

**UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI PADOVA**

## **UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA**

**DIPARTIMENTO di MEDICINA - DIMED  
CORSO DI LAUREA TRIENNALE IN "TECNICHE DI RADIOLOGIA MEDICA,  
PER IMMAGINI E RADIOTERAPIA"**

**Sede di Treviso  
Presidente: Prof. Roberto Stramare**

**Tesi di Laurea:**

**UTILIZZO DELL'ARTERIAL SPIN LABELING NELLO STUDIO DELLE  
ALTERAZIONI PERFUSIONALI E MORFOSTRUTTURALI CEREBRALI IN  
PAZIENTI AFFETTI DA SCLEROSI MULTIPLA E DECADIMENTO COGNITIVO**

**Relatrice:** Dott.ssa Ingrid Inches

**Laureanda:** Matilde D'Adda

**Anno Accademico 2022/2023**



## ABSTRACT

**Background:** La sclerosi multipla (SM) è una malattia neurodegenerativa autoimmune che colpisce il sistema nervoso centrale. La sintomatologia della malattia è molto varia e può comprendere disabilità motoria e decadimento cognitivo (CI). La valutazione accurata della perfusione cerebrale è fondamentale per comprendere la patofisiologia della SM e monitorare la progressione della malattia. L'Arterial Spin Labeling (ASL) è una tecnica di imaging non invasiva che offre la possibilità di misurare la perfusione cerebrale in modo quantitativo senza l'uso di agenti di contrasto.

**Scopo:** Lo scopo di questa tesi è valutare l'utilizzo odierno dell'ASL e la sua possibile applicazione nell'analisi della perfusione cerebrale in pazienti con SM e CI, focalizzandosi sulle alterazioni patologiche che affliggono la sostanza bianca (WM) e la sostanza grigia (GM).

**Materiali e Metodi:** La conduzione di questa ricerca è stata basata su una revisione della letteratura scientifica attraverso articoli selezionati secondo il metodo PRISMA. Il materiale di studio è stato organizzato in una tabella di estrazione dei dati e comparato con le linee guida nazionali ed internazionali.

**Risultati:** Dalla revisione della letteratura emerge che l'ASL offre una promettente alternativa all'imaging perfusionale tradizionale basato su gadolinio. Gli studi indicano che l'ASL può fornire una valutazione accurata della perfusione e del grado di declino cognitivo.

**Conclusioni:** Questa tesi fornisce un'ampia panoramica sullo stato dell'arte dell'ASL e sulle sue numerose applicazioni cliniche, come la demenza, le malattie cardiovascolari, l'epilessia. I risultati indicano che l'ASL rappresenta una tecnica di imaging promettente che può contribuire alla comprensione della fisiopatologia della SM, della valutazione dell'efficacia dei trattamenti e del grado di declino cognitivo. Tuttavia, sono necessarie ulteriori ricerche per standardizzare i protocolli ASL e consolidarne l'applicazione clinica. Nel complesso, questa tesi sottolinea il ruolo cruciale dell'ASL nell'ambito dell'imaging cerebrale nella SM e apre la strada a ulteriori sviluppi nella diagnosi e nella gestione di questa complessa patologia neurologica.

**Parole chiave:** arterial spin labeling (ASL), risonanza magnetica (RM), perfusione cerebrale, sclerosi multipla (SM), sostanza bianca (WM), sostanza grigia (GM), decadimento cognitivo (CI).

## ABSTRACT

**Background:** Multiple sclerosis (MS) is an autoimmune neurodegenerative disease that affects the central nervous system. The symptomatology of the disease may include motor disability and cognitive impairment (CI). Accurate assessment of cerebral perfusion is essential to understanding the pathophysiology of MS and monitoring disease progression. Arterial Spin Labeling (ASL) is a non-invasive imaging technique that provides quantitative measures of brain perfusion without the use of contrast agents.

**Aims:** To evaluate the applications of ASL and its possible uptake in the analysis of cerebral perfusion in patients with MS and CI, focusing on pathological changes affecting the white matter (WM) and the gray matter (GM).

**Materials and Methods:** The design of this study is based on a literature review of scientific papers selected according to the PRISMA method. The articles have been organized in a data extraction table and compared with national and international guidelines.

**Results:** The research shows that ASL offers a promising alternative to traditional gadolinium-based perfusion imaging. Studies indicate that ASL can provide an accurate assessment of perfusion and the degree of cognitive decline.

**Conclusions:** This thesis provides an overview of the state of the art of ASL and its many clinical applications, such as for dementia, cardiovascular disease, epilepsy. The results indicate that ASL is a promising imaging technique that can contribute to the understanding of MS pathophysiology, evaluation of treatment effectiveness and degree of cognitive impairment. However, further research is needed to standardize ASL protocols and consolidate their clinical application. Overall, this thesis emphasizes the crucial role of ASL in brain imaging in MS and paves the way for further developments in the diagnosis and management of this complex neurological pathology.

**Keywords:** arterial spin labeling (ASL), magnetic resonance imaging (MRI) cerebral perfusion, multiple sclerosis (MS), white matter (WM), gray matter (GM), cognitive impairment (CI).



# INDICE

INTRODUZIONE .....	7
CAPITOLO I. LA SCLEROSI MULTIPLA.....	9
1.1 Definizione ed epidemiologia.....	9
1.2 Manifestazioni cliniche.....	10
1.3 Fisiopatologia della malattia.....	13
1.4 Cenni di terapia.....	14
CAPITOLO II. MATERIALI E METODO .....	17
2.1 Formulazione dei quesiti di ricerca .....	17
2.2 Strategia di ricerca .....	18
CAPITOLO III. LA RISONANZA MAGNETICA NELLA DIAGNOSI E FOLLOW-UP DEI PAZIENTI CON SCLEROSI MULTIPLA.....	21
3.1 Fondamenti del magnetismo.....	21
3.2 Le sequenze fondamentali .....	27
3.3 La Risonanza Magnetica per lo studio della sclerosi multipla .....	29
CAPITOLO IV. ARTERIAL SPIN LABELING: PRINCIPI FISICI E APPLICAZIONI DIAGNOSTICHE .....	33
4.1 La perfusione e i suoi parametri .....	33
4.2 La sequenza Arterial Spin Labeling .....	34
4.3 Applicazioni diagnostiche dell'ASL .....	39
CAPITOLO V. LA CLINICA DEL DECADIMENTO COGNITIVO .....	45
5.1 Il decadimento cognitivo nella sclerosi multipla .....	45
5.2 Il substrato neuroanatomico del decadimento cognitivo .....	48
5.3 Gli esiti della neurodegenerazione: il decadimento cognitivo e la disabilità.....	58
CAPITOLO VI. LA PERFUSIONE NELLA SCLEROSI MULTIPLA.....	61
6.1 Alterazioni perfusionali in pazienti affetti da sclerosi multipla.....	61
6.2 Tecniche di imaging della perfusione.....	65
6.3 L'Arterial Spin Labeling applicata alla sclerosi multipla.....	66
RISULTATI .....	69
DISCUSSIONE E CONCLUSIONI.....	71
BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA.....	75





# INTRODUZIONE

La sclerosi multipla (SM) è una malattia neurodegenerativa immunomediata che colpisce circa 3 milioni di persone. L'incidenza della malattia è pari a 100-190 su 100.000 abitanti e aumenta proporzionalmente alla distanza dei soggetti rispetto all'Equatore<sup>1</sup>. Ad oggi si ritiene che le cause di sclerosi multipla siano multifattoriale, comprendenti fattori ambientali e genetici. Le donne sono più soggette allo sviluppo della SM (3:1) e l'insorgenza si verifica solitamente negli adulti dalla II alla IV decade, rappresentando la causa maggiore di disabilità e declino cognitivo nei giovani adulti. I pazienti manifestano vari sintomi. I sintomi motori<sup>2</sup> comprendono parestesie, alterazioni della sensibilità e deficit nella fluidità dei movimenti degli arti, spesso valutate attraverso la scala della disabilità estesa, EDSS. Il decadimento cognitivo colpisce il 40-70% dei pazienti<sup>33,40,42,43</sup>, che riscontrano difficoltà sempre maggiori nella produzione orale e nella fluency di linguaggio, rallentamenti nella velocità di elaborazione, riduzione della memoria e difficoltà nello svolgimento delle funzioni esecutive<sup>40,43,44</sup>. Sono molto comuni anche disturbi dell'umore come ansia e depressione<sup>34,40</sup>.

La risonanza magnetica (RM) è la metodica di imaging che ad oggi rappresenta il *gold standard* per lo studio delle alterazioni morfostrutturali indotte dalla SM a livello di diagnosi, prognosi e monitoraggio delle terapie modificanti la malattia (TMD). Le ultime direttive di MAGNIMS<sup>11,12</sup>, consigliano campi magnetici con intensità 3 T e sequenze quali T<sub>2</sub> TSE, T<sub>2</sub>-FLAIR per la valutazione delle placche soprattutto periventricolari<sup>3,36,39</sup>, DIR per la visualizzazione delle placche corticali<sup>33,39</sup>, DWI per ottenere informazioni sull'integrità tissutale e lo stato infiammatorio, SWI per lo studio del segno della vena centrale e i depositi di ferro, T<sub>1</sub> post mezzo di contrasto per la valutazione del *wash-in* e del *wash-out* delle lesioni attive. Le direttive affermano che la somministrazione del mezzo di contrasto dovrebbe essere parsimoniosa e limitarsi alla diagnosi e allo studio perfusionale quando il paziente vive delle recidive, in quanto ripetute somministrazioni portano a sedimenti di gadolinio nei nuclei dentati e nel globus pallidus<sup>11,12,13</sup>.

Oggi le conoscenze sulla SM si sono ampliate, portando alla luce che l'infiltrazione di linfociti e l'attivazione della microglia che causano le placche demielinizzanti sono solo uno dei tanti aspetti che costituiscono la fisiopatologia della sclerosi multipla. Fin dai primissimi esordi<sup>40</sup> sono stati riscontrati vari gradi di atrofia delle strutture encefaliche<sup>33,36,40-46</sup> e un'alterazione della perfusione cerebrale. Queste due manifestazioni possono essere compresenti nella stessa area cerebrale oppure presentarsi in zone differenti, portando all'ipotesi che siano due meccanismi indipendenti della malattia<sup>52,53</sup>. Recenti studi hanno messo in evidenza come sia l'atrofia di strutture quali talamo, nuclei

striati e corteccia cerebrale, sia un'ipoperfusione diffusa a carico principalmente dei lobi frontali, degli spazi periventricolari della WM e della GM profonda siano strettamente collegate al grado di disabilità e di declino cognitivo dei pazienti<sup>33,36,40,42</sup>.

La perfusione viene solitamente valutata attraverso la Dynamic Susceptibility Contrast (DSC). Prevede la somministrazione del mezzo di contrasto per via endovenosa e ad oggi rappresenta la metodica per eccellenza, in termini di fruibilità di software e *signal-to-noise-ratio*<sup>37</sup>. In fase di *post-processing* la sequenza consegna mappe perfusionali con vari indici, tra cui flusso e volume ematico cerebrale (CBF, CBV) e tempo di transito medio.

L'Arterial Spin Labeling, invece, permette la quantificazione del CBV saturando gli spin delle molecole d'acqua del sangue per poi visualizzarli nel distretto arterioso del letto capillare<sup>14,15,17</sup>. L'utilizzo di un mezzo di contrasto endogeno rende questa sequenza assolutamente non-invasiva e ripetibile nel tempo senza creare alcuna reazione avversa<sup>18,19</sup>. Ciò la rende appetibile per diverse categorie di pazienti, come ad esempio chi soffre di nefropatia e insufficienza renale cronica, le donne in gravidanza e la popolazione pediatrica<sup>15,20</sup>.

Lo scopo di questa tesi è quello di fornire uno stato dell'arte di questa sequenza proponendo le migliori scelte per ogni parametro tecnico. Vengono poi descritte le numerose applicazioni cliniche odierne dell'ASL, che contano studi per *stroke*<sup>26,27</sup>, malattia di Moyamoya, epilessia<sup>32</sup>, neuroncologia<sup>30,31</sup> e malattie neurodegenerative come la malattia di Alzheimer<sup>28</sup> e il morbo di Parkinson<sup>29</sup>. Il fine ultimo è quello di constatare se le sue specifiche si prestano alle valutazioni delle alterazioni perfusionali intrinseche nella patologia della sclerosi multipla e se esiste una correlazione precisa tra la perfusione, la disabilità e il decadimento cognitivo. L'applicazione dell'ASL ai pazienti con SM sarebbe innovativa, visto e considerato i molteplici esami di RM a cui si devono sottoporre durante il loro lungo *follow-up*.

In questa ricerca si pone l'attenzione sulla figura del Tecnico di Radiologia, che grazie alla sua formazione può supportare attivamente il *work-flow* radiologico contribuendo alla scelta delle sequenze e all'ottimizzazione dei protocolli in tutte le loro variabili tecniche, basandosi sulle conoscenze delle caratteristiche tecnologiche delle varie metodiche di *imaging*. Inoltre, il percorso formativo fornisce al TSRM tutti gli strumenti necessari per appropriarsi del metodo scientifico e condurre ricerche in letteratura al fine di integrarsi, oltre che nella pratica quotidiana, anche nei risvolti teorici, prossimi e futuri, con le altre figure professionali.

# CAPITOLO I. LA SCLEROSI MULTIPLA

## 1.1 Definizione ed epidemiologia

Nel mondo oggi si contano circa 2,8 milioni di persone affette dalla Sclerosi Multipla (SM) e di queste, la metà sono europee<sup>1</sup>. Questa malattia infiammatoria cronica colpisce il sistema nervoso centrale ed è neurodegenerativa: viene danneggiata sia la mielina che gli oligodendrociti, ovvero quella classe di neuroglia che si occupa della produzione della mielina stessa. Le aree di perdita o danneggiamento della guaina nervosa vengono denominate placche e possono disseminarsi ovunque nel sistema nervoso centrale, ma si localizzano con maggior frequenza negli spazi periventricolari della sostanza bianca, nella sostanza grigia corticale, nei nervi ottici, nel cervelletto e nel midollo spinale. La fase di infiammazione acuta che determina la loro comparsa può evolvere nel corso del tempo trasformandole e dando loro caratteristiche simili a cicatrici, da cui il nome “sclerosi multipla”. I pazienti col tempo sviluppano anche atrofia cerebrale, che determina a livello sintomatico un decadimento cognitivo. Questa condizione per i pazienti affetti da SM ha un decorso molto più rapido rispetto al resto della popolazione. La malattia immunomediata è influenzata sia da fattori genetici che ambientali.

La sclerosi multipla ha un'epidemiologia molto varia. Colpisce tendenzialmente giovani adulti, di un'età compresa tra i 20 e i 40 anni, e il rapporto di incidenza tra sesso femminile e sesso maschile è di 3:1 e rimane a oggi un dato che non ha spiegazione scientifica. La malattia risulta rara in continenti quali Asia e Africa: tendenzialmente, si evidenzia che più ci si allontana dall'equatore più gli individui sono soggetti allo sviluppo della SM; le zone che più colpite risultano essere gli Stati Uniti d'America, il Canada e l'Europa. La diagnosi è basata sulla dimostrazione della diffusione delle lesioni demielinizzanti nello spazio (dissemination in space, DIS) e nel tempo (dissemination in time, DIT). Comprovare la DIS significa mostrare che le lesioni raggiungano diverse aree del sistema nervoso centrale, mentre per la DIT è necessario sottoporre i pazienti a esami ripetuti nel tempo. A tal fine i neurologi si affidano ai criteri diagnostici di McDonald, formulati nel 2001 e revisionati l'ultima volta nel 2017, che prevedono esami neurofisiologici, esami di laboratorio su campioni contenenti siero e liquor ed esami di risonanza magnetica nucleare che risulta essere la metodica di diagnosi e follow-up meno invasiva, oltre a permettere esatti confronti tra gli stadi che il paziente affronta durante il decorso della malattia.

## *Fattori di rischio*

Le cause della sclerosi multipla sono sconosciute ma è innegabile l'esistenza di una correlazione con fattori ambientali e fattori genetici<sup>2</sup>.

Diversi studi riportano che il periodo di suscettibilità per lo sviluppo della SM sia l'adolescenza, ma anche avere bassi livelli di vitamina D durante la gravidanza può essere un fattore di rischio. Tra le varie ipotesi, i fattori di rischio più impattanti sono l'infezione dal virus Epstein-Barr (sembra che l'attivazione delle cellule infiammatorie T sia un primo step per l'origine dell'immuno-fisiopatologia della SM), il tabagismo (anche l'esposizione passiva), insufficienza esposizione alla luce solare, bassi livelli di vitamina D (fattore che spiegherebbe l'epidemiologia della malattia; pare, inoltre, che la forma attiva della vitamina abbia un ruolo nella modulazione della funzione immunitaria) e l'obesità, soprattutto se in fase adolescenziale. Tra i fattori di rischio ambientali meno fondati rientrano i lavori notturni, un consumo eccessivo di alcol e caffeina e l'infezione dal virus della mononucleosi.

Studi sul genoma hanno identificato più di 200 varianti genetiche per la sclerosi multipla e ognuna di queste, singolarmente, causano un minimo rischio per lo sviluppo della malattia, ma la combinazione di queste può rendere un individuo più suscettibili di altri. La maggior parte di queste varianti coinvolge il sistema immunitario, come il gene HLA del cromosoma 6, e i polimorfismi dei geni IL2 e IL7R che inducono in un'attivazione e proliferazione delle cellule T.

### 1.2 Manifestazioni cliniche

I sintomi nella popolazione affetta da sclerosi multipla sono molteplici. Il 25% dei pazienti registra come primo sintomo la neurite ottica e circa il 70% lo sperimenta come sintomo durante il decorso della malattia. Concretamente, il paziente subisce la perdita o la riduzione della vista a livello di uno dei due occhi che si manifesta con scotoma, discromatopsia e dolore.

I sintomi motori sono i primi avvertiti per il 43% dei pazienti e vengono causati principalmente dall'infezione del midollo spinale e del tronco encefalico. In questa classe di sintomi fanno parte:

- parestesie;
- segno di Lhermitte;
- alterazioni della sensibilità;
- sensibilità ridotta del dolore e della luce.

I sintomi sono accomunati dal peggioramento in caso dell'aumento della temperatura corporea.

La totalità dei pazienti affetti da sclerosi multipla soffre di disabilità motorie, caratterizzate dai segni piramidali, paresi e spasmi muscolari (che inficiano anche gli sfinteri e la sessualità dei pazienti). Poiché il cervelletto e il tronco encefalico sono regioni molto colpite dalle placche della SM, i pazienti

soffrono di nistagmo e movimenti oculari involontari, disturbo della deambulazione e dismetria. La disabilità motoria peggiora fino a causare disfagia e colpire la capacità di linguaggio.

Per quanto riguarda la sfera cognitiva, i sintomi più comuni risultano essere la “fatigue”, i disturbi dell’affettività e il decadimento cognitivo. Quest’ultimo può anche predire una conversione della sindrome clinicamente isolata in una forma di sclerosi multipla conclamata, come spiegato più avanti. La fatigue, invece, può accompagnare gli stati di ricaduta nella forma di sclerosi multipla recidivante-remittente, ma per il 95% dei pazienti è un sintomo che li accompagna per tutta la via; esiste l’ipotesi che la fatigue sia causata dal malfunzionamento dei circuiti cortico-subcorticali nelle aree fronto-parietali e nei gangli basali dell’encefalo.

Due terzi dei pazienti con disturbi affettivi sperimentano la depressione, oltre a dolori che possono estendersi dalla schiena, ai visceri al nervo trigemino. Questi sono tendenzialmente più gravi nei pazienti con forme di sclerosi multipla progressive.

Riassumendo, le manifestazioni cliniche dei primi sintomi sono eterogenee e comprendono deficit neurologici della durata di alcuni giorni o settimane; col tempo i pazienti sviluppano disabilità cognitiva e motoria irreversibili, associati al danno assonale. Il modo in cui i sintomi si manifestano e variano nel tempo dipende dalla sede delle placche e dalla tipologia di sclerosi multipla.

### *Classificazione delle forme*

La classificazione delle varie forme di sclerosi multipla si basa sull’alternanza dei periodi di peggioramento e/o mantenimento del quadro clinico e prevede quattro forme<sup>1,2</sup>:

- Sindrome Clinicamente Isolata, CIS;
- Sclerosi Multipla Recidivante-Remittente, SM-RR;
- Sclerosi Multipla Secondariamente Progressiva, SM-SP;
- Sclerosi Multipla Primariamente Progressiva, SM-PP.

### Sindrome Clinicamente Isolata, CIS

Indica un primo episodio in cui si manifestano sintomi neurologici, che conduce all’ipotesi di una possibile presenza di lesioni a carico del sistema nervoso centrale. È bene sottolineare che l’esistenza delle lesioni, anche se multiple, non indica necessariamente sclerosi multipla. Tuttavia, esiste il rischio che la CIS possa convertirsi in SM, motivo per cui viene comunque trattata farmacologicamente.

### Sclerosi Multipla Recidivante-Remittente, SM-RR

Questa tipologia descrive la forma più comune di sclerosi multipla. Infatti, in circa l'85% dei casi, rappresenta la fase iniziale della malattia. Colpisce solitamente le persone di un'età compresa tra i 20 e i 35 anni ed è caratterizzata da placche demielinizzanti attive. Il nome descrive il tipico andamento degenerativo di questa forma: periodiche ricadute determinanti episodi neurologici si alternano ad altrettanti periodi di completo o parziale benessere ('remissioni'). Gli episodi durano 24 ore o più e si intensificano raggiungendo un picco massimo entro due o tre settimane, mentre la remissione, di qualsiasi grado sia, si raggiunge entro quattro settimane dal picco; questi episodi si presentano in assenza di febbre, infezioni e stati di coscienza alterati. La SM Recidivante-Remittente può rimanere tale o evolversi in una forma progressiva.

### Sclerosi Multipla Secondariamente Progressiva, SM-SP

Questa tipologia indica nella maggior parte dei casi l'evoluzione della forma SM-RR e prevede una progressione graduale della disabilità nel tempo. Rispetto alla tipologia remissiva-remittente, la frequenza delle ricadute è minore ma l'infiammazione del sistema nervoso centrale è evidente e coinvolge cellule T (CD8+) e le risposte infiammatorie da parte degli astrociti. Questo alterato meccanismo di infiammazione contribuisce all'inefficacia dei trattamenti che modificano il decorso della malattia (DMTs). Negli esami di risonanza magnetica nucleare le placche possono presentarsi attive o inattive e la progressione della disabilità può essere intervallata da periodi di stabilità del quadro clinico.

