire il tensore di diffusione.

1.3.2 metodo della matrice B

Le incognite di questo metodo sono sette parametri, e sono contenuti all'interno del vettore α [1.22], il quale contiene non solo i sei elementi necessari per costruire il tensore ma anche il logaritmo naturale dell'immagine S0.

$$\alpha = [D_{xx}, D_{yy}, D_{zz}, D_{xy}, D_{xz}, D_{yz}, \ln(S_0)]^T \quad [1.22]$$

Alla costruzione della matrice B [1.23] contribuiscono non solo i gradienti nelle tre direzioni, ma anche il b-value, anch'esso ricavabile dall'intestazione dei file DICOM delle immagini. Un'ulteriore differenza della matrice B rispetto alla matrice H è l'inserimento delle informazioni di tutte le immagini utilizzate: delle sei immagini

pesate in diffusione e della S_0 , per cui la dimensione di tale matrice è 7×7 . Infine l'ultima colonna contiene un vettore di 1.

$$B = \begin{pmatrix} -b \cdot g_{x_0}^2 & -b \cdot g_{y_0}^2 & -b \cdot g_{z_0}^2 & -b \cdot 2g_{x_0}g_{y_0} & -b \cdot 2g_{x_0}g_{z_0} & -b \cdot 2g_{y_0}g_{z_0} & 1 \\ -b \cdot g_{x_1}^2 & -b \cdot g_{y_1}^2 & -b \cdot g_{z_1}^2 & -b \cdot 2g_{x_1}g_{y_1} & -b \cdot 2g_{x_1}g_{z_1} & -b \cdot 2g_{y_1}g_{z_1} & 1 \\ & & & \vdots & & & \\ -b \cdot g_{x_6}^2 & -b \cdot g_{y_6}^2 & -b \cdot g_{z_6}^2 & -b \cdot 2g_{x_6}g_{y_6} & -b \cdot 2g_{x_6}g_{z_6} & -b \cdot 2g_{y_6}g_{z_6} & 1 \end{pmatrix} \quad [1.23]$$

Avendo la prima immagine $b\text{-value}=0$, i primi sei elementi della prima riga sono degli 0.

Per ciascun voxel viene costruito un vettore colonna X [7×1] [1.24], in cui vengono inseriti i logaritmi naturali delle sette immagini per quel voxel.

$$X = \begin{pmatrix} \ln(S_0) \\ \ln(S_1) \\ \ln(S_2) \\ \ln(S_3) \\ \ln(S_4) \\ \ln(S_5) \\ \ln(S_6) \end{pmatrix} \quad [1.24]$$

La relazione che lega i vettori X , α , la matrice B e il vettore rumore η è la seguente:

$$X = B\alpha + \eta \quad [1.25]$$

Come nel metodo precedente, a causa dell'impossibilità di distinguere il rumore η dal vettore α che si vuole ricavare, è necessario porre $\eta=0$. In questo modo, è possibile ottenere il vettore α moltiplicando entrambi i lati dell'equazione precedente [1.25] per l'inversa della matrice B , B^{-1} [1.26], in quanto essa è una matrice quadrata.

$$(B^{-1}B)\alpha = \alpha = B^{-1}X \quad [1.26]$$

Una volta ottenuto il vettore α , sono stati ricavati tutti i parametri per costruire il tensore di diffusione.

1.3.3 confronto metodo matrice B e matrice H

In questo studio sono stati implementati entrambi i metodi ed è stato calcolato il tensore di diffusione con entrambi. Il metodo della matrice B presenta alcuni vantaggi rispetto al metodo della matrice H. In primo luogo con la matrice B è possibile calcolare il tensore anche utilizzando diversi valori di b-value [11], in aggiunta al valore di $b=0$. In secondo luogo, viene stimato anche il logaritmo naturale dell'immagine S_0 , $\ln(S_0)$, mentre nel metodo della matrice H, $\ln(S_0)$ compare solo nel vettore Y come $(\ln(S_0 / S_i)) / b$. Ulteriore vantaggio riguarda la possibilità di utilizzare il metodo dei minimi quadrati pesati nel momento in cui le acquisizioni con $b>0$ sono maggiori di sei. Questo vantaggio non viene preso in considerazione in questo caso di studio in quando sono state utilizzate solo sei immagini con un $b\text{-value}>0$. Infine con il metodo della matrice B è possibile calcolare la matrice di covarianza, $B^T \Sigma^{-1} B$, la quale potrebbe essere utile per calcolare la propagazione dell'errore e l'ottimizzazione dei parametri DTI.

In questo caso di studio i b-value utilizzati sono $b=0$ (mm^2/s) e $b=500$ (mm^2/s) e sono state ottenute sei acquisizioni con $b>0$. Il metodo utilizzato per calcolare il tensore di diffusione è stato il metodo H.

1.4 Estrazione di informazioni dal tensore

Dopo aver determinato il tensore di diffusione D, è possibile sfruttare le informazioni contenute in esso, tramite l'utilizzo dei suoi autovalori e autovettori, al fine di ottenere informazioni riguardo il moto di diffusione. Ciascun autovalore $(\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3)$ è associato a un autovettore (v_1, v_2, v_3) , dove per convenzione l'autovalore λ_1 più grande corrisponde all'autovettore v_1 . Gli autovalori e autovettori corrispondenti rappresentano rispettivamente le diffusività associate alle principali direzioni di diffusione. È stato dimostrato come il fenomeno della diffusività nei mezzi anisotropi possa essere rappresentato da un ellissoide, il quale rappresenta l'insieme di punti in cui, fissato il tempo di diffusione, è ugualmente probabile trovare delle particelle. In tale modello, l'asse maggiore dell'ellissoide rappresenta la principale direzione di diffusione, mentre l'eccentricità dell'ellissoide fornisce informazioni riguardo al suo grado di anisotropia e simmetria. Nel caso in cui, invece, la diffusione è isotropa, questa è rappresentata da una sfera (Figura 1.6).

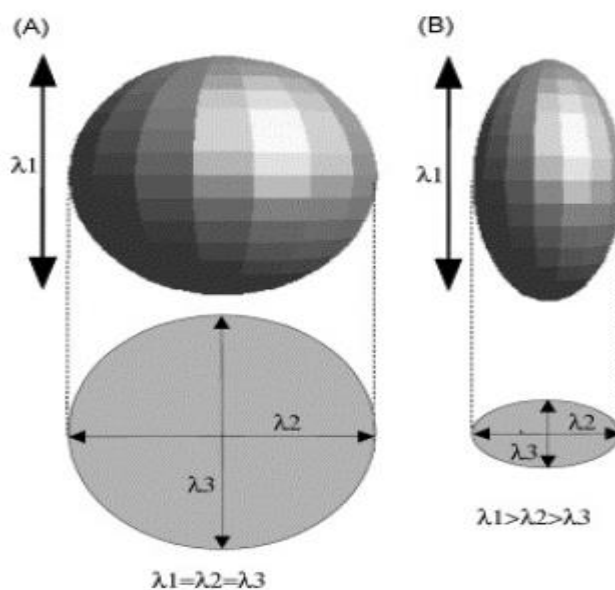


Figura 1.6: confronto fra sfera di diffusione ed ellissoide di diffusione. I tre autovalori del tensore di diffusione permettono di caratterizzare la condizione di isotropia e anisotropia. A) nel caso di uguaglianza dei tre autovalori il processo diffusivo è rappresentato da una sfera e non esiste una direzione preferenziale. B) caso in cui vi è disuguaglianza degli autovalori e la direzione preferenziale è rappresentata dall'autovettore con autovalore maggiore.

Combinando opportunamente le informazioni contenute nel tensore di diffusione, è possibile ricavare indici di diffusione utili per caratterizzare il grado di isotropia o anisotropia del moto per ciascun voxel e quindi dell'intera immagine.

1.4.1 Indici di diffusione anisotropa

Di seguito verranno elencati i principali indici di diffusione anisotropa [10].

- **Diffusività media** (*Mean Diffusivity, MD*): definita dalla media degli autovalori [1.27], rappresenta la diffusività media delle molecole in un determinato voxel.

$$MD = \frac{\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3}{3} \quad [1.27]$$

- **Diffusività radiale** (*Radial Diffusivity, RD*): definita dalla media degli autovalori minori (λ_2, λ_3). Indica la diffusività delle direzioni perpendicolari alla direzione principale v_1 .

$$RD = \frac{\lambda_2 + \lambda_3}{2} \quad [1.28]$$

- **Diffusività assiale** (*Axial Diffusivity, AD*): rappresenta la diffusività lungo la direzione principale, il suo valore coincide con l'autovalore principale λ_1 .

$$AD = \lambda_1 \quad [1.29]$$

Di seguito vengono elencati gli indici che permettono di valutare il grado di isotropia e anisotropia del moto diffusivo. Ogni indice è normalizzato, in modo che il massimo grado di isotropia è rappresentato dal numero 0, mentre il massimo grado di anisotropia è rappresentato dal numero 1.

- **Anisotropia frazionaria** (*Fractional Anisotropy, FA*): è uno degli indici più utilizzati in DTI e rappresenta una deviazione standard normalizzata delle diffusività lungo i tre assi. Viene calcolata dal confronto di ogni autovalore con la media dei tre autovalori del tensore. Il valore di FA viene spesso usato per descrivere la forma del profilo di diffusione per mezzo di un unico scalare. Partendo da un valore nullo di FA (diffusione isotropica) in cui la forma dell'ellissoide è sferica, man mano che il valore di FA cresce la forma dell'ellissoide risulta sempre più allungata, fino a raggiungere la forma lineare per FA=1 (massima anisotropia) (Figura 1.7). Tale parametro non dà informazioni per quanto riguarda l'orientazione del moto, è infatti un indice invariante alla rotazione.

$$FA = \sqrt{\frac{3}{2}} \sqrt{\frac{(\lambda_1 - MD)^2 + (\lambda_2 - MD)^2 + (\lambda_3 - MD)^2}{\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2}} \quad [1.30]$$

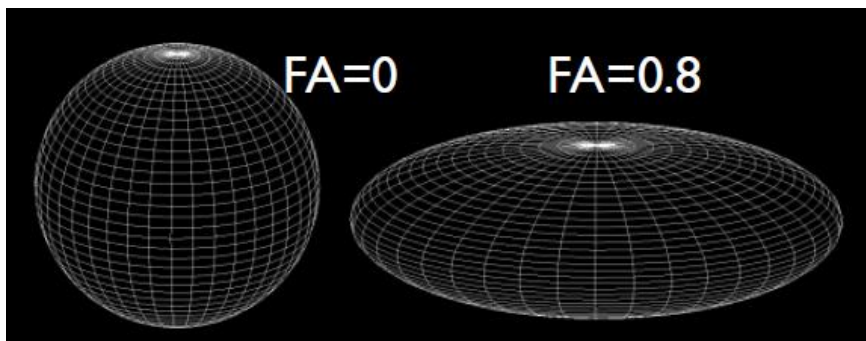


Figura 1.7: Valori di FA secondo diversi gradi di anisotropia

- **Rapporto volumetrico** (*Volume Ratio, VR*): rappresenta il rapporto tra il volume dell'ellissoide, rappresentato dal tensore di diffusione, e il volume di una sfera di diffusione con raggio pari a MD, ovvero la media degli autovalori dell'ellissoide.

$$VR = 1 - \frac{\lambda_1 \lambda_2 \lambda_3}{MD^3} \quad [1.31]$$

- **Anisotropia relativa scalata** (*scaled relative anisotropy, sRA*): rappresenta il rapporto fra la componente anisotropica e isotropica del tensore di diffusione. Spesso viene utilizzato l'indice di anisotropia relativa, RA, il quale assume un intervallo di valori $[0, \sqrt{2}]$. In questo studio si è preferito mantenere lo stesso intervallo di valori per gli indici di isotropia e anisotropia, per cui è stato utilizzato l'indice di *anisotropia relativa scalata*, in cui 0 rappresenta massima isotropia e 1 massima anisotropia.

$$sRA = \frac{\sqrt{(\lambda_1 - MD)^2 + (\lambda_2 - MD)^2 + (\lambda_3 - MD)^2}}{\sqrt{6} \cdot MD} \quad [1.32]$$

Gli indici utilizzati in questa tesi sono: MD, FA, VR, sRA.

Capitolo 2

Il rene

In questo capitolo verranno descritti brevemente il rene, la sua struttura e fisiologia, ed alcune patologie che saranno oggetto di studio in questo studio, la malattia policistica (ADPKD) e i carcinomi renali.

2.1 Il rene

I reni sono organi pari parenchimatosi, il loro ruolo è di filtrare dal sangue i prodotti di scarto del metabolismo e di espellerli tramite l'urina. Insieme alle vie urinarie costituiscono l'apparato urinario. La loro forma è simile a due grosse fave di colore bruno-rossastro e sono posti a lato della colonna vertebrale (tra T12 e L3). Per quanto riguarda le dimensioni e il peso del rene sano, queste sono molto variabili. In media, ciascun rene ha una lunghezza di 12 cm, una larghezza di 7 cm e uno spessore di 3 cm, con un peso di circa 135-155 grammi. Inoltre, il rene destro è leggermente più corto e tozzo ed è posto leggermente più in basso del sinistro a causa dell'ingombro del fegato.

L'elemento funzionale del rene è il nefrone, esso comprende varie strutture in cui avvengono i processi di filtrazione, riassorbimento e di secrezione. Ogni nefrone è composto da un glomerulo e da un tubulo renale, nel quale si possono suddividere quattro diverse porzioni: la capsula di Bowman, il tubulo prossimale, l'ansa di Henle e il tubulo distale. Ogni rene contiene circa un milione di nefroni (Figura 2.1).

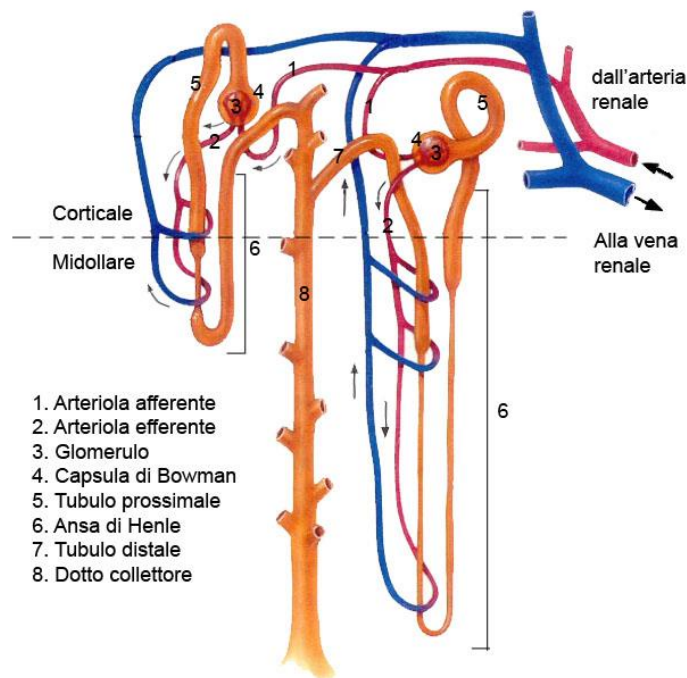


Figura 2.1: schema di due nefroni

Il glomerulo è costituito da una fitta rete di capillari, che riceve sangue arterioso dall'arteriola afferente. Dopo essere passato attraverso i capillari, il sangue esce dal glomerulo tramite l'arteriola efferente. Il glomerulo è rivestito dalla capsula di Bowman, l'estremità del tubulo renale a fondo cieco. Le pareti del glomerulo e della capsula di Bowman sono strutturate in modo da permettere il passaggio di elevati volumi di liquido, ed è qui che avviene il primo processo di filtrazione. Tale primo processo è regolato dalla pressione idrostatica che spinge il plasma ad uscire dai vasi sanguigni. Il filtrato glomerulare ha una composizione e concentrazione molto simile a quella del plasma, tranne le proteine, le quali non vengono filtrate. Dopo questa fase il filtrato glomerulare scorre nel tubulo prossimale. Le fasi successive alla filtrazione sono le fasi di riassorbimento e di secrezione. Il riassorbimento è un processo di trasporto di sostanze presenti nel filtrato dal lume del tubulo al sangue che scorre nei capillari peritubulari. La secrezione, invece, rimuove selettivamente molecole dal sangue e le aggiunge al liquido presente nel lume. Il tubulo prossimale viene seguito dall'ansa di Henle, un segmento sottile a forma di U, appena 30 μm , composto da un braccio discendente, un'ansa, e un braccio ascendente. L'ultimo tratto del nefrone è il tubulo distale il quale inizia con un segmento rettilineo che rappresenta la prosecuzione del

braccio ascendente dell'ansa di Henle. Infine, i tubuli di vari nefroni sboccano nel dotto collettore, una struttura tubulare che accoglie l'urina.

Prendendo in considerazione una sezione del rene, è possibile distinguere due regioni: una parte esterna, di colore più cupo, la corticale, e una parte interna, più chiara, chiamata midollare. La corticale è situata direttamente sotto la capsula renale, essa forma sia degli archi che sovrastano le basi delle piramidi di Malpighi, sia le colonne renali, poste tra le varie piramidi. La zona midollare, invece, si trova nella zona interna dei reni, ed è formata dalle piramidi di Malpighi. Tale piramidi hanno una forma triangolare con la base rivolta verso la corticale e hanno un aspetto striato, poiché sono percorse assialmente dai dotti collettori e dotti papillari (Figura 2.2).

Sezione frontale del rene

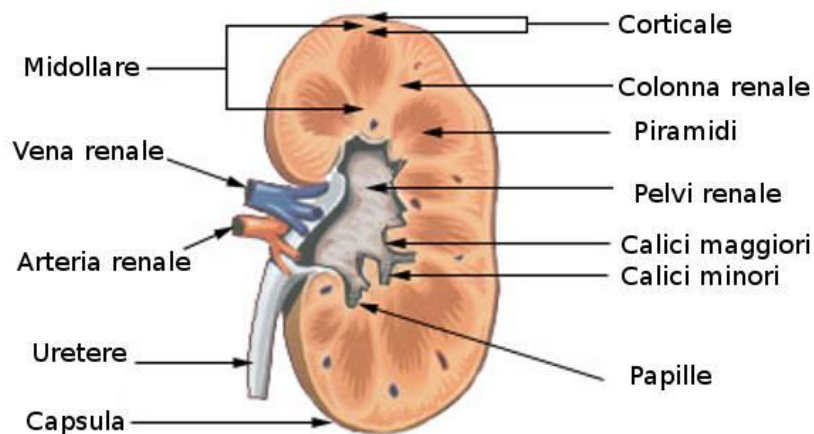


Figura 2.2: sezione del rene

La diversa struttura tra la midollare e la corticale è visualizzabile anche nelle immagini di risonanza magnetica in diffusione. Nel nostro caso di studio sono state utilizzate immagini di risonanza di reni sani in vista assiale, e sono stati analizzati i parametri DTI di corteccia e medulla al fine di poter distinguere queste due strutture.

2.2 Il rene policistico

La malattia del rene policistico può essere autosomica recessiva o autosomica dominante. La prima è una malattia rara che colpisce i neonati e i bambini ed è caratterizzata dalla presenza di numerose piccole cisti e dotti dilatati in entrambi i reni. La malattia del rene autosomica dominante (ADPKD), invece, è il caso di studio. E' una delle malattie genetiche più comuni (incidenza di 1 su 1000 nati) ed è la principale causa di insufficienza renale [16]. Tale malattia è caratterizzata dalla formazione di cisti, di contenuto sieroso giallo, in entrambi i reni (Figura 2.3). Durante la vita dell'individuo le cisti aumentano sia in numero che in dimensioni fino a causare, nella metà dei pazienti, la perdita totale di funzionalità. Anche altri organi possono essere colpiti ed è possibile la presenza di cisti anche nel fegato e nel pancreas. Inoltre, può essere interessato in questa patologia anche il sistema cardiovascolare, con l'insorgere di ipertensione e di aneurismi.

Il gene responsabile di tale malattia è comunemente sul cromosoma 16 (gene PKD1), tuttavia è stato dimostrato che la stessa malattia può essere legata ad alterazioni del cromosoma 4 (gene PKD2) e più raramente ad altre alterazione cromosomiche. In entrambi i casi la malattia evolve verso gradi crescenti di insufficienza renale, fino a raggiungere l'insufficienza renale terminale. Tale insufficienza viene raggiunta più precocemente nel caso del gene PKD1, in media a 54 anni, mentre a 74 anni nel caso del gene PKD2.

Durante il decorso della malattia i reni si ingrandiscono a dismisura in dimensione, peso e volume. Un rene sano pesa intorno a 150 g, mentre un rene affetto da questa malattia può crescere da 80 fino a 120 volte questa dimensione. In particolare una singola ciste può raggiungere i 9 o 10 cm di lunghezza, ovvero la dimensione di un rene sano.

