

# **UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**

**DIPARTIMENTO di MEDICINA – DIMED**

**CORSO DI LAUREA TRIENNALE IN “TECNICHE DI RADIOLOGIA MEDICA,  
PER IMMAGINI E RADIOTERAPIA”**

**Sede di Padova**

**Presidente: Prof. Roberto Stramare**

**Tesi di Laurea:**

**L’imaging di perfusione in Risonanza Magnetica nella valutazione dei  
glioblastomi: aspetti tecnici e confronto tra metodiche**

**Relatore: Dott. Giacomo Cester**

**Correlatore: Dott. Giovanni Librizzi**

**Guida Tecnico-Pratica: TSRM Dott.ssa Mariachiara Bertin**

**Laureanda: Valentina Bragato**

**Anno Accademico 2022/2023**



# INDICE

<b>ABSTRACT</b> .....	<b>1</b>
<b>INTRODUZIONE</b> .....	<b>3</b>
<b>CAPITOLO 1: LA PERFUSIONE</b> .....	<b>5</b>
<b>1.1 LA PERFUSIONE IN NEURORADIOLOGIA: RISONANZA MAGNETICA</b> .....	<b>6</b>
<b>1.2 DYNAMIC SUSCEPTIBLY CONTRAST (DSC)</b> .....	<b>7</b>
1.2.1 PREMESSE.....	7
1.2.2 APPLICAZIONI CLINICHE.....	9
1.2.3 RACCOMANDAZIONI DEL PROTOCOLLO DI ACQUISIZIONE...10	
1.2.4 ELABORAZIONE DEL SEGNALE.....	14
1.2.5 REPORT E INTERPRETAZIONE GENERALE DELLO STUDIO.....	15
<b>1.3 DYNAMIC CONTRAST-ENHANCED (DCE)</b> .....	<b>17</b>
1.3.1 PREMESSE.....	17
1.3.2 APPLICAZIONI CLINICHE.....	18
1.3.3 RACCOMANDAZIONI DEL PROTOCOLLO DI ACQUISIZIONE...18	
1.3.4 ACQUISIZIONE DELLE IMMAGINI.....	19
1.3.5 K-TRANS.....	19
1.3.6 ELABORAZIONE DEL SEGNALE.....	20
1.3.7 PUNTI DI FORZA.....	21
1.3.8 FONTI DI ERRORE E PROBLEMATICHE.....	21
<b>1.4 ARTERIAL SPIN LABELING (ASL)</b> .....	<b>23</b>
1.4.1 PREMESSE.....	23
1.4.2 REALIZZAZIONE DELLA SEQUENZA.....	24
1.4.3 TECNICHE DI LABELING.....	25
1.4.4 APPLICAZIONI CLINICHE.....	27
1.4.5 RACCOMANDAZIONI DEL PROTOCOLLO DI ACQUISIZIONE...27	
1.4.6 PROBLEMATICHE.....	29
1.4.7 ELABORAZIONE DEL SEGNALE.....	30
1.4.7 REPORT E INTERPRETAZIONE GENERALE DELLO STUDIO.....	30
<b>1.5 IL GLIOBLASTOMA</b> .....	<b>31</b>
1.5.1 RISONANZA MAGNETICA E GLIOBLASTOMA.....	34
1.5.2 RISONANZA MAGNETICA E METILAZIONE.....	35
<b>CAPITOLO 2: BACKGROUND E SCOPO DELLO STUDIO</b> .....	<b>37</b>
2.1 CRITERI DI INCLUSIONE.....	37

2.2 VARIABILI CLINICO-DEMOGRAFICHE.....	37
2.3 PROTOCOLLO DI STUDIO: PARAMETRI TECNICI.....	38
2.4 APPARECCHIATURA E SOFTWARE.....	39
2.5 ANALISI STATISTICA.....	40
<b><i>CAPITOLO 3: RISULTATI.....</i></b>	<b>42</b>
<b><i>CAPITOLO 4: DISCUSSIONE.....</i></b>	<b>45</b>
<b><i>CONCLUSIONI.....</i></b>	<b>47</b>
<b><i>BIBLIOGRAFIA.....</i></b>	<b>48</b>

## ABSTRACT

**Background:** le tecniche di perfusione di risonanza magnetica (RM) permettono di valutare l'emodinamica dell'encefalo senza o con somministrazione di mezzo di contrasto. In ragione della neovascolarizzazione tumorale, esse sono utilizzate di routine in ambito neuro-oncologico nella diagnosi differenziale tra patologia neoplastica e non, tra progressione di malattia ed effetti dei trattamenti e in ambito di ricerca per la predizione delle alterazioni molecolari nei gliomi. Gli studi comparativi tra le diverse tecniche di perfusione sono di numero limitato.

**Scopo dello studio:** evidenziare i parametri tecnici, i protocolli di esecuzione e le principali metriche ottenibili mediante perfusione RM; valutare la correlazione tra le variabili di perfusione ottenute mediante tecnica Dynamic Susceptibility Contrast (DSC) e Dynamic Contrast Enhanced (DCE); studiare la correlazione tra le variabili di perfusione e lo status di metilazione di MGMT in una coorte di pazienti oncologici.

**Materiali e metodi:** sono stati reclutati 9 pazienti affetti da glioblastomi IDH-wildtype sottoposti a RM con mezzo di contrasto inclusa di sequenze DSC e DCE. Tramite piattaforma Philips IntelliSpacePortal, sono stati misurati a livello della componente lesionale dotata di impregnazione contrastografica rCBV e nrCBV per quanto riguarda la perfusione DSC e calcolati i valori di AUC e Wash-in rate per quanto riguarda la perfusione DCE. Le variabili di perfusione sono state correlate con lo status di metilazione di MGMT.

**Risultati:** sono state evidenziate delle correlazioni moderate positive tra Wash-in rate ed AUC ( $r=0,55$ ,  $p=0,03$ ), tra rCBV e nrCBV ( $r=0,49$ ,  $p=0,06$ ) e tra rCBV e Wash-in rate ( $r = 0,49$ ,  $p=0,07$ ). Non sono state riscontrate correlazioni tra le variabili di perfusione e lo status di metilazione di MGMT.

**Conclusioni:** le tecniche di perfusione DSC e DCE, basate su meccanismi di contrasto differente, riflettono aspetti parzialmente distinti della neovascolarizzazione tumorale. Studi su ampie casistiche sono necessari per confermare il ruolo di tali sequenze nella predizione delle caratteristiche molecolari dei glioblastomi. L'elaborazione dei dati raccolti e la loro analisi porteranno al miglioramento delle capacità lavorative conoscitive e pratiche del Tecnico di Radiologia Medica in ambito delle sequenze avanzate in RM.



## **INTRODUZIONE**

La risonanza magnetica (RM), grazie alle immagini dettagliate, con un'elevata risoluzione spaziale e di contrasto che fornisce, riveste il ruolo di metodica più affascinante e poliedrica nella radiologia moderna. Il suo utilizzo viene sfruttato per effettuare studi di pressoché ogni distretto corporeo, sia a scopo diagnostico che di ricerca. La continua evoluzione tecnologica e i sempre crescenti ambiti di impiego, la rendono un'apparecchiatura estremamente complessa per cui solo un'equipe accuratamente formata, attenta e organizzata è in grado di esprimerne le potenzialità nel migliore dei modi. La risonanza magnetica trova il suo più interessante impiego in ambito del Sistema Nervoso Centrale (SNC), per la valutazione di tumori, infezioni e malattie vascolari e degenerative. Negli ultimi anni, complice l'innovazione e la dotazione di apparecchiature sempre più performanti, è stato possibile migliorare, rinnovare e implementare i protocolli RM. L'attenzione si è spostata verso l'esaminazione delle caratteristiche funzionali dei tessuti, come il metabolismo o la perfusione. L'impiego di queste tecniche avanzate ha migliorato la diagnosi differenziale delle malattie del SNC e la gestione terapeutica dei pazienti.

Da queste premesse nasce la volontà di descrivere e analizzare, nel lavoro di tesi, le metodiche utilizzabili per lo studio della perfusione cerebrale, che esaminano l'apporto di sangue all'encefalo a livello del microcircolo. La minuziosa ricerca eseguita mette in luce le applicazioni cliniche e i punti di forza e di debolezza delle varie sequenze, tenendo in considerazione inoltre la fisica e i parametri tecnici che ne rendono possibile la realizzazione. Infine, grazie ad un confronto tramite i software disponibili dell'apparecchiatura RM Philips, è stato possibile rendere tangibile la loro concreta efficacia e utilità, confrontando i parametri che queste sequenze mettono alla luce. Il lavoro di tesi è stato svolto con lo scopo di far risultare sequenze complesse, come quelle di perfusione, comprensibili e gestibili al meglio per ogni Tecnico di Radiologia Medica, rendendolo parte di un'equipe altamente specializzata e formata, rendendolo totalmente capace di affiancare attivamente il medico alla consolle di lavoro. La descrizione dettagliata da un punto di vista tecnico pone la volontà di far conoscere in maniera approfondita le sequenze, affinché possano entrare a far parte della pratica lavorativa quotidiana.





## CAPITOLO 1: LA PERFUSIONE

Il termine perfusione si riferisce al processo di trasporto di ossigeno e sostanze nutritive ai tessuti tramite il flusso sanguigno e rappresenta uno dei più importanti processi fisiologici. Considerando un organo generico, un livello adeguato di perfusione ne garantisce il corretto funzionamento, contrariamente, anomalie o malfunzionamenti del processo stesso possono provocare serie conseguenze sulla salute dell'organo. Essendo un organo particolarmente perfuso, il cervello riceve un sesto della gittata cardiaca [1] e una misura di perfusione può rappresentare un importante strumento nella valutazione del suo stato di salute. Infatti, molte condizioni patologiche, come stroke, tumori o patologie neurodegenerative, sono associate a disturbi della perfusione che, se valutati accuratamente, possono fornire importanti informazioni diagnostiche. Ad esempio, l'aumentata vascolarizzazione che avviene in alcune neoplasie permette di utilizzare la perfusione nel dare una misura del grado di aggressività del tumore; altrimenti, essa può essere impiegata nella valutazione della risposta alle terapie. La perfusione tissutale è misurabile tramite traccianti vascolari e intravascolari, dei quali può essere valutata la diffusione tra compartimento intravascolare e tessuti [2].

La perfusione è un fenomeno complicato che può essere descritto attraverso diversi parametri. Le metodiche perfusionali in risonanza magnetica permettono di valutare direttamente o indirettamente tali parametri emodinamici. Particolarmente interessanti risultano le misure locali delle variabili di perfusione, che si ottengono dopo avere tracciato sulla sezione considerata una regione di interesse (ROI). Le principali metriche studiate con le tecniche di perfusione sono:

- *Cerebral Blood Flow* (CBF): entità del volume ematico che transita nell'unità di tempo nella ROI (mL/min);
- *Cerebral Blood Volume* (CBV): volume ematico assoluto presente a un dato istante nella ROI (mL);
- *Mean Transit Time* (MTT): tempo medio impiegato dal sangue a transitare nella ROI (s);
- *Time to Peak* (TP): tempo impiegato per raggiungere la massima concentrazione di sangue nella ROI (s). □□

## 1.1 LA PERFUSIONE IN NEURORADIOLOGIA: RISONANZA MAGNETICA

La risonanza magnetica consente di valutare in modo non invasivo la perfusione dell'encefalo. Ci sono due approcci principali per la misurazione della perfusione cerebrale con la risonanza magnetica. Il primo è basato sulla somministrazione di un mezzo di contrasto esogeno, intravascolare, non diffusibile a base di gadolinio. Tale sostanza ha un effetto sia sulla suscettibilità dei tessuti circostanti, fenomeno analizzabile con la sequenza Dynamic Susceptibility Contrast-enhanced (DSC), sia sul rilassamento T1, fenomeno studiabile con la sequenza Dynamic Contrast-Enhanced (DCE). Eccetto il Primovist®, con un uptake epatico elevato, i mezzi di contrasto (mdc) a base di Gadolinio sono tutti non specifici, di conseguenza si distribuiscono principalmente nello spazio interstiziale extracellulare. Per via della sua struttura elettronica (7 elettroni spaiati nell'orbitale 4f), il Gadolinio (Gd) manifesta un forte paramagnetismo e genera un momento magnetico capace di indurre il rilassamento magnetico dei nuclei vicini. Il Gadolinio non si vede direttamente nell'immagine RM ma piuttosto si vede l'effetto che esso ha sui protoni a lui vicini; infatti, i mezzi di contrasto che lo contengono inducono il rilassamento sia T1 che T2 nei tessuti in cui si accumulano. Il secondo approccio per la misurazione della perfusione dell'encefalo utilizza come agente di contrasto endogeno l'acqua del sangue arterioso marcata magneticamente come tracciante di flusso. Tale tecnica è detta Arterial Spin Labeling (ASL).

Modalità perfusionale	Acronimo	Uso MDC	Contrasto ottenibile
<i>Dynamic Susceptibility Contrast</i> →	DSC - MRI	SI	Accorciamento T2*
<i>Dynamic Contrast Enhancement</i> →	DCE - MRI	SI	Accorciamento T1
<i>Arterial Spin Labelling</i> →	ASL	NO	Marcatura di fase

Figura 1: tecniche utilizzate per la RM di perfusione [2]

## 1.2 DYNAMIC SUSCEPTIBLY CONTRAST (DSC)

### 1.2.1 PREMESSE

La DSC- RM è una sequenza in cui il passaggio di un bolo di mezzo di contrasto attraverso il tessuto cerebrale viene studiato con una serie dinamica di immagini pesate in T2 o T2\*. L'effetto di suscettibilità magnetica, provocato dalla somministrazione del mezzo di contrasto paramagnetico, porta a una perdita di segnale nella curva intensità-tempo del segnale. Utilizzando il seguente modello, la curva intensità-tempo può essere trasformata in una curva di rilassività-tempo su base voxel-by-voxel tramite la formula:

$$R_2^* = R_{20}^* + r_2^* Cb \quad [3]$$

Dove  $R_2^* = 1/T2^*$ ,  $R_{20}^*$  è la velocità intrinseca di rilassamento trasversale gradient-echo sul tessuto cerebrale senza il mezzo di contrasto,  $r_2^*$  è la rilassività trasversale del mezzo di contrasto, che dipende dal volume del sangue e dalla morfologia vascolare e  $Cb$  è la concentrazione intravascolare del mezzo di contrasto. Questa relazione può essere applicata anche in una sequenza spin-echo con la formula:  $R_2 = R_{20} + r_2 Cb$

Presumendo che il rilassamento T2 o T2\* sia direttamente proporzionale alla concentrazione del mezzo di contrasto, i principi della teoria della diluizione degli indicatori possono essere applicati per ricavare i seguenti parametri:

- CBV: il volume di sangue in una data regione del tessuto cerebrale (misurato in millilitri per 100 g di tessuto cerebrale);
- CBF: il volume di sangue che passa attraverso una data regione di tessuto cerebrale per unità di tempo (misurato in millilitri al minuto per 100 g di tessuto cerebrale);
- MTT: il tempo medio (misurato in secondi) che serve al sangue per passare attraverso una determinata regione del tessuto cerebrale. La deconvoluzione della funzione di input arterioso (Arterial Input Function, AIF) dei dati concentrazione-tempo del tessuto è necessaria per determinare la vera clearance cerebrale, o MTT, attraverso il letto capillare cerebrale.