### Sclerosi Multipla Primariamente Progressiva, SM-PP

Questa forma di sclerosi multipla tende a colpire a un'età più avanzata delle altre, intorno alla quarta decade. Ha un'incidenza di circa il 15% tra i pazienti affetti da SM ed è caratterizzata dal peggioramento delle funzioni neurologiche fin dalla prima comparsa dei sintomi. Anche in questa forma le placche possono presentarsi radiologicamente attive o inattive.

### Sindrome Radiologicamente Isolata, RIS

Questa sindrome è caratterizzata dalla presenza di lesioni caratteristiche della SM in un quadro clinico asintomatico. Per questo motivo non viene considerata come una tipologia di sclerosi multipla, ma si utilizza per la classificazione di anomalie a livello cerebrale e spinale simili a quelle causate dalla malattia, scoperte attraverso l'esecuzione di indagini di RMN con quesito clinico diverso, come ad esempio l'approfondimento di emicranie. Nel 34% dei casi, compaiono i primi sintomi entro un arco temporale di cinque anni e i pazienti si sottopongono quindi a visite neurologiche periodiche; a

differenza della CIS, però, non è previsto alcun intervento farmacologico.

### 1.3 Fisiopatologia della malattia

L'immunofisiopatologia della sclerosi multipla è alquanto dibattuta: non è ad oggi del tutto chiaro se la malattia sia primariamente autoimmune (il sistema nervoso centrale viene attaccato dal sistema immunitario) o se sia una malattia intrinseca del sistema nervoso centrale<sup>3</sup> (origina dal SNC e l'attivazione del sistema immunitario ne è una conseguenza). Quello su cui si concorda in letteratura è che esiste una predisposizione genetica per quanto riguarda l'attivazione delle cellule immunitarie, sia T che B, e che la genetica influisca anche sul rischio legato allo sviluppo di una malattia del sistema nervoso centrale, soprattutto per quanto riguarda la microglia. Seguirà una breve digressione sulle principali cellule infiammatorie del sistema immunitario.

I linfociti B sono cellule del sistema immunitario (SI) detto umorale e hanno il compito di riconoscere gli antigeni e produrre anticorpi contro di essi. I linfociti T fanno parte del sistema immunitario denominato cellulo-mediato e secernono citochine, ovvero molecole di natura proteica che regolano l'attività del SI, attivandolo o inibendo. A seconda del gruppo di differenziazione (cluster differentiation, CD) presentano delle molecole di membrana che fungono da recettori per specifici antigeni; esistono:

- linfociti B: presentano recettori di membrana CD19 e CD20, ma esistono anche altre sottopopolazioni; una volta riconosciuto l'antigene, il linfocita B si trasforma in plasmacellula producendo una grande quantità di anticorpi;
- linfociti T totali: sulla membrana presentano recettori CD3 e sono i protagonisti dell'immunità cellulo-mediata, costituendo circa il 60-80% dei linfociti totali circolanti nel sangue;
- linfociti T helper: presentano recettori di membrana CD3 e CD4 che permette loro di stimolare o "aiutare" i linfociti B nella produzione di anticorpi;
- linfociti T citotossici: presentano recettori di membrana CD3 e CD8
- linfociti T regolatori: sulla membrana presentano recettori CD4 e CD25 e hanno una funzione regolatrice dei linfociti T helper
- linfociti Natural Killer NK: presentano recettori di membrana CD3 e CD56 e sono in grado anch'essi di produrre citochine

Nella sclerosi multipla queste cellule possono avere atteggiamenti diversi rispetto al normale funzionamento fisiopatologico, siano essi protettivi o patologici<sup>3</sup>. I linfociti T CD4, ad esempio, conferiscono protezione immunitaria contro i patogeni intracellulari e promuovono l'immunità

antitumorale. Nei pazienti con SM, invece, sollecitano la risposta infiammatoria delle cellule mieloidi dei linfociti T CD8 e delle cellule B. I linfociti T-helper 17, che normalmente combattono contro i batteri extracellulari e promuovono l'immunità antifungina, nei pazienti con SM rompono la barriera del sistema nervoso centrale permettendo ai neutrofili di disseminarsi e attivando la microglia e gli astrociti. Di nuovo, i linfociti T citotossici che normalmente sono i protagonisti delle risposte antivirali, nei pazienti affetti da sclerosi multipla danneggiano la barriera emato-encefalica e inducono necrosi neuronale. I linfociti B aumentano la produzione di citochine ed esprimono maggiore concentrazione di chemochine con conseguente attivazione dei leucociti. Per quanto riguarda le cellule mieloidi, ovvero i precursori dei granulociti, producono quantità anormali di citochine proinfiammatorie e metalloproteasi di matrice, una famiglia di enzimi in grado di degradare la matrice extracellulare. Gli astrociti, che durante il loro normale funzionamento supportano la struttura cerebrale ed eliminano sostanze tossiche, richiamano i macrofagi e stimola la produzione di citochine aumentando lo stato infiammatorio. La microglia generalmente contribuisce al normale sviluppo dell'encefalo garantendo l'omeostasi e l'immuno-sorveglianza; nei pazienti affetti da sclerosi multipla ripulisce dai detriti mielinici e promuove la rimielinizzazione. Si capisce, quindi, che lo stato della malattia si manifesta quando l'omeostasi immunitaria viene meno a causa dei funzionamenti patologici che superano in quantità e attività quelli protettivi.

#### 1.4 Cenni di terapia

Il trattamento farmacologico della sclerosi multipla prevede due modalità di "attacco": una mira a lenire gli episodi delle ricadute acute nel momento in cui si presentano, l'altra invece si pone come obiettivo quella di diminuire o ritardare le recidive stesse.

La prima si basa sull'uso dei farmaci steroidei, in particolare il metilprednisolone, prescritti quando i pazienti vivono eventi dove per almeno 24 ore compaiono nuovi sintomi o peggiorano quelli già esistenti. Sono una classe di farmaci fondamentali per il loro effetto antinfiammatorio. L'assunzione può prevedere diverse metodiche come la via orale o iniezioni, sia intramuscolo che endovena, e generalmente è ben tollerata dai pazienti proprio per il breve tempo di utilizzo.

La seconda invece ha subito molte modifiche nel corso degli anni. In precedenza, basavano i loro target sulle cellule T includendo i meccanismi sulla loro attivazione e differenziazione. Ad oggi le terapie tengono conto anche delle cellule B e delle cellule mieloidi per le innegabili interazioni che esistono tra questi gruppi cellulari. Tra i vari principi attivi esistono l'Interferone beta 1-a e 1-b, la cladribina, il glatiramer acetato, il fingolimod, l'ofatumumab, l'alemtuzumab, il siponimod, il mitoxantrone, l'ocrelizumab, il ponesimod, l'ozanimod, il peginterferone beta 1-a, il natalizumab. Di



seguito vengono riportati due principi attivi che apportano enormi benefici ai pazienti affetti da Sclerosi Multipla Recidivante-Remittente:

- Dimetil-fumarato: inibisce la glicolisi aerobica mostrando grandi risultati nella rimozione delle cellule infiammatorie del sistema immunitario.
- Teriflunomide: è un farmaco immunomodulante che inibisce selettivamente l'enzima mitocondriale diidrorotato deidrogenasi necessario per la sintesi "de novo" della pirimidina; si rivela dunque affine per quelle cellule che dipendono dalla fosforilazione ossidativa.

L'uso di questa tipologia di farmaci ha mostrato come la via metabolica delle cellule immunitarie riserva un elevato target terapeutico nella sclerosi multipla.



## CAPITOLO II. MATERIALI E METODO

### 2.1 Formulazione dei quesiti di ricerca

Questa tesi conduce un'indagine le cui fondamenta si ergono sul metodo scientifico, proponendosi un obiettivo e analizzando dati empirici per il raggiungimento dello stesso. Questo processo è la colonna portante della Medicina, che è riuscita a superare il paradigma tradizionale in favore di una pratica basata sull'evidenza (*Evidence-Based Practice*). In questo modo, come disse il fondatore del movimento il dott. David Sackett, le decisioni cliniche volte all'assistenza del paziente si possono basare sugli attuali migliori elementi di prova.

La prima fase della ricerca prevedeva la formulazione dei seguenti quesiti di ricerca a cui questa revisione ha cercato di rispondere:

1. Qual è ad oggi lo stato dell'arte dell'Arterial Spin Labeling?
2. Quali sono le alterazioni cerebrali morfostrutturali presentate da pazienti adulti con Sclerosi Multipla maggiormente correlate al decadimento cognitivo (CI)?
3. Secondo quali criteri l'Arterial Spin Labeling può integrarsi nel protocollo di studio neuroradiologico dei pazienti affetti da Sclerosi Multipla e decadimento cognitivo?
4. Esiste una correlazione predittiva tra valori di perfusione acquisiti con l'Arterial Spin Labeling e il decadimento cognitivo in pazienti con sclerosi multipla?

In base alle linee guida nazionali e internazionali, al fine di migliorare l'efficienza e la solidità dei risultati, i quesiti sono stati formulati secondo il metodo *Patient, Intervention, Comparison Outcome*

#### Quesito 1.

<b>P</b>	Pazienti adulti, sia di sesso maschile che femminile, sottoposti a esami di risonanza magnetica per lo studio della perfusione cerebrale
<b>I</b>	Applicazione della sequenza ASL
<b>C</b>	Non applicazione della sequenza ASL
<b>O</b>	Efficienza della sequenza

#### Quesito 2.

<b>P</b>	Pazienti adulti, sia di sesso maschile che femminile, affetti da SM e CI
<b>I</b>	Valutazione delle alterazioni morfostrutturali con somministrazione dei test neuro-psicologici
<b>C</b>	Valutazione delle alterazioni morfostrutturali senza somministrazione dei test
<b>O</b>	Rilevazione del grado di declino e disabilità

### Quesito 3.

<b>P</b>	Pazienti adulti, sia di sesso maschile che femminile, affetti da SM e CI
<b>I</b>	Applicazione dell'ASL per lo studio delle alterazioni perfusionali
<b>C</b>	Non applicazione dell'ASL
<b>O</b>	Rilevazioni delle eventuali variazioni

### Quesito 4.

<b>P</b>	Pazienti adulti, sia di sesso maschile che femminile, affetti da SM e CI
<b>I</b>	Applicazione di test ed ASL
<b>C</b>	Applicazione di test senza ASL
<b>O</b>	Predittività dei valori di flusso in relazione ai test

## 2.2 Strategia di ricerca

Successivamente all'individuazione dei quesiti è stato possibile dedicarsi alla seconda fase di *searching*. La strategia di ricerca è stata formulata in maniera tale da essere coerente con le linee guida *Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analysis* (PRISMA). I database consultati sono stati Google Scholar e PubMed e il processo di selezione è riportato nella PRISMA *flow-chart* (allegato n.1).

Per la prima piattaforma sono state inserite le parole chiave inerenti alla formulazione dei quesiti di ricerca: *Arterial Spin Labeling, MRI perfusion, Multiple Sclerosis, Grey Matter, White matter, Cognitive Impairment*.

Per la seconda piattaforma sono state utilizzate differenti stringhe per i diversi MeSH e un utilizzo accorto degli operatori booleani. Questo ha ovviato alla modalità di ricerca con parole libere, permettendo di ottenere un maggiore controllo e di effettuare una revisione della letteratura efficace.

Le stringhe sono riportate qui di seguito:

5. "Arterial Spin Labeling" OR "ASL" AND "MRI Perfusion"
6. "ASL AND Clinical Applications"
7. "Magnetic Resonance Imaging" AND "Cerebral Blood Flow" AND "Multiple Sclerosis"
8. "Arterial Spin Labeling" AND "Multiple Sclerosis" OR "MS"
9. "ASL" AND "White Matter" OR "Gray Matter"
10. "ASL MRI" AND "Perfusion Imaging Techniques OR Functional MRI"
11. "Multiple Sclerosis" AND "Cognitive Impairment"

12. "Gray Matter" OR "White Matter" AND "Cognitive Impairment" AND "Multiple Sclerosis"
13. "Magnetic Resonance Imaging" AND "Cerebral Blood Flow" AND Multiple Sclerosis"
14. "ASL" AND "Neurodegenerative Disease"
15. "ASL MRI" OR Magnetic Resonance Imaging OR Non-Contrast RMI"

Sia per Google Scholar che per PubMed sono stati impostati i seguenti criteri di esclusione:

- Pubblicazioni antecedenti al 2005;
- Studi condotti su animali;
- Studi condotti *in vitro*;
- Studi *post-mortem*;
- Studi condotti sulla popolazione pediatrica;
- Studi per la neurite ottica;
- Studi per lesioni e degenerazioni del midollo osseo;
- Studi di Coorte in cui non comparivano individui sani di controllo;
- Studi perfusionali su pazienti affetti da SM che presentavano comorbidità cardiocircolatorie;
- Studi in cui non venivano citati i parametri tecnici dell'ASL.

La terza fase è quella definita *scanning*, condotta a partire da Marzo dell'anno corrente. Sono stati inclusi nella revisione gli articoli che rispettavano il filtro temporale di pubblicazioni presenti dal 2009 al 5 Ottobre 2023. Gli articoli dovevano essere pertinenti ai quesiti di ricerca e presentarsi in lingua inglese o italiana. La popolazione di studio, se presente, doveva essere adulta e non presentare altre comorbidità oltre alla sclerosi multipla, qualsiasi fosse il fenotipo, e al decadimento cognitivo o disabilità che derivasse dalla neurodegenerazione indotta dalla malattia.

Sono stati selezionati secondo il modello PRISMA 48 articoli organizzati in una Tabella di Estrazione (allegato n.2), al fine di rendere i risultati quanto più chiari ed espliciti possibili. A questi articoli si aggiungono altre 10 pubblicazioni, che non fanno parte della discussione di ricerca, ma che sono state utilizzate per il primo capitolo panoramico sulla sclerosi multipla e per i paragrafi nei quali vengono illustrati i principi fisici della risonanza magnetica e delle sequenze fondamentali.



# CAPITOLO III. LA RISONANZA MAGNETICA NELLA DIAGNOSI E FOLLOW-UP DEI PAZIENTI CON SCLEROSI MULTIPLA

## 3.1 Fondamenti del magnetismo

La risonanza magnetica (RM) è una metodica di imaging introdotta negli anni '70, capace di sfruttare radiazioni elettromagnetiche non ionizzanti. Di seguito verranno riassunti i principali principi fisici<sup>4</sup> su cui questa metodica si basa, nell'ottica di approfondire poi le sequenze utilizzate nello studio della sclerosi multipla.

La risonanza magnetica riesce a fornire delle immagini grazie al comportamento dei nuclei dell'idrogeno, composti solo da un protone, una volta che questi vengono sottoposti a un cambio magnetico esterno ( $B_0$ ) ed eccitati con onde elettromagnetiche nello spettro delle radiofrequenze. Il protone ha un movimento rotatorio sul proprio asse ed è definito spin a cui vengono associati ai suoi estremi i due poli magnetici, Nord e Sud, perché una carica elettrica in movimento genera un campo magnetico, secondo la legge di Oersted. I momenti magnetici dei protoni di idrogeno assumono in ogni atomo una direzione e un verso casuale: risulta così che la somma di tutti i contributi di questi vettori sia nulla. Questa situazione cambia nel momento in cui gli atomi, e quindi il corpo di un paziente, vengono sottoposti a un campo magnetico esterno: i momenti magnetici, infatti, si allineeranno in maniera tale che tutti gli spin abbiano la stessa direzione, e che questa direzione sia parallela alle linee di campo del magnete; il verso invece divide gli atomi in due popolazioni:

- popolazione a bassa energia: protoni con momento magnetico con lo stesso verso di  $B_0$ ;
- popolazione ad alta energia: protoni con momento magnetico con verso opposto a  $B_0$ .

La popolazione a bassa energia è leggermente più numerosa (la numerosità è proporzionale all'intensità del campo): ne deriva che, sommando i loro contributi lungo la direzione del campo, si crea un vettore di magnetizzazione longitudinale (VML). La maggioranza numerica della popolazione a bassa energia si basa su un equilibrio dinamico: esistono continue transizioni dei protoni da uno stato energetico all'altro ma in ogni istante, sul totale degli spin, la popolazione a bassa energia sarà quantitativamente maggiore.

La presenza di  $B_0$  non porta semplicemente alla nascita del VML, ma conferisce ai protoni un moto di precessione che porta il momento magnetico della carica a ruotare sulla superficie di un cono, con una velocità angolare ( $\omega$ ) direttamente proporzionale all'intensità di campo magnetico ( $B_0$ ) e alla costante giromagnetica ( $\gamma$ ), secondo la legge di Larmor:

$$\omega = B_0 \times \gamma$$

Se il moto di precessione viene suddiviso nelle sue componenti cartesiane, si intuisce la nascita di un secondo vettore di magnetizzazione, questa volta trasversale (VMT), nullo perché i protoni ruotano con fasi diverse annullandosi a vicenda.

### *Il fenomeno della risonanza*

Per ottenere un segnale misurabile dalle bobine riceventi, bisogna creare un flusso magnetico variabile e questo è possibile somministrando ai protoni un impulso di radiofrequenza che abbia la stessa frequenza di precessione degli spin: in questo modo, il sistema entra “in risonanza” e ciò permette di sincronizzare il moto di rotazione degli spin. La durata dell’impulso, inoltre, dà agli spin una certa quantità di energia. Come precedentemente accennato, sappiamo che se i protoni hanno un’energia sufficiente, si oppongono al verso delle linee di  $B_0$  andando a far parte della popolazione ad alta energia. Immaginando questo processo in termini vettoriali, si avrà una riduzione della componente longitudinale del VML in favore della componente trasversale creando una coerenza di fase e un VMT non più nullo. Si ottiene quindi un apparente ribaltamento del VML sul piano trasversale  $xy$  e questo conferisce alla radiofrequenza il nome “impulso a  $90^\circ$ ”; a seconda dello scopo di ogni sequenza la magnetizzazione può essere ruotata di angoli diversi; infatti, detta  $B_1$  l’ampiezza e  $t_i$  la durata dell’impulso il valore dell’angolo di deviazione è data dalla relazione:

$$\theta = \gamma B_1 t_i$$

Il vettore oscillante ortogonale ottenuto indurrà nella spira della bobina una corrente elettrica quantificabile, proporzionale all’intensità del segnale RF ricevuto e proporzionale alla densità di nuclei di idrogeno presenti nell’unità di volume. Cessato l’impulso, i protoni torneranno nel loro stato di equilibrio iniziale attraverso dei fenomeni chiamati *di rilassamento*:

16. graduale ritorno del VML  $\rightarrow$  viene definito  $T_1$  recovery il tempo necessario affinché il 63% dei protoni riacquisti la magnetizzazione longitudinale; questo recupero è dovuto a interazioni di tipo spin-reticolo;
17. progressiva scomparsa del VMT  $\rightarrow$  viene definito  $T_2$  decay il tempo necessario affinché il 37% dei protoni perda la magnetizzazione trasversale (poiché nella realtà il campo magnetico  $B_0$  non è omogeneo, nelle condizioni reali si parla di  $T_2^*$ ); questo rilassamento è dovuto ai fenomeni di interazione spin-spin che inducono una perdita della coerenza di fase: progressivamente il VMT torna nullo. Queste interazioni sono tanto frequenti quanto è fitto il packaging molecolare, di conseguenza il tempo  $T_2$  delle strutture solide o molto viscoso sarà più basso rispetto al tempo  $T_2$  dei liquidi.



## *Il contrasto*

In RM il contrasto è un fattore multiparametrico<sup>5</sup>: cambiando alcune impostazioni è possibile modificare il contrasto dell'immagine per evidenziare o sopprimere il segnale di determinati tessuti, a seconda di come questi reagiscono agli impulsi di radiofrequenza somministrati. In particolare, il contrasto dipende da tre principali grandezze quali i tempi di rilassamento  $T_1$  e  $T_2$  e la concentrazione di nuclei di idrogeno (DP) legate intrinsecamente al tempo in cui gli impulsi vengono inviati e al tempo in cui il segnale viene raccolto.

### Sequenze ponderate in $T_2$

Quando cessa l'impulso di ribaltamento, le interazioni spin-spin e la disomogeneità di campo inducono una progressiva perdita di coerenza di fase, producendo un rilassamento trasversale che porta alla scomparsa del vettore di magnetizzazione trasversale. Il tempo di rilassamento è caratteristico per ogni tessuto. La sostanza bianca ha una perdita di coerenza più veloce rispetto al liquor: se voglio enfatizzare il contrasto sarà opportuno leggere il segnale indotto nella bobina quando i protoni della sostanza bianca si trovano in un defasamento avanzato (segnale debole) mentre quelli del liquor sono ancora in coerenza di fase (segnale elevato). Ciò si traduce con un lungo tempo atteso tra l'emissione degli impulsi per far sì che non intervengano i tempi di rilassamento longitudinale, e un lungo tempo di attesa per leggere il segnale così da permettere al tempo di rilassamento trasversale di intervenire e caratterizzare i tessuti.

### Sequenze ponderate in $T_1$

L'applicazione di un impulso di ribaltamento induce un trasferimento di energia ai protoni che si orientano lungo il verso antiparallelo, con la conseguente scomparsa del vettore di magnetizzazione longitudinale. Il ritorno alla situazione di equilibrio si traduce quindi con un progressivo ritorno del VML a discapito del VMT. Nonostante il contrasto dipenda dalla velocità con cui i tessuti recuperano la magnetizzazione longitudinale, si ricorre come per le sequenze  $T_2$ -pesate a un ribaltamento del VML scegliendo opportunamente i tempi di somministrazione e lettura del segnale: i tessuti più veloci nel riacquistare il verso parallelo delle linee di campo magnetico avranno un'intensità di segnale maggiore, e viceversa. Diversamente da prima, la sostanza bianca sarà iperintensa rispetto al liquor che apparirà ipointenso. Si rende necessario, quindi, un breve tempo di attesa tra gli impulsi inviati una veloce lettura del segnale indotto nella bobina per ridurre l'intervento dei fenomeni di rilassamento trasversale

### Sequenze ponderate in densità protonica (DP)

In queste sequenze il contrasto non deve dipendere nè dal tempo di rilassamento trasversale nè dal tempo di recupero della magnetizzazione longitudinale, perchè viene valutata solo la quantità di nuclei di idrogeno per unità di volume, che sarà proporzionale all'intensità del segnale prodotto. Affinché la pesatura non venga influenzata dai due fenomeni di rilassamento, il tempo atteso tra un impulso e il successivo è lungo (si minimizza il recupero della magnetizzazione longitudinale) mentre il tempo atteso per leggere il segnale è breve (per ridurre il segnale dipendente dalla perdita di coerenza).