Nei soggetti affetti da reni policistici è spesso presente ematuria o dolore dovuto allo sviluppo di calcoli o infezioni renali. Le cisti di grande dimensione possono dare la sensazione di ingombro e parallelamente all'aumento di dimensione può comparire anche ipertensione. Inoltre, un evento raro ma drammatico è la rottura delle cisti.

La progressione della malattia si suddivide in due stadi: lo stadio più lieve (1-2) e quello più avanzato (3-4). L'identificazione dello stadio si valuta in base al valore di GFR (glomerular filtration rate), calcolato dal valore di creatina del paziente. In questa tesi

vengono analizzati entrambi gli stadi, prendendo in considerazione anche i valori di GFR dei pazienti.

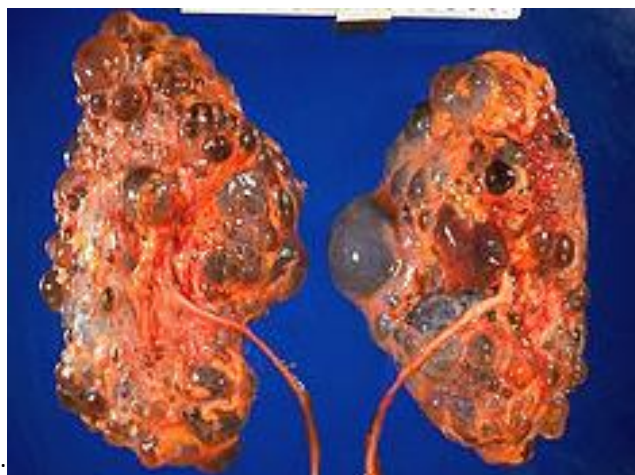


Figura 2.3: esempio di reni policistici

Terapie attuali

Attualmente in Italia non sono disponibili delle terapie per la malattia del rene policistico [16]. Al momento è possibile solo trattare e alleviare determinati sintomi, ricorrere alla dialisi, o all'intervento chirurgico, che può consistere in un trapianto di reni o nello svuotamento delle cisti.

Nuove terapie (*Tolvaptan*):

Fino a oggi i medici hanno avuto a disposizione gli strumenti sufficienti a trattare i soli sintomi della malattia. Un nuovo trattamento farmacologico in grado di garantire un miglioramento della prospettiva di vita nel lungo termine è quello basato sul *Tolvaptan*, il primo farmaco approvato in Europa per il trattamento del rene policistico [18].

Lo studio clinico si basa sui risultati ottenuti nell'arco di 3 anni su 1445 adulti affetti dalla malattia del rene autosomica dominante. I risultati hanno evidenziato una più lenta progressione della malattia negli individui a cui è stato somministrato il farmaco rispetto a quelli trattati con il placebo. In particolare, *Tolvaptan* è riuscito a ridurre significativamente il tasso di aumento del volume renale totale di circa 50% rispetto al

placebo. Inoltre, si è dimostrata una riduzione statisticamente significativa del rischio di peggioramento della funzione renale, infezioni e dolore.

Tolvaptan ha ricevuto l'autorizzazione europea all'immissione in commercio nel maggio 2015. L'uso di *Tolvaptan* è raccomandato per pazienti con funzioni renali normali o moderatamente ridotte e con malattia in rapida progressione.

2.3 Carcinoma renale

Il tumore renale e delle vie urinarie rappresenta circa il 2% di tutti i tumori e si presenta nel sesso maschile con una frequenza doppia rispetto al sesso femminile. La probabilità di sviluppare questo tumore cresce con l'aumentare dell'età e il picco massimo di insorgenza è intorno ai 60 anni.

Esistono diverse tipologie di tumore renale; nell'adulto la più frequente (90% dei casi) è l'adenocarcinoma, che origina dalle cellule che rivestono i tubuli [19]. Esso può svilupparsi in un solo rene o nel 2% dei casi può essere anche bilaterale. Un altro tipo di tumore, più raro, è rappresentato dai sarcomeri nelle loro varie forme che originano da tessuti diversi. Per quanto riguarda l'età infantile, il tumore più tipico è il tumore di Wilms, che tuttavia può presentarsi anche nell'adulto.

Per la diagnosi dei tumori renali il supporto dato dalla diagnostica per immagini è fondamentale, in quanto l'esame clinico e la presenza di sangue nelle urine consentono, di solito, solo una diagnosi tardiva. Tra le tipologie di diagnostica per immagini la più frequente è l'ecografia e la tomografia computerizzata (TC). La prima è in grado di distinguere una massa di natura solida e una ciste. La seconda, oltre a distinguere la natura della massa, offre ulteriori informazioni sull'estensione locale della malattia e su eventuali metastasi. Possono essere utilizzati, inoltre, l'urografia e la risonanza magnetica. In questo caso di studio i carcinomi sono stati rilevati grazie al solo utilizzo dell'esame di risonanza magnetica.

Per quanto riguarda la cura, l'espianto del rene malato è la soluzione più usata nel caso in cui il cancro è limitato a un solo organo. Se la malattia è bilaterale non verranno asportati entrambi i reni, ma solo la parte malata dell'organo. Nel caso in cui la malattia ha già dato luogo a metastasi, il tumore viene curato con la chemioterapia, anche se i risultati sono solo parziali.

Capitolo 3

Lo stato dell'arte dell' *imaging* di diffusione dell'organo renale

L'*imaging* di diffusione è una tecnica ormai consolidata nelle applicazioni neurologiche. In ambito renale, invece, è una metodica ancora in esplorazione, per cui in questo capitolo verrà esposto lo stato dell'arte dell'*imaging* di diffusione in un contesto renale. Fino ad oggi gli studi si concentrano principalmente su due aspetti: il primo è l'influenza dei diversi parametri della RM di diffusione sulla qualità dell'immagine e sui parametri derivanti dal tensore di diffusione; il secondo è il confronto tra i parametri ottenuti dal tensore di diffusione tra i reni sani e i reni affetti da varie malattie. La malattia policistica autosomica dominante (ADPKD) non è, ad oggi, stata adeguatamente affrontata in questo genere di studi.

Per esporre lo stato dell'arte verranno descritti cinque studi, focalizzandosi principalmente sulle metodologie adottate per l'analisi dei reni sani, in quanto sono state le linee guida per impostare questo studio. In particolare, ci si è basati sugli studi precedenti per scegliere la sezione dell'immagine più adatta da analizzare e per valutare e scegliere la geometria delle ROI e la loro modalità di analisi.

Particolare attenzione è stata rivolta all'articolo: '*Diffusion tensor imaging and tractography of the kidney: assessment of chronic parenchyma disease*', del 2013, il primo che verrà esposto nel secondo paragrafo (3.2). I risultati dei soggetti sani dei primi quattro articoli sono stati utilizzati per il confronto con la letteratura. Per quanto riguarda il quinto e ultimo articolo esposto (Cova, 2004), sono stati utili non solo i risultati ottenuti dall'analisi dei reni sani ma anche quelli ottenuti dai reni con lesioni, in quanto sono in parte le stesse che sono state analizzate in questa tesi, come le cisti e i carcinomi.

3.1 Influenza delle modalità di acquisizione DTI nei parametri del tensore di diffusione

In questo paragrafo si fa riferimento allo studio:

“Diffusion tensor imaging of the kidney: influence of b value and number of encoding direction on image quality and diffusion tensor parameters” pubblicato da .Chuck nel 2013

L’obiettivo di questo studio è di valutare l’influenza del b-value e dei numeri di acquisizione nelle diverse direzioni sulla qualità dell’immagine e sui parametri del tensore di diffusione.

Metodi:

Hanno partecipato allo studio 8 soggetti sani, 4 donne e 4 uomini di età media 32.3 ± 5.1 . I soggetti non hanno avuto malattie renali precedenti e non sono stati sottoposti ad alcuna preparazione prima della visita.

L’esame RM è stato eseguito con uno scanner ad 1.5 T. Le immagini DTI sono state acquisite in un’orientazione coronale obliqua lungo l’asse lungo dei reni, con una sequenza spin-echo echo planar (TR 1500ms, TE 67 ms, flip angle 90°). Sono state acquisite 3 fette, di spessore 4 mm, senza zone di intersezione. La regolazione dell’angolo obliquo ottimale è stato regolato manualmente.

Per riuscire a valutare l’influenza dei b-value e dei numeri di acquisizione sulla qualità dell’immagine e sui parametri del tensore sono stati esaminati diversi casi, riassunti nella tabella di seguito:

num. di b-value utilizzati	direzioni di acquisizione	b-value utilizzati
2	6	b=0, 500
2	15	b=0, 300
2	15	b=0, 500
2	15	b=0, 700
2	32	b=0, 500
3	15	b=0, 50, 300
6	15	b=0, 50, 150, 300, 500, 700

Tabella 3.1.1: tabella riassuntiva dei b-value e dei delle direzioni di acquisizione utilizzate

Per analizzare le zone di corteccia e medulla sono state utilizzate delle ROI differenti: per la corteccia è stata disegnata una ROI continua che coprisse l’intera regione, mentre

per la medulla sono state utilizzate due ROI separate. Sono state poi ricavate il valor medio e deviazione standard delle ROI per i valori di FA e MD.

Per quanto riguarda la qualità delle immagini delle mappe di FA e MD, questa è stata assegnata in base ad alcune caratteristiche dell'immagine, tra cui la differenziazione delle regioni cortico-medullari.

Una volta ottenuti tutti i valori di medulla e corteccia delle varie acquisizioni, è stato prima effettuato un test di distribuzione normale, e poi il t-test per confrontare le due regioni.

Risultati:

I risultati ottenuti nelle zone di medulla e corteccia per le varie acquisizioni sono riportate nella tabelle di seguito:

	FA Medulla	FA Cortex	MD Medulla [$10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$]	MD Cortex [$10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$]
2b 6d (b=0, 500 s/mm ²)	0.46±0.02	0.25±0.01	1.87±0.12*	2.50±0.12
2b 15d (b=0, 300 s/mm ²)	0.43±0.02	0.25±0.02	2.14±0.33	2.78±0.37
2b 15d (b=0, 500 s/mm ²)	0.45±0.01	0.25±0.01	2.05±0.26	2.63±0.33
2b 15d (b=0, 700 s/mm ²)	0.44±0.01	0.25±0.01	1.82±0.21*	2.23±0.18*
2b 32d (b=0, 500 s/mm ²)	0.45±0.02	0.25±0.01	1.97±0.25	2.79±0.28
3b 15d (b 0, 50, 300 s/mm ²)	0.44±0.02	0.24±0.01	3.58±0.15*	2.73±0.27
6b 15d (b=0, 50, 150, 300, 500, 700 s/mm ²)	0.43±0.01	0.25±0.01	3.23±0.40*	2.41±0.33

Tabella 3.1.2: valor medio di FA e MD nella corteccia e nella medulla. I risultati sono stati confrontati con l'acquisizione con 15 direzioni e b-value=500, una differenza significativa è contrassegnata da '*'.

Influenza del numero di direzioni di acquisizioni sul valore di MD:

Utilizzando 2 b-value (0 e 500) e 6 acquisizioni il valor medio di MD nella medulla è $1,87 \pm 0,12 \times 10^{-3} \text{ (mm}^2/\text{s)}$, un valore significativamente minore ($P < 0,05$) rispetto al valore ottenuto con 15 acquisizioni. Mentre non è stata trovata una differenza significativa tra i valori di medulla acquisite con 15 direzioni e 32. Per quando riguarda, invece, i valori di MD nella corteccia non è stata trovata una differenza significativa in nessuno dei casi di acquisizione con 2 b-value.

Influenza del b-value sul valore di MD

Il valore di MD risulta significativamente maggiore ($P < 0,05$) nella corteccia rispetto alla medulla nel caso in cui vengono utilizzati due b-value (2b 6d b500, 2b 15d b500, 2b

32d b500). Aumentando il valore del b-value si può notare come sia il valore di MD della corteccia, che della medulla diminuiscano. Nel caso in cui vengono usati tre o sei b-value, il risultato cambia completamente, infatti il valore di MD nella corteccia risulta significativamente minore ($P < 0.05$) rispetto al valore della medulla.

Influenza del numero di direzioni di acquisizioni e del b-value su FA:

Il parametro FA della medulla risulta significativamente maggiore ($P < 0,05$) rispetto al valore della corteccia in tutte le acquisizioni analizzate, e non è stata trovata alcuna differenza significativa tra le varie acquisizioni.

Valutazione della qualità dell'immagine:

Le mappe FA ottenute utilizzando un numero maggiore di sei acquisizioni (15, 32) mostrano una qualità dell'immagine migliore rispetto a quelle con sei acquisizioni. Non è stata invece trovata una differenza significativa tra le mappe di MD ottenute con un diverso numero di acquisizioni.

3.2 Studio del tensore di diffusione nei reni sani e con lesioni

In questo paragrafo faremo riferimento a quattro diversi studi che affrontano la valutazione del tensore di diffusione in soggetti con patologie renali

Il primo studio:

“Diffusion tensor imaging and tractography of the kidney: assessment of chronic parenchyma disease”, è stato pubblicato da **Gaudio** e colleghi nel, 2013

L'obiettivo di questo studio è di valutare la disfunzione renale in reni malati cronici tramite la diffusion tensor imaging (DTI).

Metodi

Hanno partecipato alla ricerca 17 pazienti con reni sani (gruppo di controllo) e 47 pazienti con funzionalità renale compromessa (gruppo di studio). Per ciascun paziente dei due gruppi sono stati raccolti i valori di creatinina ed eGFR.

Per quanto riguarda la modalità di acquisizione DTI, sono stati utilizzati due valori di b-value (0 e 500 (s/mm^2)), 6 direzioni di acquisizione con b-value >0 , e i parametri di

acquisizioni sono i seguenti: TE 82 ms, TR 3000 ms, spessore fette 6 mm, numero di fette 14. Per l'analisi dei dati DTI è stato utilizzato il software Functool (4.4.4; General Electric, Milwaukee, USA).

Una volta ottenute le immagini, per ogni soggetto e per ogni rene è stata selezionata la sezione assiale, con $b=0$, nella porzione centrale del rene, a livello dell'ilo renale. Nell'immagine scelta sono state, quindi, selezionate due ROI circolari: una per la zona della corteccia (valore medio della sezione dei pixel 50 (mm^2)), e una per la zona della medulla (valore medio della sezione dei pixel 50 (mm^2)). Per ogni ROI sono stati calcolati i valori di media e deviazione standard dei valori di ADC (espressa in 10^{-3} (mm^2/s)) e FA, valori calcolati dalle mappe di ADC e FA. Partendo dalle ROI selezionate è stata effettuata l'analisi trattografica nelle zone di corteccia e medulla utilizzando i seguenti parametri: valore minimo di FA 0,18, valore massimo di ADC 0,01 (mm^2/s).

Per l'analisi statistica dei risultati sono stati utilizzati diversi test, il t-test a due code per confrontare i valori medi di ADC e FA fra medulla e corteccia, considerando un valore P minore di 0,05 statisticamente significativo. Il test ANOVA è stato utilizzato per valutare se esiste una differenza statisticamente significativa nelle media di ADC e FA per tre diverse classi di reni malati, le quali sono state suddivise in base ai valori di eGFR. Infine è stato usato il test di correlazione di Spearman per correlare i valori medi di ADC e FA nella corteccia e nella medulla con il valore di eGFR.

Risultati

Per quanto riguarda i risultati dei reni sani, il valore di ADC risulta essere significativamente maggiore ($P=0,00003$) nella corteccia rispetto alla medulla. il valore di FA risulta significativamente maggiore ($P=0,0000003$) nella medulla rispetto alla corteccia. Infine, l'analisi trattografica mostra un andamento radiale per nella zona della medulla, mentre nessuna direzione preferenziale per la corteccia.

Nell'analisi del gruppo di studio i valori di ADC della corteccia risultano significativamente maggiore ($P=0,0000013$) rispetto alla medulla, mentre i valori di FA sono significativamente maggiori ($P=0,006$) nella medulla rispetto alla corteccia.

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

Tabella 3.2.1: valore medio e deviazione standard del coefficiente di diffusione apparente (ADC) e della anisotropia frazionaria (FA) di medulla e corteccia nei due gruppi di studio.

Infine, l'analisi trattografica dei reni sani mostra un andamento radiale per nella zona della medulla, mentre nessuna direzione preferenziale per la corteccia (Figura 3.2.1).

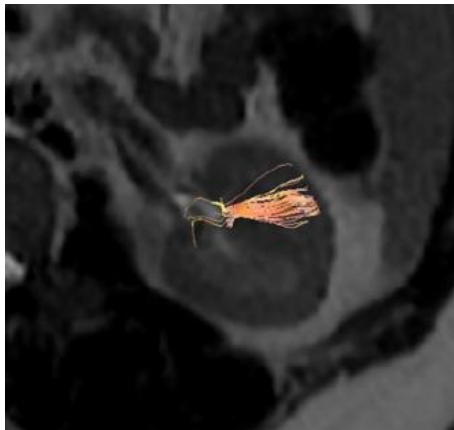


Figura 3.2.1: trattografia ricostruita da una ROI circolare.

Per quanto riguarda i risultati degli altri due test statistici, con il test ANOVA non è stata trovata una correlazione statisticamente significativa tra i valori di ADC, FA ed eGFR. Anche il test di correlazione di Spearman non mostra una correlazione statisticamente significativa tra i valori di ADC e FA della medulla e corteccia e i valori di eGFR.

Uno studio precedente del 2011:

“Diffusion tensor imaging and tractography for assessment of renal allograft dysfunction, initial result” di K. Hueper ha affrontato lo stesso tema.

L’obiettivo di questo secondo studio è stato di valutare la *diffusion tensor imaging* come strumento di diagnosi non invasiva per la valutazione delle disfunzioni acute o croniche degli eterotrapianti renali e dei cambiamenti delle microstrutture.

Metodi

Hanno partecipato allo studio 14 soggetti sani (7 uomini, 7 donne; età media 27 anni) e 15 soggetti con trapianto di reni con disfunzione (11 uomini, 4 donne; età media 51 anni). Per ogni soggetto sono stati raccolti i valori di creatinina e quindi di eGFR con la formula di Cockcroft-Gault.

Per quanto riguarda l’esame MR, è stata eseguita a 1.5 T, ed è stata utilizzata una sequenza *fat-saturated echo planar* con i seguenti parametri: 6 direzioni di diffusione, due b-value (0 e 600 (s/mm^2)), 16-32 fette, spessore delle fette di 3 mm senza zone di intersezione, TR=5600 ms, TE=98 ms. Per l’analisi DTI è stato utilizzato il software Neuro 3D Task Card (Siemens Healthcare, Erlangen, Germany).

Sia per i reni sani che per i reni trapiantati sono state analizzate separatamente corteccia e medulla. Per riuscire a differenziare le due zone sono state usate: l’immagine anatomica, l’immagine b0 e la mappa FA. Per quanto riguarda la selezione della medulla e della corteccia sono state utilizzate delle ROI segmentate, composte da sei segmenti di 10-30 pixels ciascuno, selezionate manualmente. Per ciascuna ROI sono state calcolate media e deviazione standard di FA e ADC. Anche in questo studio è stata effettuata l’analisi traggografica, in cui i voxel iniziali sono stati posizionati lungo la zona di separazione tra corteccia e medulla. I parametri impostati sono i seguenti: il valore minimo di FA a 0,20 e l’angolo massimo a 30°. Per riuscire a facilitare la visualizzazione delle microstrutture nei reni trapiantati, in cui i valori di FA è molto minore rispetto ai reni sani, è stato utilizzato un valore minimo di FA a 0,15 e 0,10.

Per quanto riguarda l’analisi statistica, sono stati confrontati i valori medi di FA e ADC della medulla e della corteccia tra i reni sani e i reni trapiantati usando il t-test e considerando un valore minore di 0,05 statisticamente significativo. Per i pazienti con trapianto di reni è stato effettuato, inoltre, un test di correlazione di Pearson tra i valori

medi di FA, ADC e eGFR. Inoltre, sono stati analizzati i valori di FA con i valori di eGFR, suddividendo questi ultimi in quattro gruppi in base al livello di eGFR. I gruppi sono stati suddivisi nel seguente modo: 1 reni sani, 2 GFR>60 ml/min, 3 GFR=40-60 ml/min, 4 GFR<40 ml/min.

Risultati

I valori di ADC di medulla e corteccia nei reni sani non mostrano una differenza significativa: corteccia $2,32 \pm 0,16 \times 10^{-3}$ (mm^2/s), medulla $2,34 \pm 0,19 \times 10^{-3}$ (mm^2/s). Per quanto riguarda i valori di FA risulta esserci una differenza significativa ($p < 0,001$), nella medulla la media e deviazione standard di FA è $0,415 \pm 0,046$, mentre nella corteccia è $0,165 \pm 0,022$.

I risultati dei valori di ADC per i reni trapiantati sono $2,11 \pm 0,17 \times 10^{-3}$ (mm^2/s) per la corteccia e $2,14 \pm 0,20 \times 10^{-3}$ (mm^2/s) per la medulla. I dati ottenuti per i valori di FA sono invece $0,12 \pm 0,017$ per la corteccia e $0,278 \pm 0,061$ per la medulla.