L'AIF è il profilo di input specifico di mezzo di contrasto al tessuto di interesse. Di solito viene calcolata misurando la concentrazione del mezzo di contrasto mediante una ROI in corrispondenza di un'arteria facilmente identificabile.

La deconvoluzione è il processo matematico che rimuove il contributo AIF dalla concentrazione del mezzo di contrasto nel tessuto. Questo processo è necessario per una corretta quantificazione della DSC poiché i parametri di perfusione derivati possono essere influenzati non solo dall'emodinamica fisiologica, ma anche dalle differenze nelle condizioni di iniezione (volume e velocità di iniezione, dimensione dell'ago cannula), dalla struttura vascolare e/o dalla gittata cardiaca.

Il CBV, calcolato integrando l'area sotto la curva concentrazione-tempo del tessuto deconvoluto, viene diviso per l'MTT per ottenere il CBF. Un altro metodo prevede invece la determinazione a priori del CBF come l'altezza iniziale della curva di concentrazione-tempo del tessuto deconvoluto e dopo di che, l'MTT può essere determinato come il rapporto tra CBV e CBF.

- TTP (Time To Peak): il momento in cui viene raggiunta l'intensità minima del segnale (cioè, il punto in cui la concentrazione di mezzo di contrasto è massima). Sebbene fornisca le informazioni meno specifiche sulla perfusione cerebrale, è il parametro più semplice da calcolare.
- Tmax: il momento in cui la funzione del residuo deconvoluto raggiunge il suo valore massimo.
- Altezza del picco: il calo massimo dell'intensità del segnale dalla basale pre-contrasto durante la fase di primo passaggio del bolo di mdc. Questo parametro è stato correlato con il CBV relativo (rCBV) e quindi riflette il volume capillare totale.
- PSR (Percentage of Signal Recovery): la percentuale di recupero dell'intensità del segnale RM rispetto alla basale pre-contrasto alla fine del primo passaggio. Questo parametro riflette una complessa interazione di fattori fisiologici, tra cui la permeabilità capillare e la frazione del volume cellulare.

Ulteriori termini degni di nota relativi all'imaging della perfusione DSC sono:

- Funzione residuo: la ritenzione tissutale di mezzo di contrasto a base di Gadolinio per il caso di un'iniezione di bolo istantanea ideale al tempo 0.
- CBV "Relativo" contro "regionale": il termine "CBV relativo" si riferisce a una misura qualitativa determinata senza considerazione dell'AIF, d'altra parte, il "CBV regionale" si riferisce a una misurazione del CBV assoluto

in una particolare regione anatomica. La misurazione del CBV assoluto comporta la determinazione di un AIF e il processo di Deconvoluzione.

- Preload: la somministrazione di una certa quantità di mdc prima della somministrazione in bolo dello stesso come metodo per correggere parzialmente gli effetti T1 indotti dallo stravasamento del Gadolinio, che possono portare a una sottostima del CBV relativo [4].

La DSC è la tecnica di imaging RM per la perfusione più comunemente usata in ambito clinico.

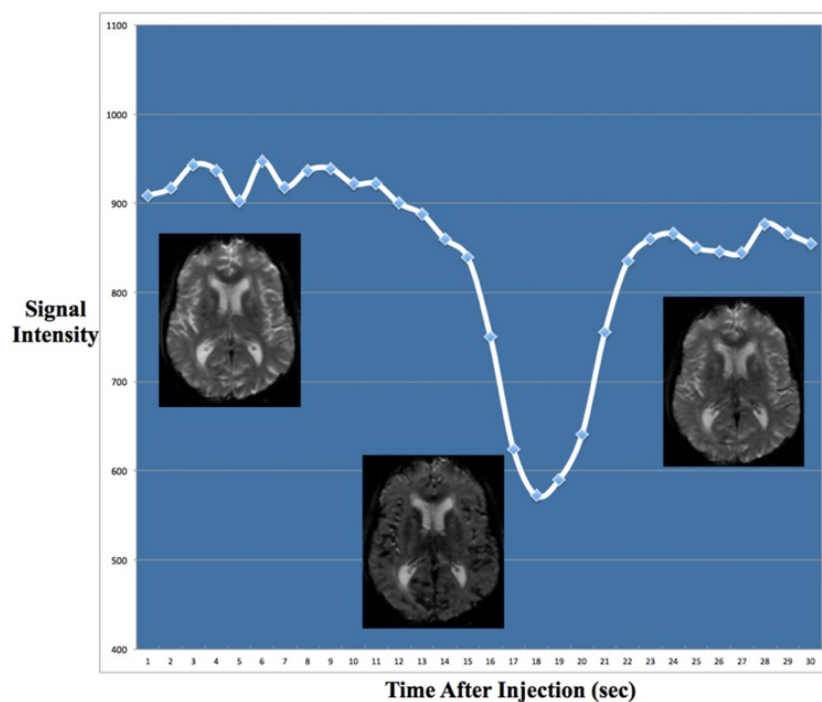


Figura 2: il grafico rappresenta la curva intensità-tempo durante il passaggio del mezzo di contrasto

## 1.2.2 APPLICAZIONI CLINICHE

### Tumori cerebrali

La diagnosi e la caratterizzazione delle lesioni sono potenziali indicazioni per la DSC-RM. In relazione alla sua capacità di caratterizzare la vascolarizzazione tumorale, la DSC-RM è utile per i seguenti obiettivi di imaging:

- *Distinguere le eziologie neoplastiche dalle eziologie non neoplastiche (ad esempio, demielinizzanti, infettive);*

- *Distinguere tra le eziologie neoplastiche delle masse (ad esempio glioma contro linfoma contro metastasi);*
- *Suggerire il grado di gliomi e meningiomi e l'attività biologica/outcome;*
- *Guidare gli interventi chirurgici (ad esempio biopsie stereotassiche) verso le regioni di più alto grado dei tumori;*
- *Valutare la risposta alla terapia, ad esempio:*
  - *Distinguere tra progressione del tumore e pseudoprogressione o radionecrosi nei pazienti trattati con radioterapia o radiochirurgia stereotassica;*
  - *Distinguere la risposta del tumore e la pseudorisposta nei gliomi trattati con chemioterapia anti-angiogenica.*

### Ischemia cerebrale

- *Ictus acuto ed attacchi ischemici transitori: la DSC-RM può essere utilizzata in combinazione con l'imaging pesato in diffusione per valutare i pazienti che presentano ictus e attacchi ischemici transitori nel tentativo di distinguere la penombra ischemica dal core ischemico. La penombra è il tessuto che è criticamente ipoperfuso ma non ha ancora infartato. Il rapporto tra penombra e core ischemico viene esaminato in casi selezionati per considerazioni di rischio/beneficio prima della somministrazione di terapia trombolitica endovenosa o dell'uso di tecniche di rivascolarizzazione meccanica basate su catetere.*
- *Stenosi vascolari: la DSC-RM può essere utilizzata per valutare il significato emodinamico della malattia steno-occlusiva vascolare cervicale o intracranica.*
- *Vasospasmo: la DSC-RM può essere utilizzata per valutare il vasospasmo, in particolare nei pazienti che si stanno riprendendo da un'emorragia subaracnoidea acuta.*

### **1.2.3 RACCOMANDAZIONI DEL PROTOCOLLO DI ACQUISIZIONE**

Forza del campo: la sequenza DSC-RM deve essere eseguita a 1,5T o 3T per garantire un rapporto segnale rumore (Signal to Noise Ratio, SNR) sufficiente con una singola dose di mezzo di contrasto. In generale, un'apparecchiatura 3T fornisce

una mappa CBV con maggiore SNR a causa di una maggiore perdita transitoria del segnale durante il primo passaggio del mdc, a scapito di maggiori artefatti di suscettibilità magnetica. La dose del mezzo di contrasto, la sequenza di impulsi e i parametri di acquisizione possono dipendere dal fatto che l'imaging sia acquisito a 1,5T o 3T.

Sequenza di impulsi (Gradient-Echo vs Spin-Echo): generalmente sono impiegate le acquisizioni eco-planari single-shot. Le sequenze Gradient-Echo offrono diversi vantaggi rispetto alle Spin-Echo (SE). Dai principi di contrasto di suscettività, la variazione della rilassività gradient echo ( $\Delta R2^*$ ) supera la variazione della rilassività spin-echo ( $\Delta R2$ ) per tutte le dimensioni dei vasi; pertanto, le sequenze gradient echo hanno intrinsecamente SNR e sensibilità più elevate rispetto alle spin echo. Inoltre,  $\Delta R2^*$  correla linearmente con la concentrazione del mezzo di contrasto su uno spettro più ampio di dimensioni vascolari e quindi le sequenze gradient echo sono intrinsecamente più accurate anche da una prospettiva della cinetica del tracciante. Ad ogni modo, la sensibilità delle sequenze spin echo raggiunge il picco per vasi di dimensioni capillari, con potenziali vantaggi per l'imaging microvascolare nell'ictus, mentre le sequenze gradient echo hanno una sensibilità più stabile lungo un range più ampio di dimensioni vascolari.

Gli artefatti di suscettibilità derivanti dalla volta cranica, dalla base del cranio, dai seni paranasali, da ematomi o da cavità di resezione possono compromettere il segnale gradient echo. Tenuto conto di tali considerazioni, bisognerebbe impiegare sequenze gradient echo quando si somministrano mezzi di contrasto a bassa rilassività e a intensità di campo più basse in cui gli artefatti di suscettibilità sono relativamente minori ed è desiderato un "aumento" nella caduta di segnale relativo; le sequenze spin echo invece possono avere vantaggi con mezzi di contrasto a rilassività più elevate e a maggiori intensità di campo in cui SNR e potenziali artefatti di suscettibilità sono intrinsecamente maggiori. In generale, si raccomanda di utilizzare sequenze gradient echo, in particolare per l'imaging tumorale. Le sequenze 2D sono generalmente preferite alle 3D, considerato il loro TR, una migliore risoluzione spaziale e una migliore caratterizzazione del passaggio del mezzo di contrasto.

Parametri di acquisizione (TR, TE, Flip Angle): per le sequenze spin echo, il TR che ottimizza il rapporto segnale rumore della mappa CBV è in funzione del T1 del tessuto ed è 1,0-1,5 secondi per i valori T1 tipici. Per le sequenze gradient echo, il rapporto segnale rumore della mappa CBV è ottimizzato con il TR più breve possibile. [4] I limiti sulla scelta del TR sono imposti da considerazioni sulla sequenza di impulsi, in particolare quando si desidera la copertura dell'intero encefalo, e dalla risoluzione temporale necessaria per la caratterizzazione dell'AIF quando si desidera la quantificazione assoluta. Inoltre, man mano che il TR viene ridotto, gli effetti T1 aumentano. Per una quantificazione relativa con le sequenze a singolo eco, si raccomanda una risoluzione temporale più veloce o uguale a 1,5 secondi. Un TE lungo aumenta il defasamento degli spin e diminuisce la pesatura in T1 (riducendo gli effetti di stravasamento legati al T1) ma può portare a una minore SNR e/o saturazione del segnale, in particolare all'interno e nei pressi delle arterie e ad intensità di campo più elevate. Per le sequenze gradient echo, la caduta ottimale del segnale si ottiene con  $TE = T2^*$  del tessuto. TE ancora più brevi forniranno un segnale di base maggiore e quindi un SNR più elevato. In teoria, TE può essere scelto per ottimizzare il SNR della mappa CBV per un dato calo del segnale di picco, con TE ottimale che diminuisce con l'aumentare della caduta del segnale di picco. Per grandi cadute di segnale realizzate con mezzi di contrasto ad alta rilassività, il picco di SNR può essere raggiunto con TE tra 25-60 ms, spesso scelto tra 40-45 ms a 1,5 T; per motivi di timing della sequenza di impulsi, il TE viene ridotto a 25-35 ms a 3T dove le cadute di segnale sono maggiori e gli artefatti di suscettibilità sono di maggiore rilievo. Alti flip angle (ad esempio,  $90^\circ$ ) forniscono un maggiore SNR ma un'elevata sensibilità T1, potenziando la contaminazione del segnale da stravasamento del contrasto. Flip angle più bassi (ad esempio,  $35^\circ$ ) riducono la sensibilità T1 ma anche il SNR di base, che è di particolare preoccupazione nella sostanza bianca sana, dove il CBV è relativamente piccolo e dove può ridurne notevolmente la precisione delle stime. È necessario dunque trovare un compromesso tra questi estremi. In linea di principio, il flip angle ottimale (angolo di Ernst) può essere calcolato dal TR scelto e da un presunto T1 del tessuto "medio", ma questo valore cambierebbe dinamicamente durante il passaggio del bolo. Tra



60°-70° si trova un ragionevole compromesso tra SNR e sensibilità al T1 da stravasato di mezzi di contrasto.

Copertura e risoluzione spaziale e temporale: la copertura spaziale dipende dalla sequenza di impulsi. Una migliore risoluzione temporale con un breve TR facilita un'analisi cinetica del tracciante più accurata ma riduce il tempo per l'acquisizione multi-sezione. In generale, i vantaggi di una migliore risoluzione temporale superano la completezza della copertura dell'intero encefalo, in particolare per la valutazione delle neoplasie. Dovrebbero essere utilizzate sezioni spesse da 3 a 5 millimetri, con un compromesso tra risoluzione della sezione e SNR. Per i tumori, la spaziatura interslice deve essere regolata per coprire la regione di interesse, limitando la copertura non tumorale per aumentare la risoluzione della sezione intratumorale. Per l'ictus, una maggiore spaziatura tra le sezioni faciliterà meglio la copertura dell'intero cervello, in questo caso può essere utilizzato l'imaging parallelo per migliorare la copertura della sezione [5].