### *Sequenze Spin-Echo, SE*

Le sequenze spin-echo sono state le prime utilizzate per scopi clinici<sup>6</sup>. Sono caratterizzate da un primo impulso di radiofrequenza (RF) che provoca il ribaltamento del VML (RF 90°) col relativo segnale di “free induction decay” (FID) che genera è troppo veloce per essere letto; si invia quindi un impulso RF di intensità doppia rispetto al precedente (RF 180°) che ribalta la magnetizzazione longitudinale e rifocalizza gli spin, ovvero riporta i moti di precessione in coerenza di fase invertendo di posizione gli spin più veloci: esiste così un momento in cui si ritrovano ad avere fasi identiche generando un segnale misurabile detto “eco del segnale di FID”. A questo punto il procedimento si può ripetere somministrando un secondo impulso RF 90°. Si definisce:

- tempo di eco, TE → intervallo di tempo compreso tra l'impulso RF 90° e la generazione del segnale di eco;
- tempo di ripetizione, TR → l'intervallo di tempo compreso tra impulso RF 90° e il successivo;

Aggiungendo a questi concetti le nozioni espresse con i contrasti fondamentali, è possibile riassumere che per ottenere una pesatura T<sub>1</sub>-dipendente si impostano brevi TR e brevi TE; al contrario, per ottenere pesature ponderate in T<sub>2</sub> servono TR e TE lunghi. Le pesature DP-dipendenti necessitano di TR lunghi e TE brevi.

Ciò che più caratterizza la famiglia delle sequenze spin-echo è che l'eco di FID si ottiene con un impulso di 180° che va a minimizzare le disomogeneità di campo presenti e questo mi garantisce un contrasto reale T<sub>2</sub>-dipendente, e non T<sub>2</sub>\*.

### *Sequenze Gradient-Echo, GRE*

Per riportare in fase gli spin e ottenere un segnale di eco leggibile, le sequenze GRE utilizzano due gradienti di codifica di frequenza: il primo defasa e il secondo, subito successivo e di polarità opposta, rifasa gli spin ottenendo un eco di gradiente. La rifocalizzazione delle GRE diventa così un processo molto più rapido che porta a TR e TE molto più brevi, riducendo rispettivamente il tempo di acquisizione e gli artefatti da flusso o movimento. Anche il flip angle, ovvero gli angoli assunti dalla magnetizzazione longitudinale grazie agli impulsi di ribaltamento, sono minori di  $90^\circ$ . Una differenza marcata con le sequenze SE si riscontra nel contrasto ponderato in  $T_2^*$ : l'assenza degli impulsi a  $180^\circ$  mantiene la disomogeneità di campo esterna e la diversa suscettività magnetica dei vari tessuti, provocando una perdita di coerenza molto più rapida. In queste sequenze, materiali ferromagnetici come emorragie, depositi ferrosi, clips e protesi dentarie causano cadute di segnale.

### *Formazione dell'immagine*

La RF che otteniamo dai tessuti si propagano in ogni direzione dello spazio: vengono, cioè, rilevate dalle bobine indipendentemente dalla loro provenienza. Per localizzarle intervengono dei gradienti<sup>7</sup>, ovvero dei campi magnetici aggiuntivi che consentono di individuare lo strato, la colonna e la riga del voxel e dargli poi un valore numerico che corrisponderà a una sfumatura di grigio. Sono richiesti quindi almeno 3 gradienti per le 3 coordinate spaziale  $x$ ,  $y$  e  $z$ . I gradienti applicano delle variazioni lineari al campo magnetico lungo una delle tre direzioni e questo si traduce con una differente frequenza di precessione degli spin in base alla loro naturale posizione. In particolare:

- gradiente di selezione dello strato: la variazione lineare lungo l'asse  $z$  porta a un valore di intensità del campo magnetico da un minimo a un massimo, in mezzo al quale ci sarà un "null point", ovvero un punto in cui il valore del campo magnetico che assume il valore del  $B_0$  (come se non fosse applicato nessun gradiente); di conseguenza, se viene inviato un impulso RF alla frequenza di Larmor verranno eccitati i protoni appartenenti a quella sezione. Lo spessore di strato dipende dalla pendenza del gradiente e dalla distribuzione, o banda, di frequenza dell'impulso RF inviato;
- gradiente di lettura: anche chiamato "codifica di frequenza"; il nome deriva dal fatto che il gradiente, applicato lungo l'asse  $x$ , viene acceso durante la ricezione del segnale. Le frequenze di precessione variano proporzionalmente al campo magnetico in cui sono immerse e si ottiene un segnale che verrà suddiviso tra i vari contributi degli spin;
- gradiente della codifica di fase: viene acceso lungo l'asse  $y$  dopo il gradiente di selezione di strato e prima del gradiente di lettura; come per la codifica di fase, anche in questo caso gli

spin varieranno la loro frequenza di precessione. Insieme alla velocità, varia anche la fase, di un certo angolo proporzionale al tempo di accensione del gradiente. Spento il gradiente, la frequenza di precessione tornerà omogenea tra gli spin ma lo *shift* di fase continuerà a caratterizzare i protoni e sarà quindi possibile dare ai loro contributi una localizzazione spaziale.

La successiva individuazione dell'ampiezza e della fase delle componenti sinusoidali avviene attraverso la *Trasformata di Fourier*, uno strumento matematico che permette di identificare i singoli contributi e localizzare quindi gli spin di una determinata regione spaziale. Inoltre, le direzioni  $x$ ,  $y$  e  $z$ , sono commutabili e possono assumere qualsiasi inclinazione. Questo permette nella metodica di risonanza magnetica di acquisire le immagini direttamente secondo il piano desiderato, senza dover ricorrere alle riformattazioni multiplanari. Ad oggi sono possibili anche acquisizioni 3D, garantite dall'applicazione di un ulteriore gradiente sulla terza dimensione. Si ottengono sezioni contigue e sottili che permettono un qualsiasi orientamento nelle rielaborazioni delle immagini.

### *Il k-spazio*

Le matrici che contengono i voxel, ognuno dei quali è rappresentante da un numero indicante il tono di grigio, costituiscono una rappresentazione del k-spazio: si tratta di un sistema di coordinate dove le righe e le colonne (ascisse e ordinate) sono associate alle codifiche di fase e di frequenza e raccolgono i dati grezzi<sup>7</sup>. Immaginandolo come una normale matrice, la costruzione avviene linea per linea da sinistra verso destra e viene riempita sulla base dei campionamenti effettuati durante la codifica di frequenza. La codifica di fase permette di passare alla riga successiva grazie a un defasamento angolare preciso, simmetrico in senso verticale e rispetto al centro. A livello di frequenze spaziali, le alte sono collocate verso la periferia e costituiscono la risoluzione spaziale dell'immagine, mentre quelle basse sono collocate al centro del k spazio e costituiscono la risoluzione di contrasto. Ci sono diverse tecniche di riempimento, ognuna delle quali sfrutta le caratteristiche del k-spazio, per diminuire il tempo di acquisizione (TA) che è dato dalla relazione:

$$TA = TR MN$$

*dove M indica la dimensione della matrice e N indica il numero di medie*

Tra queste tecniche, quella Half-Fourier è tra le più utilizzate e va a sfruttare la simmetria dello spazio k in senso verticale e in senso orizzontale: è applicabile sia in ordinata, agendo sulla codifica di fase, che in ascissa, agendo sulla codifica di frequenza. Il risultato porta a un tempo di acquisizione dimezzato (perché si ricostruisce solo mezzo k-spazio) a discapito del rapporto segnale-rumore che diminuisce: il rumore non sarà mediato dai contributi simmetrici e risulterà superiore. Tuttavia, se il rumore "intacca" le alte frequenze spaziali, e quindi la periferia dello spazio k, il contrasto non ne

risentirà. Grazie allo sviluppo tecnologico delle bobine, capaci di applicare i gradienti velocemente e con gran precisione. Il k-spazio può essere ricostruito con delle traiettorie anche molto complesse, come ad esempio quella a spirale, oppure può essere ricostruito con dei sovra-campionamenti della porzione centrale, a discapito di quella periferica.

### 3.2 Le sequenze fondamentali

Il termine “sequenza” indica una successione precisa sia di impulsi di radiofrequenza che di applicazione dei vari gradienti<sup>6</sup>: è quindi un protocollo grazie al quale si ottengono immagini anatomiche o mappe funzionali. Verranno riportate qui di seguito le sequenze principali, con un focus su quelle sequenze che vengono utilizzate nello studio per sclerosi multipla.

#### T<sub>2</sub> Turbo Spin Echo

La sequenza T<sub>2</sub>TSE è una delle maggiormente usate. Nasce nel 1986 e riesce a ridurre i tempi di acquisizione riempiendo più linee del k spazio all'interno di un unico TR. Dopo l'impulso a 90° si accende il gradiente della codifica di fase seguito da quello della codifica di frequenza, come nelle spin-echo normali, ma alla fine della lettura viene applicato un ulteriore gradiente di codifica di fase che sarà della stessa ampiezza ma verso opposto rispetto al precedente. Subito successivamente viene inviato l'impulso di rifocalizzazione a 180°. Questa successione viene ripetuta un numero  $n$  di volte dopo il quale verrà inviato un impulso di 90° ottenendo quindi un TR. Il numero di eco che vengono generati viene definito “turbo factor”. La velocità di riempimento dello spazio k permette di risparmiare tempo sul totale dell'acquisizione, ma è bene considerare che per contenere tutti gli impulsi a 180° il TR delle TSE è maggiore di quello delle sequenze convenzionali.

Col turbo factor posso acquisire immagini ponderate in T<sub>1</sub> e DP, ma generalmente vengono usate per ottenere un contrasto T<sub>2</sub> dipendente: per scegliere il contrasto basterà riempire la linea centrale dello spazio k con l'eco più appropriato, chiamato TE<sub>effettiva</sub>, breve per T<sub>1</sub> e DP o tardivo per il T<sub>1</sub>.

#### Sequenze Inversion Recovery

Il nome deriva dal fatto che queste sequenze, sia SE che GRE, partono con un impulso a 180° portando il vettore di magnetizzazione longitudinale da +VML a -VML. Ogni tessuto recupererà la magnetizzazione con un tempo proprio caratteristico: se si invia un impulso RF a 90° nel momento in cui -VML aveva recuperato metà magnetizzazione, sarà possibile abbattere il segnale di determinati tessuti rispetto ad altri. Il tempo di inversione tra RF 180° e RF 90° viene chiamato  $\tau$ . Esistono:

- sequenze STIR: *short tau inversion recovery*; sono ponderate in  $T_2$  e hanno il compito di abbattere il tessuto adiposo e, di conseguenza, il  $\tau$  è molto breve, circa 150 ms. Con queste sequenze
- sequenze FLAIR: *fluid attenuation inversion recovery*; in questo caso si vuole abbattere il segnale di tessuti fluidi, come ad esempio il fluido cerebro spinale. È chiaro quindi che il  $\tau$  aumenti sensibilmente arrivando circa a 2.500 ms. In questo caso, quindi, si ottengono contrasti  $T_2$  pesati ma con i segnali di materiali liquidi abbattuti
- sequenze DIR: *double inversion recovery*; si utilizzano due tempi di inversione  $\tau_1$  e  $\tau_2$  per poter abbattere due tipologie di tessuto che hanno un recupero  $T_1$  differente per poter studiare selettivamente la sostanza bianca o la sostanza grigia, ad esempio

Queste sequenze sono accomunate dal fatto che non consentono l'uso del mezzo di contrasto (gadolinio) perché la sua azione riguarda la rapidità che induce al recupero della ML, e che hanno un tempo di acquisizione maggiore per dovuto all'allungamento del TR per l'inserimento del RF a  $180^\circ$  iniziale e del tempo di inversione.

#### Sequenza di Diffusione, DWI<sup>8,9,10</sup>

Queste immagini permettono di mostrare e quantificare il moto casuale delle molecole d'acqua che, in presenza di alcune patologie, risulta alterato. La sua visibilità è resa possibile dalle informazioni di fase degli spin che perdono la coerenza di fase più rapidamente se sottoposti a disomogeneità del campo magnetico: l'imaging di diffusione si basa sulla naturale sensibilità della risonanza magnetica al movimento. La sequenza utilizza, quindi, due gradienti a cavallo dell'impulso a  $180^\circ$ , applicati lungo  $x$ ,  $y$ , e  $z$ , di polarità inversa ma uguale intensità. Se una molecola diffonde, riceverà il defasamento del primo gradiente ma non sarà nella posizione ottimale per ricevere il secondo gradiente e recuperare la rifocalizzazione. Viene definito "b" quel fattore che sintetizza ampiezza, durata e intervallo dei gradienti ed è espresso in  $\text{sec}/\text{mm}^2$ . Per un b pari a 0 la pesatura è ponderata in  $T_2$ , mentre per un b maggiore di 800 si ottengono immagini fortemente pesate in diffusione (all'aumentare di b, l'intensità del segnale aumenta per la diffusione ristretta). Un protocollo DWI richiede sempre l'applicazione di almeno due fattori b differenti per poter interpolare i valori delle intensità e costruire una mappa ADC, apparent diffusion coefficient, che rappresenta un'immagine parametrica del coefficiente di diffusione. Risulterà che:

- un fluido con diffusività libera mostrerà elevato segnale nelle immagini con  $b = 0$ ; basso segnale nelle immagini con  $b = 1000$ ; alto segnale nella mappa ADC;

- un voxel dove è presente una diffusione ristretta mostrerà un'intensità media nelle immagini con  $b = 0$  e un'elevata intensità nelle immagini con  $b = 1000$ ; nella mappa ADC invece apparirà una “caduta” di segnale.

La mappa ADC è fondamentale per l'artefatto chiamato “ $T_2$  shine through” dovuto a una permanenza del segnale  $T_2$  che può mostrarsi come una finta diffusione ristretta. Questo artefatto è riconoscibile perché si mostra iperintenso sia nelle immagini anatomiche, indipendentemente dal valore di  $b$ , che nella mappa ADC.

### 3.3 La Risonanza Magnetica per lo studio della sclerosi multipla

Secondo le ultime direttive del network “Magnetic Resonance Imaging in Multiple Sclerosis” (MAGNIMS), un protocollo di studio della sclerosi multipla a livello encefalico necessita di un numero limitato di sequenze totali, tutte eseguibili con campi magnetici di intensità 1,5 T, anche se ad oggi apparecchiature da 3 T sono considerate gold standard<sup>11</sup>. Nella tabella seguente, queste verranno riportate con i parametri principali e la ratio per cui vengono acquisite.

**Tabella I. Sequenze fondamentali per il protocollo RM nello studio della SM**

<i>Sequenza</i>	<i>Parametri</i>	<i>Obiettivo</i>
T <sub>2</sub> -TSE	2D assiale	Sequenza <i>first look</i> : immagine anatomica di partenza, utile per il confronto con le altre immagini
T <sub>2</sub> -FLAIR	preferibilmente 3D a piano di acquisizione sagittale; 2D assiale e sagittale	Quantificare e mappare le lesioni focali sclerotiche iperintense; ottima visualizzazione degli spazi periventricolari
DWI	2D assiale	Informa sull'integrità tissutale del sistema nervoso centrale in fase acuta e del Normal Appearing Tissue
T <sub>1</sub> POST MDC	3D assiale	Quantificare a valutare le lesioni che hanno wash-in e wash-out con somministrazione del mezzo di contrasto
DIR	2D assiale	Studio delle lesioni corticali e juxtacorticali

SWI	2D assiale	Valutazione del segno della vena centrale
T <sub>2</sub> -STIR	2D assiale e coronale rispetto al decorso del nervo ottico	Studio del nervo ottico

*I piani assiali sono paralleli alla linea bicommenturale del corpo calloso;  
 I piani sagittali sono paralleli al piano sagittale medio;  
 Le sequenze indicate come bidimensionali hanno spessore di strato  $\leq 3$  mm, con fette giustapposte;  
 La sequenza DWI ha spessore di strato  $\leq 5$  mm, con un gap tra le fette variabile dal 10% al 30%;  
 Per le sequenze tridimensionali sono indicati voxel isotropici di lati pari a 1 mm.*

Il protocollo si avvale di sequenze classificabili in due diverse famiglie di RM:

- Risonanza Magnetica Convenzionale;

La risonanza magnetica convenzionale riesce a garantire informazioni irrinunciabili per la diagnosi e per il monitoraggio delle lesioni demielinizzanti grazie alla sua elevata sensibilità, variando le pesature e ottenendo contrasti differenti. Permette di identificare il numero, la localizzazione e l'attività delle placche sclerotiche<sup>12</sup>, restituendo informazioni che riguardano lo stato di salute attuale del paziente. Le sequenze protagoniste sono: T<sub>2</sub>-Turbo-Spin-Echo (T<sub>2</sub>-TSE) assiale, T<sub>2</sub>-FLAIR sagittale, immagini assiali ponderate in T<sub>1</sub> dopo la somministrazione del mezzo di contrasto (T<sub>1</sub> post-MDC; spesso sono accompagnate da acquisizioni T<sub>1</sub>-pesate dirette per avere un'immagine di confronto pre-MDC con medesima pesatura, e per la valutazione dei *black holes*<sup>12</sup>), Double Inversion Recovery (DIR), T<sub>2</sub>-Short-Tau Inversion Recovery (T<sub>2</sub>-STIR) assiale e coronale.

Di queste sequenze, solo le prime due vengono considerate fondamentali da MAGNIMS in ogni fase di studio. Le sequenze ponderate in T<sub>2</sub> sono molto sensibili ma non specifiche: possono rappresentare sia un'inflammatione acuta che una demielinizzazione, accompagnata o meno da perdita assonale<sup>12</sup>. La sequenza ponderata in T<sub>1</sub> dopo somministrazione del mezzo di contrasto risulta alquanto dibattuta. Nel 2014 sono stati descritti per la prima volta depositi di gadolinio a livello dei nuclei dentati e del globus pallidus<sup>13</sup>, scoperti in pazienti che si sottoposero ripetutamente a somministrazione del mezzo di contrasto. Di conseguenza le indicazioni di MAGNIMS affermano che l'uso del gadolinio, con dosi di circa 0,1 mmol/ kg, è inevitabile nel protocollo che mira a fornire la diagnosi e comprovare la DIT. Durante il monitoraggio, il gadolinio è raccomandato prevalentemente nel momento in cui il paziente attraversa una recidiva. Diversamente, l'uso del gadolinio risulta sconsigliato per esami RM acquisiti entro un anno dal precedente se il paziente non manifesta ulteriori sintomi, e per esami richiesti entro i sei mesi dall'inizio di una nuova terapia farmacologica.



- Risonanza Magnetica Quantitativa.

Per quanto riguarda le informazioni prognostiche, alcuni studi affermano che si rende necessaria quella branca di RM definita “quantitativa”. È decisamente più sensibile alla patologia assonale, alle alterazioni morfologiche della mielina, alle variazioni della microglia e allo stato della *normal appearing white matter* (NAWM), che precede la condizione di atrofia cerebrale<sup>12</sup>. Nel protocollo proposto da MAGNIMS compaiono già sequenze di QRM quali la DWI e la SWI. La prima non è molto specifica: una restrizione della diffusione non indica necessariamente demielinizzazione<sup>11</sup>, ma associata alla mappa ADC può risultare più sensibile delle sequenze con somministrazione di gadolinio e prevedere la progressione della disabilità fisica e cognitiva dei pazienti<sup>12</sup>. La seconda invece, trova applicazione perché la mielina e microstruttura anisotropa della sostanza bianca può indurre variazioni al campo magnetico ed essere quindi letta da sequenze ponderate in suscettività magnetica. Tuttavia, anche questa sequenza presenta diversi ostacoli. Non c'è ancora un consenso unanime quale sia l'algoritmo migliore per ottenere le mappe quantitative di suscettibilità, che soffrono spesso di un effetto *over-smoothing* perdendo in risoluzione di contrasto.

Tra le varie tecniche di RM quantitativa, esistono le sequenze per lo studio della perfusione. Nella patologia della sclerosi multipla sono state riscontrate un'iperperfusione a livello delle placche attive e un'ipoperfusione in varie aree cerebrali. Un'ipoperfusione cronica porta a una disfunzione mitocondriale e a un conseguente stress ossidativo, elementi molto dannosi per la degenerazione assonale della SM. Inoltre, precede lo sviluppo dell'atrofia. Si ritiene quindi di fondamentale importanza lo studio perfusionale in un protocollo di SM per la valutazione dei valori di flusso ematico cerebrale (CBF), volume ematico cerebrale (CBV) e del tempo di transito (MTT).



# CAPITOLO IV. ARTERIAL SPIN LABELING: PRINCIPI FISICI E APPLICAZIONI DIAGNOSTICHE

## 4.1 La perfusione e i suoi parametri

Il progresso tecnologico delle metodiche di imaging funzionale si è spinto oltre i confini della morfologia permettendo la valutazione a scopo diagnostico dell'emodinamica cerebrale. La sequenza Arterial Spin Labeling è uno dei modi possibili per effettuare questa tipologia di valutazione utilizzando come tecnica di imaging la risonanza magnetica.

In generale, quando si parla di studi perfusionali, si intendono quegli studi capaci di restituire informazioni riguardanti il trasporto di ossigeno e biomolecole dal letto capillare al tessuto dell'organo. I dati di questi studi sono un indice importante per la comprensione della funzionalità cerebrale, soprattutto quando ci si interfaccia con patologie quali stroke, tumori e patologie neurodegenerative, poiché tutte portano a variazioni perfusionali. Dalle acquisizioni è possibile ottenere con un lavoro di *post-processing* mappe parametriche perfusionali, visualizzabili su varie scale di colori (definite look up table, LUT). La perfusione è descritta principalmente tre parametri:

- *Flusso ematico cerebrale, CBF*: è il parametro che indica il volume di sangue arterioso trasportato a 100 g di tessuto in 1 minuto. In termini di imaging, è più conveniente parlare di quantità di flusso trasportato a unità di volume, più che di massa, perché non si è a conoscenza della massa compresa all'interno di un voxel; il CBV coincide quindi con millilitri di sangue trasportati a millimetri di tessuto in 1 secondo ml/ml s;
- *Volume ematico cerebrale, CBV*: coincide con la misurazione del volume ematico a livello capillare/tissutale ed è espressa in mL/100 g. Il CBV riflette gli effetti dei meccanismi di autoregolazione della perfusione cerebrale;
- *Tempo medio di transito, MTT*: rappresenta il tempo il tempo intercorso tra l'immissione arteriosa nel letto capillare e il deflusso venoso, e per tanto viene espresso in s. Il MTT è un indice sensibile alla pressione di perfusione cerebrale.

Questi parametri sono tra loro correlati dal principio del volume centrale, secondo cui il flusso ematico cerebrale si ricava attraverso il rapporto tra il volume ematico cerebrale e il tempo medio di transito:  $CBF = CBV / MTT$ ; il risultato garantisce una misura dell'integrità funzionale dell'apparato microvascolare che è stato associato al volume della sostanza bianca<sup>14</sup>.