Di seguito, invece, il risultato dell'analisi traggografica nei reni sani in cui i voxel iniziali sono stati posizionati nella zona di giunzione tra medulla e corteccia.



Figura 3.2.2: traggografia reni sani

È stato trovata, inoltre, una relazione statisticamente significativa tra i valori di FA nella medulla renale e i valori di eGFR, sempre riguardo ai reni trapiantati [4]. Mentre non è stata trovata una correlazione significativa tra i valori di FA della corteccia, ADC di medulla e corteccia e i valori di eGFR. Per quanto riguarda l'analisi dei valori medi di

FA nella medulla e i valori di eGFR suddivisi nei quattro diversi stadi i risultati mostrano che il valore medio di FA nei pazienti con funzionalità renale compromessa è minore rispetto al valore medio di FA nei reni sani. Questi risultati indicano che il valore di FA nella medulla è in grado di distinguere una funzionalità renale normale da una compromessa, anche a diversi stadi.

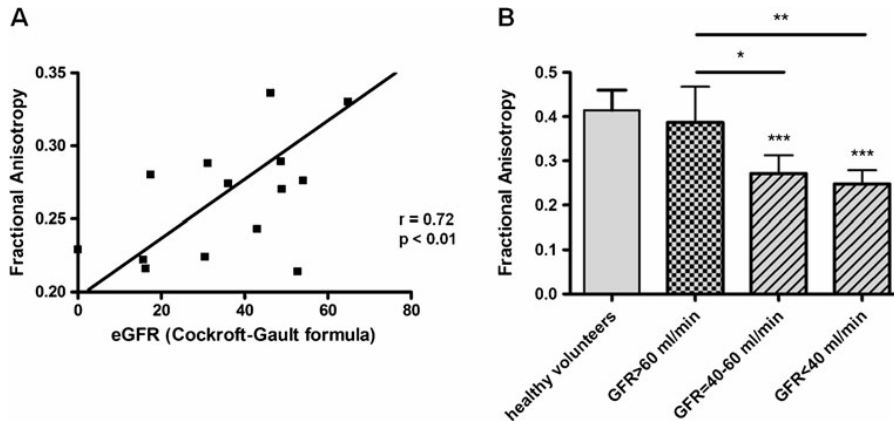


Figura 3.2.2: Correlazione di FA nella medulla renale dei reni trapiantati con i valori di eGFR, in accordo con la formula di Cockcroft-Gault.

Più recentemente il lavoro 'Renal water Molecular Diffusion characteristics in healthy native kidneys: assessment with diffusion tensor MR imaging' di Zhenfeng Zheng nel 2014 ha valutato le caratteristiche della diffusion tensor imaging (DTI) e dell' imaging di risonanza magnetica nei reni sani.

Metodi

Hanno partecipato a questo studio 73 soggetti sani con età media $49,79 \pm 15,48$, di cui 39 uomini e 34 donne.

La risonanza magnetica è stata effettuata a 3.0 T e la DTI-MRI con una sequenza SE-EPI (TR/TE 2000/94.5). Sono state utilizzate 6 direzioni di gradiente, e due b-value (0 e $800 \text{ (s/mm}^2\text{)}$). Lo spessore delle fette è 7 mm e il numero di fette acquisite sul piano coronale è 5-7.

Anche in questo studio è stata effettuata l'analisi DTI differenziando la zona della corteccia e della medulla renale. I parametri DTI che sono stati analizzati sono: MD, FA, $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3, RD$. Sono state, quindi, utilizzate tre ROI ellissoidali, contenenti almeno 10 pixel, nella zona superiore, di mezzo e inferiore della medulla e della corteccia. È stata

ottenuta la media e la deviazione standard delle due regioni e tale analisi è stata effettuata sia per il rene destro che per il sinistro. La ricerca si concentra sullo studio dei parametri DTI della corteccia e medulla, differenziando anche i valori trovati nel rene destro e sinistro, e nel rene del genere femminile e maschile.

Riguardo all'analisi statistica dei risultati, è stato effettuato un test di Kolmogorov-Smirnov per testare l'esistenza di una distribuzione normale. Una volta rilevata l'esistenza di una distribuzione gaussiana, è stato utilizzato il t-test per valutare l'esistenza di differenza statisticamente significativa.

Risultati

I risultati ottenuti sono stati suddivisi in tre gruppi: nel primo vengono confrontati i valori dei sei parametri DTI tra medulla e corteccia. I valori di MD, λ_2 , λ_3 , e RD della corteccia risultano più alti rispetto della medulla ($P < 0,0001$). Per quanto riguarda il valore di λ_1 non è stata rilevata alcuna differenza tra i valori della corteccia e della medulla. Il valore di FA risulta essere, invece, minore rispetto alla medulla con una differenza statisticamente significativa ($P < 0,0001$).

Item	Cortex	Medulla	P value
MD($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	2.23 ± 0.14	2.06 ± 0.14	<0.0001
FA	0.24 ± 0.05	0.32 ± 0.05	<0.0001
λ_1 ($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	6.29 ± 0.21	6.28 ± 0.26	0.81
λ_2 ($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	5.67 ± 0.15	5.43 ± 0.15	<0.0001
λ_3 ($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	5.24 ± 0.12	4.96 ± 0.13	<0.0001
RD($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	5.46 ± 0.12	5.19 ± 0.13	<0.0001

Tabella 3.2.3: parametri DTI nella corteccia e nella medulla

Nel secondo gruppo di analisi sono stati confrontati i sei parametri DTI separatamente nel rene sinistro e destro. I risultati mostrano valori di FA della corteccia e della medulla e di λ_1 della corteccia del rene sinistro maggiori rispetto agli stessi parametri del rene destro (rispettivamente $P < 0,0001$, $P = 0,003$, $P = 0,005$). I valori λ_3 e RD della medulla nel rene sinistro risultano minori rispetto agli stessi valori nel rene destro (rispettivamente $P < 0,0001$, $P = 0,007$).

Item	Right kidney	Left kidney	P value
Cortical MD ($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	2.23 \pm 0.20	2.24 \pm 0.17	0.42
Medullary MD ($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	2.07 \pm 0.18	2.05 \pm 0.19	0.34
Cortical FA	0.22 \pm 0.07	0.25 \pm 0.07	<0.0001
Medullary FA	0.31 \pm 0.09	0.33 \pm 0.09	0.003
Cortical λ_1 ($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	6.25 \pm 0.33	6.33 \pm 0.30	0.005
Medullary λ_1 ($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	5.44 \pm 0.23	5.42 \pm 0.21	0.18
Cortical λ_2 ($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	5.86 \pm 0.23	5.66 \pm 0.20	0.28
Medullary λ_2 ($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	5.43 \pm 0.23	5.42 \pm 0.21	0.36
Cortical λ_3 ($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	5.25 \pm 0.16	5.22 \pm 0.18	0.11
Medullary λ_3 ($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	4.99 \pm 0.21	4.92 \pm 0.21	<0.0001
Cortical RD ($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	5.47 \pm 0.17	5.44 \pm 0.16	0.12
Medullary RD ($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	5.21 \pm 0.18	5.17 \pm 0.19	0.007

Tabella 3.2.4: parametri DTI di medulla e corteccia nel rene destro e sinistro

Infine, sono stati analizzati separatamente i parametri DTI degli uomini e delle donne. I risultati ottenuti mostrano valori di λ_2 , λ_3 di medulla delle donne maggiori rispetto agli uomini (P=0,003, P=0,004). Il valore FA della medulla nelle donne, invece, mostra valori più bassi rispetto a quelli ottenuti negli uomini (P=0,003).

Item	Female	Male	P value
Cortical MD ($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	2.25 \pm 0.18	2.22 \pm 0.18	0.23
Medullary MD ($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	2.07 \pm 0.17	2.05 \pm 0.20	0.24
Cortical FA	0.23 \pm 0.07	0.24 \pm 0.07	0.77
Medullary FA	0.31 \pm 0.09	0.33 \pm 0.10	0.003
Cortical λ_1 ($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	6.30 \pm 0.30	6.28 \pm 0.32	0.52
Medullary λ_1 ($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	6.25 \pm 0.33	6.31 \pm 0.40	0.06
Cortical λ_2 ($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	5.69 \pm 0.22	5.66 \pm 0.21	0.11
Medullary λ_2 ($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	5.46 \pm 0.21	5.40 \pm 0.22	0.003
Cortical λ_3 ($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	5.24 \pm 0.16	5.23 \pm 0.18	0.37
Medullary λ_3 ($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	4.99 \pm 0.21	4.93 \pm 0.21	0.004
Cortical RD ($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	5.47 \pm 0.16	5.44 \pm 0.17	0.12
Medullary RD ($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)	5.22 \pm 0.17	5.16 \pm 0.19	0.001

Tabella 3.2.5: parametri DTI di medulla e corteccia nel rene maschile e femminile

Il primo lavoro che affronta la valutazione della diffusione risale al 2004 “Diffusion - weighted MRI in the evaluation of renal lesion: preliminary result” di **Cova**.

L’obiettivo di questa ricerca fu di valutare la capacità e affidabilità della *diffusion – weighted* MRI per l’analisi dei reni sani e i reni con differenti lesioni.

Metodi

Hanno partecipato a questo studio 39 soggetti, 10 di questi sono soggetti sani (6 uomini; 4 donne; età media 50 anni), e 29 sono soggetti con lesioni renali (16 uomini, 13 donne, età media 62 anni). Le malattie affrontate sono: cisti semplici, idronefrosi, pionefrosi e tumori.

L'esame di risonanza magnetica è stato eseguito con un magnete superconduttore a 1.5 T, e per le immagini DW è stata usata una sequenza *single-shot spin-echo echo planar imaging* (SE EPI) con i seguenti parametri: TR=2883 ms, TE=61 ms. Sono stati utilizzati due b-value, 0 e 500 (s/mm^2), e sono state ottenute 16 immagini in cui ciascuna rappresenta una fetta di spessore 7 mm, con un gap di 1 mm tra una fetta e l'altra.

Una volta ottenute le immagini con b-value 0 e 500 sono state calcolate le mappe ADC per tutte le 16 fette. Per quanto riguarda l'analisi dei reni sani, è stata selezionata la fetta centrale dei reni e in queste sono state posizionate tre ROI circolari di diametro circa 1 cm per ogni rene. Le ROI sono state collocate nella zona di parenchima, in particolare della zona di giunzione cortico-medullare, senza separare l'analisi tra la zona di medulla e corteccia, a causa della difficoltà nel poter separare le due zone accuratamente. Per ogni ROI è stata calcolata media e deviazione standard. Per i reni sani il totale di misurazioni effettuate è sessanta, tre ROI per ogni rene, mentre per i reni lesionati il numero di zone selezionate dipende dalla grandezza della lesione.

Per confrontare i valori di ADC dei reni sani con i valori delle cisti, dell'idronefrosi, della pionefrosi e dei tumori è stato utilizzato il t-test, considerando un valore di $P < 0,05$ statisticamente significativo.

Risultati

Il valor medio di ADC nel parenchima del rene sano (60 misurazioni) è $2,19 \pm 0,17 \times 10^{-3}$ (mm^2/s), con un range tra $1,75 \pm 0,15 \times 10^{-3}$ (mm^2/s) e $2,65 \pm 0,34 \times 10^{-3}$ (mm^2/s).

Il valor medio delle 13 cisti semplici analizzate è significativamente maggiore rispetto al parenchima ($P < 0,001$), risulta infatti $3,65 \pm 0,09 \times 10^{-3}$ (mm^2/s), con un range tra $2,87 \pm 0,06 \times 10^{-3}$ (mm^2/s) e $4,00 \times 10^{-3}$ (mm^2/s).

Per quanto riguarda invece le zone di idronefrosi (n=6) il valor medio è $3,7 \pm 0,08 \times 10^{-3}$ (mm^2/s), con un range tra $3,39 \pm 0,48 \times 10^{-3}$ (mm^2/s) e $4,00 \times 10^{-3}$ (mm^2/s). Tali valori si sovrappongono ai dati ottenuti per le cisti semplici, inoltre il valore $4,00 \times 10^{-3}$ è il limite superiore del valore di ADC.

I valori più bassi di ADC sono stati ottenuti dall'analisi dei reni con pionefrosi, valor medio $0,96 \pm 0,09 \times 10^{-3}$ (mm^2/s), con un range tra $0,77 \pm 0,17 \times 10^{-3}$ (mm^2/s) e $1,07 \pm 0,07 \times 10^{-3}$ (mm^2/s).

Infine, il valor medio dei tumori solidi benigni e maligni è $1,55 \pm 0,20 \times 10^{-3}$ (mm^2/s), con un range tra $1,28 \pm 0,11 \times 10^{-3}$ (mm^2/s) e $1,83 \pm 0,14 \times 10^{-3}$ (mm^2/s). Tali valori risultano essere significativamente minori ($P < 0,001$) del parenchima sano.

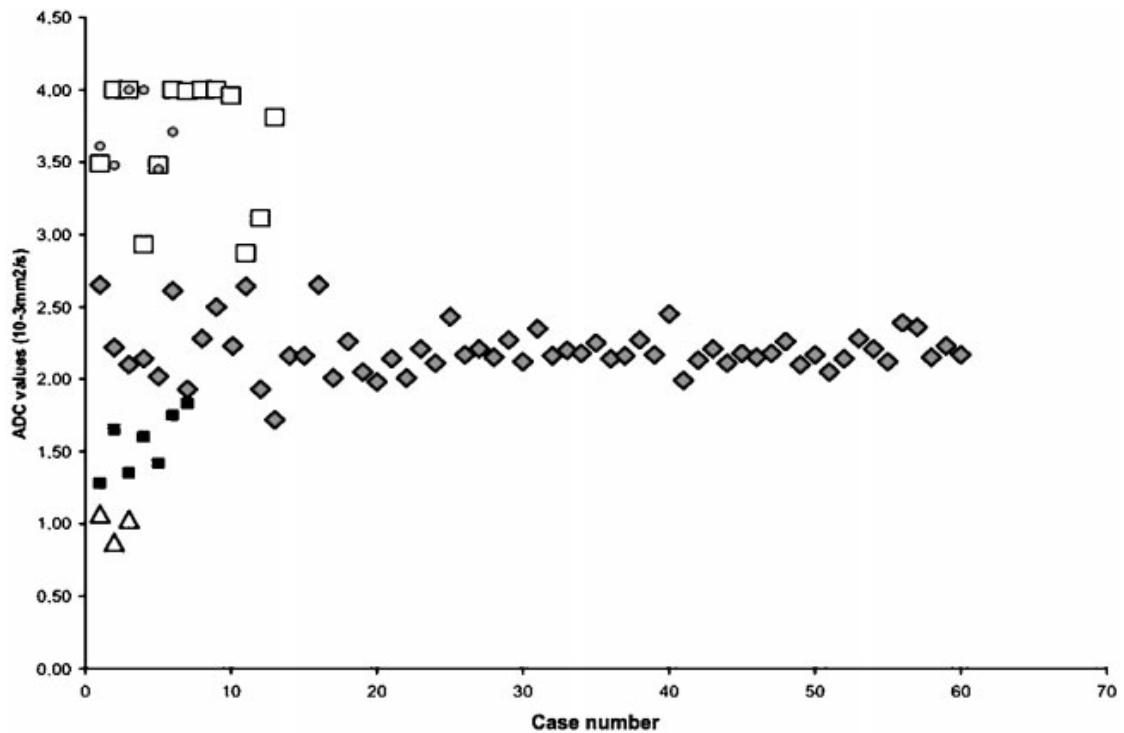


Figura 3.2.3: Il plot mostra i valori di ADC per il parenchima renale normale (◆), le cisti (□), idronefrosi (○), pionefrosi (△), tumori renali solidi (■).

Dalla figura 3.2.3 si può notare come i valori di ADC di due carcinomi si sovrappongono ai valori di ADC del parenchima renale normale.

3.3 Confronto con la letteratura

I risultati ottenuti negli studi precedenti sono stati utilizzati per validare e confrontare i risultati ottenuti in questa tesi per quanto riguarda i reni sani, le cisti e i carcinomi, come affermato precedentemente. Nella tabella 3.3.1 sono riportati i risultati dei primi quattro articoli per quanto riguarda i valori di media e deviazione standard di ADC di medulla e corteccia e di FA di medulla e corteccia dei reni sani.

anno pubblicazione	num. articolo (autore)	n°soggetti sani	Bvalue	ADC($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)				p-value ADC	FA				p-value FA
				corteccia	dev.st	medulla	dev.st		corteccia	dev.st	medulla	dev.st	
2013	articolo1 (C. Gaudiano)	17	0-500	2,55	0,18	2,25	0,24	1,3E-06	0,308	0,071	0,389	0,067	0,006
2013	articolo 2 (C. Chuck)	8	0-500	2,5	1,12	1,87	0,12	<0,05	0,25	0,01	0,46	0,02	<0,05
2011	articolo 3 (K. Hueper)	14	0-600	2,32	0,16	2,34	0,19		0,165	0,022	0,415	0,046	<0,001
2014	articolo 4 (Z.Zheng)	73	0-800	2,23	0,14	2,06	0,14	<0.0001	0,24	0,05	0,32	0,05	<0.0001

Tabella 3.3.1: risultati ADC e FA di corteccia e medulla die soggetti sani

Nella tabella 3.3.2 vengono riportati i risultati del quinto articolo relativi a ADC di parenchima, cisti e tumori.

anno pubblicazione	mun. Articolo (autore)	n°soggetti sani	Bvalue	ADC($\mu\text{m}^2/\text{ms}$)					
				parenchima	dev.st	cisti	dev.st	tumore	dev.st
2004	articolo 5 (Cova)	10	0-500	2,19	0,17	3,65	0,09	1,55	0,2

Tabella 3.3.2: risultati di ADC del parenchima,cisti, tumore

Capitolo 4

Materiali e metodi

Nel seguente capitolo verranno descritti i materiali e i metodi di questo studio, partendo dalla descrizione dei soggetti che hanno partecipato alla ricerca e dalla modalità di acquisizione delle immagini RM. Verranno poi descritti gli algoritmi implementati in Matlab per ottenere le mappe ADC, MD, FA, RD, sRA, λ_1 , e le modalità di selezione delle ROI.

4.1 Soggetti esaminati

Il numero dei soggetti che ha partecipato allo studio sono 26, di cui 10 soggetti sani e 16 soggetti affetti dalla malattia del rene autosomica dominante (33 ± 12 anni, 45 ± 9 anni rispettivamente). Gli esami di risonanza magnetica sono stati svolti in due ospedali diversi: l'ospedale "Sant'Orsola" di Bologna e l'ospedale "Infermi" di Rimini. L'ospedale Sant'Orsola di Bologna ha acquisito in DTI e ci ha fornito le immagini dei 10 pazienti con reni sani e di due soggetti con i reni policistici, di questi è stato quindi possibile ottenere il tensore di diffusione e quindi tutte le informazioni che esso contiene. L'ospedale di Rimini ci ha fornito i dati di 14 pazienti policistici, acquisendo immagini DWI, di questi soggetti è stato quindi possibile ottenere le mappe ADC dei reni.

Il numero totale di soggetti con reni policistici analizzati è 16, in due dei paziente è stata diagnosticata la presenza di un carcinoma, per cui è stato possibile valutare e studiare gli indici di diffusione anche per queste diverse lesioni renali.

Soggetti con follow-up:

Per analizzare anche la possibilità di estrarre informazioni dai parametri di diffusione sul grado di avanzamento della malattia ADPKD sono stati utilizzati i dati dei follow-up di 12 pazienti. In particolare 6 pazienti allo stadio 1-2 (età media 39 ± 9 anni) e 6

pazienti allo stadio 3-4 (età media 45 ± 13 anni). I follow-up a disposizione sono stati effettuati a una distanza di tempo abbastanza breve, di uno, due o tre anni. Per ciascuno soggetto sono stati registrati i valori di creatinina e le caratteristiche fisiche del paziente, in modo da ottenere i valori di eGFR per ciascuno, grazie alla formula di Cockcroft-Gault per ogni visita. Per lo stadio 1-2 i valori di creatinina ed eGFR dei pazienti hanno una media e deviazione standard rispettivamente di: $1 \pm 0,23 \text{ mg/dl}$ e $110 \pm 21,1 \text{ ml/min}$. Per lo stadio 3-4 i rispettivi valori sono: $2 \pm 0,3 \text{ mg/dl}$ e $45 \pm 9,5 \text{ ml/min}$.

Le immagini dei pazienti con follow-up sono state acquisite dall'AUSL di Rimini, per cui per valutare la possibilità di estrarre informazioni sul grado di avanzamento della malattia sono stati utilizzati i valori di ADC.