La copertura temporale dovrebbe essere di 90-120 punti temporali totali, con un tempo di acquisizione totale di 2-3 minuti. Poiché il numero di acquisizioni della basale influisce sul SNR della mappa CBV, l'acquisizione delle immagini dovrebbe iniziare almeno 30-50 punti temporali prima dell'iniezione del mezzo di contrasto tramite iniettore. Considerando anche i punti temporali post bolo, 120 punti temporali totali si sono dimostrati efficaci.

Mezzi di contrasto: i mezzi di contrasto a base di Gadolinio stravasano quando la barriera emato-encefalica viene interrotta. La somministrazione del preload di un singolo bolo di mezzo di contrasto ha dimostrato di ridurre gli effetti contaminanti T1 e risulta essere fortemente raccomandato per DSC-RM a eco singolo con flip angle elevati, specialmente in combinazione con algoritmi di post-elaborazione di correzione del leakage. Poiché il segnale DSC-RM e il CBV calcolato possono variare con la dose di preload e il ritardo temporale tra lo stesso e l'iniezione dinamica, si raccomanda che il dosaggio e il tempo di attesa siano costanti per ottenere un'interpretazione accurata degli studi intra- ed interindividuale. In genere, un precarico da un quarto a singola dose (da 0,025 a 0,1 mol/kg di Gadolinio) viene somministrato 5-10 minuti prima dell'imaging dinamico, con un'altra sequenza di impulsi eseguita in mezzo. Il bolo dinamico si ottiene tipicamente utilizzando

mezzo di contrasto a base di Gadolinio (0,1 mol/kg) somministrato tramite pompa ad iniettore. Il SNR della mappa CBV è teoricamente massimizzato per una data dose di bolo con una durata del bolo il più breve possibile, supponendo un campionamento adeguato (TR sufficientemente breve). Solitamente viene scelta una velocità di iniezione di 5 mL/s. Per gli agenti di contrasto ad alta rilassività (gadobutrolo) o formulazioni ad alta concentrazione in cui vengono utilizzate dosi di bolo ridotte, la velocità di iniezione può essere ridotta (ad esempio, 2,5 mL/s) per mantenere profili di perfusione simili. Le dosi di mezzo di contrasto ridotte possono portare a profili di bolo più brevi e a una migliore determinazione del picco AIF. Il mezzo di contrasto è in genere somministrato tramite una vena antecubitale tramite ago cannula da 18 a 20 G che è sufficientemente grande da soddisfare la velocità e la quantità di iniezione necessarie. L'iniezione nel braccio destro è da preferire, quando possibile, poiché le iniezioni sul lato sinistro aumentano il rischio di reflusso nella vena giugulare sinistra.

Acquisition Parameter	Recommendation
Pulse sequence	Generally GRE-EPI rather than SE-EPI
TR	1.0–1.5 seconds (SE-EPI); minimum (vs “as short as possible”) for GRE-EPI; generally 1.0–1.5 seconds
TE	40–45 ms at 1.5T; 25–35 ms at 3T
Flip angle	60°–70°
Temporal coverage	120 Time points
Preload Gd-based contrast agent dose (particularly for studies performed with a high flip angle)	One-fourth to single dose (0.025–0.1 mmol/kg Gd), given 5–10 minutes prior to dynamic imaging
Slice thickness	3–5 mm
Matrix	128 × 128 (range, 64 × 64 to 256 × 256)
FOV	20 × 20 cm (range, 20 × 20 to 24 × 24 cm)
IV catheter gauge	18- to 20-ga antecubital IV, right arm preferred
Injection rate	3–5 mL/s
Total acquisition time	Approximately 2 minutes

Tabella 1: linee guida per i parametri di acquisizione RM nell'imaging di perfusione DSC [5]

#### 1.2.4 ELABORAZIONE DEL SEGNALE

Elaborazione delle immagini: la revisione dei dati grezzi delle serie temporali prima dell'elaborazione è raccomandata come controllo di qualità per rilevare un profilo di bolo scadente, che può limitare la successiva interpretazione. Affinché il movimento del paziente non causi imprecisione nelle curve segnale-tempo, è buona

norma rimuovere dall'integrale della curva i punti temporali con discontinuità di segnale o picchi dovuti ad artefatti da movimento. Se si dovesse percepire un movimento notevole, lo studio dovrebbe essere ripetuto, quando possibile. Lo spatial smoothing con un piccolo kernel può essere utile per ridurre il rumore spaziale. La registrazione delle immagini del set di dati di perfusione con immagini di riferimento pesate in T1 e/o FLAIR aiuta a facilitare il posizionamento delle ROI. Si consiglia la determinazione automatica AIF se si desidera un'elaborazione quantitativa. I dati DSC-RM segnale-tempo  $S(t)$  vengono convertiti in dati di rilassività-tempo utilizzando la tecnica standard:  $\Delta R2^*(t) = -\ln(S(t)/S_0)/TE$ , dove  $S_0$  è il segnale di base medio.

Determinazione dell'Arterial Input Function (AIF): se la deconvoluzione sarà eseguita con l'intento di derivare valori quantitativi per CBF e MTT, la curva concentrazione-tempo dei tessuti deve essere deconvoluta con una funzione di input arterioso. La deconvoluzione e le misurazioni quantitative della perfusione saranno influenzate proprio dalla selezione della stessa funzione. Per determinare l'AIF è possibile impiegare un algoritmo automatizzato o analizzare manualmente il set di dati della perfusione. In ogni caso, è desiderabile ottenere un AIF che dimostri un aumento precoce e ripido dalla condizione basale e un picco ristretto.

### **1.2.5 REPORT E INTERPRETAZIONE GENERALE DELLO STUDIO**

Report dei parametri tecnici: per facilitare la comunicazione tra gli operatori che eseguono DSC-RM, dovrebbero essere presenti nel report dell'imaging o incorporati nelle immagini DICOM i seguenti parametri: sequenza (Gradient-echo o Spin-echo), TR, TE, flip angle, informazioni relative al mezzo di contrasto, presenza o assenza di preload e una breve descrizione circa il metodo di post-elaborazione.

Valutazione della qualità dell'esame:

- le immagini dovrebbero essere controllate attentamente per riconoscere e segnalare possibili artefatti che possano influire sulla creazione delle mappe di perfusione. Gli artefatti di suscettibilità magnetica sono, tra gli altri, quelli che si verificano con maggior frequenza e possono essere causati da: hardware chirurgici, interfacce osso-aria o emorragie intraparenchimali.

Altra importante fonte di errore può essere dovuta dagli artefatti da movimento del paziente che portano ad un'errata registrazione delle serie temporali.

- La curva segnale-tempo dovrebbe anche essere ispezionata per la presenza di un'appropriata caduta di segnale transitoria come indicatore di un bolo di contrasto di qualità. Spesso è utile confrontare la curva segnale-tempo all'interno della lesione e del cervello normale per verificare la presenza o l'assenza di una differenza.
- Le mappe di perfusione devono essere ispezionate per errori di somministrazione di mezzo di contrasto (stravaso) o di elaborazione che possono portare a risultati imprevisti.

Quantificazione Assoluta contro Relativa: il CBV relativo è la metrica più comune che fornisce la DSC-RM per l'analisi dei tumori cerebrali ed è una misura qualitativa derivata dall'integrale di curve di rilassività-tempo, senza regolazione per l'AIF. Il CBV relativo è spesso normalizzato a quello della sostanza bianca di aspetto normale, generalmente dell'emisfero controlaterale in caso di tumore. La quantificazione assoluta di CBV e CBF richiede la derivazione dell'AIF utilizzando sequenze e metodi di acquisizione specializzate, nonché un software di elaborazione di alto livello [5].

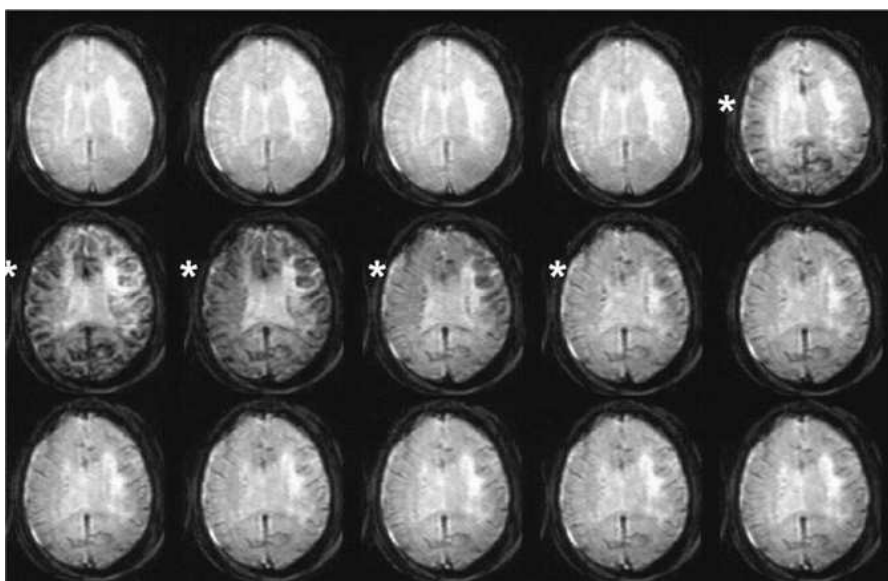


Figura 3: Serie di immagini dinamiche pesate in T2\* di una singola fetta assiale durante il passaggio del bolo di mezzo di contrasto. Al suo arrivo, produce l'attenuazione del segnale (\*)

### 1.3 DYNAMIC CONTRAST-ENHANCED (DCE)

#### 1.3.1 PREMESSE

La sequenza DCE-RM analizza la serie temporale dell'enhancement di un tessuto in seguito all'iniezione di un mezzo di contrasto paramagnetico nel sistema vascolare. Ciò si ottiene mediante l'acquisizione di immagini basali senza mezzo di contrasto, seguite da una serie di immagini acquisite nell'arco di pochi minuti durante e dopo l'arrivo del mdc nel tessuto di interesse.

Il segnale acquisito viene utilizzato per generare una curva di intensità-tempo per il tessuto, che rispecchia la sua risposta all'arrivo del mdc e tramite la quale, in seguito ad un'attenta analisi, possono essere derivate proprietà fisiologiche correlate al flusso sanguigno microvascolare.

Ogni immagine acquisita corrisponde a un punto temporale e ogni pixel in ogni set di immagini genera la propria curva di valori di intensità. Poiché la variazione dell'intensità di segnale dopo l'iniezione dipende dalla vascolarizzazione tissutale, dalla permeabilità dei vasi, dal prodotto della superficie dei vasi, dalla frazione di estrazione e dal flusso sanguigno, è possibile derivare mappe parametriche di specifici biomarcatori microvascolari e i loro valori assoluti possono essere estratti utilizzando opportuni modelli matematici.

Il principio sfruttato per questo tipo di indagine la riduzione dei tempi di rilassamento tissutale T1 e T2 del mezzo di contrasto diffusibile, che viene utilizzato per generare immagini pesate T1 che presentano un aumento dell'intensità di segnale.

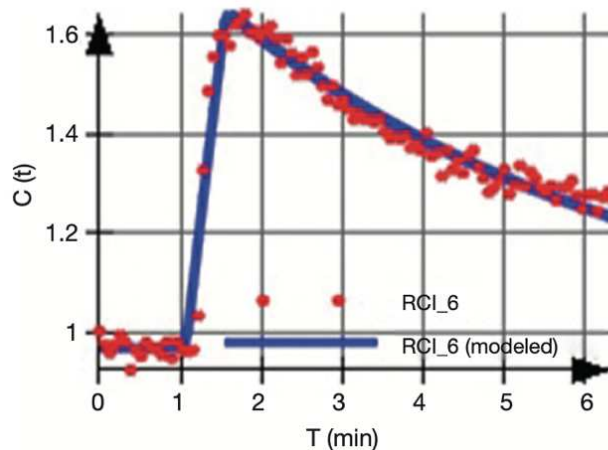


Figura 4: esempio di curva-intensità tempo del segnale

Il mezzo di contrasto aumenta il tasso di rilassamento  $R_1 = 1/T_1$ , e la variazione del tasso di relazione è linearmente correlata alla concentrazione del mezzo di contrasto  $C$  tramite l'equazione:  $R_1 = R_1^0 + r_1 C$ ; dove  $R_1^0$  è il tasso di rilassamento prima dell'arrivo del mezzo di contrasto e  $r_1$  è la rilassività specifica del mezzo di contrasto ad un determinato campo magnetico [6].

### 1.3.2 APPLICAZIONI CLINICHE

La DCE-RM viene spesso impiegata nello studio delle malattie del sistema nervoso centrale, in particolare nei tumori: è utile, ad esempio, per la predizione preoperatoria del grado tumorale e per lo studio dell'effetto del trattamento radioterapico (cioè la diagnosi differenziale tra vera progressione e pseudoprogressione) e del monitoraggio della risposta alle terapie oncologiche (ad esempio trattamenti con farmaci antiangiogenici). Attualmente, questo metodo viene applicato di routine anche in pazienti con malattie alla mammella, alla prostata, pelviche e muscolari.

### 1.3.3 RACCOMANDAZIONI DEL PROTOCOLLO DI ACQUISIZIONE

Protocolli: DCE-RM viene solitamente scansionata con una sequenza di imaging pesata in T1, con acquisizione dinamica 2D o 3D. Le acquisizioni gradient echo sono sensibili a tutte le dimensioni dei vasi, mentre le misurazioni spin echo sono più sensibili vasi di minore dimensione. Comunemente, i metodi di acquisizione gradient echo 3D, come fast spoiled gradient echo, fast low angle shot (FLASH), o T1-weighted high resolution isotropic volume examination, vengono utilizzati per ottenere il volume. Per la DCE-RM quantitativa, viene eseguita una mappatura dei valori pre-contrastografici di T1 per ciascun voxel usata per calcolare le variabili quantitative grazie alla cinetica del T1 post-iniezione.