### *Gli studi perfusionali in RM*

In risonanza magnetica gli studi perfusionali sono classificabili in tre filoni<sup>8</sup>:

- Dynamic Susceptibility Contrast, DSC: attraverso l'utilizzo di un mezzo di contrasto esogeno paramagnetico si induce un accorciamento del tempo di rilassamento  $T_2^*$  che provoca una caduta di segnale nelle sequenze ponderate in  $T_2^*$ . Questa tipologia di segnale prevede un *readout* molto veloce, orientando le acquisizioni su sequenze gradient echo con tempi di echo sufficientemente lunghi per poter rilevare il breve free induction decay;
- Dynamic Contrast Enhancement, DCE: permette di ottenere immagini  $T_1$ -pesate utilizzando mezzi di contrasto a base di gadolinio che riducono il tempo di rilassamento longitudinale, producendo l'effetto *enhancement*. Sono indicate sequenze di tipo turbo gradient echo per soddisfare le esigenze di risoluzione spaziale e temporale. La DCE si presta particolarmente allo studio dei fenomeni emodinamici tumorali;
- Arterial Spin Labeling, ASL: la sequenza prevede una marcatura a radiofrequenza degli spin protonici dell'acqua presenti all'interno del sangue, in modo tale da identificarne il movimento, e di conseguenza il flusso. Questa tipologia di studio non prevede la somministrazione di alcun mezzo di contrasto.

## 4.2 La sequenza Arterial Spin Labeling

La sequenza ASL è una metodica non invasiva di risonanza magnetica nucleare che viene utilizzata per studi perfusionali. Per l'acquisizione della sequenza non è necessaria la somministrazione di alcun agente esogeno. Il mezzo di contrasto viene infatti sostituito da una marcatura delle molecole dell'acqua presenti nel sangue; si parla quindi di mezzo di contrasto *endogeno*. L'acqua è un tracciante a diffusione libera che si muove dal letto capillare al tessuto, processo grazie al quale attraverso diversi modelli matematici si determina il flusso ematico cerebrale, CBF, espresso come flusso di volume di sangue al volume di tessuto in un minuto.

L'acquisizione dell'ASL è basata su più fasi. Prevede la marcatura degli spin protonici dell'acqua, un tempo di attesa affinché avvenga il transito di questi ultimi al letto capillare e la lettura del segnale.

Alla fine di questo processo, viene eseguita in post-processing una sottrazione tra l'immagine *control* (immagine senza marcatura degli spin) e l'immagine *label* che fornisce la mappa perfusionale ASL.

### *Marcatura degli spin protonici*

La perfusione dei tessuti prende in considerazione lo scambio di ossigeno e nutrienti sull'intera lunghezza dei capillari. La visibilità del processo è resa possibile dall'applicazione di impulsi a radiofrequenza e gradienti che ribaltano il vettore di magnetizzazione longitudinale degli spin protonici dell'acqua contenuti nel sangue. In questo modo il loro segnale è abbattuto e i protoni vengono marcati (*labeled*), rendendosi visibili.

L'efficienza della marcatura è uno dei fattori preponderanti nel determinare una buona acquisizione della sequenza<sup>15</sup>. Esistono tre categorie di Arterial Spin Labeling che si differenziano per la modalità di labeling: continuous ASL (CASL), pulsed ASL (PASL) e pseudocontinuous ASL (pCASL).

La sequenza CASL è stata la primogenita delle sequenze ASL e il suo nome è dovuto al fatto che la marcatura si basava sull'applicazione di un impulso RF continuo, contemporaneo all'accensione di un gradiente avente la stessa direzione del sangue. I grandi svantaggi di questa modalità, dovuti di un lungo impulso RF, risiedevano nell'elevato Specific Absorption Rate (SAR), negli effetti di trasferimento della magnetizzazione e nella necessità di hardware e software dedicati rendendola poco accessibile ai clinici<sup>16</sup>. Tuttavia, presentava un elevato Signal to Noise Ratio (SNR) e garantiva un'ottima efficienza di marcatura<sup>15</sup>. La sequenza PASL, al fine di evitare il surriscaldamento dei tessuti, proponeva un impulso RF pulsato applicato su uno slab più esteso rispetto alla CASL, permettendo un labeling più che soddisfacente, un SAR stabile ma un basso SNR.

Ad oggi la metodica di ASL indicata come gold standard è la pCASL: presentata per la prima volta nel 2008 in uno studio di Dai et al. viene inserita nella dichiarazione di consenso dell'associazione ISMRM nel 2015<sup>16</sup>. Al fine di valorizzarne l'uso, il documento fornisce un insieme di parametri per la standardizzazione della sequenza e delle linee guida all'uso per i clinici<sup>17</sup>.

La fase di labeling di questa sequenza sfrutta treni di impulsi a radiofrequenza brevi e gradienti con pendenza elevata che producono un'inversione adiabatica degli spin, andando a superare la sensibilità alla disomogeneità di campo<sup>18</sup>. Il diagramma temporale dell'immagine labeled prevede impulsi selettivi di radiofrequenza *Hanning-shaped* sincronizzati con l'accensione dei gradienti di selezione di fetta<sup>19,16</sup>. Il gradiente è sbilanciato nella sua polarità in maniera tale da accumulare *shift* di fase degli spin tra l'applicazione di un impulso RF e il successivo. Nell'immagine control, per ovviare alla differenza di fase, vengono invertiti sia gli impulsi RF che la polarità del

gradiente; ciò compensa anche l'asimmetria del contrasto per trasferimento di magnetizzazione tra l'immagine label e l'immagine control<sup>16</sup>.

I parametri prevedono impulsi RF quanto più vicini tra loro possibili (~ 1 ms di tempo tra un picco e l'altro) e gradienti con *slew rate* di circa 10 mT/m.

Il tempo di rilassamento  $T_1$  degli spin saturati è di circa 1300/1750 ms. La durata della marcatura deve essere un buon compromesso tra  $T_1$  e il TR, pari quindi a circa 1800 ms<sup>20</sup>: in questo modo non si riduce il SNR e si rispetta la pesatura della sequenza.

Per massimizzare l'efficienza della marcatura l'orientamento del piano di label dovrebbe essere perpendicolare alla carotide interna e alle arterie vertebrali, a livello delle vertebre cervicali C2 e C3<sup>17</sup>.

### *Post Label Delay*

Marcati gli spin, è necessario aspettare un certo intervallo di tempo prima di acquisire l'immagine affinché i protoni saturati giungano al tessuto di pertinenza. Questo intervallo è definito come ritardo post-marcatura (PLD). Esistono due possibili PLD:

- single PLD: permette di ridurre il tempo di acquisizione e di conseguenza ridurre gli artefatti da movimento. Fornisce un elevato SNR grazie alle medie delle varie marcature. Tuttavia, se la durata del ritardo post-marcatura risulta troppo breve rispetto all'Arterial Transit Time (ATT) si potrebbe incorrere in una sottostima del CBF. Inoltre, allungare il tempo del single PLD per rispettare l'ATT significa perdere parte del labeling, perché si aumenta il tempo di recupero di magnetizzazione longitudinale degli spin<sup>21</sup>. Ciò induce all'uso di un single PLD di 2000 ms<sup>20</sup>;
- multi-PLD: consente di stimare sia il CBF che l'ATT<sup>21</sup> grazie al sampling del bolus saturato durante i vari *delay*.<sup>19</sup> Risulta quindi maggiormente indicato per pazienti anziani o per pazienti con malattie cardiovascolari<sup>14</sup>. Secondo uno studio condotto da Woods, JG. et al. il multi-PDL viene distribuito in un intervallo di tempo tra 250 ms e 1500 ms. L'utilizzo del multi-PLD richiede tempi di acquisizioni più lunghi, diverse misurazioni e analisi più complesse che ne scoraggiano l'utilizzo.<sup>20,21</sup>

Secondo Lidner T. et al. l'utilizzo di due single PLD potrebbe essere un buon compromesso: uno con un ritardo standard di 2000 ms. e l'altro con un ritardo maggiore di 2500 ms, così da distinguere un'eventuale ipoperfusione da artefatti di transito arterioso (ATT).<sup>17</sup>

### *Background suppression*

Per la struttura biochimica del cervello, solo una piccolissima parte del segnale restituito dall'acqua deriva dagli spin marcati: in proporzione, la quantità di acqua *intrinseca* rispetto a quella

intravascolare è di 20:1. Con un bolus di spin marcati della durata 2000 ms si ha una variazione di magnetizzazione di appena il 2%, il che significa che la differenza del segnale cerebrale tra l'immagine label e l'immagine control è circa l'1%<sup>20</sup>. Per migliorare il SNR è fondamentale ridurre il segnale derivante dai tessuti statici che sono inoltre responsabili degli artefatti da movimenti che maggiormente inficiano la qualità delle immagini aumentando il rumore.<sup>15</sup>

Risulta fondamentale l'utilizzo di una tecnica chiamata *background suppression*. Si ottiene attraverso l'applicazione di un primo impulso RF di saturazione selettiva sullo slab che si intende acquisire, seguito da impulsi RF di inversione. La magnetizzazione longitudinale del tessuto statico sarà ribaltata durante l'acquisizione del segnale.

L'impulso di saturazione produce effetti di trasferimento della magnetizzazione (Magnetization Transfer Contrast), che si traduce in una riduzione del segnale RM. Questo può mimare il decadimento di segnale che si cerca di ottenere con gli impulsi RF di label. L'MTC è tuttavia riducibile applicando gradienti a pendenza elevata.<sup>22</sup>

Gli spin marcati non vengono interessati dall'impulso di saturazione: risentono solo degli impulsi RF di inversione, e ogni impulso riduce il segnale ASL del 5%. Di conseguenza, per avere un buon compromesso di soppressione di background e elevato SNR il numero degli impulsi di inversione è pari a 2.<sup>20</sup>

### *Acquisizione dell'immagine*

Per il readout dell'Arterial Spin Labeling è fondamentale l'utilizzo di sequenze veloci e con un SNR elevato.<sup>19</sup> Inizialmente si usava la sequenza 2D Echo-Planar-Imaging (EPI), nonostante l'acquisizione continua delle varie slice causava anomalie riguardanti la temporizzazione del bolus entrante.<sup>15,19</sup> Oggi, i progressi tecnologici hanno fornito sequenze più avanzate con acquisizione 3D. L'ISMRM raccomanda infatti sequenze quali la 3D Gradient and Spin Echo (GRASE) o la 3D Rapid Acquisition Relaxation Enhanced (RARE). L'acquisizione in 2D rimane possibile, ma le tecniche in 3D sono vantaggiose in termini di SNR e background suppression.<sup>23</sup>

La tecnica 3D RARE è combinata con un sampling del k-spazio con traiettoria a spirale: il centro dello spazio k viene sovracampionato aumentando il SNR. Il possibile effetto blurring viene mitigato segmentando l'acquisizione 3D in multiple acquisizioni.<sup>15,19</sup>

La sequenza GRASE è una sequenza ponderata in T2\* che combina la sequenza Turbo Spin Echo (TSE) e l'EPI. Utilizza quindi una combinazione di echi di gradienti ed echi di impulsi a radiofrequenza. In particolare, viene trasmesso un primo impulso di eccitazione a 90° durante il quale viene acceso il gradiente per la selezione di fetta. Per rifocalizzare gli spin si utilizza un treno di echi

di impulsi a radiofrequenza a  $180^\circ$ , tra i quali vengono aggiunte le ripolarizzazioni (*blipping*) del gradiente di codifica di fase per poter riempire più linee del k-spazio durante un'unica eccitazione, secondo il metodo EPI.<sup>24</sup>

La GRASE risulta più veloce sia della TSE che della EPI e controllando il numero degli echo è possibile ottenere una pesatura ponderata in T2. Gli sviluppi hanno permesso anche un riempimento del k-spazio ultra veloce con la tecnologia *single shot*, per cui tutte le linee del k sono acquisite in un unico TR.<sup>25</sup> Gli svantaggi della sequenza riguardano il SNR: il funzionamento dell'EPI prevede che i gradienti successivi riducano il signal to noise ratio per il decadimento T2\* sempre più rapido. Inoltre, se la lunghezza del TE del treno di RF  $180^\circ$  risulta maggiore del tempo T2 decay si incorre in un effetto *blurring*.<sup>19</sup> Tuttavia, rispetto a una TSE il SAR risulta minore perché vengono applicati meno impulsi a radiofrequenza. Le tecniche EPI e 3D RARE, a differenza della GRASE, sono sensibili alla disomogeneità di campo e riscontrano delle distorsioni geometriche nel riempimento del k-spazio con campi magnetici di 3T.<sup>23,25</sup>

### *Tecniche di accelerazione*

Il TR della sequenza ASL è legato alla durata della marcatura e del post label delay, di conseguenza gli algoritmi per velocizzare il sampling del k-spazio non riducono significativamente la durata dell'acquisizione. Esistono però delle modalità per ridurre i treni di echo o i segmenti in cui vengono scomposte le acquisizioni 3D.

Quando si acquisisce con tecniche di parallel imaging è possibile applicare un kernel chiamato GRAPPA, che velocizza la sequenza di un fattore R. Tuttavia, il Signal to Noise Ratio diminuisce secondo la formula  $1/(gR)$ , di conseguenza risulta più indicato il kernel Controlled Aliasing In Parallel Imaging Results In Higher Acceleration (CAIPIRINHIA). Quest'ultimo è in grado di migliorare la qualità di immagine nella sequenza 3D GRASE riducendo il rumore del fattore  $g$ <sup>23</sup>

Di seguito viene riportata una tabella dove vengono riassunti i principali parametri della sequenza ASL.

**Tabella II. Parametri tecnici dell'ASL**

<i>Parametri</i>	<i>Outcome</i>	<i>Note</i>
Tecnica ASL	pCASL	Marcatura efficiente, elevato SNR, SAR stabile
Risoluzione Spaziale	$4 \times 4 \times 4 \text{ m}^3$	Misure ideali per ottenere un SNR sufficiente <sup>15,20</sup>
Impulsi di labeling	Hanning-shape; durata 500 $\mu\text{s}$	tra gli impulsi un intervallo di tempo di 1020 $\mu\text{s}$ <sup>19,20</sup>



Gradiente di labeling	1 mT/m	
Gradiente di selezione di fetta	6-10 mT/m	
Piano di labeling	perpendicolare alle arterie afferenti	Evitare di posizionare il piano di labeling su strutture che diano artefatti da suscettibilità come aria e ossa
Piano di acquisizione	assiale, parallelo al piano di labeling	Esiste la possibilità di acquisire l'ASL seguendo il piano parallelo alla linea commissurale del corpo calloso, ma sarà necessario inclinare il piano di labeling con relativa perdita di marcatura.
Single PLD	2000 ms	Adatto per protocollo standard; <sup>15,20</sup> TR = 3500 ms <sup>19</sup>
Multi PLD	250-2000 ms	Indicato per pazienti con malattie cardiovascolari; 20 TR = 4750 ms <sup>19</sup>
Readout	3D GRASE	Acquisizione segmentata in 8-12 volumi <sup>15</sup> ; CAIPIRINHA o GRAPPA per velocizzare l'acquisizione
	3D RARE	Riempimento dello spazio k con traiettoria a spirale; acquisizione segmentata in 8-12 volumi <sup>15</sup>
Durata dell'acquisizione	4-5 minuti	Si riducono gli artefatti da movimento <sup>15</sup>
Campo magnetico	3 T	Si ottiene maggior SNR; aumenta il tempo T1 degli spin marcati

### 4.3 Applicazioni diagnostiche dell'ASL

#### Malattie cerebrovascolari

Le malattie cerebrovascolari si manifestano attraverso un'alterata perfusione o attraverso un ritardo dell'arterial transit time. La sequenza arterial spin labeling si presta molto bene sia allo studio che al

follow up di queste patologie, perché fornisce immagini quantitative che rappresentano la fisiologia vascolare e la perfusione che ne deriva.

La malattia cerebrovascolare più comune è l'ictus ischemico acuto, o stroke (AIS), ed è la causa maggiore di morbilità nel mondo. La chiusura del vaso porta alla riduzione della perfusione inducendo il tessuto alla necrosi. Non tutto il tessuto è destinato a questo deterioramento: col termine penombra si intende infatti quella zona cerebrale ipossica che riceve abbastanza sangue per sopravvivere, ma non abbastanza per portare a termine le sue funzioni. Il trattamento dell'AIS mira al ristabilimento della perfusione per salvare il tessuto iscritto nella penombra e garantire al paziente il miglior *outcome* neurologico ottenibile. Questo è possibile in seguito all'individuazione della penombra grazie alle metodiche di imaging. Secondo Grade, M. et al, nei casi di ischemia l'ASL è poco sensibile nella fase subacuta, dove il gold standard rimane lo studio perfusionale con tecnica Dynamic Susceptibility Contrast. Questo perché alcuni studi riportano esiti concordanti tra le due metodiche solo quando il paziente presenta un deficit perfusionale modesto, mentre per le piccole anomalie l'ASL non è abbastanza precisa.<sup>15</sup> Tuttavia, secondo studi più recenti, l'ASL è indicata per compromissioni bilaterali ed è più sensibile alle alterazioni di perfusioni impercettibili grazie alle mappe quantitative fornite. Le aree ipoperfuse circostanti rilevano la penombra ischemica col 50-75% del flusso cerebrale ematico fisiologico.<sup>26</sup> Inoltre, secondo Havsteen, I. et al l'uso combinato delle sequenze DWI e ASL rilevano più lesioni ischemiche di qualsiasi sequenza utilizzata singolarmente.<sup>27</sup>

L'utilizzo dell'ASL per lo studio di stroke o TIA comporta delle complessità. Il ritardo nel tempo di transito porta a dover utilizzare multi-PLD con tempi di attesa maggiori, causando una perdita in termini di SNR per il tempo di rilassamento  $T_1$  degli spin marcati. Se questo può sembrare uno svantaggio, d'altro canto permette di visualizzare la vascolarizzazione collaterale della penombra. Anche nella malattia di Moyamoya, malattia cerebrovascolare cronica rara, l'ASL riesce a identificare l'estensione del circolo collaterale in seguito all'ostruzione delle arterie cerebrali e precerebrali; la valutazione dei vasi neoformati è un marker importante per le scelte terapeutiche necessarie e per la prognosi del paziente.<sup>15</sup>

Per quanto riguarda l'ischemia in fase cronica, l'arterial spin labeling riacquista valore diagnostico a livello unanime. È utilizzata per valutare la sindrome da ipoperfusione e la riserva cerebrovascolare (CVR), che può stabilire la probabilità di incorrere in un infarto cerebrale ed è utilizzata per la valutazione del rischio in esami di chirurgia vascolare carotidea.

Nel caso di malformazioni vascolari, la sequenza è molto efficiente nel rilevare stenosi ostruzioni dei vasi, rappresentate, ad esempio, da un ritardo dell'ATT o da un pattern di ipoperfusione causato da un danneggiamento dell'emodinamica cerebrale.<sup>15</sup> La capacità della sequenza di rilevare la patologia

vascolare dipende dal fatto che al tessuto giungerà una minor quantità di spin protonici marcati rispetto al tessuto sano. Al contrario, si rileverà un'elevata intensità di segnale nella localizzazione dell'occlusione per "l'intrappolamento" degli spin lì dove il lume del vaso si restringe. Tuttavia, la qualità dei dati forniti dall'ASL dipende intrinsecamente dal sistema cardiocircolatorio dei pazienti. Se il flusso cerebrale è compromesso da patologie vascolari quali occlusioni e stenosi, o da patologie cardiache che inficiano sulla gittata, le mappe quantitative dell'arterial spin labeling potrebbero risultare inaccurate in presenza di una riduzione globale del CBF. Per non cadere in misure errate, in queste condizioni i clinici devono propendere per l'utilizzo del multi-PLD, al fine di ottenere un tempo di transito quanto più personalizzato al singolo. Ciò si traduce nell'uso di algoritmi ed elaborazioni più complesse, acquisizioni più lunghe e una maggior possibilità di incorrere in artefatti da movimento.

L'ASL si presta inaspettatamente bene anche per studiare le malformazioni artero-venose (MAV) e le fistole artero-venose (FAV) perché è in grado di rilevare anche pochi gradi di shunt. Il segnale della sequenza rappresenta solo il decorso degli spin marcati dalle arterie al tessuto, poiché a causa del tempo di rilassamento T1 del sangue l'ASL non è in grado di rilevare i protoni nel circolo venoso. Nel momento in cui il letto capillare è assente, le arterie comunicano direttamente con le vene permettendo al percorso degli spin protonici di risparmiare tempo e di essere visibili anche nel circolo venoso<sup>15,26,32</sup>.

Nelle malattie cerebro-vascolari i numerosi sviluppi tecnologici messi a disposizione dell'ASL le permettono di concorrere con la l'angiografia digitale sottratta (DSA), pratica maggiormente invasiva della radiologia interventistica, che riveste il ruolo di protagonista nello studio dei vasi e delle loro anomalie. Tra gli sviluppi si trovano:

- time-encoded pCASL: fornisce delle immagini ASL in acquisizione real time;
- velocity-selective ASL: è in grado di diminuire drasticamente il tempo di transito;
- vessel-encoded pCASL: è in grado di mappare selettivamente un vaso e di studiare la perfusione territoriale di quest'ultimo.

### Malattie neurodegenerative

Tra le numerose applicazioni dell'ASL vi sono la diagnosi e il monitoraggio delle malattie neurodegenerative, come ad esempio la malattia di Alzheimer e il disturbo cognitivo lieve (mild cognitive impairment, MCI).<sup>15</sup> Col tempo, la ricerca ha cercato di individuare dei marcatori per stabilire il rischio di sviluppo delle patologie neurodegenerative e di verificare la presenza di queste ultime prima che ci siano dei cambiamenti morfologici apprezzabili.<sup>28</sup> Le alterazioni del metabolismo cerebrale e, di conseguenza, del flusso ematico cerebrale possono predire cambi strutturali, come

l'atrofia, prima che questi siano effettivamente visibili con le sequenze morfologiche. La funzionalità cerebrale è sempre stata studiata attraverso la metodica PET, con l'utilizzo del fluorodesossiglucosio (18F-FDG) che permette la visualizzazione del metabolismo glucidico. Nella malattia di Alzheimer con questa metodica si evidenzia un ridotto metabolismo nei lobi parietali e temporali bilateralmente e un modesto metabolismo del lobo occipitale<sup>28</sup>. La PET è una metodica poco capillare sul territorio sanitario, risulta più invasiva della risonanza magnetica, comporta tempi di acquisizioni molto lunghi e l'utilizzo di radioisotopi costosi.<sup>15</sup> Ad oggi la tecnica ASL può co-partecipare come gold standard perché, a livello encefalico, la perfusione e il metabolismo sono strettamente collegati. Infatti, i dati perfusori ottenuti con l'arterial spin labeling sono correlati: è in grado di rilevare l'ipoperfusione delle aree quali precuneo, corteccia cingolata posteriore, lobo occipitale medio, lobo temporale e lobo parietale, sia un'ipoperfusione cerebrale globale.<sup>15,28</sup>

Secondo Joshi, D. et al, la sequenza di arterial spin labeling può essere usata per effettuare la diagnosi del morbo di Parkinson<sup>29</sup>. La malattia fa parte dei disordini neurodegenerativi cronici ed è caratterizzata da sintomi motori, come tremore persistente e rigidità muscolare, e da sintomi non motori quali demenza, depressione, allucinazioni e disturbi del sonno. Anche in questo caso la malattia presenta pattern ipoperfusori. L'ipoperfusione viene riscontrata nei gangli della base, nel lobo fronto-parietale e nel precuneo, indicando una perdita neuronale e conseguenti disfunzioni cerebrovascolari.<sup>29</sup>

Ad oggi non è chiaro se l'ipoperfusione sia la causa o la conseguenza di malattie neurodegenerative come l'Alzheimer o il declino cognitivo lieve, ma sicuramente sono morbidità che co-esistono; tuttavia, ciò che è chiaro è l'importanza del monitoraggio. La sequenza arterial spin labeling non è invasiva, è adatta a tutte le tipologie di pazienti e non presenta alcun problema a livello di radioprotezione (siano questi relativi alle radiazioni ionizzanti delle apparecchiature o alla somministrazione del mezzo di contrasto o di radioisotopi). Inoltre, i pazienti affetti da patologie neurodegenerative si sottopongono frequentemente a esami strutturali con sequenze convenzionali in risonanza magnetica; aggiungere l'ASL al protocollo già esistente non inficia sulla qualità di vita del paziente che starebbe disteso nella sala magnete appena cinque minuti in più, non richiede un accesso venoso periferico e si otterrebbero informazioni generali sulla condizione cerebrale. Ciò le conferisce un ruolo incredibilmente utile nel follow-up di patologie che si protraggono a lungo nel tempo come quelle neurodegenerative.