Nella figura di seguito un diagramma rappresentativo della popolazione del caso di studio. I riquadri viola rappresentano i gruppi di soggetti con acquisizione DTI, i riquadri arancioni rappresentano i gruppi di soggetti con immagini DWI.

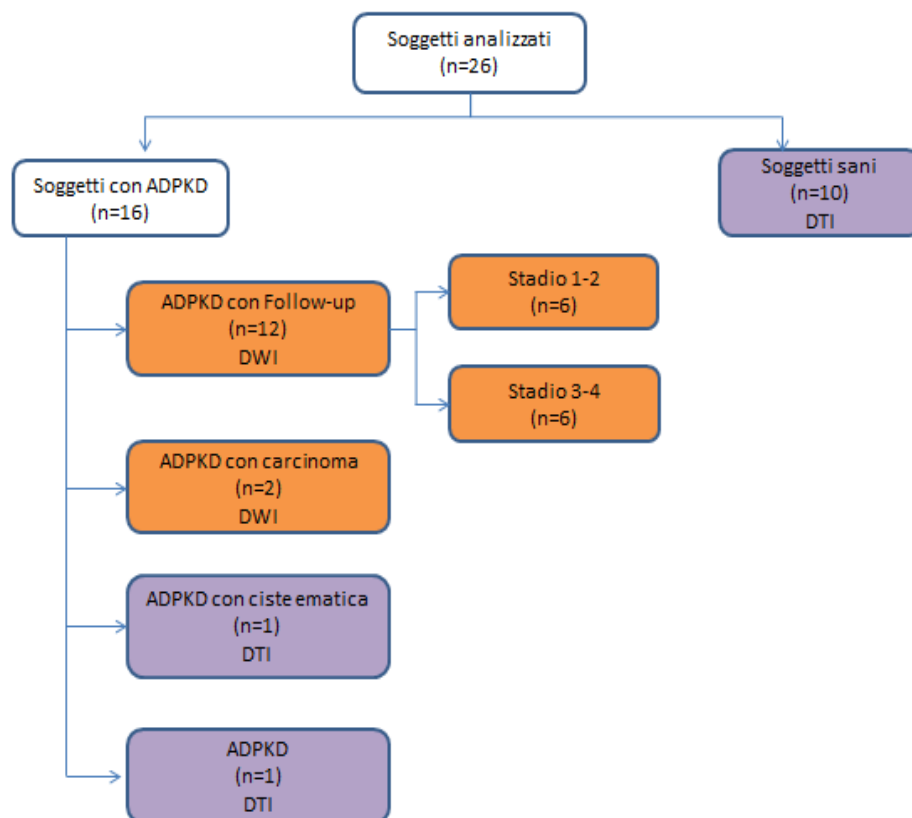


Figura 4.1.1: diagramma della popolazione di studio, i riquadri in viola sono relativi ai soggetti acquisiti con DTI, i riquadri in arancione relativi ai soggetti acquisiti con DWI

4.2 Modalità di acquisizione MRI

- **Policlinico SANT'ORSOLA:**

Le acquisizioni sono state effettuate con un sistema a 1.5 T (Signa HDxt; General Electric, Milwaukee, USA). Le acquisizioni DTI sono state effettuate in assiale con due b-value (0-500 s/mm^2). È stata utilizzata una sequenza spin-echo single-shot echo-planar (SSEPI) con sei direzioni di gradiente e con i seguenti parametri: TE 82 ms, TR 3000 ms, spessore delle fette 6 mm, matrice 128×128. Il numero di fette ottenute per ogni direzione di gradiente è 14, per un totale di 98 fette per ogni paziente.

- **OSPEDALE INFERMI:**

Le acquisizioni delle immagini DWI sono state effettuate con una sistema a 1.5 T (Achieva, Philips Medical Systems) e con diversi valori di b (0-500, 0-700, 0-900, 0-1500). Nel nostro caso di studio sono state utilizzate le acquisizioni in assiale e con b-value 500 s/mm^2 , in modo da poter ottenere dei valori confrontabili con quelli ottenuti dai reni sani. Valori di $b > 500 s/mm^2$ sono stati utilizzati soltanto per l'analisi dei reni con carcinomi, come verrà spiegato in seguito. Il numero delle fette, infine, è variabile a causa delle diverse dimensioni dei reni policistici tra i pazienti, e di uno stesso paziente dopo qualche anno dalla prima acquisizione.

4.3 Algoritmo di elaborazione immagini MR in diffusione

Per estrarre informazioni di isotropia e anisotropia delle diverse strutture renali dalle immagini RM è stato implementato un algoritmo con il software Matlab. L'analisi e l'implementazione si suddivide principalmente in tre diverse fasi che verranno riassunte di seguito:

1. **Implementazione di due algoritmi:** il primo per la costruzione del tensore di diffusione e il calcolo dei parametri derivanti da esso: MD, FA, VR, sRA, λ_1 . Il secondo per ricavare le mappe ADC dalle immagini DWI.
2. **Metodo di selezione immagini:** per ogni tipo di struttura renale, come per esempio, medulla, corteccia, carcinoma o parenchima apparentemente funzionale nei reni policistici, sono state scelte le immagini più idonee con un criterio differente per ciascuna.
3. **Selezione ROI:** è stato implementato un algoritmo per la selezione delle ROI per analizzare i diversi tipi di strutture renali, le loro medie e deviazioni standard.

Tutte queste tre fasi verranno approfondite nei prossimi paragrafi.

4.3.1 Tensore e indici di diffusione:

Costruzione del tensore di diffusione:

Le immagini a disposizione per ogni paziente sono 98, di cui le prime 14 fette sono le immagini acquisite con $b\text{-value}=0$, sono sezioni in assiale e ricoprono l'intero volume dei reni. I successivi sei gruppi da 14 immagini, sono state acquisite con $b\text{-value}=500$, e con diversi valori di gradiente per ogni gruppo. Per ogni fetta, quindi, sono disponibili un'immagine S_0 ($b\text{-value}=0 \text{ s/mm}^2$) e sei immagini con $b \neq 0$, il numero minimo indispensabile per la costruzione del tensore.

Una volta scelta l'immagine S_0 (matrice 256×256) appropriata, e quindi il numero della fetta da inserire come *input* iniziale dell'algoritmo, verranno automaticamente selezionate le sei immagini relative alla fetta scelta ma acquisite con i gradienti e $b\text{-value} 500 \text{ s/mm}^2$. È possibile decidere, nella fase iniziale, se voler elaborare tutta

l'immagine o una porzione più ristretta di interesse, diminuendo così il tempo di elaborazione.

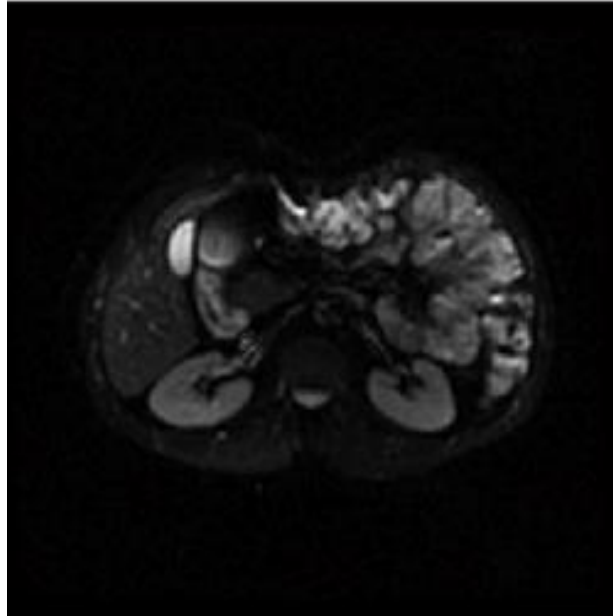


Figura 4.3.1.1: immagine S_0 ($b=0 \text{ s/mm}^2$) di due reni sani

Per il calcolo del tensore di diffusione sono stati implementati i due metodi descritti nel capitolo 1, sono stati quindi sviluppate le *function*: *MetodoH* e *MetodoB*. Entrambe ricavano gli elementi del tensore utilizzando sette immagini in ingresso ($S_0, S_1 \dots S_6$) e le informazioni ricavate dalle *dicominfo*, relative al b-value e ai gradienti utilizzati nell'acquisizione.

Il *metodoB* è un metodo che permette di calcolare il tensore di diffusione per ogni voxel anche con immagini che sono state acquisite con b-value differenti, mentre il *metodoH* funziona se tutte le sei immagini sono state acquisite con lo stesso b-value.

Una volta verificato che entrambi i metodi implementati restituiscono lo stesso risultato, per l'analisi delle immagini di questo studio è stato utilizzato il *metodoH*, in quanto tutte le immagini sono state acquisite con lo stesso b-value. Di seguito (Figura 4.3.1.2) verrà descritta schematicamente la struttura implementativa del metodo utilizzato.

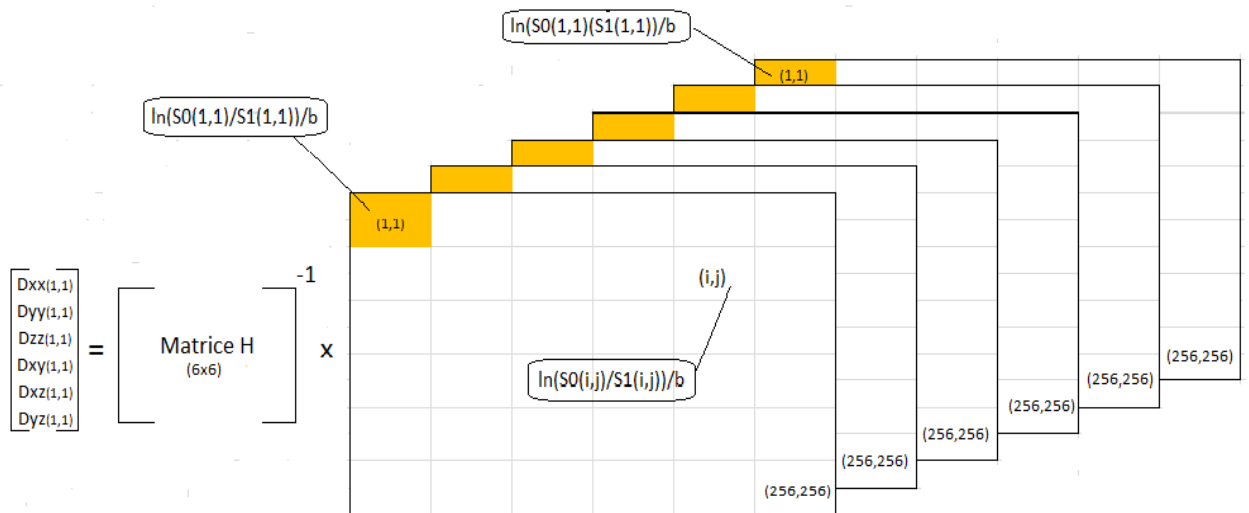


Figura 4.3.1.2: immagine schematizzata del metodo H

È stata costruita una matrice tridimensionale ($256 \times 256 \times 6$), in cui ogni matrice (256×256) contiene il risultato dell'operazione: $\ln(S_0/S_i)/b$ ($i=1:6$). La matrice H è stata invece costruita combinando opportunamente i valori dei gradienti utilizzati durante le acquisizioni, come descritto nel Capitolo 1 (paragrafo 1.3.1). Con i sei parametri ottenuti è stata costruita una matrice 3×3 per ciascun voxel, questa rappresenta il tensore di diffusione.

Indice di diffusione:

Una volta ottenuto il tensore di diffusione è stato possibile calcolare gli indici di isotropia e anisotropia per ogni voxel e quindi delle mappe di diffusione sull'intera immagine. Questo è stato possibile ricavando gli autovalori $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ dal tensore, dove λ_1 è l'autovalore maggiore e λ_3 l'autovalore minore. Il tensore rappresenta geometricamente un ellissoide e gli autovalori rappresentano la lunghezza dell'asse maggiore, e dei due assi minori. Considerando il caso di studio, un ellissoide con $\lambda_1 \gg \lambda_2 \gg \lambda_3$, potrebbe indicare un punto di maggior anisotropia, rispetto a una zona in cui gli autovalori non variano troppo in ampiezza.

Gli autovalori ottenuti su tutta l'immagine presentavano anche alcuni valori negativi, i quali potrebbero apportare del rumore alle mappe di diffusione, per cui in presenza di autovalori negativi è stata apportata la seguente modifica:

$\lambda_1 \text{ \& \& } \lambda_2 \text{ \& } \lambda_3 < 0 \longrightarrow \text{valore assoluto } (\lambda_1 \text{ \& } \lambda_2 \text{ \& } \lambda_3)$

$\lambda_2 < 0 \longrightarrow \text{valore assoluto } (\lambda_2)$

$\lambda_3 < 0 \longrightarrow \text{valore assoluto } (\lambda_3)$

Con i tre autovalori sono state calcolate le mappe di MD, FA, VR, sRA, λ_1 per l'intera fetta di interesse secondo le formule riportate le Capitolo1 (1.4.1) e utilizzando sempre le strutture a celle. Di seguito un esempio delle mappe di un rene sinistro di un paziente sano.

- Mappa MD: rappresenta la diffusività media delle molecole in un determinato voxel. Nell'immagine a destra (Figura 4.3.1.3) la mappa MD presenta minor intensità in corrispondenza della corteccia, mentre maggior intensità della regione delle medulla. Questo potrebbe essere dovuto a una minor diffusività nella regione della medulla rispetto alla corteccia a causa dei tubuli renali i quali contengono il moto diffusivo dell'acqua.

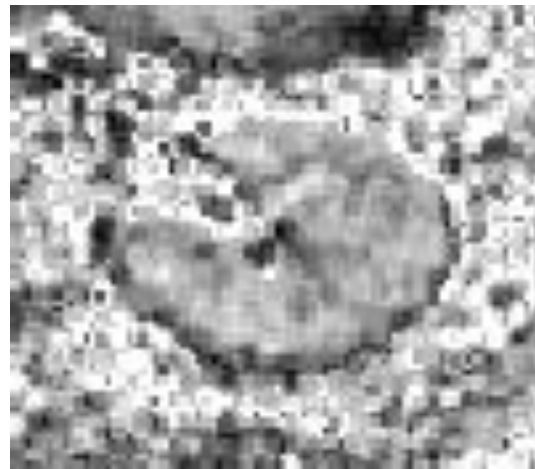


Figura 4.3.1.3: mappa di MD di un rene sano

$$MD = \frac{\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3}{3}$$

- Mappa FA: rappresenta l'anisotropia frazionaria delle molecole in un determinato voxel. La mappa FA ha valori crescenti al crescere dell'anisotropia ([0,1]), in accordo con l'immagine a destra (Figura 4.3.1.4), in cui la zona di medulla risulta più chiara rispetto la zona di corteccia, probabilmente a causa di un maggior anisotropia dovuta ai tubuli renali che indirizzano il movimento dell'acqua in direzioni preferenziali

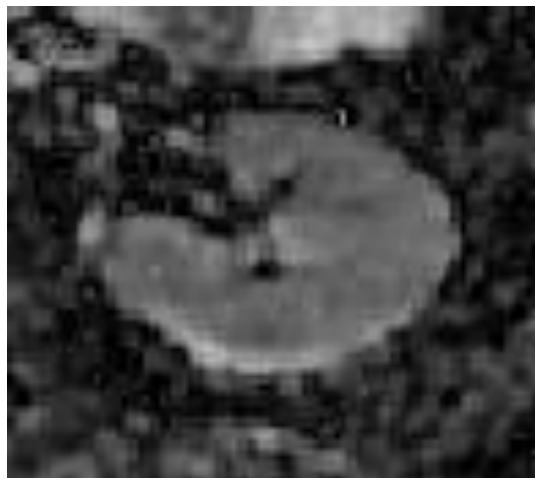


Figura4.3.1.4: mappa FA di un rene sano

$$FA = \frac{\sqrt{3}}{2} \sqrt{\frac{(\lambda_1 - MD)^2 + (\lambda_2 - MD)^2 + (\lambda_3 - MD)^2}{\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2}}$$

- Mappe VR, sRA, e λ_1 : le informazioni relative alle mappe VR, sRA e λ_1 contengono minor informazioni rispetto alle mappe precedenti. Le prime due forniscono informazioni sull' isotropia (0) e anisotropia (1) delle molecole, mentre la terza, rappresenta l'ampiezza dell'autovalore maggiore, relativo, quindi alla direzione preferenziale. Dalla prima e dalla seconda immagine a lato (mappa VR e sRA) si può notare come la corteccia abbia una tonalità di grigio più scura (zona più isotropa) rispetto alla medulla (zona più anisotropa). Dalla mappa λ_1 , invece, non si riescono a differenziare, in questo caso, le due regioni.

$$VR = 1 - \frac{\lambda_1 \lambda_2 \lambda_3}{MD^3}$$

$$sRA = \frac{\sqrt{(\lambda_1 - MD)^2 + (\lambda_2 - MD)^2 + (\lambda_3 - MD)^2}}{\sqrt{6} \cdot MD}$$

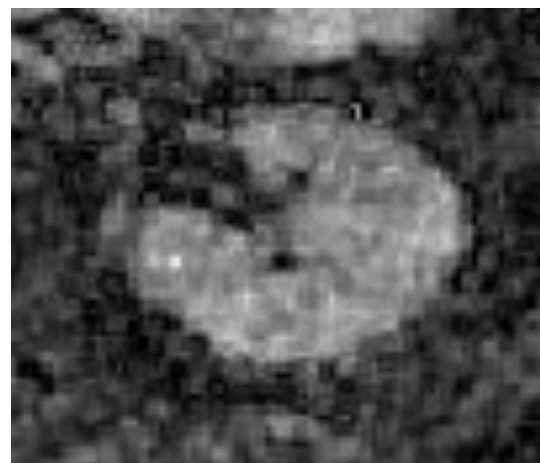
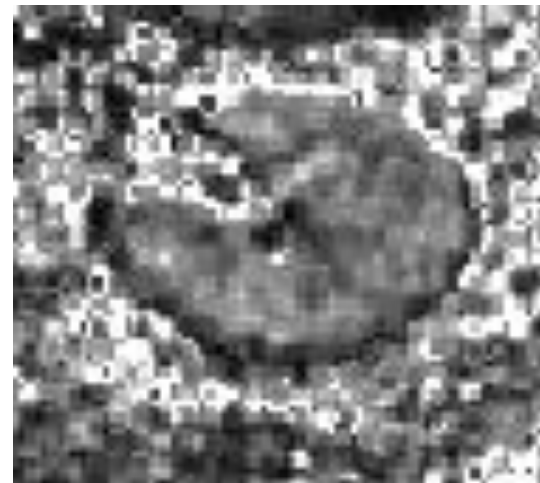
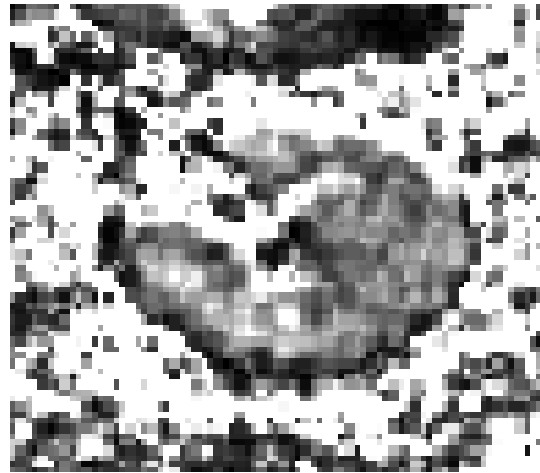


Figura 4.3.1.5: dall'alto: mappa VR, sRA e λ_1

Le mappe così ottenute sono state salvate in Matlab in una matrice tridimensionale $N \times N \times 5$, come si può vedere in figura 4.3.2.7. Grazie a questa matrice, nel successivo algoritmo di selezione delle ROI, selezionando una sola zona di interesse verranno calcolate le medie e le deviazioni standard di tutte le mappe all'interno della zona selezionata.

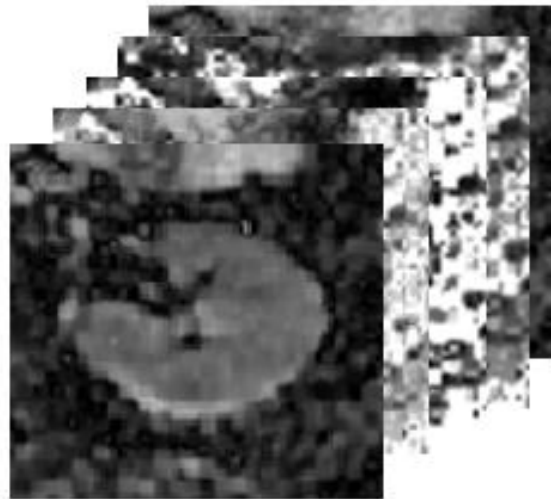


Figura 4.3.1.6: matrice tridimensionale utilizzata per il salvataggio delle mappe

4.3.2 Immagini DWI e mappe ADC

Per la costruzione delle mappe di ADC sono necessari molto meno dati rispetto alle mappe descritte precedentemente; utilizzando, infatti, soltanto l'immagine S_0 (l'immagine non pesata in diffusione) e il b-value è stato possibile costruire la mappa dell'*Apparent Diffusion Coefficient*. Il numero delle fette per paziente non è fisso, a causa delle misure variabili del rene, per cui, l'input dell'algoritmo è un numero identificativo della fetta selezionata dall'utente e la sua successiva, ovvero l'immagine DWI della stessa fetta con $b > 0$.