Parametri: la sequenza viene scansionata con TR e TE molto brevi, rispettivamente con un range di 4-6 ms e di 1-3 ms. Anche il flip angle è ridotto, con valori dai 10° ai 15° utilizzati per generare immagini pesate in T1. [7] La mappatura dei parametri cinetici della risonanza magnetica DCE richiede compromessi in termini di risoluzione spaziale, risoluzione temporale e copertura del volume. Con le moderne apparecchiature di risonanza magnetica, il tempo di scansione del volume è solitamente compreso tra i 5 e i 10 secondi poiché deve essere il più breve possibile

per tracciare il mezzo di contrasto. Infine, per fornire dati adeguati all'analisi farmacocinetica, la raccolta continua per oltre 5 minuti.

#### **1.3.4 ACQUISIZIONE DELLE IMMAGINI**

Il numero di misurazioni necessarie per l'acquisizione dei dati dipende dal metodo di quantificazione che si desidera utilizzare. Queste misurazioni includono:

- (i) Registrazione di una mappa dei valori nativi T1 pre-contrasto necessaria per il calcolo delle concentrazioni di mdc.
- (ii) Acquisizione di immagini fortemente pesate in T1 prima e dopo l'introduzione del mdc ad una risoluzione temporale ragionevolmente elevata per poter caratterizzare wash in e wash out del mdc dal tessuto.
- (iii) Acquisizione della funzione di input arterioso (AIF): stima della concentrazione di mdc nel plasma sanguigno di un'arteria di alimentazione in funzione del tempo, ottenerlo è essenziale per i metodi di analisi quantitativa.

Per un'analisi semi-quantitativa della misura delle curve dell'intensità di segnale 1. sarà sufficiente, per ulteriori valori di concentrazione del mdc deve essere inclusa anche la misurazione 2. e per l'analisi farmacocinetica quantitativa, che è in grado di produrre metriche assolute, sono necessarie tutte e tre le misurazioni [8].

#### **1.3.5 K-TRANS**

K-trans è una misura della permeabilità capillare ottenuta utilizzando la sequenza DCE. Viene calcolato misurando l'accumulo di mezzo di contrasto nello spazio extravascolare-extracellulare e la sua unità di misura è  $s^{-1}$ . L'aumento della permeabilità dei vasi nel cervello è visto in una varietà di condizioni: gliomi, metastasi cerebrali, che mancano di barriera ematoencefalica e lesioni infiammatorie (ad es. placche demielinizzanti della sclerosi multipla). Il modo in cui k-trans viene interpretato varia in base alla permeabilità e al flusso sanguigno, infatti, nelle situazioni in cui la permeabilità è molto bassa (barriera ematoencefalica quasi intatta), k-trans è una misura utile di permeabilità, mentre in situazioni in cui la permeabilità è molto alta (barriera ematoencefalica interrotta) allora k-trans riflette il flusso sanguigno [9].

### 1.3.6 ELABORAZIONE DEL SEGNALE

L'arrivo del mezzo di contrasto e quindi l'enhancement del tessuto dipendono da un'ampia varietà di fattori, tra cui vascolarizzazione, permeabilità capillare, superficie capillare perfusa, volume e composizione del liquido extracellulare, clearance renale e perfusione. L'analisi dei dati DCE può fornire preziose informazioni riguardanti lo stato vascolare e la perfusione. L'analisi dei dati può essere eseguita utilizzando metodi semi-quantitativi o quantitativi [10].

Analisi semi-quantitativa: le metriche semi-quantitative sono derivate direttamente dalla curva dell'intensità di segnale e dalla generazione di mappe colorimetriche. Sono facili da calcolare e non hanno requisiti rigorosi in termini di acquisizione dei dati. L'analisi semi-quantitativa presenta diversi vantaggi: ovvia alla necessità di misurare l'AIF, è robusta e rende indipendenti dal protocollo di iniezione diversi parametri come l'area sotto la curva (AUC). Altri parametri ottenibili possono essere: il tempo di arrivo, il time to peak (TTP), la differenza massima del segnale, la velocità di assorbimento (pendenza massima), il wash in e wash out del mezzo di contrasto e il rapporto di miglioramento del segnale rispetto al valore basale. Un aspetto negativo, tuttavia, è il fatto che i parametri semi-quantitativi non hanno necessariamente evidenti correlazioni fisiologiche e che la maggior parte dei metodi di derivazione dei parametri è sensibile alle variazioni tra diversi protocolli di acquisizione, rendendo di conseguenza difficile il confronto. Le metriche dei parametri dipendono, infatti, da fattori quali i parametri della sequenza, le impostazioni hardware, la durata della scansione, la quantità e le proprietà del mdc somministrato e il protocollo di iniezione. Detto questo, l'analisi qualitativa basata sul segnale è molto utile, specialmente quando sono richieste misurazioni dei cambiamenti relativi in un individuo o in un gruppo di pazienti. Infatti, l'analisi semi-quantitativa ha dimostrato un chiaro valore diagnostico in una serie di aree come studi oncologici, studi di malattie reumatoidi, del cuore e di valutazione della perfusione muscoloscheletrica.

Analisi quantitativa: il più grande fascino della DCE-RM è la sua capacità di produrre parametri direttamente correlati alle proprietà fisiologiche (e fisiopatologiche) dell'ambiente vascolare e del tessuto circostante, in termini assoluti. Il vantaggio cruciale nell'ottenere parametri assoluti è la loro



comparabilità e ripetibilità e questo è facilitato mediante l'analisi farmacocinetica basata su modelli matematici. Lo scopo di questi è quello di descrivere il fenomeno fisiologico in termini matematici al fine di consentire la stima di specifici parametri tissutali dal segnale misurato. Ogni modello è un'equazione contenente un numero di parametri regolabili (free fitting): più complesso è il modello, più parametri sono inclusi nelle misurazioni, ma meno affidabile ne è il risultato. Alcuni di questi parametri sono: la costante di trasferimento (K-trans), la costante di velocità o velocità di riflusso ( $k_{ep} = K\text{-trans} / ve$ ), il volume frazionario dello spazio extracellulare extravascolare (ve) e il volume plasmatico frazionario (vp) [8].

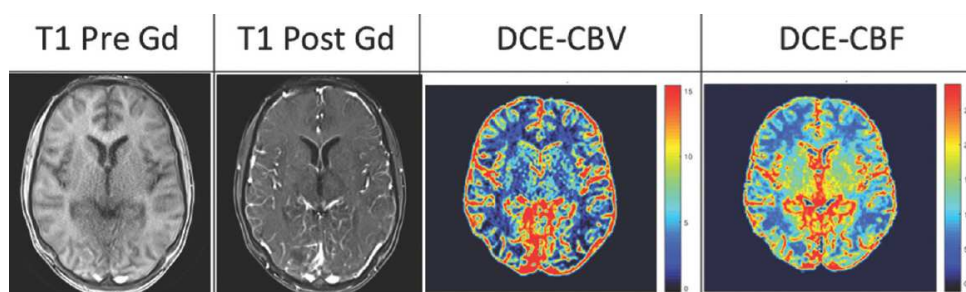


Figura 5: mappa colorimetrica dell'emodinamica cerebrale ottenuta con DCE-RM [10]

### 1.3.7 PUNTI DI FORZA

La DCE-RM, essendo pesata in T1, è meno sensibile agli artefatti di suscettibilità in tessuti adiacenti alla base cranica e all'interno dei tumori resecati rispetto all'imaging pesato T2 \* della DSC-RM. In secondo luogo, gli effetti di perdita di contrasto pesati in T1 non sono causa di errore, al contrario, consentono la modellazione esplicita della permeabilità e possono fornire mappe parametriche assolute delle proprietà microvascolari dei tessuti. Infine, l'imaging pesato in T1 della DCE, oltre ad essere intrinsecamente più sensibile, consente una stima più semplice e accurata di AIF per la modellazione cinetica rispetto all'EPI utilizzato per la risonanza magnetica DSC [6].

### 1.3.8 FONTI DI ERRORE E PROBLEMATICHE

Artefatti: la presenza di artefatti gioca un ruolo di degradazione dell'immagine, tra quelli che più spesso si incontrano ci sono quello di suscettibilità, dovuto all'utilizzo

dell'imaging eco planare e quello da movimento, causato molto spesso dai lunghi tempi di acquisizione e da pazienti poco collaboranti.

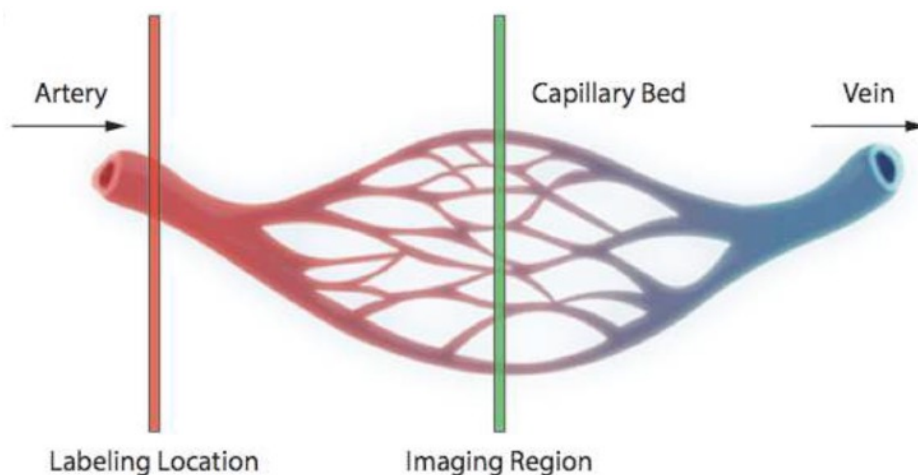
Risoluzione spaziale e temporale: un modello di analisi richiede un'elevata risoluzione temporale per fornire una descrizione delle cause alla base dell'assorbimento del mezzo di contrasto in un tessuto, tuttavia, se questa fosse troppo bassa, porterebbe ad ottenere un AIF impreciso. Inoltre, con una bassa risoluzione spaziale, l'effetto di volume parziale può causare, anche in questo caso, misurazioni errate dell'AIF. Da questi presupposti nasce la necessità di trovare un compromesso adeguato.

Modellazione cinetica: l'impiego di modelli poco dettagliati o poco accurati può introdurre errori sistematici nei parametri cinetici che si desidera valutare, producendo dati privi di significato e di insufficiente interesse diagnostico.

## 1.4 ARTERIAL SPIN LABELING (ASL)

### 1.4.1 PREMESSE

L'Arterial Spin Labeling (ASL) è una tecnica di risonanza magnetica non invasiva in grado di quantificare il Cerebral Blood Flow (CBF) regionale in vivo. ASL è disponibile negli scanner di risonanza magnetica da oltre un decennio e, oltre a essere una valida alternativa alla risonanza magnetica con mezzo di contrasto, è anche utile per determinate patologie, in cui dimostra particolare sensibilità e aggiunge informazioni cliniche specifiche. Tuttavia, l'uso di routine dell'ASL nei centri non specializzati rimane limitato a causa della sua complessità. L'Arterial Spin Labeling è una tecnica non invasiva che per la quantificazione della perfusione fa uso di un tracciante endogeno, eliminando il rischio tossico per l'organismo causato dai mezzi di contrasto. La tecnica consiste nell'opportuna marcatura dei protoni delle molecole d'acqua presenti nel sangue, con il fine di misurare l'afflusso di sangue ai tessuti. La marcatura avviene fornendo un impulso di inversione alle molecole all'interno delle grandi arterie che irrorano il cervello. Dal momento che il processo di trasporto dell'acqua attraverso la barriera ematoencefalica si può considerare relativamente illimitato, le molecole d'acqua marcate costituiscono un tracciante per la perfusione poiché, diffondendo dai capillari ai tessuti, permettono la misura del CBF.



*Figura 6: l'immagine mostra il fenomeno misurato dall'ASL: l'acqua nel sangue arteriale è trasportata fino al letto capillare dei tessuti ove si scambia con l'acqua presente in essi e viene poi drenata dal flusso venoso. Questo processo viene tracciato magneticamente dai protoni marcati ed isolato da un'appropriata sottrazione di immagini.*

#### 1.4.2 REALIZZAZIONE DELLA SEQUENZA

Per realizzare l'Arterial Spin Labeling viene applicato un impulso selettivo di inversione a radiofrequenze (RF) per invertire la magnetizzazione longitudinale dei protoni delle molecole d'acqua contenute nel sangue arteriale, prima che raggiunga la regione da acquisire. Una volta raggiunta quest'ultima, le molecole marcate giungono all'interno di ogni elemento tessutale proporzionalmente alla perfusione locale. Dopo un intervallo sufficiente da permettere al sangue marcato di raggiungere la regione di interesse (definito come tempo di inversione o inversion time TI), viene acquisita quella che viene chiamata immagine *label*. In seguito, l'esperimento si ripete senza la marcatura dei protoni delle molecole d'acqua, per generare l'immagine *control*, la quale non contiene informazioni circa l'afflusso sanguigno. Se le due immagini, *label* e *control*, vengono acquisite in modo tale che il segnale proveniente dagli spin statici sia il medesimo in entrambe le acquisizioni, la differenza di queste due dà origine ad un segnale (segnale differenza di magnetizzazione  $\Delta M$ ) proporzionale alla quantità di sangue giunto ad ogni voxel. Il contrasto ottenuto permette di caratterizzare i valori di perfusione CBF che si ottengono tramite la comparazione della variazione del segnale e i modelli di riferimento, dando origine a specifiche mappe parametriche. Lo scopo principale del procedimento è quello di forzare la magnetizzazione longitudinale dei tessuti dinamici, come il sangue, per farla differire da quella dei tessuti stazionari presenti. Il tempo di inversione (TI), è caratterizzato dallo specifico Post Labeling Delay (PLD) adottato. Il TI dovrebbe essere simile alla durata che impiega il sangue per raggiungere il parenchima cerebrale, ovvero il tempo di transito arterioso (ATT). Questo valore si aggira attorno ai 1300 e i 1750ms. La scelta della durata del PLD è un compromesso: se fosse troppo lungo si rischierebbe di perdere troppo segnale, se fosse invece troppo breve non daremmo al sangue il tempo di raggiungere il letto capillare, ottenendo ancora una volta un segnale basso. L'ATT varia al variare dell'età del paziente esaminato, varia in condizioni fisiologiche o ancora, tra tessuto sano e patologico; ad esempio, a causa di una grave ischemia, i tempi di transito del circolo arteriale sono notevolmente prolungati e una scelta errata del PLD porterebbe inevitabilmente alla sottostima dei parametri. La decisione della durata del PLD è quindi importante e va adattata alle necessità. In linea generale, il PLD

dovrebbe essere leggermente più lungo dell'ATT. Lo schema di realizzazione dell'ASL può essere diviso in tre fasi:

1. *labeling*: consiste nella creazione, attraverso l'impulso di inversione della magnetizzazione degli spin protonici dell'acqua contenuta nel sangue, il tracciante che deve essere trasportato nei tessuti. Gli impulsi vengono applicati alla base del cranio.
2. *post-labeling*: consiste nel periodo d'attesa necessario per il trascorrimento del TI, nel quale si applicano una serie di impulsi atti a migliorare il SNR e il processo di quantificazione, ad esempio il Background Suppression;
3. *read-out*: consiste nell'acquisizione dell'immagine prodotta (control e label).