### Neuroncologia

I tumori apportano importanti variazioni all'architettura vascolare sia per quanto riguarda la vasodilatazione, sia per quanto riguarda l'angiogenesi.<sup>15</sup> Generalmente, le neoplasie maggiormente

maligne del sistema nervoso centrale comportano un aumento del flusso e del volume ematico cerebrale, motivo per cui lo studio perfusionale nei pazienti oncologici è di fondamentale importanza per determinare la localizzazione e l'estensione delle lesioni, la loro infiltrazione e il loro metabolismo. Attraverso la risonanza magnetica è possibile valutare il grado della neoplasia, effettuare la stadiazione, pianificare le terapie e monitorare la risposta del paziente a quest'ultime.

In RM, la tecnica d'elezione è la sequenza perfusionale *dynamic susceptibility contrast* perché fornisce il volume ematico cerebrale relativo (rCBV), che è maggiormente intuitivo rispetto al parametro del flusso.

Secondo la legge di Grubb esiste una relazione tra volume e flusso in un tessuto sano pari a:

$$CBV = CBF^{0.38}$$

di conseguenza, in presenza di neoplasie cerebrali questo rapporto si presenta spesso alterato; la valutazione quantitativa del flusso ematico cerebrale può potenzialmente fornire dei valori di soglia, o riferimento, in modo da discriminare se esiste una situazione patologica o meno. Inoltre, l'acqua ha una permeabilità migliore rispetto a un mezzo di contrasto esogeno e questo permette di ottenere dati quantitativi senza dover utilizzare algoritmi di correzione dovuti agli artefatti *leakage*. Soni, N. et al hanno effettuato uno studio comparativo tra i valori perfusionali normalizzati ottenuti con la sequenza DSC e i valori perfusionali ottenuti con la sequenza pCASL, dimostrando una correlazione lineare tra i valori risultanti<sup>30</sup>. Anche Lehmann et al hanno dimostrato che, con la sequenza pCASL e un magnete da 3 T, rilevavano lesioni quali gliomi, meningiomi e metastasi tanto accuratamente quanto rilevato con la DSC. L'arterial spin labeling non solo è in grado di constatare la presenza delle lesioni, ma è in grado anche di effettuare una differenziazione tra le neoplasie basandosi sul pattern perfusorio, riconoscendo un linfoma primario del sistema nervoso centrale da un glioblastoma.<sup>15</sup> Tuttavia, secondo un altro studio, nelle regioni della sostanza bianca l'arterial spin labeling incontra qualche difficoltà nella stima del flusso ematico cerebrale a causa del lungo tempo di transito e della regione controlaterale non patologica.<sup>30</sup>

Secondo un altro studio, la qualità di immagine dell'arterial spin labeling arriva a superare la tecnica DSC nel momento in cui si ha la necessità di discriminare la necrosi indotta dalla radioterapia da una recidiva di glioblastoma: la DSC, a causa dell'artefatto ad anello (*leakage artifact*), può sottostimare il volume ematico cerebrale a causa del danneggiamento della barriera emato-encefalica.<sup>31</sup> L'ASL nell'ambito oncologico può essere inserita come sequenza di base durante il follow-up nei pazienti oncologici, vista la sua sensibilità e la sua non-invasività, importante quando si fa riferimento a pazienti pediatrici o a pazienti che, sottoponendosi alla chemioterapia, hanno vene molto fragili che ostacolano l'inserimento di un catetere venoso periferico.<sup>27,31</sup>

## Epilessia

L'epilessia è una malattia neurologica che colpisce generalmente la popolazione pediatrica e gli adulti dai 65 anni in su, provocando nei pazienti delle scariche elettriche cerebrali che possono essere localizzate o diffuse. Queste scariche in alcuni casi si rivelano asintomatiche, mentre in altri provocano incoscienza e spasmi muscolari, con possibili traumi da cadute o soffocamenti.

Le cause dell'epilessia sono molteplici, ma si possono distinguere due macrocategorie, una idiopatica e una sintomatica, in cui generalmente con esami strumentali si riscontrano diverse tipologie di lesioni, come ictus, emorragie, MAV e neoplasie<sup>32</sup>. Lo scopo principale nello studio dell'epilessia è la localizzazione del focus epilettogeno che, durante le crisi, manifesta un aumento del flusso ematico cerebrale dovuto a un'attività neuronale patologica. Durante il periodo latente, il focus epilettogeno dimostra un CBF minore rispetto al tessuto cerebrale sano perché meno operativo. L'ASL può assistere i clinici nella diagnosi identificando velocemente un'asimmetria di perfusione o la lesione che provoca la crisi. Anche in una situazione di epilessia cronica, l'ASL riesce a determinare la sede epilettogena tramite la neuro-infiammazione. Dati di studi riguardanti l'iperperfusione sono rari perché c'è la necessità che la crisi avvenga proprio durante l'acquisizione dell'esame. Tuttavia, in uno studio di Oishi et al. è stato verificato la variazione del CBF attraverso l'acquisizione con sequenza PASL durante e dopo la crisi epilettica del paziente.<sup>15</sup> Inoltre, avendo una sintomatologia che può assomigliarsi, attraverso l'utilizzo combinato di ASL e DWI è possibile effettuare una diagnosi differenziale tra stroke ed epilessia attuando il trattamento più idoneo alla patologia.<sup>32</sup>

## Popolazione pediatrica e popolazione a rischio

Nella popolazione pediatrica l'Arterial Spin Labeling è particolarmente indicata. In primo luogo, per la loro fisiologia intrinseca i bambini hanno una baseline di flusso ematico cerebrale più alto rispetto a un adulto e questo si traduce in un incremento del *signal-to-noise-ratio* e qualità di immagine<sup>15</sup>. Inoltre, poiché l'ASL non prevede alcun mezzo di contrasto, si evita anche l'inserimento di un accesso venoso periferico e di esami ematochimici per verificare la creatina e la velocità di filtrazione glomerulare, risparmiando al bambino un esame invasivo.

Questa peculiarità dell'ASL si presta anche a chi soffre di insufficienza renale cronica e alle donne in stato di gravidanza. Si aggiunga anche che nel caso di anemia falciforme (causa frequente di ictus nei pazienti pediatrici), di epilessia, di tumori cerebrali e di traumi che possono causare anomalie nello sviluppo è fondamentale potersi affidare su una sequenza ripetibile, affidabile e assolutamente non invasiva com'è l'arterial spin labeling.

# CAPITOLO V. LA CLINICA DEL DECADIMENTO COGNITIVO

## 5.1 Il decadimento cognitivo nella sclerosi multipla

Il decadimento cognitivo indica un deterioramento delle capacità cognitive di una persona, portando quest'ultima a un peggioramento di funzionalità quali possono essere la memoria, il linguaggio e la percezione spazio-temporale. La velocità e la gravità del declino sono molto variabili: esistono diversi stadi di decadimento a partire da una condizione più lieve, come può essere il Mild Cognitive Impairment (MCI), fino ad arrivare a una condizione più severa, come nel caso della demenza.

Le cause che possono portare alla demenza sono eterogenee. Il paziente può essere affetto da malattie neurodegenerative, come la sindrome di Alzheimer o il morbo di Parkinson, oppure avere malattie cardiocircolatorie, che conducono ad ictus o epilessia, disturbi metabolici o infezioni.

Il decadimento cognitivo è un sintomo comune nei pazienti affetti da sclerosi multipla. Negli ultimi anni, la valutazione delle capacità cognitive ha assunto un ruolo determinante per quanto riguarda la diagnosi, la pianificazione del trattamento e la prognosi.

Il decadimento cognitivo si verifica nel 40-70% dei casi<sup>33</sup>, impattando sensibilmente la qualità di vita: le persone affette da SM partecipano a un minor numero di attività socioprofessionali e i lavori domestici di routine possono diventare ostacolanti. Ciò purtroppo si traduce in casi frequenti di pazienti che soffrono di disturbi dell'umore e depressione. I domini cognitivi che possono essere colpiti sono vari, come variabile è la severità del deterioramento, ma gli effetti maggiormente riscontrati dai pazienti riguardano<sup>34</sup>:

- *velocità di elaborazione*: i pazienti sono rallentati nell'elaborare le informazioni e nella produzione orale di risposta;
- *difficoltà di linguaggio*: la capacità di comprensione e la fluidità di linguaggio possono essere compromesse;
- *riduzione della memoria*: difficoltà nella memoria a breve e lungo termine; talvolta può essere inficiata anche la memoria visiva;
- *scarsa concentrazione*: difficoltà nel mantenere la concentrazione su un determinato compito; può presentarsi anche come concentrazione selettiva;

- *difficoltà nell'apprendimento*: dovuto alla riduzione della memoria e alla scarsa concentrazione;
- *difficoltà nello svolgimento delle funzioni esecutive*: il decadimento cognitivo ostacola funzioni quali organizzazione e problem-solving.

La comunità scientifica è unanime nell'affermare che il decadimento cognitivo in pazienti con sclerosi multipla è un meccanismo complesso e multifattoriale, determinato da alterazioni strutturali sia della sostanza bianca che della sostanza grigia.

Le metodiche di imaging, quali la risonanza magnetica, hanno apportato nuove conoscenze basate sullo studio neuroanatomico delle alterazioni strutturali riportate dai pazienti. Tuttavia, a causa di una bassa risoluzione spaziale e ancora più bassa specificità, si rende indispensabile l'utilizzo di studi clinici e anatomo-patologici al fine di inquadrare al meglio il deterioramento cognitivo.

Ad oggi sono usate prevalentemente tre tipologie di batterie di test neuropsicologici create ad hoc per i pazienti affetti da SM. La prima è stata sviluppata nel 1991 col nome di Brief Repeatable Battery of Neuropsychological tests (BRB-N); presenta una sensibilità del 71% e una specificità del 94%. Ha il grande vantaggio di avere un tempo di somministrazione breve, ma non comprende test che misurano l'abilità spazio-visiva e le funzioni esecutive. Pertanto, nel 2002 è stata creata un'altra batteria, denominata Minimal Assessment of Cognitive Function in MS (MACFIMS): come la batteria precedente, anche questa valuta l'attenzione, la memoria e il linguaggio, ma presenta un numero maggiore di test fornendo valutazioni più complete. Uno studio comparativo tra le due batterie ha dimostrato che la MACFIMS supera di 4 punti percentuali la specificità della BRB-N, ma il tempo di somministrazione della batteria MACFIMS di quasi 2 ore risulta limitante, contro i 35 minuti che servono per completare i test della BRB-N<sup>33</sup>. Per superare i limiti tempistici, è stata sviluppata una terza batteria Brief International Cognitive Assessment for Multiple Sclerosis (BiCAMS) che conta l'esecuzione di tre prove e si completa in appena 15 minuti.

Le batterie si differenziano, quindi, per il numero di test e di abilità considerate. La scelta dipende dal medico neurologo, che stabilisce quale batteria utilizzare in base al contesto clinico e agli obiettivi della valutazione. Di seguito, un elenco riassume i principali test cognitivi proposti dalle tre batterie:



- *Symbol Digit Modalities Test (SDMT)*: seguendo una legenda, il paziente deve associare dei numeri a una serie di forme geometriche in 90 secondi. Il test valuta la velocità di elaborazione e la concentrazione;
- *Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT)*: un audio registrato fornisce singole cifre ogni tre secondi e il paziente deve sommare ogni nuova cifra a quella immediatamente precedente. Questo task fornisce una valutazione sulla concentrazione e la memoria di lavoro;
- *Delis-Kaplan Executive Function System (D-KEFS)*: con delle carte rimescolabili si misurano le funzioni esecutive come il problem-solving e la capacità di linguaggio, oltre alla capacità di spiegare concetti astratti;
- *Selective Reminding Test (SRT)*: si valuta la memoria attraverso un numero di parole ripetute mentalmente dal paziente e poi ricordate dopo un lasso di tempo.
- *California Verbal Learning Test - Second Edition (CVLT-II)*: al paziente viene richiesto di ricordare un elenco di parole attraverso una serie di prove. Il test valuta la memoria e la capacità di apprendimento misurando le strategie di codifica messe in atto dal paziente;
- *Spatial Recall Test (10/36)*: il paziente osserva una scacchiera sulla quale sono disposte in specifiche posizioni delle pedine e lo scopo è replicare su una scacchiera vuota la stessa disposizione a intervalli di tempo regolari, per quantificare la memoria spazio-visiva;
- *Brief Visuospatial Memory Test - Revised (BVM-T-R)*: su un foglio sono rappresentate forme geometriche con posizione variabile e il paziente deve ridisegnare le forme su un foglio bianco. Il test valuta la memoria spazio-visiva;
- *Controlled Oral Word Association Test (COWA)*: il paziente ha il compito di pronunciare il maggior numero di parole che iniziano con una determinata lettera in un tempo prefissato. Il task valuta le associazioni verbali per specifiche categorie fonemiche;

- *Judgment Of Line orientation test (JOL)*: su un foglio sono rappresentati dei segmenti e il paziente deve indicare quali segmenti hanno la stessa direzione. Questo esame misura la consapevolezza spazio-visiva.

I risultati dei test possono non essere concordi rispetto ai risultati degli esami condotti attraverso le metodiche di imaging. L'osservazione della neuropatologia e il grado di deterioramento delle abilità cognitive hanno condotto gli esperti a teorizzare che esiste una riserva cognitiva che spieghi le discrepanze spesso riscontrate tra sintomi e patologia<sup>33,34,35</sup>.

La riserva cognitiva è un concetto multifattoriale dove co-partecipano aspetti individuali come la genetica, il grado di istruzione, il ruolo professionale, il livello di intelligenza e il numero di attività socialmente e/o fisicamente stimolanti frequentate, e aspetti prettamente clinici come il volume cerebrale pre-malattia e l'integrità della sostanza bianca. La riserva cognitiva è definita come la capacità di un individuo di sostenere gli effetti del decadimento cognitivo senza manifestare sintomi clinici, nel momento in cui questi sintomi debilitano un individuo che ha una riserva cognitiva minore. In uno studio condotto da Benedict, HR. et al sono stati seguiti 90 pazienti affetti da sclerosi multipla nell'arco di 5 anni: le persone aventi un grado di istruzione superiore ai 14 anni non hanno dimostrato declini significativi nel SDMT test<sup>34</sup>. Di conseguenza, gli individui che presentano una riserva cognitiva maggiore, devono presentare una patologia più estesa per manifestare lo stesso grado di decadimento cognitivo.

Il trattamento del decadimento cognitivo si basa su diverse tipologie di azioni per offrire un approccio quanto più interdisciplinare. Nel caso dei pazienti affetti da SM, le terapie che modificano la malattia (DMT), oltre che contrastare lo sviluppo e le ricadute proprie della sclerosi multipla, possono apportare benefici anche a livello delle funzionalità cognitive. Inoltre, è sempre consigliato perseguire uno stile di vita sano integrando attività fisica e una corretta alimentazione. I pazienti intraprendono anche un percorso di riabilitazione che fornisce loro delle strategie per affrontare il declino e dei task per mantenere le capacità cognitive rimaste in allenamento.

## 5.2 Il substrato neuroanatomico del decadimento cognitivo

La medicina sta cercando da anni di trovare un nesso chiaro tra i danni strutturali che la patologia apporta alla sostanza bianca e alla sostanza grigia e il decadimento cognitivo, compresa la disabilità, che ne deriva.

Alla base della ricerca si lavora con un approccio interdisciplinare che vede una necessaria collaborazione tra misurazioni *in vivo*, come può essere l'uso della risonanza magnetica o della PET, e misurazioni ottenibili post-mortem come l'istopatologia dei tessuti e gli esami immunoistochimici.

Gli studi istopatologici hanno avuto un ruolo importante nel colmare alcune lacune insite nelle metodiche di imaging, permettendo ai clinici di addentrarsi nel substrato neuroanatomico del decadimento cognitivo<sup>33</sup>.

La risonanza magnetica è uno dei biomarker più efficaci per patologie come la sclerosi multipla. Le placche demielinizzanti, sia attive che croniche, diventano visibili mostrandosi iperintense in sequenze ponderate in T<sub>2</sub> e tendenzialmente ipointense in quelle pesate T<sub>1</sub>. Aree che permanentemente rimangono ipointense in T<sub>1</sub> suggeriscono una perdita assonale irreversibile. Inoltre, gli studi eseguiti con la somministrazione di gadolinio mostrano iperintensità lì dove la barriera emato-encefalica (BEE) è stata danneggiata, con la conseguente ripopolazione di cellule come i linfociti T, i linfociti B, macrofagi microglia e plasmacellule. Tuttavia, la risonanza magnetica e la medicina nucleare soffrono di una bassa risoluzione spaziale e i protocolli, per quanto possano fare riferimento alle linee guida internazionali esistenti, non sono unanimi in tutti i centri diagnostici sia per quanto riguarda le sequenze applicate sia per quanto riguarda le apparecchiature con cui gli esami vengono acquisiti. Per quanto riguarda la clinica invece, è stato precedentemente illustrato che esistono svariate tipologie di test neuropsicologici somministrabili e un assente concetto universale di decadimento cognitivo apporta delle variabili di cui non si può non tenere conto.

Nei successivi paragrafi verranno analizzate le diverse strutture cerebrali coinvolte nella sclerosi multipla sia sotto un punto di vista neuroanatomico che sotto un punto di vista istopatologico.

### *Patologia e imaging della sostanza bianca*

La sostanza bianca (white matter, WM) compone insieme alla sostanza grigia il sistema nervoso centrale (central nervous system, CNS); è più profonda della sostanza grigia corticale e circonda i nuclei della sostanza grigia profonda. Presenta un'organizzazione a fasci e al suo interno contiene gli assoni avvolti da manicotti di mielina, una sostanza composta per il 70% da fosfolipidi e per il 30% da proteine, che si comporta come una vera e propria guaina. La mielina deve la sua architettura agli avvolgimenti di oligodendrociti intorno agli assoni e visivamente appare pallida, da cui il nome di sostanza bianca. Le funzioni della mielina sono principalmente due: proteggere e isolare elettricamente gli assoni. Questo garantisce una trasmissione degli impulsi nervosi efficiente e veloce, mettendo in comunicazione aree anche distanti del cervello e propagando i segnali dal CNS al sistema nervoso periferico (peripheral nervous system, PNC).

Lo spettro patologico della sostanza bianca in pazienti affetti da sclerosi multipla è molto ampio: presenta le placche demielinizzanti e alterazioni tissutali che prendono il nome di normal appearing white matter (NAWM) e diffusely abnormal white matter (DAWM)<sup>33</sup>.

### Le placche sclerotiche

Le placche sono il tratto distintivo della sclerosi multipla e manifestano una perdita di mielina. Il corpo attua delle difese immunitarie contro questa sostanza portando a un processo di distruzione della stessa; il risultato è la demielinizzazione con un conseguente stato infiammatorio. A livello locale viene danneggiata la BEE e questo porta a un'invasione di cellule infiammatorie<sup>3</sup> come i linfociti T, tra cui CD8+ e CD4+, linfociti B, plasmacellule, macrofagi e un'attivazione massiva della microglia, cellule della glia deputate alla risposta immunitaria locale. Le placche sclerotiche compongono quindi una classe eterogenea in termini di dimensione, localizzazione, presenza di cellule infiammatorie, grado di demielinizzazione e danno assonale. Negli anni sono state proposte diverse classificazioni basate su studi istologici post-mortem nei quali si osservava quali cellule infiammatorie erano maggiormente presenti, il grado di cellularità delle placche, il grado di demielinizzazione e di rimielinizzazione.

Si definiscono placche attive<sup>36</sup> quelle ipercellulate che presentano un gran numero di macrofagi e microglia, che per primi intervengono nel processo di demielinizzazione digerendo la mielina nei loro lisosomi. C'è un elevato grado di astrogliosi con espressione del GFAP; sono presenti anche i linfociti T distribuiti nella zona perivascolare della lesione. Inoltre, si possono evidenziare diversi pattern di attività sulla base della quantità e della tipologia di anticorpi presenti all'interno della placca. Le placche attive costituiscono l'esordio della malattia e di conseguenza si riscontrano maggiormente in pazienti che hanno ricevuto da poco la diagnosi e in quelli affetti da sclerosi multipla recidivante-remittente RR-MS.

Le placche ad anello<sup>36</sup>, o placche *smoldering* o placche *cronicamente attive*, sono il risultato della coesistenza nella lesione di una zona attiva e di una zona inattiva: si tratta di una placca demielinizzata con un centro ipocellulato e un orlo popolato da macrofagi e microglia. In questo caso i linfociti T risiedono nelle zone perivascolari ma si distribuiscono anche nel centro della lesione.

Le lesioni inattive<sup>36</sup> sono chiaramente delimitate, ipocellulate e quasi completamente depauperate di oligodendrociti maturi. Contengono un numero di microglia minore rispetto anche alla *normal appearing white matter* e la perdita assonale è evidente. Queste lesioni sono maggiormente riscontrate in pazienti affetti dalla RR-SM e in pazienti con la sclerosi multipla secondariamente progressiva (SP-MS) senza recidive.