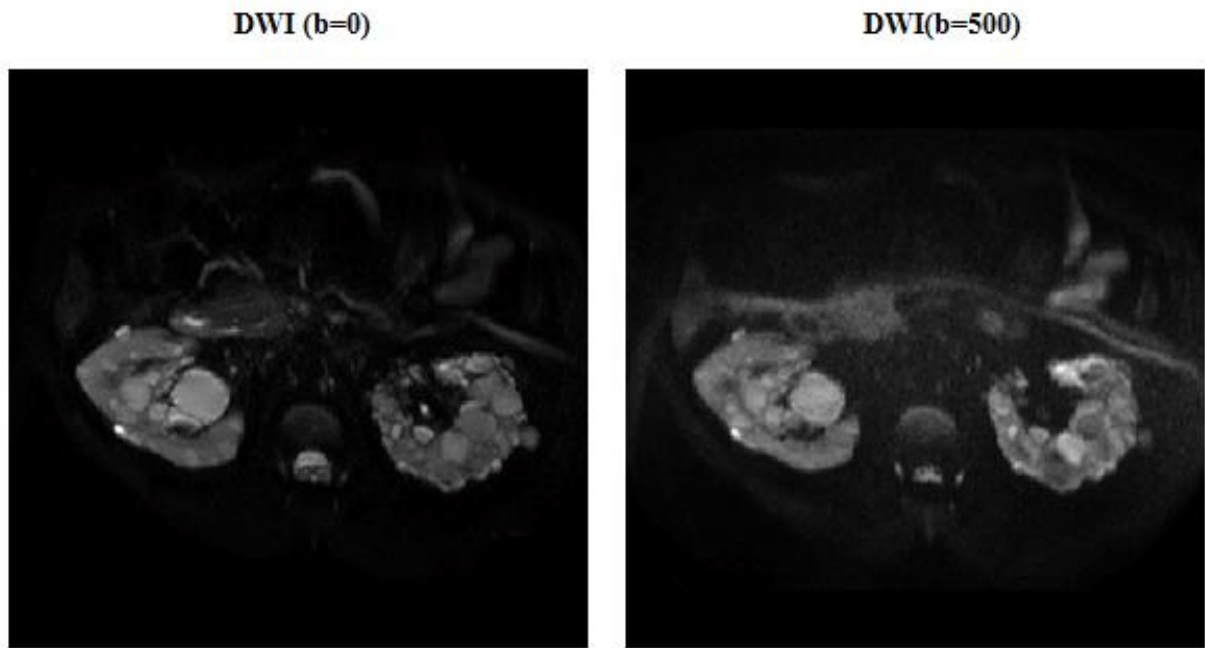


Figura 4.3.2.1: Immagine a sinistra: acquisizione DWI con $b=0$ di una sezione di rene policistico allo stadio 1-2.
Immagine a destra: acquisizione DWI con $b=500$ della stessa sezione

Grazie alla formula di seguito è stato possibile calcolare i valore di *apparent Diffusion Coefficient* per ciascun voxel e quindi la mappa ADC per l'intera immagine:

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

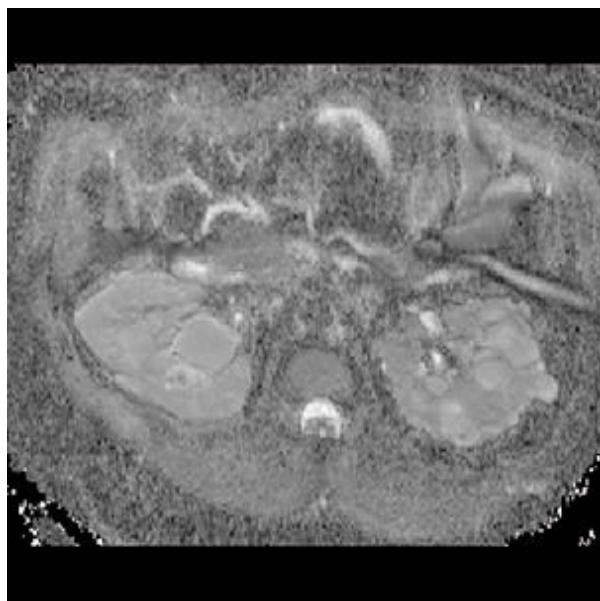


Figura 4.3.1.7: mappa ADC di due reni policistici di una paziente in stadio 1-2

4.4 Analisi immagini e selezione ROI

Una volta che sono state ottenute le mappe di isotropia è possibile procedere con la selezione della ROI. L'algoritmo che è stato implementato prevede una selezione delle ROI leggermente diversa per i diversi reni analizzati: i reni sani e i reni policistici. Nei prossimi paragrafi verranno, quindi, spiegate le metodologie con cui sono state selezionate le immagini da analizzare e la selezione delle ROI. Una volta ottenuti i risultati di tutti i pazienti l'analisi statistica dei risultati è stato utilizzato il t-test.

4.4.1 Analisi dei reni sani

Per l'analisi del rene sano è stata selezionata, in accordo con la letteratura, una delle sezioni centrali del rene, in particolare quella in cui era maggiormente visibile dall'immagine S0 ($b=0$): l'ilo renale, la corteccia e la medulla.

Una volta selezionata l'immagine S0 appropriata e ricavato il tensore e le sue mappe è possibile procedere con la selezione delle ROI di corteccia e medulla. Queste due zone sono state selezionate in primo luogo per valutare se i parametri derivanti dal tensore fossero in grado di discriminare una maggior anisotropia delle medulla rispetto alla corteccia; in secondo luogo per poter ottenere dei valori di riferimento per le successive lesioni renali analizzate ed effettuare un confronto con i valori di ADC del parenchima nei reni policistici.

ROI corteccia: per la selezione della corteccia è stata utilizzata una ROI poligonale in modo da comprendere il più possibile tutta la regione ed avere, quindi, una regione più ampia, e quindi più affidabile nei risultati. Una volta calcolato il numero di pixel all'interno della zona selezionata, viene calcolata la media e la deviazione standard della regione per tutte le mappe calcolate precedentemente. Infine, viene valutato anche il numero di pixel anomali all'interno della ROI poligonale; questi non verranno aggiunti nel calcolo di media e deviazione standard della regione, ma sono indicatori del livello di affidabilità della regione selezionata.

La media dei pixel che sono stati utilizzati nelle ROI poligonali è 79.6 ± 21 pixel. La corteccia è stata selezionata sia nel rene destro che sinistro.

Un esempio di selezione di una ROI poligonale per la corteccia è riportato in Figura 4.4.1.1 a sinistra.

ROI medulla: per analizzare la zona di medulla sono state utilizzate tre ROI rettangolari posizionate nella zona superiore, mediana e inferiore della sezione assiale del rene, in accordo con la letteratura (Zheng 2014, Cova 2004). In uscita dall'algoritmo viene riportata la somma dei pixel delle tre ROI e la somma dei pixel anomali delle tre ROI, separatamente per i valori di MD, FA, VR, sRA, λ_1 . In questo modo è possibile valutare il grado di affidabilità dei valori separatamente per ogni parametro. Il criterio di classificazione dei pixel anomali è lo stesso delle ROI della corteccia. La dimensione delle tre ROI non è fissa ma variabile, in base alla scelta dell'utente, per cui per dare maggior importanza alla ROI maggiore, per il calcolo di media e deviazione standard è stata utilizzata una media pesata.

La media della somma dei pixel utilizzati nelle tre ROI per i 10 pazienti sani è 53 ± 10 .

Di seguito la Figura 4.4.1.1 illustra un esempio di selezione ROI di medulla e corteccia.

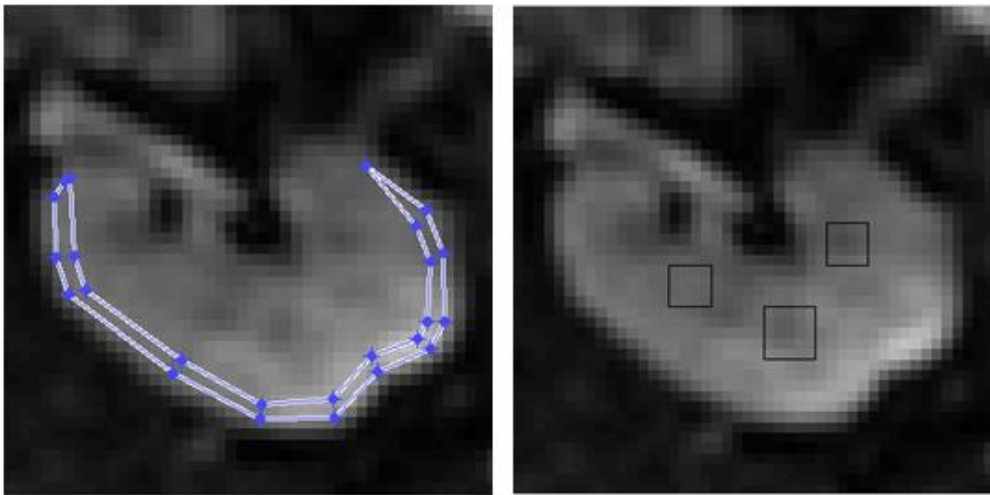


Figura 4.4.1.1: sinistra: esempio selezione ROI poligonale di un rene sano. Destra: esempio selezione di tre ROI rettangolari dalla medulla.

I risultati così ottenuti vengono salvati in Matlab in due strutture a celle (6×5), in cui possono essere visualizzate sia i risultati relativi alla corteccia che alla medulla. In particolare vengono riportati le medie, le deviazioni standard, il numero di pixel totale utilizzato e il numero di pixel anomali di MD, FA, VR, sRA, λ_1 . Riportando i risultati in questo modo è stato più immediato raccogliere i dati relativi ai pazienti.

		1	2	<2x2 cell>		
1	'corteccia'	<6x5 cell>				
2	'medulla'	<6x5 cell>				
1	'corteccia'	'media'	'dev.st'	'n° pixel totali'	'n° pixel anomali'	
2	'MD'	0.0028	1.7815e-04	94	0	
3	'FA'	0.3338	0.0774	[]	0	
4	'VR'	0.1136	0.0607	[]	0	
5	'sRA'	0.1136	0.0607	[]	0	
6	'lamda1'	0.1136	0.0607	[]	0	
1	'medulla'	'media'	'dev.st'	'n° pixel totali'	'n° pixel anomali'	
2	'MD'	0.0026	2.2595e-04	52	0	
3	'FA'	0.4019	0.0784	[]	0	
4	'VR'	0.1861	0.0753	[]	0	
5	'sRA'	0.2474	0.0532	[]	0	
6	'lamda1'	0.0037	3.0075e-04	[]	0	

Figura 4.4.1.2: struttura a celle per la visualizzazione dei risultati

In totale sono state selezionate otto ROI per paziente: una per la corteccia, tre per la medulla, sia per il rene destro che per il rene sinistro. I risultati finali sono quindi relativi a venti acquisizioni per la corteccia e sessanta per la medulla.

4.4.2 Analisi dei reni con ADPKD

In questo paragrafo verrà descritta la metodologia di analisi dei reni policistici di cui sono state acquisite le immagini DWI. Le strutture renali che sono state analizzate sono tre e sono riportate di seguito:

- valore di ADC nelle cisti
- valore di ADC nelle zone di apparente parenchima funzionante
- valore di ADC nelle zone di parenchima in prossimità delle cisti

Non è stato sempre possibile selezionare le tre zone nella stessa immagine, per cui per alcuni pazienti è stato necessario analizzare più fette dello stesso rene, e nel peggiore dei casi non è stato possibile selezionare alcuna zona di parenchima. Le regioni di parenchima in prossimità delle cisti sono state selezionate per valutare se i valori di ADC trovati possono riflettere, per esempio, delle condizioni di maggior anisotropia dei moti di diffusione dell'acqua nei pressi delle cisti.

Una volta visualizzata l'immagine di cui è stata calcolata la mappa ADC, l'algoritmo di selezione delle ROI prevede con *input*: l'inserimento della regione da selezionare e il

numero di ROI che si vuole utilizzare per tale regione. Nei casi in cui è stato possibile sono state selezionate:

- 1 ROI per la zona di apparente parenchima funzionante
- 1 ROI per nella zona di parenchima in prossimità delle cisti
- Un numero di ROI per le cisti variabile per ogni paziente legato allo stadio della malattia, alla risoluzione dell'immagine e alla dimensione delle cisti.

Le ROI sono rettangolari, di grandezza variabile e sono state selezionate sull' immagine DWI con b-value=0. In particolare, per la selezione delle ROI in prossimità delle cisti sono state analizzate delle regioni molto piccole, come si può vedere nella figura di seguito.

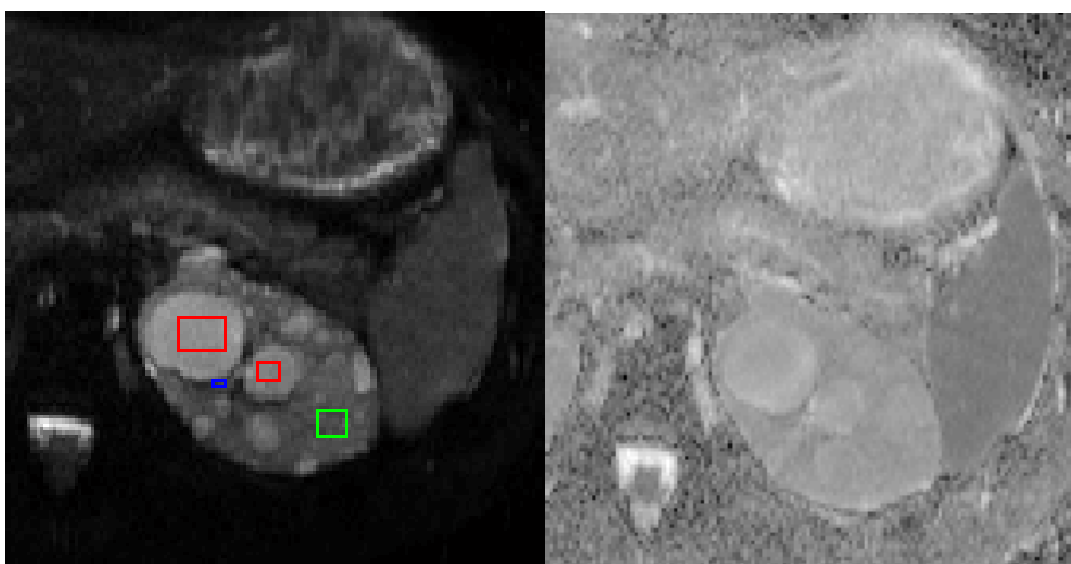


Figura 4.4.2.1: a sinistra: esempio di selezione delle ROI nell' immagine S0: rosso: selezione delle cisti, verde: parenchima, blu: parenchima in prossimità delle cisti. A destra: mappa ADC dello stesso rene.

Per tutte le regioni analizzate vengono calcolate automaticamente media, deviazione standard, numero di pixel totali e numero di pixel anomali. Nel caso in cui vengano selezionate diverse cisti, la media dei valori di intensità di grigio dei pixel viene calcolata per ciascuna ciste, e infine viene calcolata la media dei valori di ADC di tutte le cisti, in questo modo è stato dato lo stesso peso al valore di ogni ciste. Di seguito, un esempio di visualizzazione dei risultati dopo la selezione di due cisti.

I risultati vengono organizzati in Matlab in strutture a celle riportando sia i risultati relativi alle singole cisti sia i risultati totali, in questo modo risulta possibile riconoscere, per esempio, quale ciste riporta dei risultati anomali.

	1	2	3	4	5
1	'regione'	'media ADC'	'dev.st'	'num. pixel TOT'	'pixel anomali'
2	'ciste'	0.0028	1.4217e-04	112	0
3	'ciste'	0.0029	1.5078e-04	72	0
4	'totale'	0.0029	4.6953e-05	92	0

Figura 4.4.2.2: visualizzazione dei risultati per i valori di due cisti

4.4.3 Analisi dei carcinomi renali

I soggetti con la malattia policistica e la presenza di un carcinoma tra le cisti sono due. Di questi sono state acquisite le immagini DWI dell'intero volume renale per diversi valori di b (500, 700, 900, 1500). La posizione del carcinoma non era nota a priori e non era facilmente individuabile dall'immagine S0, immagine che è stata utilizzata per tutte le selezioni precedenti. Per riuscire, quindi, ad individuarlo e poter valutare il suo valore di ADC medio sono state sfruttate le diverse proprietà delle cisti e del carcinoma nelle immagini DWI acquisite con diversi valori di b-value.

Il coefficiente di diffusione apparente che misuriamo è funzione del b-value. Misure con bassi valori di b-value sono più sensibili alle componenti a rapida diffusione, come le cisti, strutture ripiene di liquido. Man mano che il b-value aumenta l'immagine diventa più rumorosa ed è meno sensibile alle strutture a rapida diffusione. Nelle immagini DWI a b-value elevato dei pazienti con carcinoma l'immagine risulta molto rumorosa e risulta impossibile riconoscere le cisti, la zona che rimane, invece, distinguibile è quella del carcinoma, il quale ha una struttura con minor diffusività e quindi compare anche in queste immagini. Grazie a questa proprietà è stato possibile distinguere il carcinoma dalle cisti. In particolare la selezione delle ROI verrà descritta di seguito.

ROI carcinoma: è stata selezionata l'immagine DWI ($b=1500 \text{ s/mm}^2$) in cui è stato possibile distinguere una regione all'interno del volume renale che si distinguesse da un background rumoroso. Una volta scelta la fetta è stata selezionata una ROI rettangolare

sulla regione individuata. Le coordinate della ROI sono state utilizzate per ritrovare la corrispondente regione nell'immagine DWI ($b=0 \text{ s/mm}^2$) della stessa fetta. A questo punto è stato possibile calcolare il valore di ADC per la regione corrispondente al carcinoma, inoltre, il coefficiente è stato calcolato per tutti i valori di b (500, 700, 900, 1500 s/mm^2) per valutare la variazione del valore di ADC del carcinoma al crescere di b .

ROI ciste e parenchima: per avere un confronto e un riferimento sulle altre strutture renali al variare del b -value, sono state selezionate anche delle ROI rettangolari su una ciste e dove possibile sul parenchima, basandosi solamente sull'immagine S_0 .

In questo modo è stato possibile valutare al variare del b -value il valore di ADC in tre diverse strutture, valutando anche il numero di pixel anomali al crescere di b .

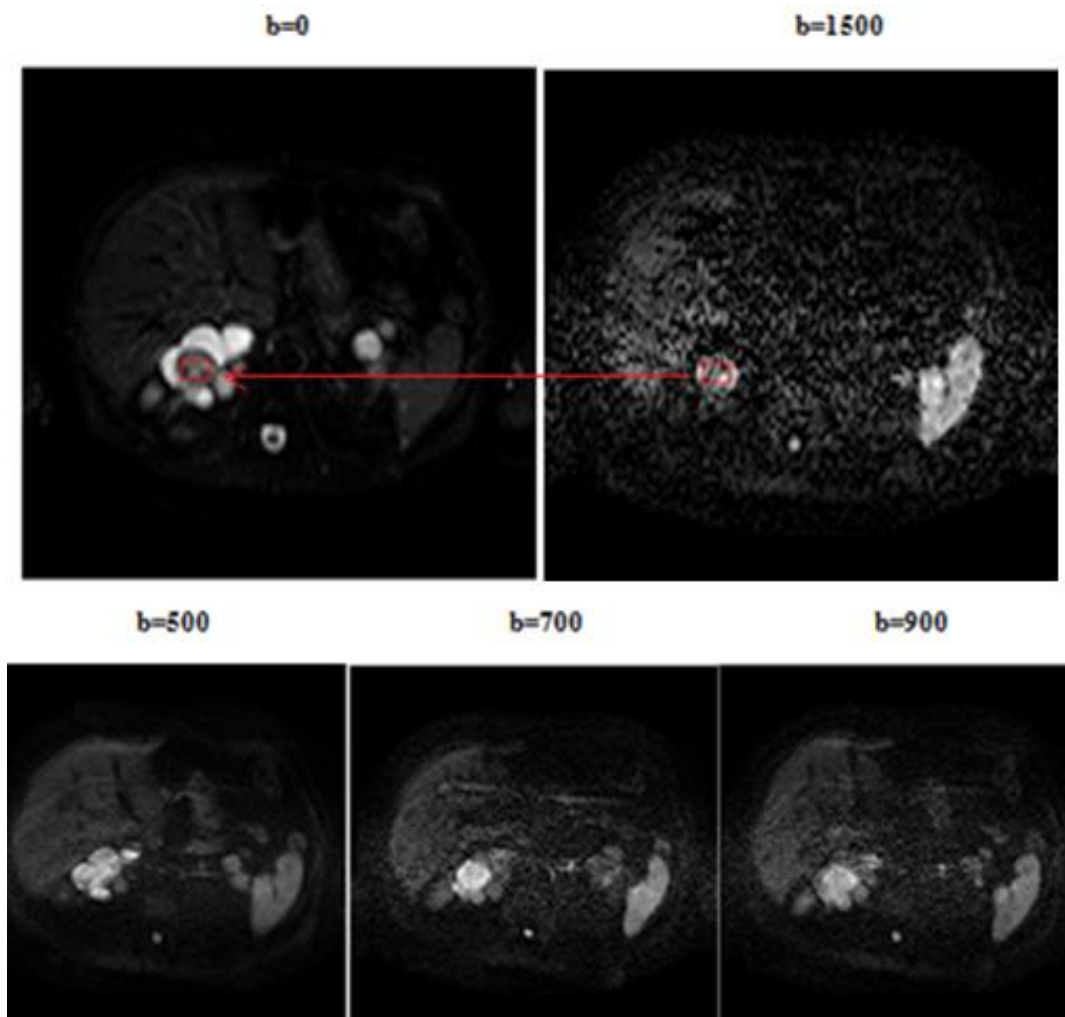


Figura 4.4.3.1: immagini DWI di un rene policistico con diversi b -value (0, 500, 700, 900, 1500). La freccia rossa indica la ROI che è stata selezionata nell'immagini DWI con $b=1500$ per selezionare il carcinoma, la stessa ROI è stata selezionata nell'immagine S_0 ($b=0$).