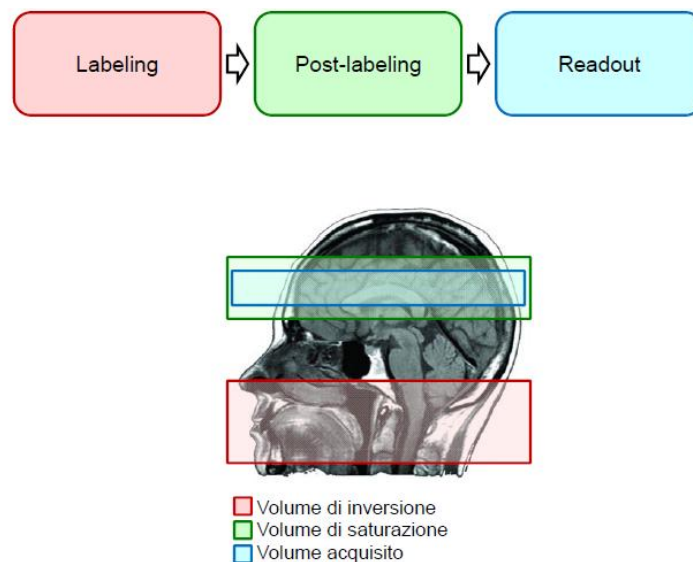


Figura 7: esempio di una sequenza di ASL completa delle tre fasi.

### 1.4.3 TECNICHE DI LABELING

Le tecniche di labeling sono sostanzialmente tre: Continuous ASL (CASL), Pulsed ASL (PASL) e pseudo- Continuous ASL (pCASL). La differenza principale tra queste categorie ASL è il metodo di marcatura del sangue.

- Continuous ASL (CASL): il sangue arteriale viene selettivamente marcato con un impulso di labeling continuo di lunga durata (2-4 s), inviato nella regione scelta attraverso un piano di marcatura generalmente applicato alla

base del cranio, perpendicolarmente alle arterie, in contemporanea ad un gradiente di campo di selezione della slice. La marcatura degli spin avviene nella stessa zona di ampiezza limitata e viene applicata per diversi secondi per massimizzare gli effetti del segnale nel cervello.

- Pulsed ASL (PASL): viene invertito il sangue arteriale contenuto in un volume cerebrale piuttosto ampio (20cm), applicando un unico breve impulso di inversione a livello cervicale per un periodo di tempo molto ridotto (10-30 ms).
- Pseudo-Continuous ASL (pCASL): utilizza un treno di impulsi RF (>1000) poco distanziati fra loro (ogni ms). Questa tecnica è da preferire poiché il treno di impulsi RF genera un minor effetto di magnetizzazione dei tessuti stazionari e un conseguente minor riscaldamento tissutale rispetto alla tecnica CASL. Inoltre, rispetto al labeling PASL, l'approccio pCASL mostra un SNR decisamente maggiore (approssimativamente del 50%) e un netto miglioramento nella distinzione tra materia grigia e il resto delle componenti.

Sequence type	PASL	CASL	PCASL
Pulse scheme			
Labeling / readout scheme			
Advantages	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Short RF pulse = lower energy deposition</li> <li>• Shorter labeling/scan time</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• High signal-to-noise ratio (SNR)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Higher SNR than PASL and less energy deposition than CASL</li> </ul>
Drawbacks	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Low SNR - Low temporal duration due to small labeling bolus</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• High energy deposition = Tissue heating</li> </ul>	<b>Recommended labeling scheme</b>
Typical sequence parameters	TR ~ 3-4 s LD ~ 700-900 ms PLD ~ 1600-2000 ms <b>Labeling distance:</b> 2-4 cm from the most inferior slice	TR ~ 4-5 s LD ~ 1800-2000 ms PLD ~ 1800-2000 ms <b>Labeling distance:</b> 5-10 cm from the most inferior slice	

Figura 8: schema riassuntivo delle tecniche di labeling [11]

#### **1.4.4 APPLICAZIONI CLINICHE**

La risonanza magnetica di perfusione ASL fornisce informazioni emodinamiche che altrimenti non sarebbero ottenibili senza l'uso di un mezzo di contrasto esogeno. ASL può essere utilizzata nello studio di tutte le malattie neurologiche in cui le informazioni sul flusso sanguigno aiutano nella diagnosi, con l'unica limitazione dei criteri di esclusione della risonanza magnetica. La sua non invasività rende questo metodo estremamente versatile, consentendo studi senza limiti di età (anche nei pazienti pediatrici) o condizioni patologiche (le insufficienze renali impediscono l'uso di traccianti esterni) e senza informazioni sullo stato della barriera ematoencefalica. Inoltre, ASL permette di ripetere nel tempo gli studi sulla perfusione, eliminando i problemi legati alla possibile tossicità e al costo dei traccianti utilizzati nelle metodiche tradizionali. In particolar modo, ASL risulta un metodo di indagine molto interessante nel caso di bambini e/o neonati poiché, oltre alla sua natura non invasiva, consente di esaminare rapidi cambiamenti nel flusso e nel metabolismo cerebrale nel corso di pochi mesi. Grazie alle proprietà finora elencate, la tecnica di Arterial Spin Labeling può essere utilizzata per monitorare gli effetti neurologici di alcuni farmaci, per visualizzare le conseguenze dell'ictus, della demenza e dei tumori cerebrali, che sono strettamente correlati all'apporto effettivo di sangue ai vari tessuti cerebrali.

#### **1.4.5 RACCOMANDAZIONI PER IL PROTOCOLLO DI ACQUISIZIONE**

La sequenza ASL viene scansionata possibilmente con un'apparecchiatura ad alto campo (3T) e dovrebbe soddisfare i seguenti requisiti: breve tempo di eco (TE) per massimizzare il SNR, lungo tempo di ripetizione (TR) per consentire al sangue marcato di raggiungere il volume di imaging ed elevato flip angle. Comunemente, viene utilizzata una sequenza GE EPI single-shot per ottenere più fette e l'acquisizione di immagini 3D è consigliata per migliorare il SNR. Il tempo di scansione del volume ASL dipende da  $2 \cdot TR$  perché è necessario acquisire due immagini (labeling e control) per ogni volume e la durata totale della scansione è relativamente lunga a causa della necessità di effettuare scansioni ripetute per aumentare il SNR. Non è raro, infatti, acquisire almeno 40 medie per migliorarlo. Un altro importante metodo per incrementare il SNR è l'utilizzo della metodica di

labeling pCASL, che elimina la necessità di lunghi e continui impulsi di inversione, mantiene un'alta efficienza di labeling, ma con un ridotto specific absorption rate (SAR).

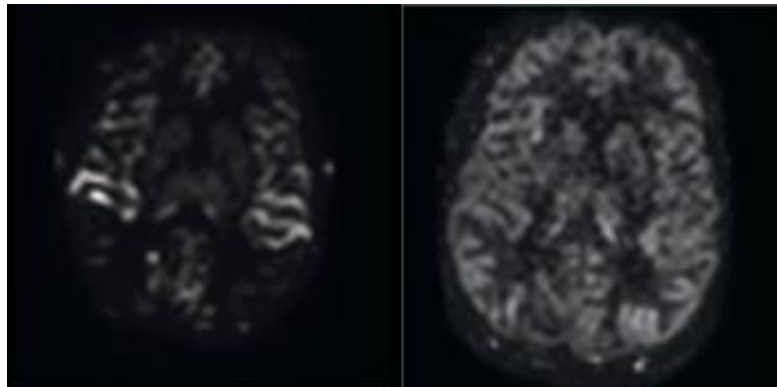


Figura 9: Confronto qualitativo nella visualizzazione della materia grigia impiegando un labeling PASL (a sinistra) e un labeling pCASL (a destra)

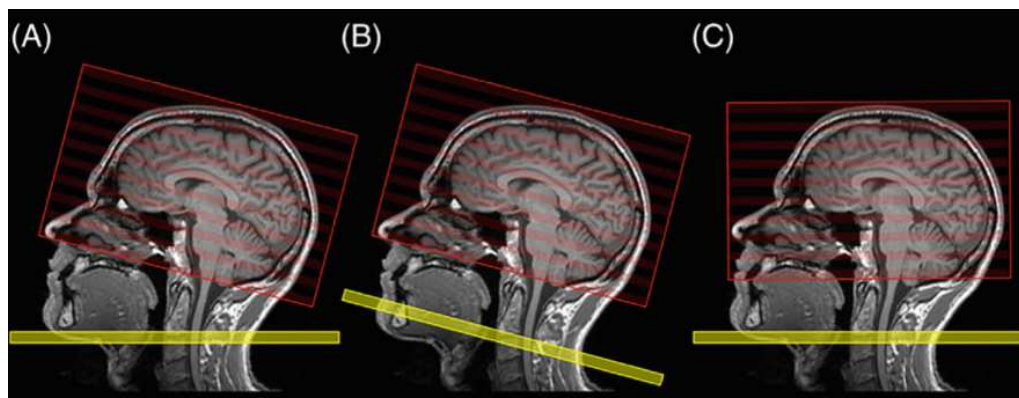
Le metodiche di acquisizione sono molteplici, tra queste troviamo: EPI (Echo-Planar Imaging), HASTE (Half-Fourier Single-Shot Turbo Spin-Echo), 3D-GRASE (3D Gradient And Spin-Echo) e bSSFP (balanced Steady-State Free Precession) [12]. La scelta di una soluzione rispetto ad un'altra tiene in considerazione qualità dell'immagine, tipo di acquisizione (Multi-slice oppure Single-slice), SNR, la dimensione dei voxel e il tempo totale dell'esame.

IMAGING PARAMETERS	ASL
TR e TE	TR lungo= 3-4 s TE corto= 15 ms
Flip Angle	Flip Angle elevato= 90°
Tempo di scansione del volume	2*TR (per immagine label e immagine control)
Durata totale dell'acquisizione	Lungo con molte medie (= 4 min)

Tabella 2: principali parametri di acquisizione.



Infine, la posizione del piano di marcatura pCASL rispetto all'immagine può influenzare notevolmente la misurazione della perfusione. Il piano di labeling dovrebbe essere, per quanto possibile, posizionato perpendicolarmente alla colonna vertebrale a livello della 2<sup>a</sup> o 3<sup>a</sup> vertebra cervicale o circa 4 cm sotto la base del cervelletto affinché sia le arterie carotidi interne che quelle vertebrali siano quasi perpendicolari al piano di labeling, con conseguente efficienza di marcatura elevata e simmetrica sia per il circolo anteriore che posteriore. Alcune sequenze pCASL disponibili in commercio, tuttavia, non consentono il libero controllo sia del volume di imaging che del piano di labeling. Pertanto, è compito dei tecnici di radiologia, previa valutazione del neuroradiologo scegliere se privilegiare l'efficienza di labeling o mantenere l'orientamento standard dell'acquisizione trasversale dell'encefalo (linea immaginaria che congiunge commessura anteriore e commessura posteriore: AC-PC line).



*Figura 10: (A): il piano di etichettatura (giallo) e il volume dell'immagine (rosso) possono essere spostati in modo libero e indipendente. (B) e (C): il piano di etichettatura e il volume dell'immagine non sono mobili individualmente ma si susseguono. In (B), l'orientamento del volume dell'immagine corrisponde all'orientamento standard e può essere più facilmente paragonato ad altre sequenze RM convenzionali; tuttavia, il radiologo deve accettare una potenziale riduzione dell'efficienza di labeling. In (C), l'orientamento del volume di imaging si discosta dalla linea AC-PC, ma l'efficienza di labeling non viene compromessa. [12]*

#### 1.4.6 PROBLEMATICHE

A causa del debole segnale prodotto da ASL, ogni fattore potenzialmente in grado di introdurre delle variazioni deve essere evitato o compensato. Una comune fonte di errore è dovuta all'effetto di trasferimento della magnetizzazione (magnetization transfer, MT), che provoca una perdita di segnale che, se non individuata e gestita, rende impossibile la misurazione della perfusione). Inoltre, per aumentare il

rapporto segnale rumore dei dati, è necessario acquisire molteplici ripetizioni (medie) dello stesso. Infatti, per ottenere un buon SNR, si dovrebbero acquisire un numero elevato di coppie label control. Inevitabilmente, il tempo totale per la realizzazione dell'esame si dilata e rende necessaria la ricerca di un compromesso tra SNR e durata dell'esame. Quest'ultima ricopre un ruolo molto delicato poiché maggiore è il tempo necessario per acquisire le due immagini, maggiore è la possibilità di introdurre artefatti da movimento, soprattutto quando ci si trova di fronte a soggetti poco collaboranti. Dal momento che la generazione dell'immagine pesata in perfusione si basa su di una semplice sottrazione, uno spostamento della regione in esame tra le due acquisizioni genererebbe un segnale differenza relativo a due punti diversi dell'encefalo e sarà privo di significato.