Attraverso la risonanza magnetica, le placche attive risultano iperintense nelle sequenze T<sub>2</sub> e FLAIR 3D, quest'ultima utilizzata soprattutto per lo studio di quelle lesioni che possono essere nascoste dal segnale iperintenso del liquor contenuto nei ventricoli<sup>11,12</sup>. Le lesioni ad anello risultano

maggiormente iperintense nell'orlo abitato da macrofagi e microglia. Nelle sequenze pesate in T<sub>1</sub>, le placche inattive risultano generalmente ipointense e prendono il nome di *black holes*, "buchi neri"; mostrano una perdita assonale e una riduzione del flusso ematico cerebrale perché metabolicamente inattivi. Nelle sequenze di perfusione, come ad esempio la Dynamic Susceptibility Contrast, le placche attive accumulano gadolinio: dimostrano un aumento del CBF e del CBV che riflette un'inflammatione acuta in corso e un danneggiamento della barriera emato-encefalica con conseguente infiltrazione delle cellule infiammatorie sopra descritte<sup>11,12,37</sup>.

#### Normal appearing white matter

Col termine sostanza bianca *apparentemente normale* si intende una tipo di patologia non focale della sclerosi multipla. Coincide con la zona di sostanza bianca adiacente alla lesione e poco più distante. Dimostra un'attivazione diffusa della microglia e nella parte più prossimale alla placca si registra un'iperplasia astrocitaria. Diversi studi hanno dimostrato che il tessuto della NAWM è affetto da un'alterata perfusione: i pazienti affetti da sclerosi multipla dimostrano un ridotto volume e flusso ematico cerebrale globale (CBV e CBF) e un aumento del tempo medio di transito (MTT)<sup>33</sup>. Un ridotto CBF è stato riscontrato nella normal appearing white matter periventricolare in pazienti affetti dalla sindrome clinicamente isolata (CIS), a dimostrazione del fatto che le variazioni microstrutturali della NAWM precedono l'insorgenza delle placche.

A livello radiologico la NAWM appare spesso come tessuto sano, da cui il nome, ma gli studi condotti su apparecchiature a elevato campo magnetico come le RM a 7 T suggeriscono che mostrano anticipatamente danneggiamenti della barriera ematoencefalica e depositi di fibrinogeno che determinano successivamente una cascata infiammatoria<sup>33,37</sup>. Come appena descritto, la normal appearing white matter è caratterizzata da alterazioni di perfusione ed è quindi necessario esaminarla con sequenze di risonanza pesate in perfusione. A tal proposito si rendono necessarie sequenze come la DSC o l'ASL<sup>37</sup>.

#### Diffusely abnormal white matter

La sostanza bianca *diffusamente anormale* è una manifestazione della sclerosi multipla comune a tutte le tipologie, inclusi i pazienti affetti da CIS. Nella letteratura è descritta anche come sostanza bianca sporca (*dirty appearing white matter*) e attraverso gli esami di risonanza magnetica si esprime con un'intensità intermedia tra la NAWM e le placche focali, caratterizzata dall'assenza di margini ben definiti. Si localizza prevalentemente negli spazi periventricolari dei corni occipitali dei ventricoli laterali e la sua esistenza può essere indipendente dall'esistenza o meno di una placca adiacente. Col termine diffusa, viene espressa la caratteristica per cui risulta difficile l'identificazione e la

quantificazione della DAWM, spesso soggetta a una classificazione soggettiva da parte dei clinici<sup>38</sup>; tuttavia, condurre esami con campi magnetici uguali o superiori a 3 T aumenta la sensibilità fino al 64% dei casi, poiché aumenta il tempo di rilassamento T<sub>1</sub>. I pazienti affetti da CIS in cui è stata confermata la presenza di *diffusely abnormal white matter* rispettavano i criteri secondo cui avrebbero contratto forme permanenti di sclerosi multipla e dimostravano un maggior numero di placche iperintense in pesature T<sub>2</sub>. Per quanto non ci sia ancora un riscontro unanime sulla DAWM, studi longitudinali sembrano suggerire che non tenda ad aumentare o a svilupparsi *de novo* durante il decorso della malattia. Al contrario, col tempo tende a diminuire la propria estensione per l'aumento del volume delle placche che hanno un processo patologico ben diverso dalla DAWM. All'interno di quest'ultima non c'è rimielinizzazione né danneggiamento della barriera emato-encefalica, portando all'ipotesi che il processo patologico della DAWM nasca come cronico.

Le sequenze convenzionali mostrano delle alterazioni di segnale in corrispondenza della DAWM: come sopra descritto, è più evidente della NAWM ma meno iperintenso delle placche focali, grazie a un aumento del tempo di rilassamento T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>. Per cogliere le alterazioni strutturali servono sequenze avanzate come ad esempio l'imaging di trasferimento della magnetizzazione e il tensore di diffusione: il primo risulta minore rispetto alla NAWM, inducendo alla perdita assonale e alla demielinizzazione, mentre il secondo risulta maggiore. Ciò coincide coi risultati istologici che affermano una diminuzione dei fosfolipidi nella guaina mielinica, confermate da esami immunocistochimici che dimostrano una diminuzione del Luxol Fast Blue e della colorazione di Weil, entrambi marcatori dei fosfolipidi mielinici<sup>33,38</sup>. Le proteine della mielina sono meno coinvolte nella degenerazione fatta eccezione per la mielina associata a glicoproteina (MAG), responsabile del legame tra mielina e assoni. Infatti, gli esami immunocistochimici confermano una riduzione della colorazione Alcian Blue, che sottintende a una perdita assonale, e la presenza di linfociti T e B<sup>33,38</sup>.

### *Patologia e imaging della sostanza grigia*

Per molti anni la sclerosi multipla è stata descritta come una malattia autoimmune che colpisce unicamente la sostanza bianca, nella quale si riscontrano le tipiche lesioni focali demielinizzanti che causano un danneggiamento neuronale e assonale. Lo sviluppo tecnologico, unito a esami istologici e immunocistochimici, ha apportato nuove e importantissime conoscenze riguardo la sclerosi multipla. In particolare, è stato scoperto che la patologia attacca anche la sostanza grigia, corticale e profonda, colpendo la corteccia cerebrale, la corteccia cerebellare, l'ippocampo e i nuclei della sostanza grigia profonda, con conseguenze severe per quanto riguarda il decadimento cognitivo.

La sostanza grigia compone, insieme alla sostanza bianca, il CNS. Il tessuto è costituito dai corpi dei neuroni, dai dendriti, dalle cellule gliali e da fibre nervose non mielinizzate, motivo per cui inizialmente non era oggetto di studio per la sclerosi multipla. La sostanza grigia corticale riveste i due emisferi cerebrali e avvolge cranialmente la sostanza bianca. Si approfonda nell'encefalo (deep gray matter, DGM) dando vita a strutture quali ippocampo, talamo, e i gangli della base. Le lesioni colpiscono maggiormente l'ippocampo, l'ipotalamo, il talamo e il nucleo caudato. L'atrofia, invece, è più aggressiva a livello di ippocampo e talamo.

### La corteccia cerebrale

La corteccia cerebrale ricopre interamente i due emisferi cerebrali e anch'essa può incorrere in atrofia e allo sviluppo delle placche.

La corteccia cerebrale è soggetta a demielinizzazione: per quanto nelle fasi iniziali non venga comunemente osservata, la severità della demielinizzazione corticale tende ad aumentare col protrarsi della malattia<sup>33,39</sup>. Le placche sono maggiormente riscontrate a livello del giro cingolato e della corteccia temporo-frontale e, come per la WM, possono essere attive, cronicamente attive o croniche e ne esistono di diverse tipologie:

- placche leucocorticali: interessano la GM profonda e coinvolgono la sostanza bianca subcorticale;
- placche intracorticali: lesioni corticali perivascolari, generalmente di piccole dimensioni centrate su vene di piccolo calibro;
- placche subpiali: la loro estensione arriva a coinvolgere la corteccia superficiale e sono associate all'infiammazione delle leptomeningi
- placche subpiali a fascia: si estendono e si approfondano nella corteccia.

Le placche della GM mostrano differenze a livello di distribuzione ed estensione. I soggetti portatori della variazione dell'allele HLADRB1\*15, ad esempio, soffrono di una demielinizzazione più aggressiva, sviluppando un maggior numero di lesioni, una diminuzione di N-acetyl-aspartate e un decadimento cognitivo più severo. Per quanto riguarda invece il grado di infiammazione, le placche della GM contengono meno infiltrati infiammatori delle pacche che colpiscono la WM: i linfociti T sono prevalentemente perivascolari e i linfociti B sono raramente presenti<sup>33</sup>. I linfociti B si trovano con più probabilità nelle infiammazioni delle meningi, che sottostanno alla GM insultata dalle lesioni. La rimielinizzazione è un ulteriore aspetto che si verifica all'interno del panorama patologico della sostanza grigia, frequente soprattutto nel lungo termine. La sostanza bianca, al contrario, presentando un'elevata astrogliosi e maggiori depositi di fibrinogeno, è meno soggetta alla formazione di *neo-*

*mielina* perché il suo elevato stato infiammatorio ostacola la differenziazione oligodendrogliale e quindi il processo di rimielinizzazione.

Il motivo per cui le placche corticali sono state tralasciate per molto tempo nella patologia della SM ricade probabilmente sul fatto che le apparecchiature e le sequenze della risonanza magnetica offrivano in passato una risoluzione di contrasto insufficiente per distinguere le lesioni dall'artefatto da volume parziale causato dalla presenza di liquor nello spazio subaracnoideo<sup>39</sup>. Sequenze come la diffusione (DWI), il tensore di diffusione (DTI) e la double inversion recovery (DIR), hanno permesso di quantificare le lesioni corticali *in vivo*. La DIR, in particolare, abbattendo il segnale della sostanza bianca e del liquido cerebrospinale consente una visualizzazione ottimale delle lesioni corticali, motivo per cui è stata inserita nel protocollo standard di risonanza magnetica per lo studio della sclerosi multipla<sup>11,39</sup>.

### L'ippocampo

L'ippocampo è una struttura anatomica pari che fa parte della sostanza grigia profonda e si localizza all'interno dei lobi temporali. È costituito dall'ippocampo stesso, dal giro dentato e dal subicolo. Insieme al nucleo caudato e al talamo, l'ippocampo è la struttura della sostanza grigia profonda maggiormente colpita dalle placche e dall'atrofia. Le lesioni si localizzano profondamente nell'ippocampo e nelle interfacce tra sostanza bianca e sostanza grigia e sono prevalentemente croniche, confermando che generalmente nella GM il grado di infiammazione è minore rispetto a quello presente nella WM. Le placche acute contengono prevalentemente microglia e linfociti T CD3+, riscontrati anche a livello dei plessi corioidei<sup>3,36</sup>.

Le funzioni dell'ippocampo riguardano principalmente la memoria, anche spaziale, e l'emotività. Studi istopatologici confermano un interessamento massivo della struttura nella sclerosi multipla, riportando demielinizzazione, perdita neuronale e una maggiore perdita sinaptica<sup>33</sup>. La risonanza magnetica ha permesso di associare che a una riduzione di volume nella regione CA1 corrisponde un deficit nella memoria verbale, mentre una perdita di volume nella regione CA3 è associata con la depressione<sup>40</sup>. L'atrofia può provocare anche amnesia anterograda, amnesia retrograda, diminuzione della velocità di elaborazione e schizofrenia.

La valutazione morfologica dell'ippocampo è di fondamentale importanza: grazie alla sua plasticità strutturale e funzionale l'ippocampo può essere un target adatto per la riabilitazione cognitiva in cui esercizi mirati hanno apportato miglioramenti alla memoria in pazienti con decadimento cognitivo medio.



## I gangli della base

I gangli o nuclei della base sono raggruppamenti della sostanza grigia all'interno degli emisferi cerebrali che circondano i ventricoli. Sono costituiti da più strutture quali il nucleo caudato, il putamen, lo striato ventrale, il globus pallidus, la substantia nigra e il nucleo subtalamico.

Le placche focali sono state documentate su tutte le strutture della DGM, ma sono molto più comuni nel nucleo caudato nel talamo e nell'ipotalamo. Risultano meno frequenti all'interno del putamen e del globus pallidus, ma bisogna considerare che le strutture della sostanza grigia profonda necessitano di campi magnetici elevati (7 T) per dimostrare al meglio la loro patologia focale<sup>40</sup>. Esami immunoistochimici condotti nello studio di Heider, L. *et al.* hanno quantificato 1309 aree di lesioni in una coorte di 31 pazienti affetti da SM, a livello del nucleo caudato, del putamen e del globus pallidus; lo stato infiammatorio delle lesioni attive risulta intermedio tra la patologia focale della sostanza bianca e quella della sostanza grigia corticale<sup>41</sup>. Il meccanismo retrostante alla formazione delle placche a livello della DGM è tuttora dibattuto, ma studi recenti suggeriscono che dietro alla demielinizzazione della WM e della GM agiscono i danneggiamenti mitocondriali e lo stress ossidativo. Quest'ultimo è amplificato dai depositi di ferro che, in soggetti sani, si accumula fisiologicamente con l'età. In pazienti affetti da SM, l'accumulo di ferro è stato registrato prevalentemente nei nuclei della base attaccati dalle placche demielinizzanti: nel 50% delle cellule, tra cui oligodendrociti, microglia, neuroni e astrociti, Heider et al. hanno riscontrato depositi di ferro maggiori rispetto ai soggetti sani; come per questi ultimi, anche nei pazienti con sclerosi multipla l'accumulo di ferro aumenta con l'età. La loro esistenza è principalmente dovuta al danneggiamento degli oligodendrociti, che provoca un elevato *turnover* della microglia. Tuttavia, non c'è ancora un verdetto finale che affermi se i depositi ferrosi siano causa o conseguenza dell'atrofia<sup>40,41</sup>.

La riduzione di volume, e quindi uno stato generale atrofico, è stata documentata in diversi studi. L'atrofia colpisce soprattutto il nucleo caudato e il talamo, soprattutto nelle forme di sclerosi multipla primariamente progressiva<sup>42</sup>.

Per lo studio morfologico della sostanza grigia profonda, le sequenze standard sono le 3D ponderate in T<sub>2</sub>, T<sub>2</sub>-FLAIR e T<sub>1</sub>: le prime permettono l'identificazione delle placche focali, mentre la terza offre una panoramica anatomica e segmentazioni per valutazioni volumetriche. Sequenze adatte per lo studio del grado di demielinizzazione e dei depositi di ferro sono le T<sub>2</sub><sup>\*</sup>, come ad esempio la susceptibility weighted imaging (SWI)<sup>11,41</sup>.

## Il talamo

Il talamo è una struttura pari facente parte del diencefalo e localizzato caudalmente ai ventricoli laterali. La sua struttura è suddivisa in regioni nucleate attraverso lamine di sostanza bianca e ogni

regione funge da centro di raccolta e smistamento delle connessioni da e verso la corteccia cerebrale. Questo rende il talamo una delle strutture determinanti per lo stato cognitivo di un individuo grazie al suo ruolo centrale nelle competenze motorie, sensitive e di memoria.

Nella patologia della sclerosi multipla, il talamo è la struttura della DGM maggiormente danneggiata dalle lesioni e dall'atrofia. Le placche dimostrano una perdita neuronale, demielinizzazione e transezione assonale e la collaborazione tra gli esami di RM e quelli istologici ne hanno evidenziato due tipologie<sup>33,40</sup>:

- *placche subependimali*: confinano con le superfici dei ventricoli laterali e del terzo ventricolo e sono più difficili da visualizzare, perché nascono come una sottile linea di demielinizzazione che abbraccia il confine periventricolare;
- *placche perivascolari*: hanno una forma tipicamente ovoidale e sono numericamente maggiori delle lesioni subependimali; si localizzano generalmente con il centro della placca sul lume di un vaso sanguigno.

Come per le altre strutture della DGM, il talamo dimostra uno stato di infiammazione intermedio tra la WM e la GM corticale, mostrando attraverso esami immunohistochimici la presenza di microglia e macrofagi.

Rispetto ai nuclei della base, il talamo presenta una riduzione del ferro nelle sequenze ponderate in T<sub>2</sub>\*. Tuttavia, questo dato potrebbe rappresentare anche una diminuzione della mielina o essere una conseguenza dell'atrofia<sup>40,42</sup>; inoltre, esistono studi che riportano un aumento dei depositi del ferro nel talamo ma che potrebbero derivare da una diminuzione dei tessuti privi di ferro che mimano un aumento del ferro stesso.

L'atrofia del talamo è una caratteristica della patologia della SM unanimemente condivisa dalla comunità scientifica. Le maggiori perdite di volume si riscontrano nelle regioni anteriori, ventrali, nel pulvinar, e le conseguenze sul decadimento cognitivo e nello sviluppo di disabilità sono forse le più severe<sup>33,40,42</sup>.

Con la risonanza magnetica, uno studio completo per il talamo prevede l'utilizzo di sequenze anatomiche come la T<sub>1</sub>, la T<sub>2</sub> a completamento, sempre utile per l'identificazioni di placche attive iperintense, e sequenze di trasferimento di magnetizzazione, sensibile alla demielinizzazione della DGM e utile per la segmentazione anatomica del talamo. Attraverso la DWI si può ottenere una valutazione del danno microstrutturale che causa una perdita delle barriere membranose e fibro-nervose aumentando la diffusione dell'acqua<sup>42</sup>.

## La perdita assonale

Il danneggiamento assonale, precedente alla perdita assonale, sono esiti universalmente riconosciuti nel mondo della sclerosi multipla. La degenerazione assonale può manifestarsi nei primissimi esordi della malattia o nel lungo termine e colpisce sia la *normal appearing white matter* che la *diffusely abnormal white matter*; questo porta alla conclusione che la degenerazione assonale non dipende solamente dall'esistenza e dall'azione distruttiva delle placche. Generalmente, vengono attaccati gli assoni con un diametro minore e, tra questi, la maggior parte risiedono nelle fibre del corpo calloso<sup>33</sup>. La perdita assonale nella sclerosi multipla deriva dal processo di demielinizzazione causato dalle placche, ma la causa è multifattoriale. Le lesioni attive raccolgono al loro interno i linfociti e, di questi, quelli esprimenti CD4+ e CD8+ sono stati dimostrati neurotossici *in vitro*. Il contatto con i linfociti T danneggia gli assoni fino a distruggerli, con la conseguente attivazione della microglia che aumenta lo stato infiammatorio locale. La perdita assonale è uno dei fattori più importanti quando si determina il decadimento cognitivo e la sua entità è variabile da lesione a lesione anche nello stesso soggetto<sup>3,36</sup>.

Esistono anche delle conseguenze a lungo termine derivanti dal processo di demielinizzazione e determinanti per il danneggiamento assonale. La redistribuzione dei canali ionici, la mancata regolazione dei livelli di sodio e calcio, fondamentali per la creazione e propagazione del potenziale di azione, il danneggiamento cronico del metabolismo mitocondriale, con conseguente stress ossidativo altamente infiammatorio per il tessuto sensibile dell'encefalo e inefficienza energetica per le cellule, e la scorretta omeostasi del ferro sono alcune delle gravi conseguenze che si manifestano conseguentemente all'attivazione delle placche<sup>33</sup>.

## L'atrofia

L'atrofia cerebrale è un esito comune nei pazienti affetti da sclerosi multipla e comporta decadimento cognitivo e demenza. Nel tempo, i pazienti dimostrano una riduzione del volume cerebrale molto più rapida rispetto a coetanei sani. La causa dell'atrofia cerebrale non è stata definita a livello unanime, ad oggi si pensa che sia multifattoriale. Gli infiltrati infiammatori perivascolari e parenchimali, la microglia, la gliosi e una diffusa rarefazione della mielina e degli assoni danno luogo a un'atrofia generale che colpisce sia la sostanza bianca che la sostanza grigia. Un altro fattore eziopatogenetico dell'atrofia è la degenerazione di tipo walleriana<sup>33</sup>, che si verifica in seguito al danneggiamento assonale da parte delle placche demielinizzanti e che comprende tutti quei cambiamenti stereotipati che vengono messi in atto nel momento in cui viene meno l'integrità dell'assone stesso, tra cui la

retrazione mielinica ai nodi di Ranvier, la frammentazione dei neurofilamenti e dei neurotubuli e la digestione della mielina per azione dei macrofagi.

L'atrofia cerebrale incide particolarmente in pazienti con SP-MS e PP-MS, ma viene riscontrata anche in pazienti alle prese con l'esordio della malattia, dato che porta a pensare che il meccanismo sottostante all'atrofia sia più complesso<sup>40</sup>. Tra tutte le forme di sclerosi multipla, quella secondariamente progressiva mostra una degenerazione globale più veloce, portando il volume cerebrale a una diminuzione dello 0,6% annuo<sup>43</sup>.

Nello studio condotto da Enshaghi, A. et al. hanno dimostrato che, all'interno della coorte definita da più di 3.000 pazienti, tutte le forme di sclerosi multipla riportano una GM corticale e profonda significativamente ridotta nel volume, con una velocità degenerativa maggiore a livello della corteccia temporale<sup>43</sup>. L'atrofia che coinvolge la corteccia cerebrale deriva probabilmente dalla formazione delle placche a livello della WM, con un ruolo concomitante, anche se relativo, del danneggiamento microstrutturale locale<sup>42</sup>.

Secondo Ontaneda, D. et al. la riduzione del volume si verifica primariamente a livello della sostanza grigia profonda e solo in seguito affligge l'intero encefalo diventando visibile e misurabile<sup>40,43</sup>. Il meccanismo sottostante al processo di involuzione potrebbe risiedere nella degenerazione retrograda e anterograda degli assoni della WM. Nello studio condotto da Pontillo, G. et al. uno stato generale di atrofia cerebrale è evidenziato in tutte le strutture encefaliche, ma quelle maggiormente colpite risultano essere il talamo e il nucleo caudato<sup>42</sup>; nei pazienti con PP-SM la struttura che incorre più velocemente in atrofia è il putamen<sup>43</sup>. La disabilità e il decadimento cognitivo sono correlati maggiormente al grado di atrofia più che al numero delle lesioni attive<sup>33</sup> e la frazione di parenchima cerebrale (brain parenchymal fraction, BPF) è significativamente ridotto nei pazienti affetti da SM. La sostanza bianca, d'altro canto, non mostra una significativa perdita di volume e nella CIS appare ancora volumetricamente intatta.

L'atrofia viene studiata con sequenze convenzionali di risonanza magnetica, tra cui sequenze anatomiche con pesatura T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>, che mostrano un ingrandimento dei solchi corticali e un aumento del volume dei ventricoli cerebrali. Di particolare importanza diagnostica è l'ingrandimento del terzo ventricolo, che dimostra una conseguente atrofia talamica<sup>44</sup>.