4.4.4: Valutazione del grado di avanzamento della malattia con ADC

Per valutare se il coefficiente di diffusione apparente (ADC) del parenchima renale residuo è in grado di fornire informazioni sul grado di avanzamento della malattia policistica autosomica dominante, sono state analizzate le immagini DWI di 12 pazienti con follow-up.

L'analisi si è suddivisa nelle seguenti fasi:

1. suddivisione del gruppo di studio in due stadi di avanzamento della malattia: 1-2 e 3-4 con relativi valori di creatinina ed eGFR, relativi alla visita al tempo t_1 (prima visita), t_2 (seconda visita) e t_3 (terza visita). I dati di follow-up al tempo t_3 sono stati disponibili solo per tre pazienti.
2. selezione di due immagini, una al tempo t_1 e una al tempo t_2 (o rispettivamente al tempo t_2 e t_3) che al meglio rappresentassero la stessa fetta renale.
3. analisi dei valori di ADC al tempo t_1 , t_2 e t_3 , considerando le stesse regioni.
4. correlazione dei valori ottenuti al punto precedente con i valori di creatinina e eGFR.

Analisi del follow-up

Le acquisizioni DWI al tempo t_2 sono state effettuate a una distanza di tempo di un minimo di 1 a un massimo di 3 anni dalla visita al tempo t_1 . A causa del lasso di tempo trascorso, quindi del possibile aumento del volume renale e per altre cause correlate all'acquisizione, il gruppo di immagini al tempo t_1 e t_2 non hanno lo stesso numero di fette e non sono allineate; per cui una prima fase dell'analisi riguardava la selezione di due fette che al meglio potevano rappresentare lo stesso piano renale e che contenessero le regioni interessate all'analisi. Queste regioni sono le stesse elencate precedentemente: parenchima apparentemente funzionante, parenchima in prossimità delle cisti e cisti. Spesso non è stato possibile trovare queste regioni su una stessa fetta, per cui, per alcuni pazienti è stato necessario selezionare due o più fette.

Una volta ottenute le immagini di interesse al tempo t_1 - t_2 e t_2 - t_3 , sono state calcolate le mappe ADC di entrambe con l'algoritmo spiegato precedentemente (par. 4.3.2). Per quanto riguarda, invece, la selezione delle ROI rettangolari, queste sono state posizionate, in un primo momento sull'immagine al tempo t_1 , successivamente

sull'immagine di follow-up, ponendo particolare attenzione a selezionare le stesse regioni nelle stesse coordinate della visita precedente (Figura 4.4.4.1); in questo modo è stato possibile effettuare una valutazione sulla variazione del valore di ADC nel tempo. In particolare, la ROI sul parenchima apparentemente funzionante è stata posizionata il più lontano possibile dalle cisti, ove possibile. Infine, le ROI selezionate nelle zone di parenchima in prossimità delle cisti sono state selezionate di piccole dimensioni (media 11 ± 3.9), mentre sia il numero che la dimensione delle ROI sulle cisti è variabile per ogni paziente e per ogni ciste.

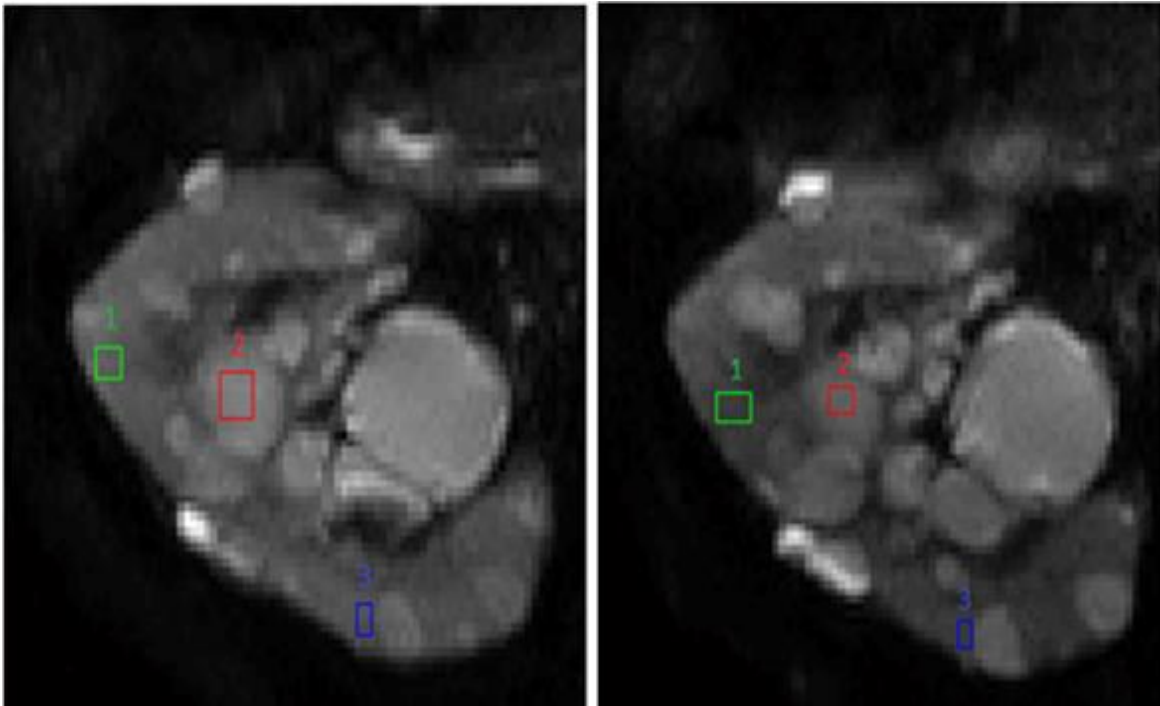


Figura 4.4.4.1: immagini DWI di una paziente con ADPKD in stadio 1-2. A sinistra acquisizione al tempo t2 (Luglio 2010), mentre a destra l'acquisizione al tempo t3. Esempio di selezione delle ROI nelle stesse regioni.

Correlazione tra ADC e creatinina-eGFR

Per valutare se la tecnica di risonanza magnetica in diffusione permette di valutare la presenza di parenchima funzionale residuo, i risultati ottenuti nel parenchima sono stati confrontati con i valori ottenuti nel parenchima del rene sano nella precedente analisi. Inoltre, i valori di creatinina ed eGFR di tutti i pazienti sono stati ordinati in maniera crescente e utilizzati per valutare l'esistenza di una relazione tra i valori di eGFR e di ADC del parenchima apparentemente funzionante.

La stima del tasso di filtrazione glomerulare (eGFR) è stata calcolata utilizzando la formula di Cockcroft-Gault, la quale prende in considerazione i valori di creatinina, e le proprietà specifiche di ogni paziente come segue:

$$eGFR(ml/min) = (140 - età) \times \frac{\text{peso in Kg}}{72 \times sCr \text{ in } \frac{mg}{dl}}$$

Se il paziente è femmina il risultato va moltiplicato ancora per 0,85.

Capitolo 5

Risultati

Nei prossimi paragrafi verranno riportati i risultati ottenuti in questo elaborato di tesi relativi ai soggetti sani, alla differenziazione delle diverse strutture renali tramite i coefficienti ADC (derivato dalle immagini DWI) e MD (derivato dal tensore di diffusione) e ai risultati ottenuti dall'analisi di follow-up. Infine, l'ultimo paragrafo mostrerà i risultati ottenuti dalla valutazione del coefficiente ADC per diverse strutture renali con diversi valori di b, e i risultati relativi alla caratterizzazione delle cisti a contenuto sieroso e della ciste ematica con il tensore di diffusione, confrontandoli con i valori di corteccia e medulla.

Ove possibile, i risultati ottenuti sono stati confrontati con lo stato dell'arte.

5.1 Soggetti sani

Parametri DTI di medulla e corteccia dei rene destro e sinistro:

In questo studio sono stati analizzati e confrontati i valori derivanti dal tensore di diffusione per la corteccia e la medulla sia per il rene destro sia del rene sinistro, considerando un $p\text{-value} < 0,05$ statisticamente significativo. Nella tabella di seguito i risultati ottenuti.

regione	rene destro	rene sinistro	p-value
corteccia MD ($\times 10^{-3}$) ($\text{mm})^2/\text{s}$)	2,70 \pm 0,36	2,68 \pm 0,31	0,77
medulla MD ($\times 10^{-3}$) ($\text{mm})^2/\text{s}$)	2,47 \pm 0,31	2,45 \pm 0,21	0,87
corteccia FA	0,34 \pm 0,10	0,40 \pm 0,16	0,13
medulla FA	0,36 \pm 0,09	0,47 \pm 0,14	0,01
corteccia VR	0,15 \pm 0,01	0,21 \pm 0,16	0,14
medulla VR	0,16 \pm 0,07	0,29 \pm 0,17	0,02
corteccia sRA	0,21 \pm 0,01	0,26 \pm 0,12	0,12
medulla sRA	0,23 \pm 0,06	0,31 \pm 0,11	0,01
corteccia λ_1 ($\times 10^{-3}$) ($\text{mm})^2/\text{s}$)	3,76 \pm 0,9	4,00 \pm 1,0	0,30
medulla λ_1 ($\times 10^{-3}$) ($\text{mm})^2/\text{s}$)	3,49 \pm 0,6	3,86 \pm 0,8	0,21

Tabella 5.1.1: parametri MD, FA, VR, sRA e λ_1 per regioni di medulla e corteccia per il rene destro e sinistro

I risultati ottenuti mostrano una differenza statisticamente significativa per il valore di FA ($p=0,01$), di VR ($p=0,02$) e di sRA ($p=0,01$) nella medulla, tra rene sinistro e rene destro. In particolare, tali valori sono maggiori nel rene sinistro rispetto al rene destro, quindi mostrano una maggior anisotropia. L'andamento di questi risultati sono mostrati nella tabella di seguito, insieme a media, deviazione standard e p-value. La differenza tra tali parametri nel rene destro e sinistro potrebbe essere dovuta a una differenza strutturale o funzionale dei due reni.

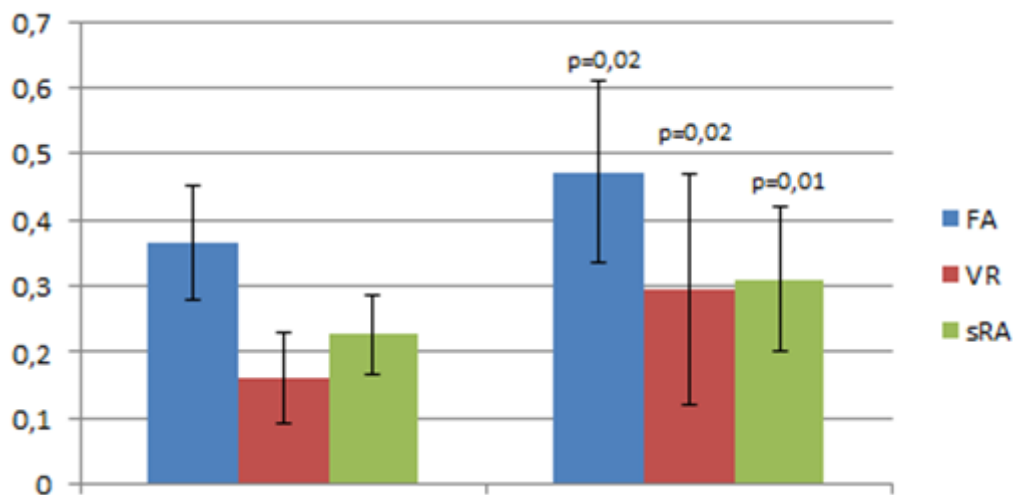


Immagine 5.1.1: media e deviazione standard dei valori di FA, VR e sRA nella medulla per il rene destro (a sinistra) e sinistro (a destra)

Gli altri parametri ricavati non mostrano, invece, una differenza significativa tra rene destro e sinistro.

Confronto con la letteratura:

La letteratura disponibile su questo specifico aspetto è molto limitata. Una differenza statisticamente significativa ($p=0,003$) tra i valori di FA di medulla tra rene sinistro e destro è stata riscontrata anche in uno studio sul tensore di diffusione ($b=800 \text{ s/mm}^2$) dei reni sani (Zheng, 2014). Anche in questa ricerca il valore di FA di medulla del rene sinistro risulta maggiore rispetto al rene destro, rispettivamente $0,33 \pm 0,09$ e $0,31 \pm 0,09$.

Parametri DTI di medulla e corteccia:

Nella tabella 5.1.2 i risultati ottenuti per i parametri DTI per i valori di corteccia e medulla dei dieci pazienti, con il relativo p-value.

regione	corteccia	medulla	p-value
MD ($\times 10^{-3}$) (mm^2/s)	$2,69 \pm 0,33$	$2,46 \pm 0,26$	0,00001
FA	$0,37 \pm 0,13$	$0,42 \pm 0,12$	0,001
VR	$0,18 \pm 0,13$	$0,23 \pm 0,14$	0,004
sRA	$0,23 \pm 0,10$	$0,27 \pm 0,10$	0,001
λ_1 ($\times 10^{-3}$) (mm^2/s)	$3,88 \pm 0,92$	$3,68 \pm 0,75$	0,035

Tabella 5.1.2: risultati dei parametri DTI di corteccia e medulla die soggetti sani

I risultati mostrano un valore di MD della medulla significativamente minore ($p=0,00001$) rispetto alla corteccia. Per quanto riguarda i valori di FA, VR e sRA, questi hanno un valor medio di medulla significativamente maggiore ($p<0,005$) rispetto alla corteccia. Infine, il valore di λ_1 di medulla risulta minore rispetto al valore di corteccia. I risultati ottenuti dai parametri MD, FA, VR e sRA mostrano dei valori di maggior anisotropia della medulla rispetto alla corteccia; questo potrebbe essere dovuto ai tubuli renali nella medulla, i quali inducono una direzionalità e anisotropia nel moto diffusivo dell'acqua.

Nelle tabelle di seguito i risultati ottenuti per i parametri DTI con un valore di p-value $\leq (0,001)$ tra i valori di corteccia e medulla, in cui risulta evidente l'anisotropia della medulla rispetto alla corteccia.

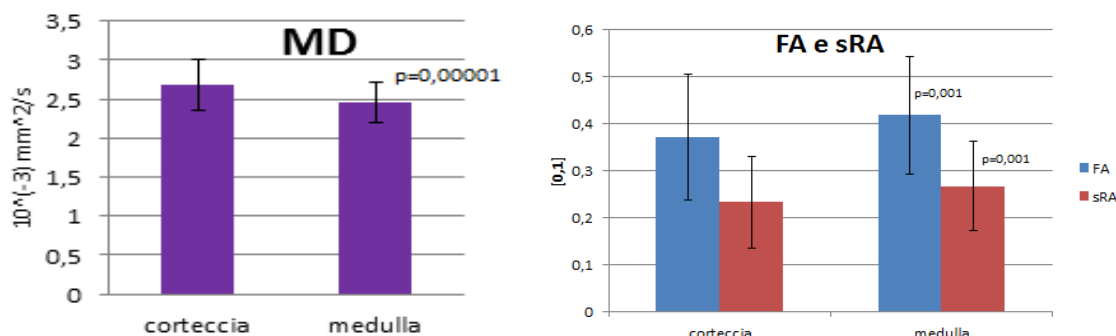


Figura 5.1.4: valori medi, deviazioni standard e p-value dei valori di MD (a sinistra) e di FA e sRA (a destra) nella corteccia e nella medulla.

Tutti questi risultati sono concordi nell'evidenziare differenze strutturali tra medulla e corteccia confermate dalla effettiva anatomia.

In figura 5.1.5 verranno riportati, i valori di MD di corteccia e medulla per ogni paziente. In particolare, i primi dieci valori di medulla e corteccia riportati riguardano il rene destro, mentre gli ultimi dieci valori quello sinistro. Dal grafico risulta evidente come i valori di corteccia siano superiori al valore di medulla in quasi tutti i reni analizzati.

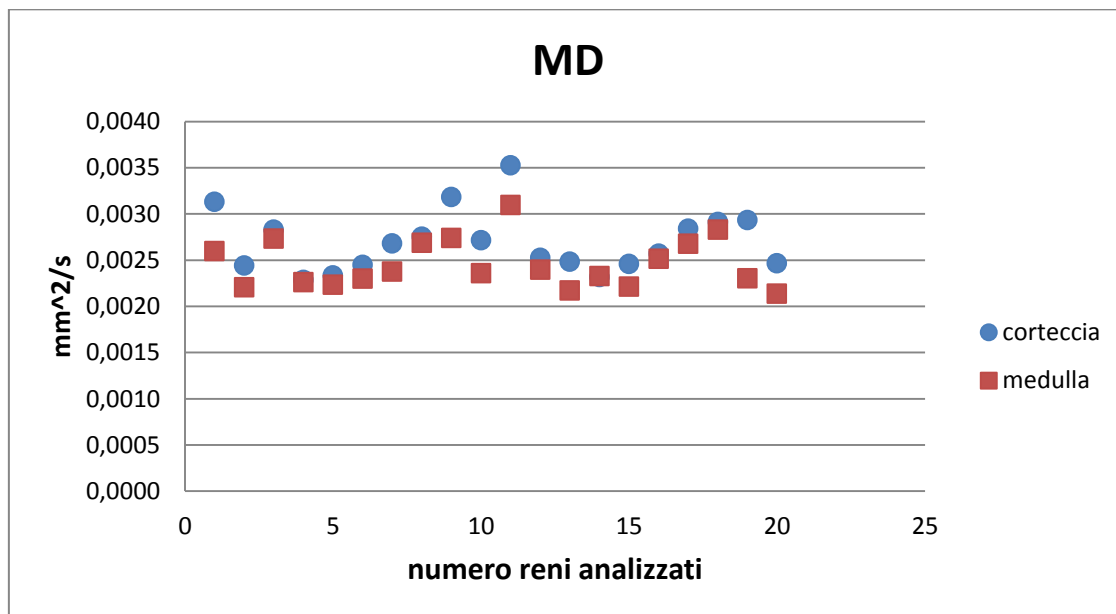


Figura 5.1.5: risultati relativi al valore di MD di medulla e corteccia dei 10 pazienti sani

Confronto con la letteratura:

Solo per i parametri MD e FA sono disponibili valori in letteratura con cui effettuare il confronto, in particolare con i valori riportati nella tabella 3.3.1.

Per quanto riguarda i valori di MD, i risultati raggiunti in questo elaborato di tesi sono in accordo con i risultati ottenuti nelle ricerche precedenti che hanno utilizzato un b-value 500 (Gaudio 2013, Chuck 2013) e un b-value 800 (Zheng 2014); i valori medi di MD di medulla risultano, infatti, minori rispetto ai valori medi di MD della corteccia. Infine, anche i valori medi di corteccia ($2,69 \pm 0,32 \times 10^3 \text{ mm}^2/\text{s}$) e medulla ($2,46 \pm 0,26 \times 10^3 \text{ mm}^2/\text{s}$) misurati in questa tesi sono confrontabili con i valori medi trovati negli altri due studi che utilizzano un b-value 500: $2,55 \pm 0,18 \times 10^3 \text{ mm}^2/\text{s}$ e $2,25 \pm 0,24 \times 10^3 \text{ mm}^2/\text{s}$ (Gaudio 2013), $2,5 \pm 1,12 \times 10^3 \text{ mm}^2/\text{s}$ e $1,87 \pm 0,12 \times 10^3 \text{ mm}^2/\text{s}$ (Chuck 2013), rispettivamente per corteccia e medulla.