#### **1.4.7 ELABORAZIONE DEL SEGNALE**

Nella maggior parte dei casi, le uniche fasi di post-elaborazione richieste sono la sottrazione (a coppie) delle immagini label e control e la media delle serie di sottrazione risultanti, per fornire le mappe pesate in perfusione

#### **1.4.8 REPORT E INTERPRETAZIONE GENERALE DELLO STUDIO**

Il controllo visivo delle immagini label e control non sottratte e dell'immagine M0 può aiutare a identificare gli artefatti che inducono segnali CBF spuri, come ad esempio la mancanza di simmetria o l'orientamento errato del piano di label. Un altro aspetto importante è che i mezzi di contrasto a base di gadolinio devono essere somministrati solo dopo che l'ASL è stata acquisita, altrimenti le immagini ottenute saranno di scarsa qualità e poco diagnostiche. A differenza dei metodi basati su mezzi di contrasto, ASL può fornire una quantificazione assoluta del CBF con un'elevata accuratezza e riproducibilità, ma può essere influenzata da vari fattori come l'ATT, l'efficienza di marcatura, il T1 del sangue e l'ematocrito. All'interno del report dello studio effettuato, è necessario inserire le informazioni essenziali che rendono possibile l'interpretazione dell'imaging. Tra queste troviamo: durata di label, posizione del piano di label (in pCASL) e il PLD. È utile infine valutare le condizioni preesistenti che possono influenzare il CBF, come malattie neurodegenerative, tumori, stenosi, l'uso di farmaci vasoattivi o di caffeina. [4]

## 1.5 IL GLIOBLASTOMA

Il glioblastoma è una forma di tumore molto aggressiva che colpisce il sistema nervoso centrale. Origina dalle cellule gliali, che compiono la funzione di sostegno per i neuroni. Nella maggior parte dei casi, il glioblastoma colpisce gli emisferi cerebrali, ma può anche comparire nel tronco encefalico, nel cervelletto e nel midollo spinale. Si manifesta più spesso in età tra i 45 e i 75 anni, con un'incidenza di poco superiore nel sesso maschile rispetto al femminile (1.6:1); rappresenta circa il 45% di tutti i tumori maligni che hanno origine nel cervello. Sebbene la terapia risulti utile per rallentarne la progressione o ridurne i sintomi, la cura di questo tumore è molto complessa.

Sintomi: sono aspecifici. Circa metà dei pazienti sono diagnosticati in seguito ad un accesso in pronto soccorso. Tra i sintomi più comuni si riscontrano: cefalea di crescente intensità, nausea, vomito, attacchi epilettici, deficit neurologici focali motori o sensitivi, come disturbi del linguaggio, alterazioni della personalità o dello stato di coscienza. Questi sono causati dall'effetto massa del tumore che cresce all'interno del cranio, espandendosi e provocando l'aumento della pressione intracranica.

Fattori di rischio: le radiazioni ionizzanti sono uno dei pochi fattori certi correlati all'aumento del rischio di sviluppare il glioblastoma. La possibilità e la probabilità di insorgenza dipendono dalla tipologia di radiazione, dalla dose e dalla durata dell'esposizione. Alcune rare sindromi di predisposizione tumorale (ad esempio neurofibromatosi tipo 1, Li-Fraumeni, sindrome di Lynch) sono associate a un rischio aumentato di sviluppare glioblastomi.

Tecniche per la diagnosi: Gli esami strumentali preoperatori che si possono eseguire sono la TC, la RM e la PET. La TC è spesso il primo esame di imaging eseguito e permette di conoscere la sede e la dimensione del tumore e l'effetto massa sul parenchima circostante. La RM con mezzo di contrasto è la tecnica di imaging più accurata: essa consente la diagnosi differenziale con altre patologie (ad esempio linfomi, metastasi, ascessi) ed unisce ad una miglior precisione anatomica, la possibilità di valutare aspetti quali la cellularità con le sequenze pesate in diffusione, le componenti microemorragiche con le sequenze pesate in suscettibilità, nonché l'angiogenesi mediante le sequenze di perfusione. Essa

consente inoltre una migliore pianificazione preoperatoria mediante le tecniche di trattografia e di risonanza magnetica funzionale.

Infine, la biopsia permette, previa analisi in laboratorio del campione di tessuto prelevato, l'identificazione della tipologia e dell'aggressività delle cellule tumorali. Alcuni test specifici sono in grado di rivelare le mutazioni genetiche presenti nelle cellule in esame, che potranno fornire indizi sull'evoluzione della malattia e sulla terapia da adottare [14].

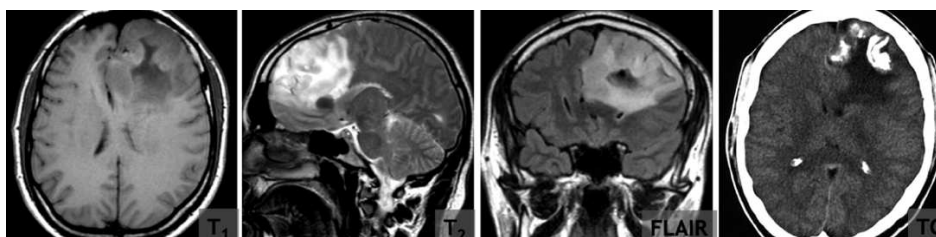


Figura 11: il glioblastoma. Immagini RM [13]

Trattamento: Il trattamento del glioblastoma è un procedimento complicato che richiede un approccio multidisciplinare. Le terapie previste per il trattamento del glioblastoma sono:

- *intervento chirurgico:* è il primo passo da eseguire, quando le dimensioni e la sede del tumore lo permettono, per ridurre i sintomi e abbassare la pressione che il tumore esercita all'interno del cranio. L'obiettivo ottimale è la resezione radicale, tuttavia la rimozione chirurgica completa del glioblastoma è difficile poiché spesso si localizza in aree del cervello importanti, come quelle che controllano il linguaggio, la funzione motoria e i sensi. Il tessuto malato resecato è fondamentale per effettuare un'analisi istologica affinché si possa individuare la terapia più adeguata. A causa dell'elevata invasività, l'asportazione della massa tumorale primaria non è curativa perché le cellule tumorali possono infiltrare il parenchima encefalico ben oltre quanto macroscopicamente visibile all'imaging o all'intervento chirurgico, portando a una successiva progressione o ricomparsa della malattia. Per questo motivo, dopo l'intervento è necessario sottoporsi a trattamenti volti a contrastare le cellule tumorali residue.
- *Radioterapia:* si effettua solitamente successivamente all'intervento chirurgico e può essere associata alla chemioterapia; nei casi in cui non sia

possibile procedere chirurgicamente, la terapia si baserà su terapie combinate di radioterapia e chemioterapia fin dalla prima diagnosi [14]. Il protocollo Stupp, cioè il trattamento di prima scelta nel setting post-chirurgico, prevede una dose cumulativa di 60 Gray somministrati in 30 frazioni. Per i pazienti anziani, si utilizzano strategie di riduzione della dose (40 Gray in 15 frazioni).

- *Chemioterapia*: consiste nella somministrazione di farmaci contro le cellule tumorali. La chemioterapia può essere somministrata per via endovenosa o per os. Il trattamento di prima linea previsto dal protocollo Stupp indica le pastiglie con principio attivo temolozomide.
- *Terapia con i campi elettrici*: è una tecnica che mira a prevenire la crescita delle cellule tumorali e basandosi sull'applicazione di elettrodi adesivi sul cuoio capelluto collegati a un dispositivo portatile che genera campi elettrici. Questo trattamento può essere combinato con la chemioterapia e può essere praticato successivamente all'intervento chirurgico.
- *Terapie a bersaglio molecolare*: sono trattamenti innovativi e mirati che impiegano farmaci che agiscono su specifici recettori o ligandi presenti nelle cellule tumorali responsabili della loro crescita e proliferazione. [14]
- *Sperimentazioni cliniche*: sono programmi di studio che permettono lo sviluppo e la scoperta di nuove possibilità di trattamento.
- *Cure palliative*: consistono in trattamenti medici volti ad attenuare il dolore alleviando i sintomi legati alla malattia, senza però risolverne la causa [14].

### 1.5.1 RISONANZA MAGNETICA E GLIOBLASTOMA

La risonanza magnetica è particolarmente utile nel determinare la risposta al trattamento dei glioblastomi in quanto non è invasiva e acquisisce l'intero volume del tumore e dei tessuti adiacenti. Nella maggior parte dei gliomi di alto grado, l'integrità della barriera emato-encefalica (BBB) viene interrotta. In questi pazienti, dopo somministrazione endovenosa di mezzi di contrasto a base di gadolinio, le molecole di contrasto idrofile diffondono fuori dal lume vascolare e si accumulano all'interno dello spazio extracellulare extravascolare, manifestandosi come regioni iperintense che aumentano il contrasto nelle sequenze pesate in T1. [6] La risonanza magnetica è l'esame più importante per determinare la risposta al trattamento negli studi clinici secondo i criteri RANO, dei quali è recentemente stata pubblicata una revisione. Secondo questi criteri, la valutazione della risposta al trattamento si basa su semplici metriche lineari della componente tumorale dotata di impregnazione contrastografica. In particolare, si valuta il prodotto delle dimensioni tumorali perpendicolari massime della sezione trasversale con la maggior estensione del tumore (sono definite "misurabili" le lesioni > 10 mm in entrambe le dimensioni perpendicolari). [15] Le raccomandazioni derivano dall'ipotesi biologicamente plausibile che i cambiamenti nelle dimensioni del tumore identifichino la progressione della malattia, prima che diventi clinicamente evidente, con conseguente riduzione del tempo di attesa per l'intervento terapeutico. In effetti, ci possono essere benefici nel cambiare la gestione prima dello sviluppo di disabilità irreversibile o prima che l'estensione del tumore precluda l'intervento.

Un altro approccio frequente nel follow-up di gliomi di alto grado è quello di utilizzare tecniche di imaging avanzate come la perfusione o la spettroscopia. Un segno distintivo dei tumori è l'angiogenesi ovvero la formazione di nuovi vasi tumorali per sostenere le richieste metaboliche del tumore in crescita. Il suo principale fattore scatenante è l'ipossia attraverso il rilascio di HIF-1 (fattore 1 inducibile dall'ipossia) e cascate di altri fattori pro-angiogenici, ad esempio il fattore di crescita endoteliale vascolare. Rispetto ai vasi normali, i vasi tumorali sono più grandi, più irregolari e, soprattutto, altamente permeabili. L'aumento della permeabilità porta ad una BBB interrotta, permettendo lo stravasamento di macromolecole (come gli agenti di contrasto) attraverso la parete capillare [6]. La

vascularizzazione del glioma mostrerà quindi una maggiore perfusione, volume del sangue e permeabilità rispetto al normale tessuto cerebrale. Le tecniche DSC e DCE si basano sull'imaging RM dinamico durante il passaggio in bolo di un mezzo di contrasto a base di gadolinio per fornire immagini dei parametri relativi alla perfusione e alla permeabilità. Come già detto, la DSC è una sequenza di immagini pesate in  $T2 / T2^*$  che misura variabili di perfusione quali il CBV. Esso è un marcatore indiretto di densità microvascolare, la quale è uno degli aspetti caratteristici dei gliomi ad alto grado [20].

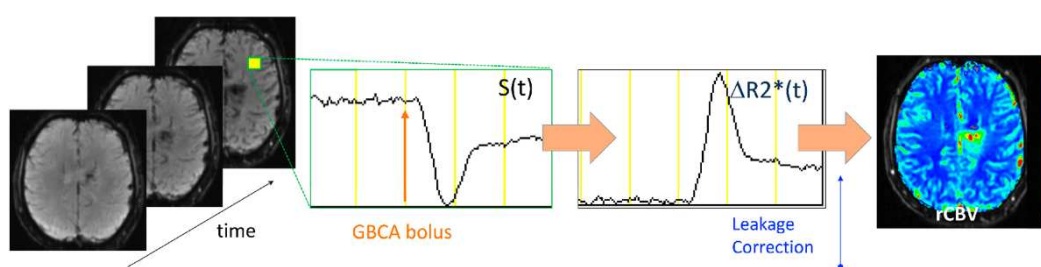


Figura 12: acquisizione ed elaborazione dei dati DSC-RM [6]

Al contrario, DCE è una sequenza pesata in  $T1$ , che nella sua forma più utilizzata fornisce informazioni su una combinazione di perfusione tissutale e permeabilità dei vasi misurata da  $K_{trans}$  e dal volume plasmatico ( $V_p$ ). In alternativa, l'Arterial Spin Labeling (ASL) è una tecnica completamente non invasiva e potenzialmente quantitativa senza mezzo di contrasto, che si basa sulla marcatura dell'acqua arteriosa al fine di fornire un tracciante di perfusione endogeno e liberamente diffusibile [16]. ASL fornisce immagini pesate in perfusione e può essere utilizzato per quantificare la perfusione tissutale (CBF).

### 1.5.2 RISONANZA MAGNETICA E METILAZIONE

O6-metilguanina-DNA metiltransferasi, nota come MGMT, è un enzima di riparazione "suicida" del DNA. Ripara i nucleotidi guanina danneggiati trasferendo il metile nel sito O6 della guanina ai suoi residui di cisteina, evitando così mutazioni geniche, morte cellulare e tumorigenesi causate da agenti alchilanti. Il gene MGMT codifica per una proteina di riparazione del danno al DNA che rimuove gli agenti alchilanti con conseguente resistenza alla chemioterapia. Poiché la metilazione del

DNA può inibire la trascrizione, la metilazione del promotore MGMT aumenta la sensibilità agli agenti alchilanti. Svariati studi hanno dimostrato che la metilazione del promotore MGMT può predire se gli agenti alchilanti quali la temozolomide possano essere di beneficio nel trattamento dei gliomi [17].

Sono state investigate le caratteristiche di imaging convenzionale ed avanzato nella predizione della metilazione del promotore di MGMT in pazienti con glioblastoma di nuova diagnosi. Per quanto riguarda la perfusione, gli studi che utilizzano DSC hanno dimostrato che l'nrCBV dei tumori con metilazione del promotore di MGMT era inferiore rispetto ai casi senza la metilazione. Parimenti, gli studi che utilizzano l'ASL hanno dimostrato che il CBF era significativamente più basso nei glioblastomi metilati rispetto ai glioblastomi non metilati. Infine, studi effettuati tramite DCE evidenziano, in presenza di metilazione, valori più alti di  $K_{trans}$  e più bassi di  $V_e$ .

Considerato che il glioblastoma con metilazione del promotore di MGMT sia relativamente ipoperfuso rispetto a quello privo di tale alterazione, l'imaging RM di perfusione nei pazienti con glioblastoma di nuova diagnosi ha la potenzialità di una caratterizzazione non invasiva di tale marcatore molecolare.



## **CAPITOLO 2: BACKGROUND E SCOPO DELLO STUDIO**

Le tre tecniche di perfusione utilizzate nella pratica clinica studiano aspetti diversi della perfusione cerebrale. Numerosi lavori scientifici hanno applicato singolarmente tali sequenze alla diagnosi e al follow-up dei tumori del sistema nervoso centrale, mentre gli studi comparativi tra le stesse sono pochi.