### 5.3 Gli esiti della neurodegenerazione: il decadimento cognitivo e la disabilità

Il decadimento cognitivo (cognitive impairment, CI) si manifesta nella maggioranza dei pazienti affetti da sclerosi multipla e può essere rilevata fin dai primissimi stadi della malattia<sup>33</sup>. Il CI è inoltre un componente importante all'interno del panorama della disabilità nella SM. Nel tempo sono state

analizzate tutte le possibili variabili che possono fungere da fattori predittivi per quanto riguarda il decadimento cognitivo e i risultati sono controversi: non sempre la patologia è concorde con lo status cognitivo dell'individuo, e pazienti che condividono la stessa durata della malattia possono avere gradi di disabilità completamente diversi. Occorre capire la complicata interconnessione che esiste tra le lesioni della sostanza bianca, l'atrofia che colpisce la sostanza grigia e il decadimento cognitivo che ne deriva per cercare di comprendere al meglio le cause del CI. La demenza rilevata nei pazienti affetti da SM induce a una perdita nella velocità di elaborazione, difficoltà e deterioramento delle funzioni esecutive, affligge la capacità di memoria e induce nel tempo a un quadro di bradifrenia. Risultati diversi dalla demenza che, ad esempio, si verifica nei soggetti affetti dal morbo di Alzheimer, i quali soffrono di afasia, aprassia e agnosia.

La comunità scientifica riconosce ad oggi che la sclerosi multipla affligge sia la sostanza bianca che la sostanza grigia a livello dell'intero sistema nervoso centrale. Il modo in cui queste due realtà siano collegate temporalmente e spazialmente non è del tutto chiaro ad oggi, ma tra le varie forme di SM, quella recidivante-remittente mostra la maggior associazione tra le lesioni e l'atrofia, rispettando la proporzione secondo cui un maggior numero di lesioni coesiste con un grado maggiore di atrofia<sup>45</sup>.

Le lesioni della WM, con la conseguente distruzione delle fibre nervose e la perdita delle connessioni tra le varie strutture cerebrali, sono state ritenute la maggiore, se non la singola, causa del deterioramento cognitivo e in particolar modo del rallentamento nella velocità di elaborazione e di produzione orale<sup>44</sup>. Tuttavia, studi recenti riportano che l'atrofia della GM è maggiormente correlata al CI e che questo sia associato sia alla patologia corticale che a quella subcorticale. Studi longitudinali dimostrano che col tempo il CI aumenta ed è maggiormente severo nelle forme di SM progressive<sup>40,43</sup>, che agli esami di RM esprimono un'atrofia più diffusa rispetto alla CIS o alla RR-SM. Questo dato conferma che la l'atrofia della GM ha conseguenze dirette e severe sullo status psico-motorio dei soggetti e che la degenerazione della sostanza grigia si verifica sia come evento secondario all'infiammazione della WM, sia come malattia primaria che nasce all'interno della GM<sup>45</sup>. Nello studio condotto da Pellicano, C. et al. è stato dimostrato che l'atrofia che colpisce la NAWM incide significativamente sul deterioramento delle funzioni cognitive, impattando la velocità di elaborazione e di richiamo<sup>46</sup>.

La corteccia cerebrale è danneggiata sia dalle placche che dall'atrofia. Le lesioni localizzate sul giro frontale danneggiano la memoria. L'atrofia della corteccia è stata rilevata in tutte le forme di sclerosi multipla<sup>43</sup>; quella che si verifica nella GM prefrontale, temporale e parietale rallentano considerevolmente la velocità di elaborazione, dimostrabile clinicamente col test PASAT<sup>46</sup>. La riduzione di volume della corteccia fronto-temporale inficia inoltre la memoria di lavoro verbale<sup>44</sup>.

Nelle forme di SP-MS la degenerazione della corteccia temporale è più veloce rispetto alla RR-SM, mentre la degenerazione della corteccia parietale è più veloce rispetto ai soggetti affetti da CIS<sup>43</sup>.

L'atrofia dell'ippocampo è associata a disturbi dell'umore come la depressione e a malattie psichiatriche come la schizofrenia, oltre a danneggiamenti della memoria a breve e lungo termine e visiva. Inoltre, risulta deteriorata anche la memoria emotiva attraverso il danneggiamento dell'amigdala<sup>33</sup>.

L'atrofia del talamo risulta essere uno dei fattori più importanti per la prognosi del paziente. Infatti, la baseline del volume talamico (ridotto) è quella che, nello studio condotto da Eshaghi, A. et al. ha il valore predittivo più alto nella scala Expanded-Disability Status Scale (EDSS), a differenza del volume della corteccia cerebrale che non riporta grandi valori prognostici sulla disabilità del paziente<sup>43</sup>. La riduzione del volume in questa struttura della DGM comporta rallentamento nella velocità di elaborazione e di fluenza verbale e decadimento delle funzioni esecutive<sup>33,40,43</sup>.

# CAPITOLO VI. LA PERFUSIONE NELLA SCLEROSI MULTIPLA

## 6.1 Alterazioni perfusionali in pazienti affetti da sclerosi multipla

La sclerosi multipla è stata a lungo descritta come una malattia neurodegenerativa immuno-mediata a carico della sostanza bianca. Il focus dei clinici si è concentrato soprattutto sulle lesioni demielinizzanti che colpiscono la WM perchè facilmente osservabili con sequenze di risonanza magnetica frequentemente utilizzate quali la T<sub>2</sub>-FLAIR, capace di mostrare le placche iperintense, e studi con mezzo di contrasto, in grado di quantificare lo stato infiammatorio delle lesioni attraverso l'accumulo di gadolinio in corrispondenza di esse. Negli ultimi decenni la panoramica sulla patologia della SM si è fatta più ampia. Attraverso l'analisi dei tessuti con esami immunoistochimici in collaborazione con l'utilizzo di nuove sequenze di RM (ad esempio la DIR<sup>11</sup>), si è compreso che la formazione delle placche si estende anche alla sostanza grigia, sia corticale che profonda.

Ad oggi il declino cognitivo è riconosciuto come uno dei sintomi della SM e colpisce fino al 70% dei pazienti<sup>33,40,43,44</sup>, che sperimentano danneggiamenti della memoria, della fluency verbale, della velocità di elaborazione e delle funzioni esecutive<sup>33,34,47</sup>. Il deterioramento delle funzionalità cognitive è stato riscontrato a livello anatomico da presenza di atrofia e di variazione della perfusione in varie strutture cerebrali. Comprendere il meccanismo che risiede alla base di questo decadimento è fondamentale per predire la prognosi del paziente e per scegliere la strategia terapeutica più consona. L'applicazione di tecniche quantitative di risonanza magnetica ha quindi dimostrato che oltre alla presenza delle placche e dell'atrofia, la perfusione cerebrale è un predittore prezioso, anche e soprattutto perchè esistono delle alterazioni microstrutturali a livello non solo delle lesioni, ma anche della normal appearing white matter<sup>48</sup>. Rispetto alla perfusione, l'atrofia, localizzata principalmente al livello della corteccia cerebrale, è rilevabile in uno stadio piuttosto avanzato della malattia<sup>40,43</sup>: la variazione volumetrica non è sempre apprezzata agli esordi della SM e di conseguenza non può avere un valore predittivo. D'altro canto, le sequenze RM pesate in perfusione (PWI) rilevano variazioni anche in assenza di alterazioni strutturali<sup>37,47</sup>. Infatti, una perfusione anomala può essere rilevata in strutture che non sono colpite da atrofia e che non presentano placche demielinizzanti: nello studio condotto da Wuerfel, J. et al. è stato dimostrato con la sequenza pesata in diffusione (DWI) che variazioni locali di perfusione precedevano la formazione di placche di settimane<sup>49</sup>. Le alterazioni rilevate con il coefficiente apparente di diffusione (ADC) riflettono cambiamenti patologici a carico del tessuto cerebrale dovuti alla mutata diffusività dei compartimenti intra- ed extra-cellulari. Ad oggi non è ancora chiaro se le alterazioni perfusionali siano un evento primario della malattia o se siano

conseguenze dovute all'atrofia o alla degenerazione di tipo Walleriana<sup>48</sup>, ma la perfusione è un indice generale dell'ossigenazione e del metabolismo cerebrale, che indirettamente può corrispondere al grado di neurodegenerazione.

#### *Pattern perfusorio delle placche*

Le alterazioni perfusionali cerebrali variano tra i vari fenotipi della sclerosi multipla, ma si possono comunque individuare dei pattern di variazione comuni tra i pazienti. Le lesioni, ad esempio, mostrano un aumento del flusso e del volume ematico cerebrale del 20% prima che le placche siano effettivamente visibili, mostrando un innalzamento della baseline. L'aumento del CBV e del CBF arriva al 25% quando attraverso la sequenza dynamic susceptibility contrast si verifica un enhancement di gadolinio<sup>49</sup>. Le placche ad anello, o smoldering, mostrano la stessa evoluzione in corrispondenza dell'orlo iperintenso, lì dove si concentrano macrofagi, linfociti e microglia, con la differenza che l'accumulo si verifica con un andamento centripeto rispetto alle prime che mostrano un enhancement centrifugo. La sensibilità delle sequenze di perfusione in riferimento alle placche è dovuta al grado di infiammazione che induce vasodilatazione e/o angiogenesi con un conseguente apporto maggiore di sangue se si tratta di infiammazione acuta. Al contrario i black holes, ovvero le lesioni che appaiono ipointense nelle sequenze pesate in T1, mostrano una riduzione del CBV che corrisponde alla perdita assonale, che a sua volta riflette un metabolismo sempre meno attivo per una minor richiesta di ossigeno<sup>37</sup>. Di conseguenza, un aumento di perfusione è inteso come un indice di infiammazione che produce una vasodilatazione locale, mentre una riduzione perfusionale sottintende allo sviluppo di cicatrici gliotiche ipometaboliche<sup>49,50</sup>.

Questo comportamento si riscontra sia a livello delle lesioni nella sostanza bianca che delle lesioni localizzate nella sostanza grigia<sup>51</sup>.

#### *Pattern perfusorio di WM e GM*

Diversi studi riportano una diminuzione dei valori CBF e CBV nella NAWM, che dimostra invece un aumento del mean transit time rispetto ai soggetti sani. La perfusione negli spazi periventricolari della WM risulta maggiormente ridotta nelle forme di sclerosi multipla progressiva rispetto al fenotipo recidivante-remittente<sup>37,48</sup>, ma l'ipoperfusione è stata riscontrata anche in pazienti con la sindrome clinicamente isolata<sup>37</sup>. Questo conduce all'ipotesi che le variazioni perfusionali della sostanza bianca si manifestano anche agli esordi della malattia. In particolare, pazienti affetti da CIS riportano una diminuzione del flusso, ma non dimostrano grandi differenze rispetto ai soggetti sani nè del CBV nè del MTT.



La perfusione risulta alterata anche in corrispondenza della sostanza grigia corticale e della GM profonda: rispetto ai soggetti sani è stata rilevata un'ipoperfusione in corrispondenza del talamo, dei nuclei striati e dell'ippocampo in pazienti affetti da RR-SM che non mostravano atrofia.

Nello studio condotto da Mulholland, A. et al. è stato valutato, attraverso una coorte di pazienti affetti da sclerosi multipla secondariamente progressiva e recidivante remittente, se l'atrofia corrispondesse a livello spaziale alle variazioni di perfusione, rilevate attraverso sequenze di echo-planar imaging con la tecnica DSC<sup>52</sup>. La corrispondenza tra il volume della WM e della GM corticale rispetto alla perfusione è stata ritenuta debole. In particolare, i pazienti con SMSP mostravano atrofia sia nel lobo occipitale della WM che nel lobo temporale della GM. La riduzione volumetrica era maggiore rispetto ai pazienti con SM-RR, ma entrambi i fenotipi presentavano un grado di atrofia più avanzato rispetto ai soggetti sani. La perfusione è risultata maggiormente ridotta nella GM corticale dei lobi frontali soprattutto nelle forme secondariamente progressive, ma l'ipoperfusione globale della NAWM e della GM corticale è stata rilevata in entrambi i gruppi di pazienti. La mancata correlazione spaziale tra i risultati perfusionali e le misure volumetriche suggeriscono che la perfusione possa essere un meccanismo patologico indipendente nella sclerosi multipla.

Il risultato è concorde con quanto dimostrato da Mascali, D. et al. che riporta una riduzione volumetrica locale a livello del talamo e dei nuclei della base, ma un'atrofia globale della GM non significativa<sup>53</sup>; al contrario è stata rilevata un'ipoperfusione diffusa, dato che suggerisce che i cambiamenti di perfusione nei pazienti non dipendono interamente dai cambiamenti nel volume del tessuto e che i due fenomeni possono svilupparsi su scale temporali diverse. A livello temporale, sembra quindi che l'ipoperfusione sia precedente agli altri danni tissutali indotti dalla malattia.

Altri studi affermano che nelle forme primariamente progressive la NAWM e la NAGM presentano un'ipoperfusione correlata a una riduzione del CBV e del CBF soprattutto a livello dei lobi frontali e delle zone periventricolari<sup>37,48</sup>, indicando che probabilmente le alterazioni perfusionali aumentano con l'aggressività del fenotipo<sup>37</sup>.

La maggior parte degli studi riportano, quindi, un aumento del CBV e del CBF in corrispondenza delle placche attive, e una riduzione degli stessi valori nella sostanza bianca apparentemente normale e nella sostanza grigia corticale e profonda<sup>37,48,52</sup>.

#### *Variazioni perfusionali, disabilità e declino cognitivo*

La disabilità può essere considerata attraverso criteri di valutazione diversi. Negli studi qui presentati sono state utilizzate la Scala di Invalidità Espansa (Expanded Disability Status Scale, EDSS) lo score di gravità della sclerosi multipla (Multiple Sclerosis Severity Score, MSSS) e il Multiple Sclerosis

Functional Composite (MSFC), oltre alle batterie di test neuropsicologici già nominate come la MACFIMS.

Il MSSS corrisponde alla EDSS normalizzata rispetto alla durata della malattia, mentre il MSFC contiene tre test, due per la valutazione motoria degli arti superiori e uno, il PASAT, che analizza il decadimento cognitivo presente anche nel MACFIMS.

Secondo Laganà, M. et al. il 58% delle pubblicazioni riportano che una diminuzione del CBV, riscontrata con studi perfusionali quali DSC, DCE e ASL, trova riscontro con la disabilità fisica espressa con EDSS<sup>48</sup>. In particolare, la severità della disabilità fisica è associata con aree ipoperfuse e tempi di transito allungati. Attraverso l'utilizzo della DSC, l'indice MTT normalizzato ha dimostrato una correlazione con la disabilità, espressa con la scala valutativa MSSS: i pazienti che presentavano una baseline più bassa riportavano un grado di deterioramento fisico maggiore<sup>54</sup>.

Anche il decadimento cognitivo è stato evidenziato in soggetti che mostravano un'ipoperfusione diffusa a livello della sostanza grigia e della sostanza bianca<sup>48</sup>. Nello studio condotto da Hojjat, S-P. et al. la perfusione nei pazienti affetti da SM-RR risultava ridotta rispetto ai soggetti sani<sup>51</sup>. L'ipoperfusione di NAWM e NAGM era maggiore nei pazienti che riportavano anche decadimento cognitivo, valutato attraverso il MACFIMS.

La correlazione tra decadimento cognitivo e perfusione in pazienti con SM-RR è stata rilevata anche su precise aree cerebrali<sup>48</sup>: la memoria di lavoro e le funzioni esecutive sono ridotte in pazienti che dimostrano ipoperfusione nei lobi frontali. La memoria, valutata col test California Verbal Learning Test (CVLT), risulta danneggiata anche in pazienti che presentano un ridotto CBV nel giro frontale e paracentrale. Nei fenotipi di SM-SP, il ridotto volume ematico cerebrale riscontrato in regioni superiore frontale, medio frontale e inferiore frontale è stato ritenuto predittore di un declino cognitivo generale. L'ipoperfusione del giro frontale per questa tipologia di sclerosi multipla ha trovato riscontro nel test SDMT della batteria MACFIMS<sup>48</sup>.

Come visto per l'atrofia, anche la diminuzione della perfusione a livello della sostanza grigia profonda porta i pazienti a vivere un deterioramento delle loro capacità verbali e di memoria. In particolari, aree quali i gangli della base e il talamo sembrano avere la maggior correlazione con i risultati dei test Brief Visual Spatial Memory Test e CVLT<sup>48</sup>.

Si può dedurre che nonostante le innumerevoli varianti tra gli studi, come ad esempio il fenotipo di sclerosi multipla, i protocolli di acquisizioni per gli studi perfusionali e i test neuropsicologici applicati, questi riportano che il peggioramento delle funzionalità cognitive sia legato all'ipoperfusione, globale o locale, per tutte le forme di SM<sup>37,47,48,51,52</sup> a differenza della CIS, in cui è stato rilevato che un peggioramento della memoria corrispondesse a un aumento del flusso ematico

cerebrale. Il dato, tuttavia, può essere contestualizzato all'esordio della patologia che prevede un'inflammatione acuta con conseguente vasodilatazione.

## 6.2 Tecniche di imaging della perfusione

L'imaging perfusionale (PWI) ottenuto con la risonanza magnetica offre una vasta gamma di informazioni per quanto riguarda la fisiopatologia della sclerosi multipla. Sono ottenibili indicazioni cliniche riguardanti:

- Metabolismo delle placche attive → le lesioni neoformate sono caratterizzate da uno stato infiammatorio acuto che incide sulla vasodilatazione e la neoangiogenesi;
- Caratterizzazione delle placche → il pattern perfusorio presentato dalle placche varia a seconda dello stato infiammatorio di quest'ultime. Le placche ad anello presentano un wash-in centripeto e un'iperintensità localizzata sull'orlo dell'anello. I black hole, che sono i risultati di zone demielinizzate, non si presentano nelle sequenze PWI indicando un tessuto irreversibilmente danneggiato e metabolicamente inattivo;
- Valutazione delle variazioni perfusionali → La variazione della perfusione si localizza in diverse aree cerebrali e l'origine ha diversi significati. Una variazione di perfusione può presentarsi prima della formazione di una placca oppure può corrispondere a un'area atrofica e quindi indicare un tessuto con una significativa perdita assonale oppure può presentarsi ex novo e non essere collegata ad altre concause, indicando che l'ipoperfusione possa essere un sintomo a sè stante nella patologia della sclerosi multipla.

Le sequenze che permettono di ottenere informazioni sulla perfusione sono prevalentemente la Dynamic Susceptibility Contrast, la Dynamic Contrast Enhancement e l'Arterial Spin Labeling.

### *Dynamic Susceptibility Contrast*

La DSC è la tecnica maggiormente affermata e utilizzata, soprattutto in neuroradiologia. Necessita della somministrazione di un agente esogeno per via endovenosa che funge da mezzo di contrasto, solitamente un chelato del gadolinio. Le immagini vengono maggiormente acquisite con sequenze di echo-planar imaging gradient echo<sup>8</sup> e sono di conseguenza determinate da una pesatura T2\*. La perfusione viene registrata con un riempimento del k-spazio garantito all'interno di un unico TR (single shot). All'arrivo del mezzo di contrasto i vasi e il tessuto circostante diventano paramagnetici inducendo una disomogeneità di campo che si traduce con un vuoto di segnale. Il volume viene

acquisito più volte per permettere lo studio della dinamica del mezzo di contrasto portando il tempo acquisizione a 1-3 minuti<sup>37</sup>. Attraverso funzioni di post-processing si possono ottenere mappe perfusionali con valori relativi al CBV, al CBF e al MTT. Rispetto alle altre tecniche di perfusione, la DSC ha un *signal-to-noise-ratio* maggiore, permette acquisizioni con voxel minori riducendo gli artefatti da volume parziale tra la sostanza grigia corticale e la sostanza bianca sottostante e ha un tempo di scansione minore, riducendo di conseguenza gli artefatti da movimento. Le misurazioni ottenute con la tecnica DSC presentano molte variabili sotto il punto di vista sia tecnico-tecnologico che biologico. Al fine di comparare gli indici di perfusione tra i vari individui, si rende necessario normalizzare il valore attraverso il calcolo del rapporto di perfusione rilevata in due differenti aree cerebrali dello stesso soggetto<sup>54</sup>. Nello studio per sclerosi multipla la normalizzazione viene eseguita soprattutto tra il pattern perfusorio registrato nelle placche e le porzioni di NAWM controlaterali.

#### *Dynamic Contrast Enhancement*

Anche la tecnica DCE prevede la somministrazione del mezzo di contrasto, ma basa il suo meccanismo sulla significativa riduzione che il gadolinio induce al tempo di recupero della magnetizzazione longitudinale dei tessuti. La DCE fornisce, quindi, multiple acquisizioni di sequenze ponderate in T1 caratterizzate da un'elevata risoluzione temporale per seguire il primo passaggio del bolo di gadolinio, in modo tale da visualizzarlo a livello intravascolare<sup>37</sup>. Il tempo di scansione varia tra i 4 e gli 8 minuti, maggiore rispetto alla DSC. Le informazioni ricavabili descrivono caratteristiche fisiologiche dei tessuti quali il prodotto di superficie della permeabilità della barriera e gli indici di volume e il flusso ematico cerebrale, ma la DSC ha una sensibilità maggiore per questi parametri perfusori<sup>55</sup>. La DCE è da prediligere nel momento in cui si vuole valutare l'integrità della BEE; pertanto, lo studio perfusionale con DCE nella SM non è comune<sup>37,55</sup>.

Nello studio condotto da Ingrisch, M. et al. è stata utilizzata la Dynamic Contrast Enhancement per valutare la perfusione della NAWM in pazienti affetti da SM-RR<sup>56</sup> e, a differenza della maggioranza degli studi, non hanno riportato alcuna ipoperfusione. Studi futuri potrebbero approfondire sulla sensibilità della sequenza e sulle sue possibili applicazioni cliniche riguardanti la sclerosi multipla.

### 6.3 L'Arterial Spin Labeling applicata alla sclerosi multipla

La sequenza Arterial Spin Labeling traccia gli spin protonici precedentemente marcati e li rileva nel letto capillare. La sequenza prevede uno slab perpendicolare alle arterie afferenti dove vengono inviati impulsi a radiofrequenza per ribaltare la magnetizzazione longitudinale dei protoni<sup>17-19</sup>. Dopo aver aspettato un tempo necessario affinché il sangue arterioso raggiunga il letto capillare, si acquisisce l'immagine di perfusione che viene poi sottratta a un'immagine maschera priva di impulsi

di saturazione. Il risultato è un'immagine che mostra il segnale proveniente solo dagli spin marcati, da cui si può ottenere la misurazione del CBF.

Il grande vantaggio di questa tecnica perfusionale consiste nel non dover somministrare per via endovenosa alcun mezzo di contrasto. Essendo assolutamente non-invasiva, l'ASL permette ai pazienti di non doversi sottoporre agli esami ematochimici per la valutazione dei valori renali (quali creatinina e velocità di filtrazione glomerulare) e di evitare che il gadolinio si depositi nel tempo a livello dei nuclei dentati e del globus pallidus<sup>13</sup>. Inoltre, rimuove tutti i possibili contrasti etici che si possono presentare nel momento in cui la sclerosi multipla si manifesta nei pazienti pediatrici, popolazione che ricopre circa il 5% dei casi di SM.