Per quanto riguarda, invece, i valori di FA di corteccia e medulla ritrovati negli studi precedenti (Gaudio 2013, Chuck 2013, Hueper 2011, Zheng 2014), sono state ottenute differenze statisticamente significative ($p < 0,05$), in particolare, hanno ottenuto valori medi di medulla superiori a quelli di corteccia.

5.2 Differenziazione delle diverse strutture renali

In questo paragrafo verranno esposti i risultati di ADC e MD (con b-value $500 \text{ mm}^2/\text{s}$) ottenuti per le diverse strutture renali, in particolare: la corteccia e la medulla sana, le cisti ed il carcinoma. Per alcune strutture renali sono stati ricavati i valori di ADC dalle immagini DWI, per altre i valori di MD dal tensore di diffusione, come specificato nel capitolo 4; nei grafici e nelle tabelle di seguito, verrà menzionato solo il parametro ADC per facilitare l'esposizione, in quanto ADC e MD hanno valori confrontabili.

Nella tabella 5.2.1 i risultati di media e deviazione standard ottenuti per le diverse strutture renali, seguita dalla figura 5.2.1, in cui gli stessi risultati vengono proposti graficamente.

Il valore medio e deviazione standard delle cisti è stato calcolato dai valori medi delle cisti del rene sinistro e del rene destro, di quindici pazienti policistici. Per quanto riguarda i pazienti con follow-up, di questi sono stati inseriti nell'analisi del valor medio i valori di ADC relativi alla prima visita. Infine, non per tutti i soggetti è stato possibile valutare sia le cisti del rene sinistro che destro. Il sedicesimo soggetto policistico con acquisizione DTI è stato escluso dall'analisi in quanto la qualità dell'immagine non risultava affidabile.

Per quanto riguarda i valori di corteccia e medulla sono stati riportati i risultati relativi all'analisi del rene sano di dieci pazienti.

Infine, per il calcolo di media e deviazione standard delle ultime due lesioni renali sono stati analizzati due carcinomi e una ciste ematica.

b=500		
ADC ($\times 10^{-3}$) mm ² /s		
regione	media	dev.st
ciste	3,58	0,53
corteccia rene sano	2,69	0,33
medulla rene sano	2,46	0,26
carcinoma	2,26	0,24
ciste ematica	1,04	0,37

Tabella 5.2.1: media e deviazione standard di ADC delle diverse strutture renali analizzate per b-value=500.

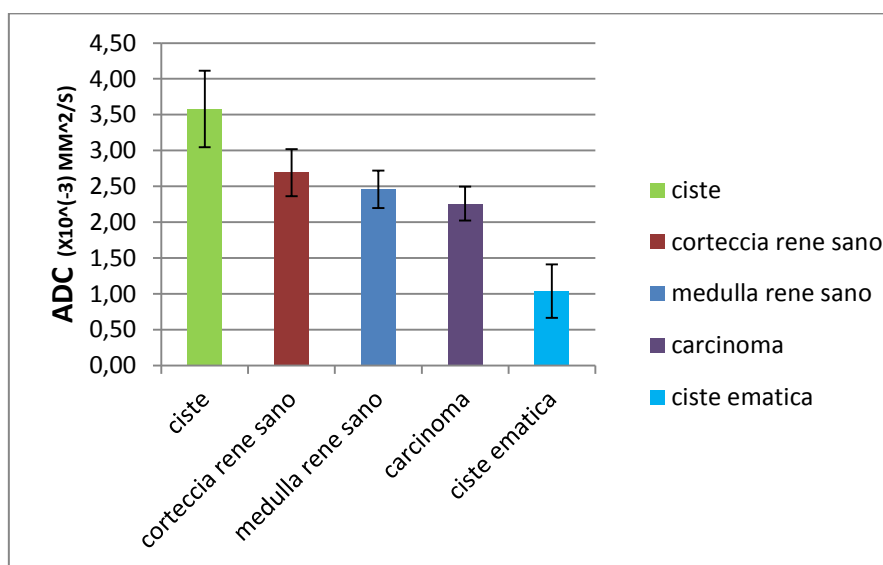


Figura 5.2.1: media e deviazione standard di MD delle diverse strutture renali analizzate

Dalla figura 5.2.1 emerge un valore medio di ADC delle cisti di contenuto sieroso molto maggiore ($3,58 \pm 0,53 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$) rispetto al valore di ADC della ciste ematica ($1,04 \pm 0,37 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$). Questi risultati mostrano una maggior diffusività nelle cisti di contenuto sieroso rispetto a quelle ematiche. Per quanto riguarda, invece, le rimanenti tre strutture in esame, la corteccia, la medulla e il carcinoma, questi mostrano un valore medio di ADC compreso tra i valori di ADC delle cisti sierose e ematiche;

inoltre mostrano, rispettivamente, un coefficiente di diffusione medio con un andamento decrescente.

Di seguito i singoli risultati ottenuti da tutte le acquisizioni descritte precedentemente.

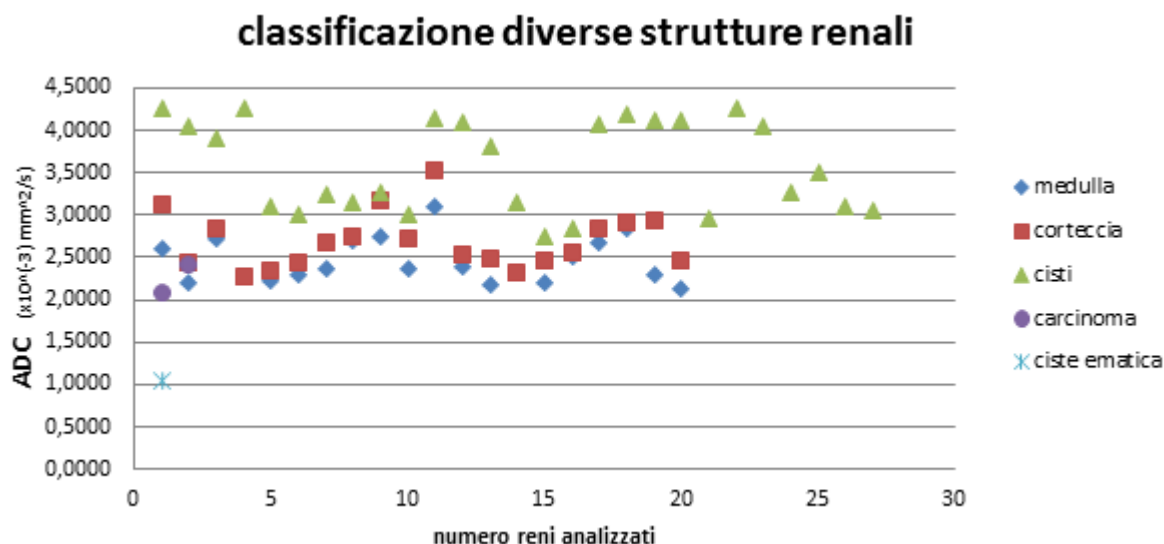


Figura 5.2.2: valore di ADC delle diverse strutture renali per ogni rene analizzato

Dalla figura 5.2.2 si può notare come il valore di ADC della ciste ematica sia di molto inferiore ai valori trovati nelle altre strutture, e come il valori di ADC delle cisti siano superiore ai valori di corteccia e medulla, pur presentando alcuni valori sovrapposti. I valori di ADC dei carcinoma presentano, invece, valori che si sovrappongono al limite inferiore dei valori di ADC di medulla e corteccia. Il range di valori di ADC per il carcinoma è: $(2.42 \pm 0,49 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s})$ e $(2.09 \pm 0,11 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s})$, questi si sovrappongono al limite inferiore dei valori di ADC di corteccia e medulla: $(2.29 \pm 0,12 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s})$ e $(2.14 \pm 0,17 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s})$ rispettivamente.

Confronto con la letteratura:

I valori trovati sono stati confrontati con i risultati ottenuti in uno studio di Cova del 2004 in cui è stato trovato un valore medio di ADC delle cisti semplici $(3,65 \pm 0,09 \times 10^{-3} \text{ (mm}^2/\text{s)})$ maggiore del valore del parenchima $(2,19 \pm 0,17 \times 10^{-3} \text{ (mm}^2/\text{s)})$, e quest'ultimo maggiore, a una volta, del valor medio di ADC trovato per il tumore $(1,55 \pm 0,20 \times 10^{-3} \text{ (mm}^2/\text{s)})$. Questo andamento decrescente rispecchia l'andamento rilevato in questo elaborato di tesi.

5.3 Risultati sui dati di follow-up dei pazienti con ADPKD

Risultati analisi di follow-up:

I risultati ottenuti dall'analisi degli esami di follow-up al tempo t_1 e t_2 dei dodici pazienti affetti dalla malattia del rene policistico vengono riportati di seguito (Tabella 5.3.1). In particolare vengono riportati i valori medi e le deviazioni standard dei valori di creatinina, di eGFR, di ADC del parenchima apparentemente funzionante e in prossimità delle cisti, di ADC delle cisti e il risultato del test effettuato tra i risultati ottenuti al tempo t_1 e t_2 .

	STADIO 1-2			STADIO 3-4		
	tempo t1	tempo t2	p-value	tempo t1	tempo t2	p-value
creatinina (mg/dl)	0,94 ± 0,18	0,98 ± 0,19		1,39 ± 0,25	1,72 ± 0,38	
eGFR (ml/min)	114,29 ± 18,44	110,21 ± 1,25		48,9 ± 6,7	40,43 ± 9,77	
parenchima	2,84 ± 0,34	2,70 ± 0,22	0,35	2,70 ± 0,31	2,64 ± 0,17	0,77
parenchima (in pross. delle cisti)	2,77 ± 0,48	2,61 ± 0,24	0,36	2,82 ± 0,51	2,58 ± 0,08	0,79
cisti	3,56 ± 0,54	3 ± 0,08	0,035	3,52 ± 0,67	2,94 ± 0,24	0,25

Tabella 5.3.1: risultati ottenuti dai 12 pazienti con follow-up

Dai risultati ottenuti si può notare che sia per le regioni di apparente parenchima funzionante, che per le zone di parenchima in prossimità delle cisti e le cisti, mostrano dei valori medi di ADC minori al tempo t_2 rispetto al tempo t_1 , sia per i pazienti allo stadio 1-2 che 3-4. Considerando un $p\text{-value} < (0,05)$ statisticamente significativo, l'unico parametro in cui è presente una differenza statisticamente significativa sono le cisti al tempo t_1 e t_2 nei pazienti allo stadio 1-2, in particolare il valore di ADC delle cisti diminuisce al tempo t_2 ($ADC(t_1): 3,56 \pm 0,54 \times 10^{-3} \text{ (mm}^2/\text{s)}$ e $ADC(t_2): 3 \pm 0,08 \times 10^{-3} \text{ (mm}^2/\text{s)}$, $p\text{-value} = 0,035$).

I risultati di parenchima apparentemente funzionante nei pazienti policistici sono riportati in figura 5.3.1 con i risultati di medulla e corteccia dei reni sani.

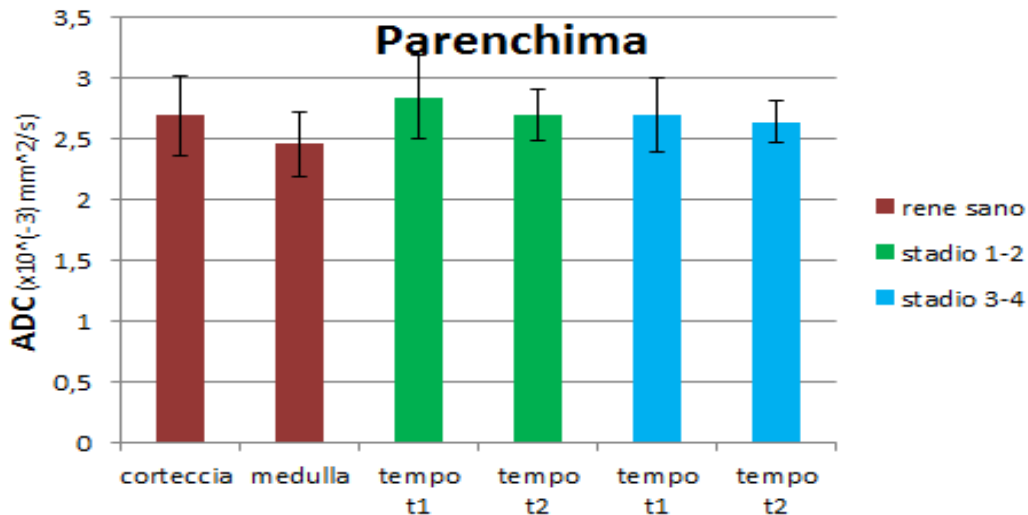


Figura 5.3.1: valori di ADC di parenchima dei reni sani e dei reni policistici agli stadi 1-2 e 3-4 e al tempo t2 e t2.

Dalla figura è possibile notare come i valori medi di parenchima dei reni policistici nei diversi casi ($2,84 \pm 0,34 \times 10^{-3} \text{ (mm}^2/\text{s)}$, $2,70 \pm 0,22 \times 10^{-3} \text{ (mm}^2/\text{s)}$, $2,70 \pm 0,31 \times 10^{-3} \text{ (mm}^2/\text{s)}$, $2,64 \pm 0,17 \times 10^{-3} \text{ (mm}^2/\text{s)}$) abbiano valori molto vicini al valor medio di ADC della corteccia dei reni sani ($2,69 \pm 0,33 \times 10^{-3} \text{ (mm}^2/\text{s)}$)

Risultati della correlazione tra il parenchima e i valor di creatinina ed eGFR

I risultati così ottenuti sono stati correlati con i valori di creatinina ed eGFR per valutare l'esistenza di una correlazione tra lo stato della malattia e i valori di ADC nel parenchima. Nelle figure di seguito non sono state riportati i valori di parenchima di tutti i dodici pazienti in quanto per alcuni non è stato possibile selezionare una ROI.

In figura 5.3.2 i risultati di parenchima per le varie acquisizioni nel tempo. In ascissa i valori di eGFR della prima visita per ogni paziente, mantenendo la stessa ascissa sono stati riportati i valori di ADC del parenchima nel tempo. In questo modo è possibile visualizzare anche l'andamento dei valori di ADC del parenchima alla prima visita in relazione al valore di eGFR.

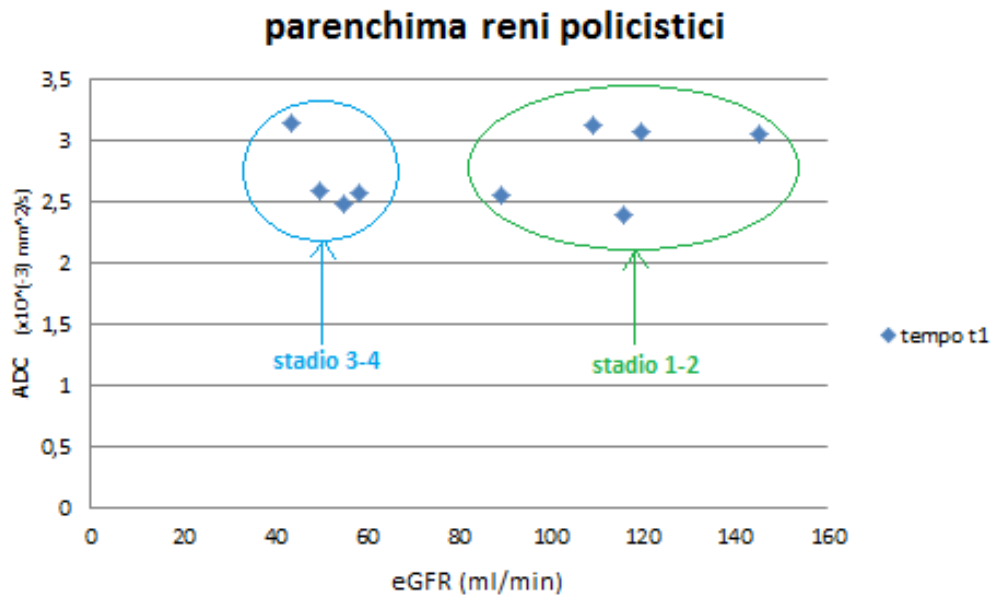


Figura 5.3.2: risultati di ADC delle varie acquisizioni per il tempo t_1 , t_2 , t_3 . In ascissa il valori di eGFR del paziente alla prima acquisizione, in ordinata i valori di ADC del parenchima nelle acquisizioni al tempo t_1 , t_2 e t_3 (mantenendo la stessa ascissa).

Al tempo t_1 i valori di ADC del parenchima non mostrano una relazione con i valori di eGFR e mantengono lo stesso range di valori sia per lo stadio 1-2 che per lo stadio 3-4.

Nella figura 5.3.3 sono riportati tutti i valori di ADC del parenchima ottenuti: sia al tempo t_1 che al tempo t_2 con il rispettivo valore di creatinina per ogni visita e ogni soggetto.

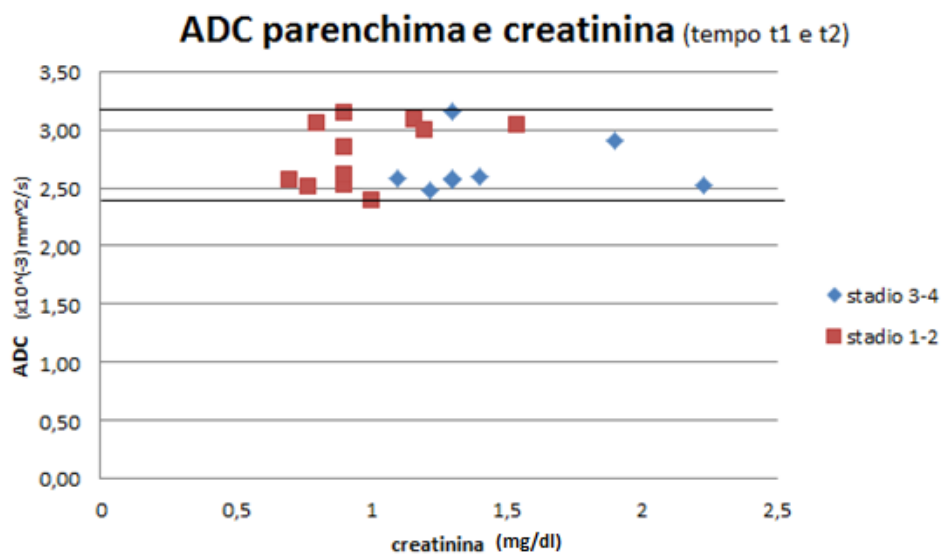


Figura 5.3.3 : i risultati ottenuti per il parenchima per tutti i soggetti nei vari follow-up in relazione al rispettivo valori di creatinina.

Anche da questo grafico è possibile notare come, al crescere dei valori di creatinina i valori di ADC del parenchima rimangono all'interno di un range costante.

In figura 5.3.4 vengono presentati i valori di ADC del parenchima nei vari follow-up in relazione ai valori di eGFR. Anche in relazione ai valori di eGFR, come nel caso della creatinina, i valori di ADC del parenchima non presentano un andamento prevalentemente crescente o decrescente; come dimostrato dalla bassa pendenza (0,002) della retta interpolante.

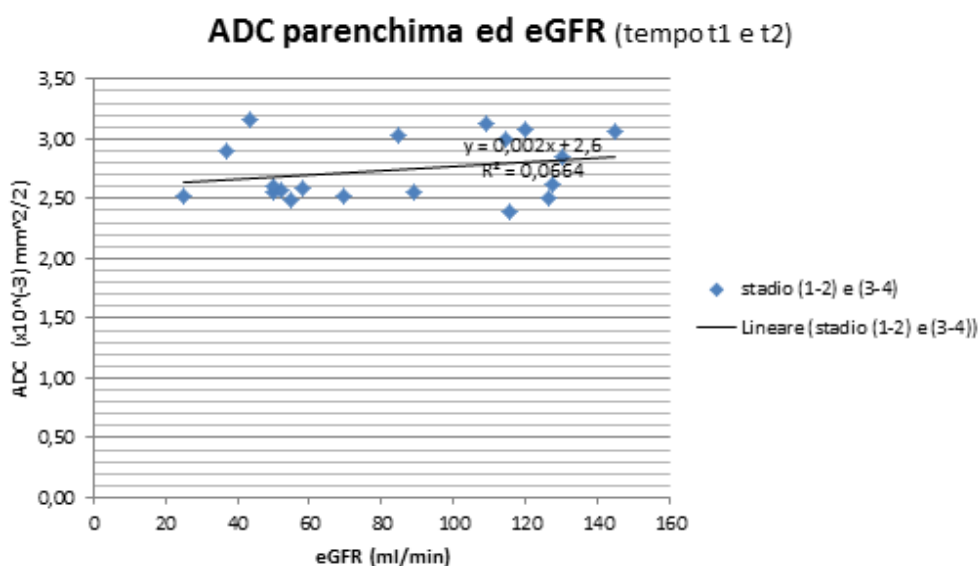


Figura 5.3.4 : i risultati ottenuti per il parenchima per tutti i soggetti nei vari follow-up in relazione al rispettivo valori di eGFR.