Sebbene le metriche derivate da tali sequenze correlino tutte con il grado di vascolarizzazione, esse forniscono informazioni complementari riguardo a tale caratteristica tumorale, studiandone rispettivamente il lato venoso (DSC), arterioso (ASL) e l'integrità della barriera emato-encefalica (DCE) [18].

Scopo principale del presente lavoro è pertanto illustrare l'impiego della perfusione DSC e DCE in una coorte di pazienti affetti da glioblastoma IDH-wildtype, valutando la correlazione tra le metriche derivate dalle due metodiche; scopo secondario dello studio è valutare se tali variabili correlino con lo status di metilazione del promotore di MGMT.

### **2.1 CRITERI DI INCLUSIONE**

Sono stati reclutati prospetticamente 9 pazienti sottoposti a Risonanza Magnetica preoperatoria presso la Neuroradiologia dell'Azienda-Ospedale Università di Padova tra marzo 2023 e settembre 2023, ad intervento chirurgico (biopsia, resezione parziale, resezione radicale) e con diagnosi anatomico-patologica di Glioblastoma IDH-wildtype secondo WHO 2021. I criteri di esclusione sono stati l'impossibilità di eseguire lo studio di perfusione (n=1), la presenza di artefatti da movimento non correggibili (n=5) ed il riscontro patologico di diagnosi alternative (n=3).

Tutti i pazienti sono stati informati in merito alle modalità di svolgimento dell'esame RM e ne è stato raccolto il consenso scritto riguardante la partecipazione allo studio.

### **2.2 VARIABILI CLINICO-DEMOGRAFICHE**

I dati clinico-demografici (età, sesso, status del promotore di MGMT, percentuale di metilazione del promotore) sono stati raccolti dalle cartelle cliniche dei pazienti.

Lo status del promotore e la percentuale di metilazione di MGMT non sono risultati disponibili per 1 paziente.

### 2.3 PROTOCOLLO DI STUDIO: PARAMETRI TECNICI

Nel lavoro di tesi è stato scelto di elaborare le sequenze DSC e DCE. Per l'acquisizione delle immagini è stata utilizzata la RM Philips Ingenia 3T presso la Neuroradiologia dell'Azienda-Ospedale Università di Padova

Il protocollo di acquisizione ha previsto la somministrazione di 10 mL di gadobutrolo 1 mmol/L, suddiviso in due boli. Il primo bolo (3 mL di gadobutrolo, seguiti da 40 mL di soluzione fisiologica) è stato iniettato dopo l'esecuzione di 3 dummy scan ad una velocità di 2 mL/s ed è stato utilizzato per l'acquisizione della sequenza DCE. Dopo una pausa di 30 secondi dal termine di questa sequenza, è stata avviata l'acquisizione della sequenza DSC. Il secondo bolo (7 mL di gadobutrolo, seguiti da 40 mL di soluzione fisiologica) è stato iniettato alla velocità di 5 mL/s dopo l'acquisizione di 2 dummy scan e 30 volumi basali.

La tabella 3 riassume i parametri utilizzati per l'acquisizione delle sequenze DSC e DCE.

<b>Parametri</b>	<b>DSC</b>	<b>DCE</b>
<b>TE (ms)</b>	40	1.80
<b>TR (ms)</b>	1500	5.0
<b>Flip Angle (°)</b>	75	15
<b>Tecnica di acquisizione</b>	FFE (Fast Field Echo)	FFE (Fast Field Echo)
<b>Scan Time (min)</b>	4:06	7:11
<b>FOV (mm)</b>	230x230 x110	230x230 x110
<b>Voxel size (mm)</b>	2.4 x2.4x5	2.4x2.4x5
<b>Slices</b>	22	22
<b>Volumi</b>	160	80

Tabella 3: parametri di acquisizione.

## 2.4 APPARECCHIATURA E SOFTWARE

Per la post-elaborazione delle sequenze DCE e DSC è stata utilizzata la consolle di lavoro fornita dalla casa produttrice Philips, che utilizza il software IntelliSpacePortal. Le sequenze DSC e DCE sono state coregistrate con la sequenza T1 post mdc tramite la funzione “Fusion Registration” del pacchetto Multimodality Viewer per ridurre il rischio di campionamento errato a causa del movimento del paziente tra le sequenze acquisite. La sequenza DSC coregistrata è stata poi processata tramite il pacchetto “MR Neuro Perfusion T2\*” utilizzando la funzione di leakage correction. Non è stato applicato smoothing spaziale e temporale né è stata determinata l’AIF. Le immagini DSC coregistrate sono state sovrapposte alla sequenza T1 post mdc per generare le mappe di rCBV. Per la misurazione dell’rCBV, sono state posizionate congiuntamente 1-3 Region Of Interest (ROI) ellittiche di almeno 25 mm<sup>2</sup> in corrispondenza delle componenti lesionali dotate di impregnazione post mdc, evitando le componenti cistiche, emorragiche e calcifiche. È stata contemporaneamente creata una ROI speculare controlaterale in maniera automatica, che è stata poi riposizionata più accuratamente nella sostanza bianca sana nell’emisfero controlaterale per evitare le strutture vascolari, gli spazi liquorali e le alterazioni di segnale. È stato quindi calcolato il volume ematico cerebrale relativo normalizzato (nrCBV) come rapporto tra l’rCBV lesionale e quello della sostanza bianca sana controlaterale.

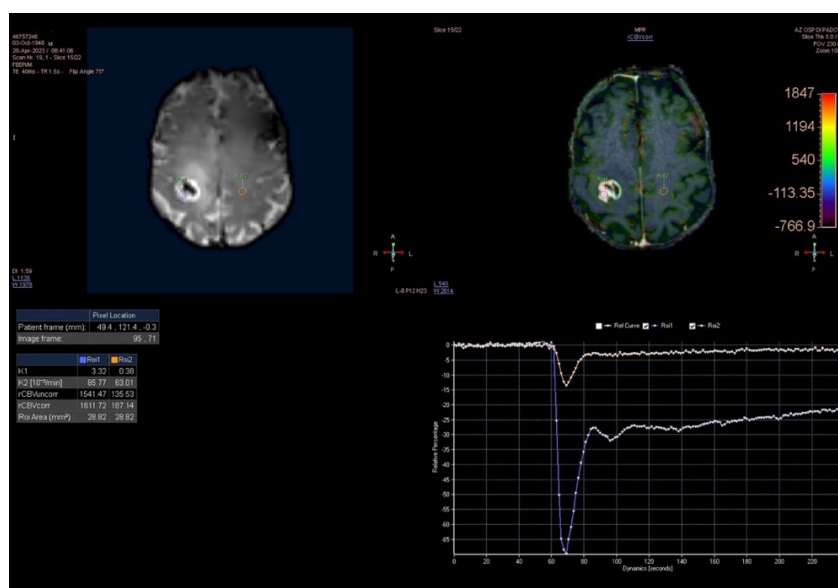


Figura 13: esempio di elaborazione immagine DSC e relativi parametri ottenuti

Per quanto riguarda la sequenza DCE è stato impiegato il pacchetto speculare “MR Neuro Perfusion T1”, è stata applicata un’analisi “model-independent” e non è stato applicato smoothing spaziale o temporale. Sono state generate come mappe desiderate quelle del Wash-in Rate e dell’area sotto la curva (AUC). Anche questa volta è stata selezionata la sequenza T1 post mdc come sequenza di underlay. I due operatori hanno posizionato nelle stesse aree delle lesioni campionate per la sequenza DSC delle ROI ellittiche di almeno 25 mm<sup>2</sup> e di circa le stesse dimensioni, evitando le componenti cistiche, emorragiche e calcifiche e per determinare il Wash-in rate e l’AUC.

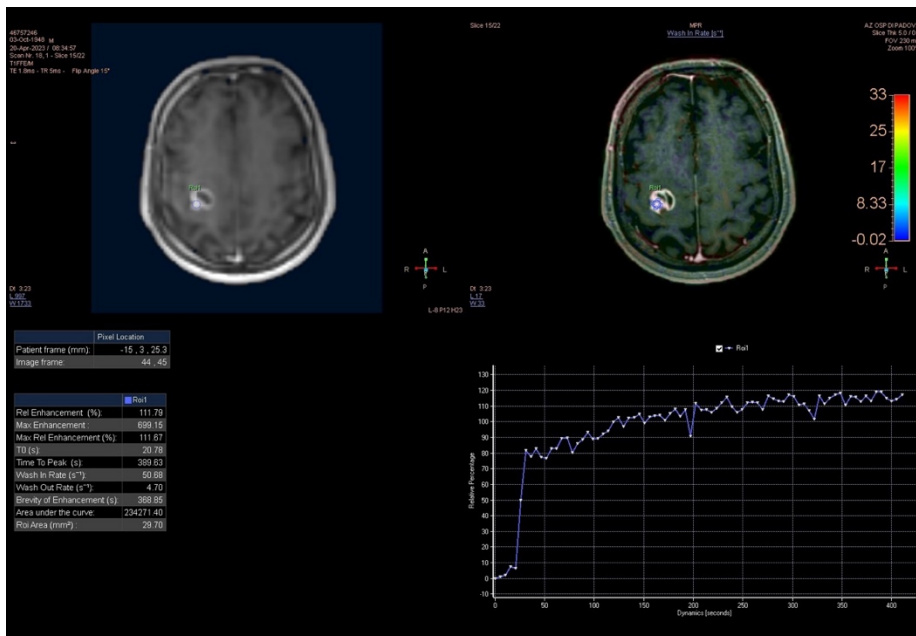


Figura 14: esempio di elaborazione immagine DCE e relativi parametri ottenuti

## 2.5 ANALISI STATISTICA

Il test-t di Student per i dati appaiati è stato impiegato per confrontare le dimensioni delle ROI campionate sulle mappe DCE e DSC.

La statistica descrittiva delle variabili ottenute grazie alle sequenze di perfusione ha incluso valore massimo e minimo, media, deviazione standard, primo quartile, mediana, terzo quartile e scarto interquartile. Il coefficiente di correlazione di Pearson è stato impiegato per la correlazione delle metriche di perfusione tra di loro e tra queste e lo status di metilazione del promotore di MGMT.

Per quanto riguarda la correlazione tra le variabili di perfusione e lo status di metilazione del promotore di MGMT, è stata scelta una ROI per singolo paziente (quella considerata più rappresentativa della lesione dagli operatori).  
Il p-value < 0,05 è stato considerato come statisticamente significativo.

### CAPITOLO 3: RISULTATI

I pazienti in esame sono stati 9, per il 77,8% di sesso maschile con un'età compresa dai 49 ai 78 anni, con media di 65 anni e mediana di 67 anni. Il 62,5% dei tumori studiati ha presentato metilazione del promotore di MGMT. La percentuale media di metilazione del promotore di MGMT è risultata pari a  $15,25 \pm 17,1\%$ .

Le dimensioni della ROI campionate nelle mappe DSC e DCE sono risultate di pari ampiezza ( $p > 0,05$ ).

Sono state misurate le metriche di perfusione di 15 componenti lesionali provenienti da 9 pazienti. Le tabelle 4 e 5 mostrano rispettivamente i valori delle metriche di perfusione misurati nelle singole lesioni e le relative statistiche.

SEQUENZE	DSC		DCE	
DATI	rCBV lesione	nrCBV	Wash-in rate (s-1) lesione	AUC lesione
Pz. 1 misura 1	2706,03	4,709497207	31,38	65358,04
Pz. 1 misura 2	1386,37	15,25495158	28,9	67996,38
Pz. 2 misura 1	1674,62	8,636959101	50,68	234271,4
Pz. 3 misura 1	606,35	4,422361607	36,65	65956,78
Pz. 4 misura 1	545,09	1,321943057	25,97	53508,44
Pz. 5 misura 1	430,76	1,862262764	28,8	114532,2
Pz. 6 misura 1	766,94	1,610541789	39	153005,1
Pz. 6 misura 2	1224,36	3,600952913	30,66	75149,23
Pz. 7 misura 1	312,24	0,965282716	22,18	71109,79
Pz. 7 misura 2	833,17	4,076174168	17,87	70750,07
Pz. 8 misura 1	1943,19	4,177376013	64,17	87690,26
Pz. 8 misura 2	2385,94	7,750584719	47,55	91635,11
Pz. 9 misura 1	590,83	4,148504424	41,68	142015,5
Pz. 9 misura 2	522,29	1,716929652	23,67	96850,9
Pz. 9 misura 3	1091,99	4,519826159	51,78	216629,8




Tabella 4: valori dei parametri di perfusione misurati.

SEQUENZE	DSC		DCE	
DATI	rCBV lesione	nrCBV	Washi-in rate lesione	AUC lesione
Min	312,24	0,97	17,87	53508,44
Max	2706,03	15,25	64,17	234271,40
Media	1134,68	4,58	36,06	107097,27
Deviazione standard	42796,62	49489,81	59983,06	66857,35
Primo quartile	567,96	1,79	27,385	69373,23
Mediana	833,17	4,15	31,38	87690,26
Terzo quartile	1530,50	4,61	44,62	128273,85
Scarto interquartile	962,54	2,83	17,23	58900,625

Tabella 5: statistiche delle metriche misurate.

Lo studio della correlazione dei parametri di perfusione ha evidenziato una correlazione moderata positiva e statisticamente significativa tra il wash-in rate e l'AUC (r di Pearson = 0,55, p=0,03). Una correlazione moderata forte ma non statisticamente significativa è stata evidenziata tra rCBV e nrCBV (r di Pearson = 0,49, p=0,06) e tra rCBV e wash-in rate (r di Pearson = 0,49, p=0,07). La tabella 6 mostra la correlazione tra le varie metriche di perfusione.

SEQUENZE		DSC		DCE	
	DATI	rCBV	nrCBV	Washi-in rate	AUC DCE
DSC	rCBV	-	0,49 (p=0,06)	0,49 (p=0,07)	0,02 (p=0,94)
	nrCBV	0,49 (p=0,06)	-	0,22 (p=0,43)	0,09 (p=0,75)
DCE	Washi-in rate	0,49 (p=0,07)	0,22 (p=0,43)	-	0,55 (p=0,03)
	AUC DCE	0,02 (p=0,94)	0,09 (p=0,75)	0,55 (p=0,03)	-

Tabella 6:  Il colore grigio indica l'assenza di correlazione tra i parametri;  
 il colore rosa indica, seppur moderata, una correlazione tra i valori;  
 il colore fucsia indica la presenza di una forte correlazione tra i parametri.