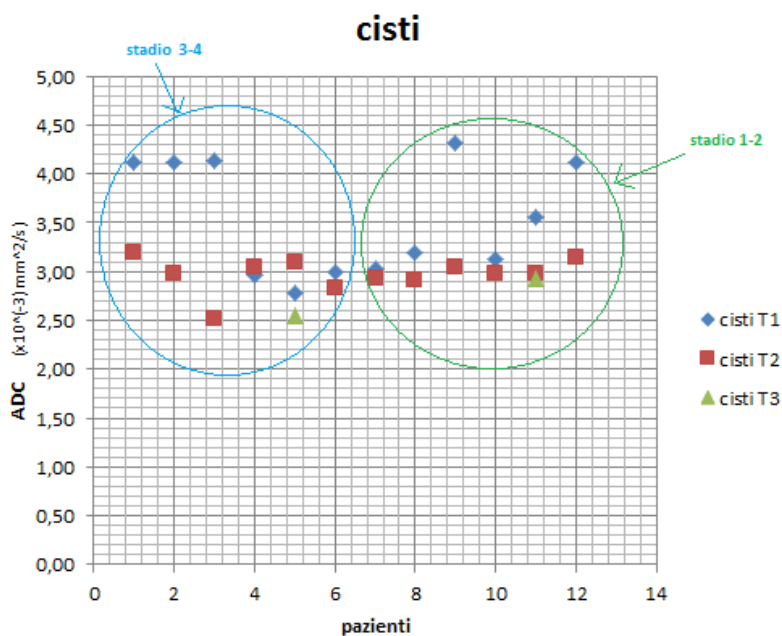


Figura 5.3.5: in rosso i valori di ADC delle cisti al tempo t1, in blu al tempo t2 e in verde al tempo t3.

I valori di ADC in figura 5.3.5 sono i valori medi delle cisti del rene destro e sinistro per ogni paziente, in tre diversi tempi di visita. Dall'immagine emerge come il valore medio di ADC delle cisti di dieci soggetti diminuisca dal tempo t_1 al tempo t_2 , sia per i pazienti in stadio 1-2 che per i pazienti in stadio 3-4. Solo due pazienti dello stadio 3-4 presentano un andamento inverso, una diminuzione del valore di ADC dal tempo t_2 al tempo t_1 . Infine, i valori di ADC al tempo t_3 sono sempre minori dei valori alle visite precedenti.

5.4 Altri risultati

Differenziazione delle strutture renali al variare del b-value

Per i due pazienti affetti dalla malattia policistica con presenza di carcinoma, sono stati calcolati i valori di ADC del carcinoma, di una ciste e del parenchima, ove possibile, per diversi b-value (500, 700, 900, 1500 mm^2/s). In questo modo è stato possibile valutare l'entità della variazione del parametro ADC in base al tipo di struttura analizzata e al b-value utilizzato. Inoltre, per ogni regione e b-value sono stati calcolati il numero di pixel anomali, questi non sono stati inseriti nel calcolo di media e deviazione standard di ADC. Nella tabella di seguito vengono riportati i valori di media, deviazione standard e la media della percentuale di pixel anomali rispetto al numero di pixel totali utilizzati.

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

Tabella 5.4.1: media e deviazione standard di ADC di cisti, carcinoma, parenchima per diversi valori di b-value (500, 700, 900, 1500) e la media della % percentuale dei pixel anomali trovati all'interno della regione selezionata.

Dai risultati riportati in tabella 5.4.1 e dalla figura 5.4.1 risulta evidente come al crescere del b-value il parametro ADC delle strutture analizzate diminuisca. Per cisti e

carcinoma, le acquisizioni con b-value pari a 500 e 700 non evidenziano valori di ADC diversi. Dalla figura 5.4.1 si può notare, inoltre, come al crescere del b-value, i valori medi di ADC continuano a differenziare le varie strutture allo stesso modo: i valori di ADC delle cisti risultano sempre maggiori dei valori di parenchima, e questi ultimi del carcinoma.

Per quanto riguarda, invece, la percentuale di pixel anomali, questi sono presenti solo nelle acquisizioni con b-value 1500 delle cisti e del carcinoma. In particolare, nelle regioni selezionate per le cisti, risultano 19 % di pixel anomali rispetto a tutta l'area della ROI, un valore relativamente alto rispetto al 4% di pixel anomali delle ROI del carcinoma.

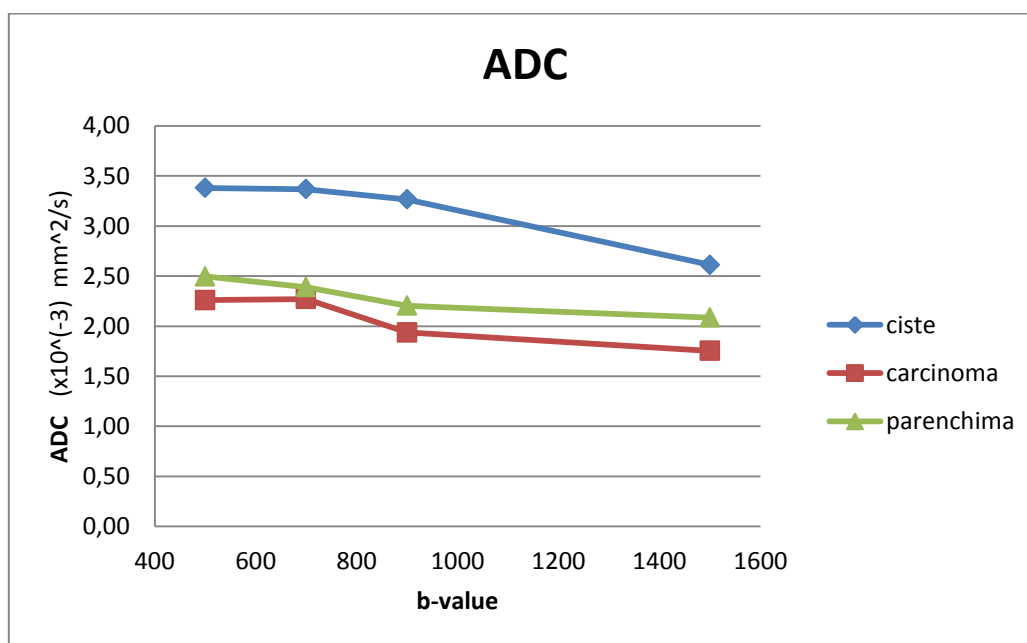


Figura 5.4.2: media di ADC per le diverse regioni e per diversi valori di b-value (500, 700, 900, 1500): ciste, carcinoma, parenchima.

Nella figura 5.4.3 di seguito, sono stati riportati i valori di Δ ADC delle cisti, del carcinoma e del parenchima per tre diversi b-value (700, 900, 1500) rispetto al valore di ADC con b500.

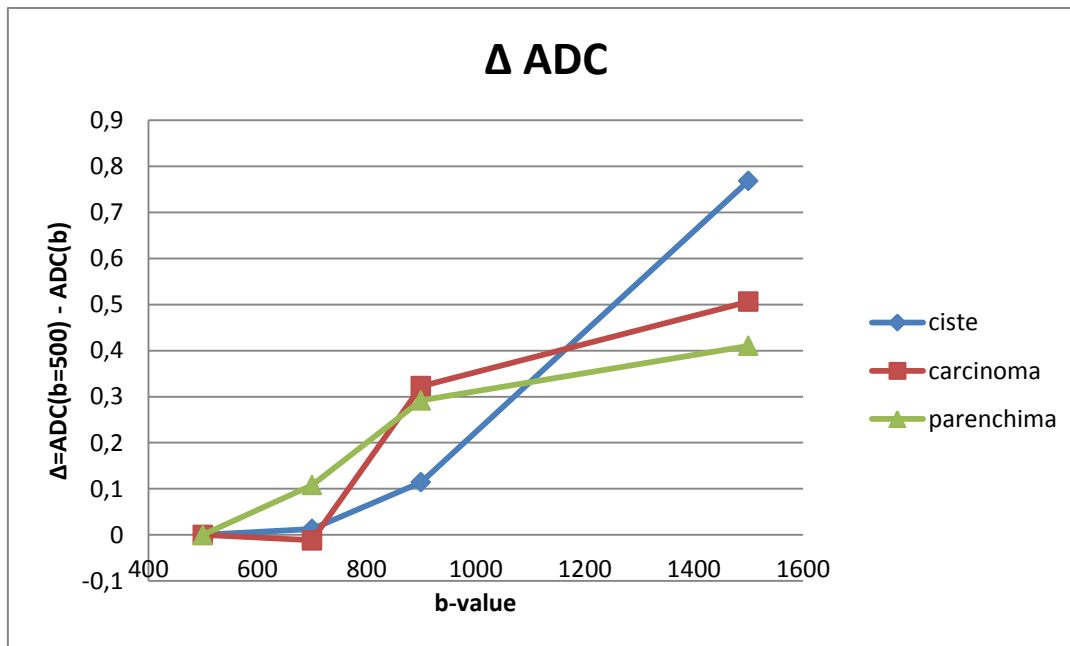


Figura 5.4.3: Δ ADC delle cisti, del carcinoma e del parenchima, per diversi b-value, rispetto al valore ADC (b=500).

Risulta evidente come il valore di ADC delle cisti per b1500 varia maggiormente rispetto alle altre strutture. In particolare, il parenchima riporta un andamento quasi lineare al crescere del b-value, mentre i valori di ADC del carcinoma variano a partire dal valore di b=900. infine la variazione di ADC delle cisti rispetto al valore di riferimento di b=500 rimanda a un andamento esponenziale.

Confronto con la letteratura:

I risultati ottenuti dal parenchima sono stati confrontati con i risultati ottenuti nello studio di Chuck del 2013. Per i valori di corteccia e medulla per diversi valori di b-value (300, 500, 700) i risultati riportano dei valori di MD minori al crescere del b-value, sia per corteccia che per la medulla, in accordo con i risultati ottenuti in questo elaborato di tesi.

Parametri di isotropia e anisotropia per la caratterizzazione delle diverse strutture renali

I parametri di isotropia e anisotropia (FA, VR, sRA) dei dieci pazienti sani, ricavati dal tensore di diffusione, sono stati confrontati con i risultati ottenuti dall'analisi di un paziente policistico acquisito con DTI, in particolare con il valore medio di sei cisti e di una ciste ematica. Vengono riportati in figura i risultati ottenuti con media e deviazione standard.

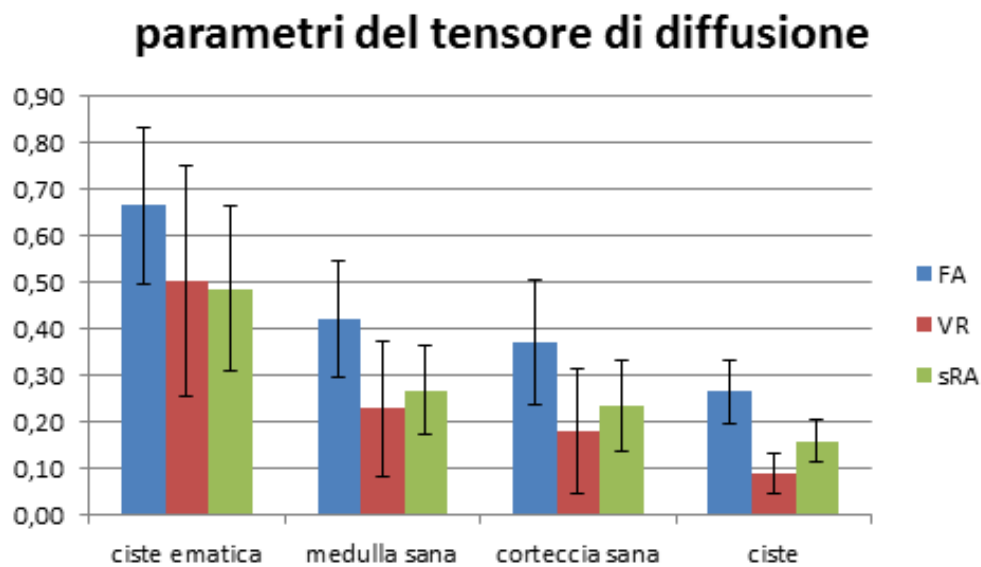


Figura 5.4.4: media e deviazione standard dei valori di FA, VR e sRA per la ciste ematica, la medulla sana, la corteccia sana e la ciste.

Dalla figura emerge come la ciste ematica abbia valori di FA, VR, sRA maggiori rispetto a tutte le altre strutture analizzate; la ciste a contenuto sieroso, invece, presenta valori minori in tutti e tre i parametri di isotropia rispetto alla corteccia e alla medulla.

Conclusioni

La tecnologia *diffusion tensor imaging* è una tecnica non invasiva, che permette di effettuare una caratterizzazione *in vivo* di diversi tessuti, oltre ad essere una tecnica consolidata in ambito neurologico è anche una tecnica promettente per la differenziazione delle strutture in ambito renale, come dimostrato in questa tesi.

Il lavoro di tesi si è suddiviso in una prima parte di implementazione di due algoritmi in Matlab: il primo per la costruzione del tensore di diffusione a partire dalle immagini DWI e il secondo per la selezione manuale delle diverse ROI sulle immagini selezionate. Una seconda parte comprende la selezione delle immagini e analisi delle diverse strutture al fine di differenziarle

Per quanto riguarda i risultati ottenuti dai soggetti sani, è stato possibile notare come le molecole d'acqua presentino un moto leggermente più anisotropo nella medulla del rene sinistro rispetto a quella del rene destro: questo potrebbe essere legato a una differenza strutturale o funzionale dei reni, forse anche legata all'ingombro del fegato. I risultati complessivi ottenuti tra medulla e corteccia del rene sano mostrano, invece, una maggior diffusività e isotropia nella corteccia rispetto alla medulla, a conferma del fatto che i tubuli renali della medulla potrebbero ostacolare il moto isotropo dell'acqua e indirizzarlo lungo specifiche direzioni.

La differenziazione delle diverse strutture renali, quali medulla, corteccia, cisti, carcinoma e ciste ematica si è concentrata principalmente sul parametro di *mean diffusivity*, in quanto è stato il coefficiente ricavabile da tutti gli studi disponibili. I risultati ottenuti mostrano una maggiore diffusività nelle cisti a contenuto sieroso rispetto a tutte le altre strutture analizzate; questo risultato potrebbe essere dovuto al contenuto liquido delle cisti che permette un moto più isotropo alle molecole d'acqua. Anche se è stato possibile effettuare la selezione di una sola ciste ematica, questa mostra un indice di diffusività evidentemente minore rispetto a tutte le altre strutture analizzate, e in particolare rispetto alle cisti di contenuto sieroso. Questo indice potrebbe essere legato al contenuto ematico della ciste che non permette un elevato moto diffusivo delle molecole d'acqua. Infine, il valore di diffusività media delle particelle d'acqua nel carcinoma è leggermente minore al valore di diffusività media della medulla sana, indice che l'entità dei moti diffusivi all'interno della struttura del carcinoma è molto simile a quella della medulla sana.

Riguardo i risultati ottenuti dall'analisi di follow-up dei pazienti policistici, non sono state trovate differenze significative tra i valori di parenchima tra le due visite sia per i pazienti allo stadio 1-2 che per quelli allo stadio 3-4; inoltre, presentano valori di parenchima simili ai valori di diffusività media della corteccia sana. Questi risultati dimostrano che per gli intervalli temporali considerati non è possibile correlare il valore di diffusività media del parenchima di pazienti policistici e lo stadio di avanzamento della malattia.

Per quanto riguarda gli ultimi risultati ottenuti per i valori di *mean diffusivity* di corteccia, parenchima e cisti per diversi valori di b, i valori ottenuti sono conferma della dipendenza del valore di diffusività media dal b-value. Inoltre, la variazione maggiore di ADC delle cisti tra l'acquisizione con b-value minore e maggiore rispetto al carcinoma e il parenchima conferma la maggior diffusività delle molecole d'acqua all'interno delle cisti rispetto alle altre due strutture.

In base ai valori ottenuti e ai risultati ricavati negli studi precedenti la tecnica della *diffusion imaging* risulta essere potenzialmente in grado di differenziare i diversi tessuti renali e di valutare separatamente la funzionalità dei due reni. Un altro vantaggio della risonanza magnetica in diffusione, oltre a quelli descritti precedentemente è la rapidità della sequenza di acquisizione, questa può essere aggiunta ai protocolli clinici d'esame senza un rilevante incremento dei tempi di scansione o disagio per i pazienti.

Progetti futuri

Di seguito verranno esposti gli sviluppi futuri per questa tesi; il primo riguarda l'analisi di differenziazione delle diverse strutture renali, i restanti punti fanno riferimento all'analisi di follow-up specifica dei pazienti policistici

Sarà necessario aumentare il numero di soggetti analizzati sia per l'analisi dei reni policistici ma soprattutto per quanti riguarda i casi di ciste ematica e carcinoma per ottenere risultati sempre più rappresentativi della realtà.

Sarebbe interessante selezionare una ROI in un paziente policistico in una regione di parenchima al tempo t_1 in cui nella stessa regione, al tempo t_2 è presente una ciste. L'analisi di questa regione potrebbe fornire informazioni importanti sullo stato strutturale del parenchima precedente la nascita della ciste. Inoltre si pianifica di effettuare la stessa analisi sui reni policistici eseguita in questa tesi, ma con una distanza di follow-up maggiore, per valutare se questa può fornire maggiori informazioni sulla evoluzione delle strutture renali, predittive di una diminuzione di funzionalità locale.

Bibliografia

- [1] D. L. Bihan et al. Diffusion Tensor Imaging: Concepts and Applications. *Journal of magnetic resonance imaging*. 2001
- [2] Azienda Ospedaliera Nazionale SS. Antonio e Biagio e Cesare Arrigo Alessandria. SIGNIFICATO E METODI DI VALUTAZIONE DEL GFR
- [3] N. C. Chuck. Diffusion Tensor Imaging of the Kidneys: Influence of b-Value and Number of Encoding Directions on Image Quality and Diffusion Tensor Parameters. *Journal of Clinical Imaging Science*. 2013
- [4] K. Hueper et al. Diffusion tensor imaging and tractography for assessment of renal allograft dysfunction-initial results. *European Society of Radiology*. 2011
- [5] C. Gaudiano et al. Diffusion tensor imaging and tractography of the kidneys: assessment of chronic parenchymal diseases. *European Society of Radiology*. 2013
- [6] M. Cova et al. Diffusion-weighted MRI in the evaluation of renal lesions: preliminary results. *The British Journal of Radiology*. 2004
- [7] Z. Zheng et al. Renal Water Molecular Diffusion Characteristics in Healthy Native Kidneys: Assessment with Diffusion Tensor MR Imaging. *PLOS ONE*. 2014
- [8] J. M. Soares et al. A hitchhiker's guide to diffusion tensor imaging. *Frontiers in NEUROSCIENCE*. 2013
- [9] P. B. Kingsley. Introduction to Diffusion Tensor Imaging Mathematics: Part I. Tensor, Rotation, and Eigenvectors. *Wiley InterScience*. 2005.
- [10] P. B. Kingsley. Introduction to Diffusion Tensor Imaging Mathematics: Part II. Anisotropy, Diffusion-Weighting Factors, and Gradient Encoding Schemes. *Wiley InterScience*. 2005.
- [11] P. B. Kingsley. Introduction to Diffusion Tensor Imaging Mathematics: Part III. Tensor Calculation, Noise, Simulations, and Optimization. *Wiley InterScience*. 2005.

- [12] Coriasco et al (2014) . Elementi di risonanza magnetica. Dal protone alle sequenze per le principali applicazioni diagnostiche. Springer. 137-139.
- [13] R. Passariello et al (2010). Imaging RM della prostata. Springer. 99-102
- [14] P. Amatuzzo. L'essenziale...nel'imaging RM di diffusione. Settembre 2011
- [15] A. Bertoldo. Stima e valutazione degli indici di diffusione da immagini DTI per lo studio di pazienti bipolari. Università degli studi di Padova. 2011/2012
- [16] <http://www.renepolicistico.it/il-rene-policistico/>
- [17] <http://www.benessere.com/salute/atlante/rene.htm>
- [18] <http://www.agenziafarmaco.gov.it/>
- [19] <http://www.airc.it/tumori/tumore-al-rene.asp>