Non si sono riscontrate correlazioni tra lo status di metilazione del promotore di MGMT e le variabili di perfusione. La tabella 7 mostra la correlazione tra le metriche di perfusione e lo status e la percentuale di metilazione del promotore di MGMT.

		<b>METILAZIONE</b>
<b>DSC</b>	rCBV	0,57 (p=0,14)
	nrCBV	0,38 (p=0,36)
<b>DCE</b>	K-trans	0,39 (p=0,33)
	AUC	0,38 (p=0,35)

Tabella 7:  Il colore grigio indica l'assenza di correlazione tra parametri.



## **CAPITOLO 4: DISCUSSIONE**

Le tecniche di perfusione sono ormai parte integrante dei protocolli di risonanza magnetica in neuroradiologia ed hanno mostrato la loro utilità in un ampio spettro di patologie, incluse quelle cerebrovascolari e tumorali. In particolare, tali sequenze sono state impiegate con successo in campo neuro-oncologico nella predizione di aspetti quali il grado tumorale dei gliomi, la predizione di importanti marcatori molecolari quali lo status di metilazione del promotore di MGMT e la differenziazione tra la vera progressione di malattia e gli effetti dei trattamenti radiochemioterapici [19]. Le tecniche di perfusione RM catturano aspetti della neoangiogenesi tumorale complementari e non evidenziabili dall'imaging strutturale, quali la densità microvascolare per la DSC e la permeabilità della barriera emato-encefalica per la DCE [20]. Lo studio della neoangiogenesi è un argomento sempre più importante sia nella pratica clinica che nella ricerca neuro-oncologica, in quanto essa è uno degli “hallmarks of cancer” ed è un frequente bersaglio terapeutico [21] [22].

La maggior parte degli studi pubblicati in letteratura utilizza una sola tecnica di perfusione mentre sono pochi i lavori di confronto tra sequenze diverse [23].

Il presente studio ha confrontato la perfusione DSC e la perfusione DCE, analizzata con un approccio “model-independent”. Tale approccio è più facilmente replicabile nella pratica clinica in assenza di costosi software di post-elaborazione ed è stato applicato con successo nella diagnosi differenziale tra recidiva di malattia ed effetti dei trattamenti adiuvanti nei gliomi di alto grado [24] e nella stratificazione prognostica di patologie oncologiche quali il mieloma multiplo.

L'obiettivo principale dello studio è stato valutare la correlazione tra le variabili di perfusione DSC e DCE. Sono stati riscontrati una correlazione moderata tra le metriche AUC e Wash-in rate della sequenza DCE e un trend di correlazione moderata positiva tra rCBV e nrCBV e tra rCBV e Wash-in rate. Come si presumeva, valori intra-metodica sono moderatamente correlati, mentre quelli inter-metodica lo sono di meno. Ciò potrebbe essere spiegato dall'analisi di aspetti diversi della neoangiogenesi tumorale da parte delle due sequenze.

Lo studio di Nguyen et al. [25], in una coorte di pazienti con recidiva di glioblastoma, effettuato su apparecchiatura GE Healthcare 3 T ha evidenziato una

correlazione moderata tra rCBV e K-Trans (0,29-0,48 a seconda della tecnica di correzione T1 utilizzata). Tale correlazione è comparabile a quella trovata nel presente studio tra rCBV e Wash-in rate ( $r=0,49$ ), variabile dell'analisi "model-independent" correlata al Ktrans.

Lo studio di Zakhari et al., effettuato su apparecchiatura 3T Siemens [26], ha evidenziato invece una correlazione forte ( $r=0,74$ ) tra CBV corretto e CBV ratio (corrispondente dal punto di vista matematico all'nrCBV) e una correlazione debole ( $r=0,21$ ) tra AUC ratio e Ktrans. In generale, in tale studio la correlazione intra-metodica è risultata più forte di quella inter-metodica. Le differenze nella forza di correlazione con il presente lavoro potrebbero essere dovute alla differente tecnica di post-elaborazione (quantificazione assoluta vs. relativa della DSC, analisi "model-independent" vs "model-based" della DCE).

Infine, lo studio di Law et al. effettuato mediante scanner Siemens a 1,5-T mostra una correlazione debole positiva tra CBV e Ktrans.

Sia il presente lavoro che gli studi disponibili in letteratura mostrano una maggior correlazione intra-metodica che inter-metodica tra le variabili di perfusione DSC e DCE. Ciò suggerisce una relazione complessa tra i diversi aspetti della vascolatura aberrante de glioblastoma (ad esempio, la densità microvascolare e la permeabilità), che riflettono entrambi l'aggressività biologica della malattia ma sottendono a meccanismi patogenetici parzialmente differenti. Inoltre, i risultati solo parzialmente sovrapponibili per quanto riguarda la forza di tale correlazione potrebbero essere spiegabili dalle differenze di apparecchiatura, tecniche di acquisizione e di post-elaborazione impiegate. Il presente lavoro non ha evidenziato correlazione tra le variabili di perfusione e lo status di metilazione del promotore di MGMT. Al contrario, alcuni studi hanno mostrato come i tumori MGMT metilati siano generalmente meno perfusi allo studio DSC ed ASL e mostrino valori più elevati di Ktrans e più bassi di  $V_e$  rispetto alle controparti non metilate [27]. Il mancato riscontro di correlazioni statisticamente significative potrebbe essere dovuto alla bassa numerosità campionaria presente lavoro.

Il presente studio presenta alcuni limiti. In primo luogo, trattandosi di uno studio esplorativo, la numerosità campionaria è risultata limitata e questo ha inficiato la possibilità di trovare correlazioni statisticamente significative tra variabili di

perfusione e status di MGMT. In secondo luogo, se da una parte l'utilizzo di software proprietario ha semplificato il post-processing, d'altra parte ha impedito l'applicazione di modelli quantitativi, che avrebbero potuto fornire valori di perfusione più facilmente confrontabili con studi eseguiti su scanner differenti.

## **CONCLUSIONI**

Nello studio dei glioblastomi, le metodiche di risonanza perfusionale DSC e DCE forniscono parametri emodinamici solo parzialmente sovrapponibili; ciò indica una certa complementarità delle tecniche, che sottendono meccanismi di contrasto differenti e che studiano processi biologici tra loro connessi ma distinti. Da queste affermazioni si sviluppa la consapevolezza di quanto possa essere essenziale impiegare entrambe negli studi oncologici. È compito del tecnico di radiologia prendere confidenza con queste metodiche e comprenderne l'importanza per ottenere un'indagine completa e accurata.

## BIBLIOGRAFIA

- [1]: Le, J. (2023a) *Distribuzione del Farmaco Ai Tessuti* – Farmacologia clinica, Manuali MSD Edizione Professionisti.  
Available at: <https://www.msmanuals.com/it/professionale/farmacologia-clinica/farmacocinetica/distribuzione-del-farmaco-ai-tessuti>
- Coriasco, M., Rampado, O., & Bradac, G. B. (A cura di). (2014). *Elementi di risonanza magnetica*. Springer Milan.
- [3]: Rosen BR, Belliveau JW, Vevea JM, Brady TJ. *Perfusion imaging with NMR contrast agents*. Magn Reson Med 1990;14:249-265
- [4]: Jahng, G.-H. *et al.* (2014) *Perfusion magnetic resonance imaging: A comprehensive update on principles and Techniques*, Korean Journal of Radiology, 15(5), p. 554. doi:10.3348/kjr.2014.15.5.554.
- Welker, K. *et al.* (2015) *ASFN recommendations for clinical performance of Mr Dynamic susceptibility contrast perfusion imaging of the brain*, American Journal of Neuroradiology, 36(6). doi:10.3174/ajnr.a4341.
- [6]: Henriksen OM, del Mar Álvarez-Torres M, Figueiredo P, Hangel G, Keil VC, Nechifor RE, Riemer F, Schmainda KM, Warnert EAH, Wiegers EC and Booth TC (2022) *High-Grade Glioma Treatment Response Monitoring Biomarkers: A Position Statement on the Evidence Supporting the Use of Advanced MRI Techniques in the Clinic, and the Latest Bench-to-Bedside Developments. Part 1: Perfusion and Diffusion Techniques*. Front. Oncol. 12:810263. doi: 10.3389/fonc.2022.810263
- [7]: AA.VV. *DCE performance*, Questions and Answers in MRI. Available at: <https://mriquestions.com/how-is-dce-performed.html>
- [8]: Gordon D, Partovi S, Müller-Eschner M, Amarteifio E, Bäuerle T, Weber MA, Kauczor HU, Rengier F. *Dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging: fundamentals and application to the evaluation of the peripheral*

*perfusion*. Cardiovasc Diagn Ther 2014;4(2):147-164. doi: 10.3978/j.issn.2223-3652.2014.03.01

[9]: Gaillard F, Bell D, Tatco V, et al. ***K-trans (MR perfusion)***. Reference article, Radiopaedia.org <https://doi.org/10.53347/rID-31015>

[10]: Zakariaee, S.S. *et al.* (2018) ***Assessment of the agreement between cerebral hemodynamic indices quantified using dynamic susceptibility contrast and dynamic contrast-enhanced perfusion magnetic resonance Imagings***, Journal of Clinical Imaging Science, 8, p. 2. doi:10.4103/jcis.jcis\_74\_17.

[11]: Clement, P. *et al.* (2022) ***A beginner's guide to arterial spin labeling (ASL) image processing***, Frontiers in Radiology, 2. doi:10.3389/fradi.2022.929533.

[12]: Lindner T, Bolar DS, Achten E, et al. ***Current state and guidance on arterial spin labeling perfusion MRI in clinical neuroimaging***. Magn Reson Med. 2023;89:2024-2047. doi: 10.1002/mrm.29572

[13]: Essig, M. *et al.* (2011) ***Mr Imaging of Neoplastic Central Nervous System lesions: Review and recommendations for current practice***, American Journal of Neuroradiology, 33(5), pp. 803–817. doi:10.3174/ajnr.a2640.

[14]: User, S. (2019) ***Glioblastoma***, ISSalute. Available at: <https://www.issalute.it/index.php/la-salute-dalla-a-alla-z-menu/g/glioblastoma>.

[15]: Wen, P.Y. *et al.* (2023) ***Rano 2.0: Update to the response assessment in neuro-oncology criteria for high- and low-grade gliomas in adults***, Journal of Clinical Oncology [Preprint]. doi:10.1200/jco.23.01059.

[16]: Ahir BK, Engelhard HH, Lakka SS. ***Tumor Development and Angiogenesis in Adult Brain Tumor: Glioblastoma***. Mol Neurobiol (2020) 57:2461–78. doi: 10.1007/s12035-020-01892-8

- [17]: Yu, W. *et al.* (2020) ***O6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT): Challenges and new opportunities in glioma chemotherapy***, *Frontiers in Oncology*, 9. doi:10.3389/fonc.2019.01547.
- [18]: Sugahara, T. *et al.* (1998) ***Correlation of Mr Imaging-determined cerebral blood volume maps with histologic and angiographic determination of vascularity of gliomas.***, *American Journal of Roentgenology*, 171(6), pp. 1479–1486. doi:10.2214/ajr.171.6.9843274.
- [19]: Thust, S.C., Heiland, S., Falini, A. *et al.* ***Glioma imaging in Europe: A survey of 220 centres and recommendations for best clinical practice.*** *Eur Radiol* 28, 3306–3317 (2018). <https://doi.org/10.1007/s00330-018-5314-5>
- [20]: Salama, G.R. *et al.* (2018) ***Diffusion weighted/tensor imaging, functional MRI and perfusion weighted imaging in glioblastoma—foundations and future***, *Frontiers in Neurology*, 8. doi:10.3389/fneur.2017.00660.
- [21]: Wick, W. *et al.* (2017) ***Lomustine and bevacizumab in progressive glioblastoma***, *New England Journal of Medicine*, 377(20), pp. 1954–1963. doi:10.1056/nejmoa1707358.
- [22]: Lombardi G, De Salvo GL, Brandes AA, Eoli M, Rudà R, Faedi M, Lolli I, Pace A, Daniele B, Pasqualetti F, Rizzato S, Bellu L, Pambuku A, Farina M, Magni G, Indraccolo S, Gardiman MP, Soffietti R, Zagonel V. ***Regorafenib compared with lomustine in patients with relapsed glioblastoma (REGOMA): a multicentre, open-label, randomised, controlled, phase 2 trial.*** *Lancet Oncol.* 2019 Jan;20(1):110-119. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30675-2. Epub 2018 Dec 3. PMID: 30522967.
- [23]: Patel, P. *et al.* (2016) ***Mr perfusion-weighted imaging in the evaluation of high-grade gliomas after treatment: A systematic review and meta-analysis***, *Neuro-Oncology*, 19(1), pp. 118–127. doi:10.1093/neuonc/nov148.

[24]: Dutoit JC, Vanderkerken MA, Verstraete KL. ***Value of whole body MRI and dynamic contrast enhanced MRI in the diagnosis, follow-up and evaluation of disease activity and extent in multiple myeloma.*** Eur J Radiol. 2013 Sep;82(9):1444-52. doi: 10.1016/j.ejrad.2013.04.012. Epub 2013 May 28. PMID: 23726124.

[25]: Nguyen, T.B. *et al.* (2023) ***Diagnostic accuracy of arterial spin-labeling, dynamic contrast-enhanced, and DSC perfusion imaging in the diagnosis of recurrent high-grade gliomas: A prospective study,*** American Journal of Neuroradiology, 44(2), pp. 134–142. doi:10.3174/ajnr.a7771.

[26]: Zakhari, N. *et al.* (2019) ***Prospective comparative diagnostic accuracy evaluation of dynamic contrast-enhanced (DCE) vs. dynamic susceptibility contrast (DSC) mr perfusion in differentiating tumor recurrence from radiation necrosis in treated high-grade gliomas,*** Journal of Magnetic Resonance Imaging, 50(2), pp. 573–582. doi:10.1002/jmri.26621.

[27]: Ahn SS, Shin NY, Chang JH, Kim SH, Kim EH, Kim DW, Lee SK. ***Prediction of methylguanine methyltransferase promoter methylation in glioblastoma using dynamic contrast-enhanced magnetic resonance and diffusion tensor imaging.*** J Neurosurg. 2014 Aug;121(2):367-73. doi: 10.3171/2014.5.JNS132279. Epub 2014 Jun 20. PMID: 24949678.