L'ASL è stata utilizzata per lo studio delle variazioni perfusionali causate dalla sclerosi multipla. Nello studio condotto da de la Peña, MJ. et al. l'ASL è stata utilizzata per quantificare le placche, il CBF e il tempo di transito arterioso (ATT) in pazienti affetti da SM-RR e SM-SP<sup>47</sup>. I risultati hanno dimostrato un'ipoperfusione a livello del giro supero-frontale, medio-frontale e infero-frontale. Anche il talamo ha presentato un flusso ematico ridotto rispetto agli individui sani. Il CBF era minore nei pazienti con fenotipo secondariamente progressivo, in accordo con un grado di disabilità e decadimento cognitivo maggiore rispetto ai pazienti con SM-RR, ma non è stata riscontrata una correlazione tra i valori del flusso ematico nè con la scala EDSS nè col Symbol Digit Modality Test. Tuttavia, i risultati ottenuti con l'ASL mostrano variazioni di perfusione in aree non atrofiche, dato che può condurre all'ipotesi che anche con questa tecnica si possono rilevare alterazioni precoci.

Nello studio longitudinale condotto da Testud, B. et al. l'ASL è stata utilizzata per la valutazione del CBF della GM corticale in una coorte di pazienti affetti da SM primariamente progressiva<sup>50</sup>. I risultati sono stati messi in relazione con la scala valutativa EDSS e al SMDT. Durante i follow-up è stato registrato una lieve riduzione del flusso ematico nella corteccia frontale e occipitale, associata a un punteggio maggiore nella scala EDSS; viene riportato tuttavia una correlazione inversa tra CBF e SMDT nella corteccia del cingolo e in alcune regioni frontali. Inoltre, le alterazioni perfusionali tra i pazienti e i soggetti sani sono state ritenute non significative.

Nella revisione condotta da Laganà, MM. et al. sono state valutate varie tecniche di imaging PWI in correlazione con il grado di disabilità e di decadimento cognitivo presentati dai pazienti<sup>48</sup>. Per quanto riguarda gli studi condotti con l'ASL, sono state riscontrate associazioni tra disabilità e il CBF soprattutto nelle aree dei lobi frontali del talamo e del putamen. Nelle correlazioni non significative riscontrate a livello della GM e della NAWM, l'ASL è stata applicata a campi magnetici inferiori (1,5 T) o attraverso sequenze quali PASL o CASL che non rientrano nelle specifiche del gold standard<sup>11</sup>. L'ASL sembra essere più sensibile se associata al declino cognitivo. Degli studi perfusionali analizzati in relazione alla performance cognitiva, il 33% è stato condotto con l'ASL, tutti acquisiti

con tecnica pCASL e campo magnetico di intensità 3 T<sup>48</sup>. I pazienti con declino cognitivo mostrano un CBF minore rispetto ai pazienti cognitivamente integri o ai soggetti sani e le aree interessate riguardavano il lobo frontale, in tutte le sue porzioni medie, superiori e inferiori, il talamo e il putamen. Il CBF risultava minore a livello del giro cingolato, precentrale e postcentrale, nei gangli della base e nel talamo in pazienti con deterioramento della memoria, e nel centro semiovale in pazienti positivi al test neuropsicologico PASAT.

Alterazioni del flusso ematico cerebrale a livello del lobo frontale sembrano indicare un deterioramento delle performance cognitive in pazienti che soffrono di fatigue<sup>57</sup>. La fatica cognitiva viene intesa come un'incapacità di mantenere la concentrazione durante lo svolgimento di un compito (task). Tramite l'acquisizione di risonanza magnetica funzionale (fMRI) con sequenza PASL 2D, i soggetti sani hanno riportato una diminuzione del CBF durante i 20 minuti della durata del compito di vigilanza psicomotoria (PVT). La riduzione del flusso può indicare che, a differenza dei pazienti con SM, gli individui cognitivamente integri si adattano nel tempo abituandosi al task, richiedendo meno ossigeno. Le aree più perfuse erano localizzate a livello della MGM e dell'ACC. La fatigue è un sintomo comune nella patologia della SM e rappresenta un ostacolo per i clinici perché è una caratteristica prettamente soggettiva, che può essere primaria o secondaria a uno stato di ansia o depressione e disturbi dell'umore, frequentemente riportate dai pazienti. l'utilizzo dell'ASL può fornire dati oggettivi per valutare lo stato di fatica nei pazienti<sup>57</sup>.

D'Ortenzio, R-M. et al. hanno condotto uno studio per confrontare i risultati perfusionali ottenuti con tecnica DSC con quelli ottenuti con tecnica pCASL in una coorte composta da individui sani, pazienti affetti da SM recidivante-remittente cognitivamente integri (NCISM-RR) e pazienti con SM-RR che presentavano un declino cognitivo (CISM-RR)<sup>58</sup>. A differenza di altri studi<sup>37</sup>, non sono state confermate differenze significative tra le due sequenze nello studio della sostanza bianca. La correlazione maggiore è stata riscontrata a livello della sostanza grigia profonda, che è in linea con l'essere una struttura che presenta un SNR maggiore e che non è influenzata da effetti da volume parziale con la WM. I risultati perfusionali tra le due tecniche erano coerenti anche nelle regioni di Brodmann: in particolare le aree che corrispondevano alla corteccia frontale e del giro supero frontale. La DSC e la pCASL mostrano forti correlazioni nei risultati degli studi perfusionali. L'Arterial Spin Labeling può essere una tecnica promettente per la ricerca e gli studi longitudinali per la sua affidabilità e ripetibilità, soprattutto per la sua non-invasività.

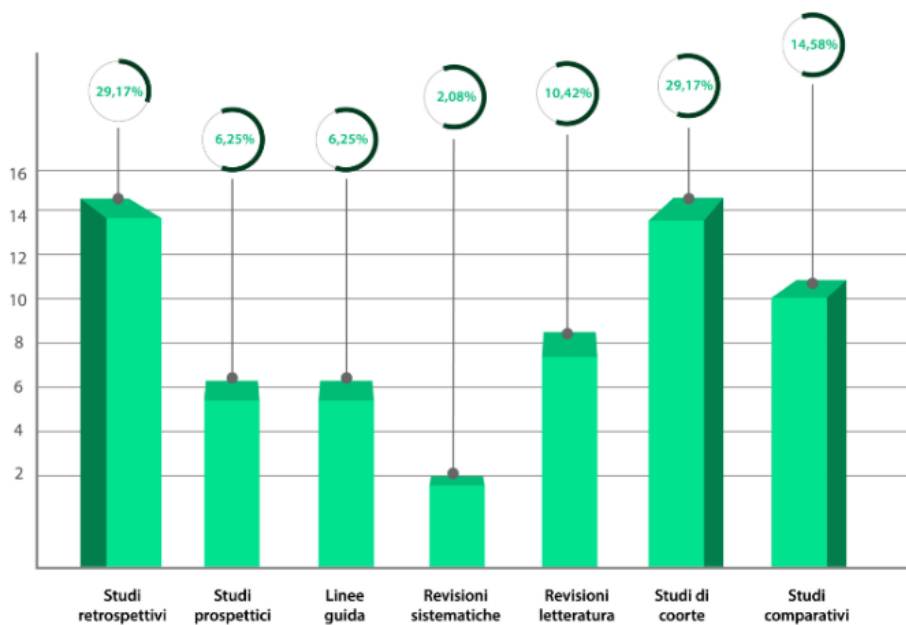
# RISULTATI

Gli articoli presenti nella Tabella di Estrazione (allegato n.2) sono stati catalogati riportando l'autore, l'anno di pubblicazione, il disegno di studio, il titolo e i risultati.

I 48 articoli presentano i seguenti disegni di studio:

- Studi retrospettivi: n. 15;
- Studi prospettici: n. 3;
- Linee guida: n. 3;
- Revisioni sistematiche: n. 1;
- Revisioni della letteratura: n. 5, di cui 2 narrative;
- Studi di Coorte: n. 14, di cui 3 longitudinali;
- Studi comparativi: n. 7, di cui 3 con Coorte.

*Immagine 1. Disegni di studio*

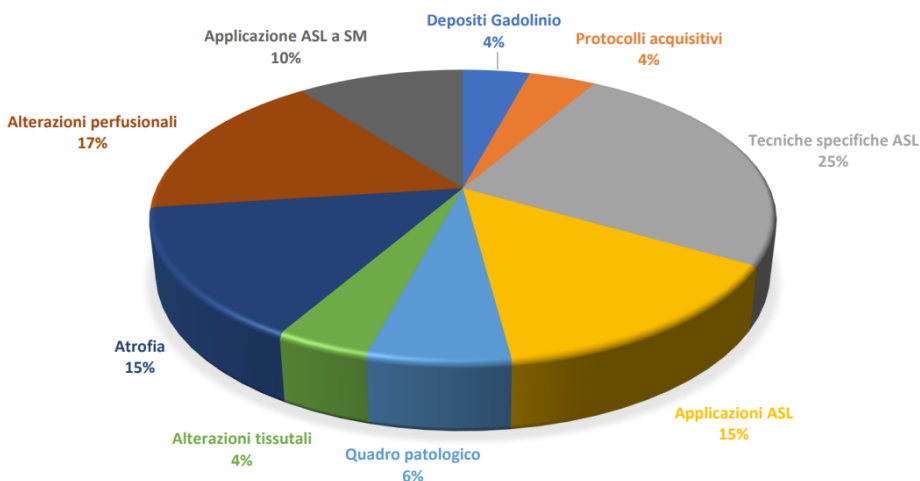


Gli argomenti trattati nei vari articoli riguardano i protocolli di risonanza magnetica per pazienti affetti da sclerosi multipla, specifiche tecniche dell'ASL, applicazioni cliniche dell'ASL, correlazione tra decadimento cognitivo e sclerosi multipla e l'ASL applicata alla SM. In particolare:

- n. 2 articoli trattano dei depositi di gadolinio conseguenti a ripetute somministrazioni del mezzo di contrasto;
- n. 2 articoli discutono del protocollo acquisitivo per la diagnosi e il follow-up in pazienti con sclerosi multipla

- n. 12 articoli offrono panoramiche sulle specifiche tecniche dell'Arterial Spin Labeling (PLD, modalità di marcatura, background suppression, artefatto da volume parziale, SNR, impulsi adiabatici, sequenze di readout, parametri dei gradienti e delle radiofrequenze)
- n. 7 articoli valutano l'applicazione dell'ASL per diversi quesiti clinici (stroke, TIA, MAV, FAV, epilessia, neuroncologia, morbo di Parkinson e malattia di Alzheimer)
- n. 3 presentano un quadro generale della patologia clinica della sclerosi multipla con focus sul decadimento cognitivo;
- n. 3 articoli trattano delle alterazioni tissutali presentate dai pazienti. In particolare, vengono analizzate le placche attive, ad anello e smoldering, la NAWM e la DAWM e la NADGM;
- n. 7 articoli discutono dell'atrofia generale e locale e delle implicazioni che ha sul declino cognitivo dei pazienti. Di questi, uno riporta che i depositi di gadolinio possano essere dannosi per la DGM indi per cui è stato incluso anche nel primo punto;
- n. 8 articoli offrono una panoramica sulle alterazioni perfusionali riscontrate nei pazienti e delle conseguenze che hanno sul deterioramento delle facoltà cognitive connesse attraverso la somministrazione dei test neuropsicologici. Presentano le varie tecniche di risonanza utilizzate negli studi perfusionali tra cui DSC, DCE e ASL;
- n. 5 articoli applicano l'ASL a pazienti con sclerosi multipla per valutare le alterazioni di perfusione e correlare quest'ultime al declino cognitivo e alle scale di disabilità.

**Immagine 2. Argomenti di studio**





## DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

L'Arterial Spin Labeling è una sequenza che permette lo studio della perfusione cerebrale, fornendo in fase di *post-processing* il parametro del CBF. A differenza delle altre sequenze perfusorie, l'ASL prevede degli impulsi a radiofrequenza perpendicolari alle carotidi interne e alle arterie vertebrali<sup>17</sup> che saturano i protoni dell'acqua presenti nel sangue. La modalità di marcatura individua tre diverse tipologie di sequenze quali la PASL, CASL e pCASL<sup>15,16</sup>; ognuna di queste influenzano diversamente il *signal-to-noise-ratio* e il tempo di acquisizione, motivo per cui, ad oggi, la tecnica migliore è considerata la pCASL<sup>16,17,37</sup>. Dopo un tempo di ritardo post-marcatura (PLD), si acquisisce l'immagine preferibilmente con un *readout* 3D, (GRASE o RARE) perché migliora il SNR e il background suppression risulta maggiormente efficiente<sup>15,19,23-25</sup>. Il PLD può essere singolo<sup>21,20</sup>, e avere una risoluzione temporale migliore ed elaborazioni più semplici, oppure multiplo, che si presta a pazienti con malattie cardiovascolari<sup>14</sup>, e che fornisce anche l'indice del Tempo di Transito Arterioso<sup>17,19,20,21</sup>. Esistono ulteriori variabili tecniche che possono essere implementate per migliorare il SNR, come il *background suppression*, ovvero impulsi di saturazione ai tessuti statici<sup>15,20</sup>, e gli algoritmi di accelerazione come il GRAPPA o il CAIPIRINHA; l'ultimo, in particolare, è in grado di ridurre la sensibilità della sequenza al rumore<sup>23</sup>. Anche l'intensità del campo magnetico risulta fondamentale per ottimizzare il protocollo acquisitivo: come definito da MAGNIMS, 3 T corrisponde al gold standard per l'intensità del campo magnetico negli studi neuroradiologici<sup>11</sup>. Nell'ASL, un'intensità maggiore garantisce un miglior SNR e allunga il tempo di recupero T<sub>1</sub> del sangue, diminuendo la perdita di segnale dovuto alla perdita della marcatura<sup>16,37</sup>. Le applicazioni cliniche dell'ASL sono numerose. La capacità di individuare alterazioni perfusionali la rende adatta allo studio di ipoperfusioni conseguenti ad ictus<sup>15,26</sup> e il suo uso combinato alla sequenza DWI aumenta notevolmente la sensibilità nel rilevamento delle lesioni e della penombra ischemica<sup>27</sup>.

Oltre alle malattie cardiovascolari, l'ASL viene utilizzata per la diagnosi e il monitoraggio delle malattie neurodegenerative. Nella malattia di Alzheimer, questa sequenza riesce a rilevare un'ipoperfusione in aree quali il precuneo, la corteccia cingolata posteriore e una riduzione del CBF globale<sup>15,28</sup>. Inoltre, in pazienti affetti dal morbo di Parkinson l'ASL rileva una riduzione della perfusione nei gangli della base, nel lobo fronto-parietale e nel precuneo, indicando una perdita neuronale e disfunzioni cerebro-vascolari<sup>15,29</sup>.

Nella sclerosi multipla, le variazioni morfostrutturali riguardano la formazione di placche demielinizzanti, perdita neuronale, atrofia e variazioni perfusionali, sia locali che diffuse a livello

della WM e della GM. Nel corso del tempo, i pazienti sviluppano vari gradi di disabilità e di deterioramento delle funzionalità cognitive, che impattano drasticamente la loro qualità di vita.

Questa ricerca si è domandata come l'Arterial Spin Labeling si inserisca all'interno dello studio della fisiopatologia della SM per le sue note applicazioni nell'identificare riduzioni volumetriche e perfusorie.

In generale, gli studi riportano che le placche colpiscono la WM, la GM corticale e la GM profonda, in particolar modo i gangli della base e il talamo<sup>33,40-43</sup>. Le lesioni attive dimostrano un aumento della perfusione indotta dall'angiogenesi e dalla vasodilatazione<sup>11,36,37,39</sup>. Le lesioni croniche, invece, presentano una riduzione della perfusione dovuta alla perdita neuronale e all'ipometabolismo locale<sup>49,50</sup>. Il flusso ematico è ridotto nella NAWM, soprattutto in corrispondenza degli spazi periventricolari. La riduzione della perfusione è risultata maggiormente ridotta nella GM corticale e nella NAWM dei lobi frontali<sup>37,48,52</sup>.

La diminuzione del CBF è maggiore nei fenotipi più aggressivi della SM, ma viene riscontrata anche nella Sindrome Clinicamente Isolata. Di conseguenza, le alterazioni vaso-circolatorie si manifestano anche agli esordi della malattia e in assenza di altre alterazioni strutturali. È possibile, quindi, che le alterazioni perfusionali possano avere un valore predittivo prezioso sulla prognosi e sui risvolti cognitivi dei pazienti<sup>37,47,48,52</sup>.

Gli studi perfusionali condotti con l'Arterial Spin Labeling rilevano il pattern perfusorio delle placche e dimostrano una riduzione del CBF in corrispondenza del giro supero-frontale, medio-frontale, infero-frontale e del talamo<sup>47</sup>. L'ipoperfusione dei lobi frontali, del talamo e del putamen è quella che è maggiormente correlata al declino cognitivo nei pazienti, per quanto non si sia riscontrato un *cut-off* che permetta una correlazione certa tra la condizione fisica e quella psico-motoria dei pazienti<sup>47,48,50</sup>. Il decadimento cognitivo ha sicuramente un'origine multifattoriale, ma trova forti correlazioni sia con l'atrofia sia con l'ipoperfusione, per quanto esistano notevoli discordanze tra i reperti anatomici e le performance cognitive valutate attraverso le batterie come BRB-N, MACFIMS o MSSS<sup>33,48,51,54</sup>.

I risultati presi in considerazione in questa ricerca riportano che le alterazioni perfusorie valutate con l'Arterial Spin Labeling, per quanto numericamente inferiori, sono concordi con i dati ottenuti utilizzando la tecnica DSC. Questo viene confermato nello studio comparativo condotto da D'Ortenzio, RM. et al. che mostra esiti concordanti nella riduzione della perfusione della GM profonda e nelle regioni di Brodmann<sup>58</sup>.

L'ASL ha un SNR minore rispetto alla Dynamic Susceptibility Contrast e necessita di voxel di ampiezza maggiori, ma la sua non-invasività è un grandissimo vantaggio per pazienti che si devono sottoporre frequentemente agli esami di risonanza magnetica. Inoltre, dimostra di avere una

sensibilità simile alla DSC nel momento in cui vengono applicati i parametri tecnici necessari per l'ottimizzazione della sequenza<sup>11,48</sup>. Questo rende l'Arterial Spin Labeling una tecnica promettente anche e soprattutto in risvolti quali la ricerca e gli studi longitudinali.

Per una definizione maggiore dei risultati servirebbe valutare la sua effettiva precisione nello studio perfusionale della sostanza bianca, caratterizzata da un basso SNR intrinseco, e standardizzare le variabili tecnologiche della sequenza ASL, che spesso differiscono nella modalità di marcatura, nella sequenza di readout, e nell'intensità del campo magnetico a cui viene applicata.

Per riuscire a identificare un'effettiva associazione tra le alterazioni morfostrutturali e il deterioramento cognitivo servirebbero un numero maggiore di studi longitudinali per seguire i pazienti durante il loro follow-up, in maniera tale da comprendere se, e quali, cambiamenti siano determinanti per lo sviluppo di difficoltà nella memoria, nella velocità di elaborazione e nello svolgimento delle funzioni esecutive. Di fondamentale importanza è la batteria neuropsicologica che si decide di somministrare ai pazienti: tra i vari studi, i test sono diversi ed è difficile comprendere se i risultati poco incoraggianti siano dovuti alle scale valutative o alla sequenza usata per l'acquisizione. Una collaborazione sinergica tra le varie figure professionali coinvolte nel *work-flow* ospedaliero rappresenta l'esigenza del lavoro di equipe e la capacità di condividere le proprie conoscenze, caratteristiche fondamentali nell'ambito della Medicina. Il TSRM può collaborare attivamente anche nei contesti di studio condividendo le sue conoscenze tecnico-specifiche e conducendo ricerche per provvedere all'ottimizzazione dei protocolli acquisitivi. In questo modo, il Tecnico Sanitario in Radiologia Medica diventa un supporto non solo ai suoi colleghi, ma anche ai pazienti, che vedranno applicate nella loro assistenza le soluzioni più all'avanguardia disponibili.



# BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

1. <https://www.aism.it>
2. Filippi, M. *et al. Multiple sclerosis*, 2018.
3. Bar-Or, A. *et al. Cellular immunology of relapsing multiple sclerosis: interactions, checks, and balances*, 2021.
4. Coriasco, M. *Principi fisici di base e grandezze misurabili* In: Elementi di risonanza magnetica. Milano: Springer-Verlag; 2014. pp 2-21
5. Coriasco, M. *Le basi del contrasto in RM* In: Elementi di risonanza magnetica. Milano: Springer-Verlag; 2014. pp 27-49
6. Coriasco, M. *Le sequenze RM: tecniche fondamentali* In: Elementi di risonanza magnetica. Milano: Springer-Verlag; 2014. pp 98-94, 104-107, 111-112, 117
7. Coriasco, M. *La formazione dell'immagine* In: Elementi di risonanza magnetica. Milano: Springer-Verlag; 2014. pp 55-76
8. Coriasco, M. *Sequenze RM: tecniche avanzate* In: Elementi di risonanza magnetica. Milano: Springer-Verlag; 2014. pp 129-135
9. Stecco, A. *et al. Eppure si move* In: L'essenziale... nell'imaging RM di diffusione. Roccafranca (BS): Compagnia della Stampa; Settembre 2011. pp 15-20
10. Stecco, A. *et al. MR Diffusion, I suppose* In: L'essenziale... nell'imaging di diffusione. Roccafranca (BS): Compagnia della Stampa; Settembre 2011. pp 21-27
11. Wattjes, MP. *et al. 2021 MAGNIMS-CMSC-NAIMS consensus recommendations on the use of MRI in patients with multiple sclerosis*, 2021.
12. Granziera, C. *et al. Quantitative magnetic resonance imaging towards clinical application in multiple sclerosis*, 2021.
13. Gulani, V. *et al. Gadolinium deposition in the brain: summary of evidence and recommendations*, 2017.
14. Dolui, S. *et al. Reliability of arterial spin labeling derived cerebral blood flow in periventricular white matter*, 2021.
15. Grade, M. *et al. A neuroradiologist's guide to arterial spin labeling MRI in clinical practice*. Neuroradiology, 2015.
16. Dai, W. *et al. Continuous flow-driven inversion for arterial spin labeling using pulsed radio frequency and gradient fields*, 2008.
17. Lindner, T. *et al., Current state and guidance on arterial spin labeling perfusion MRI in clinical neuroimaging*, 2023.
18. De Graaf, R.A. *et al. Adiabatic rf pulses: Applications to in vivo NMR*, 1998.

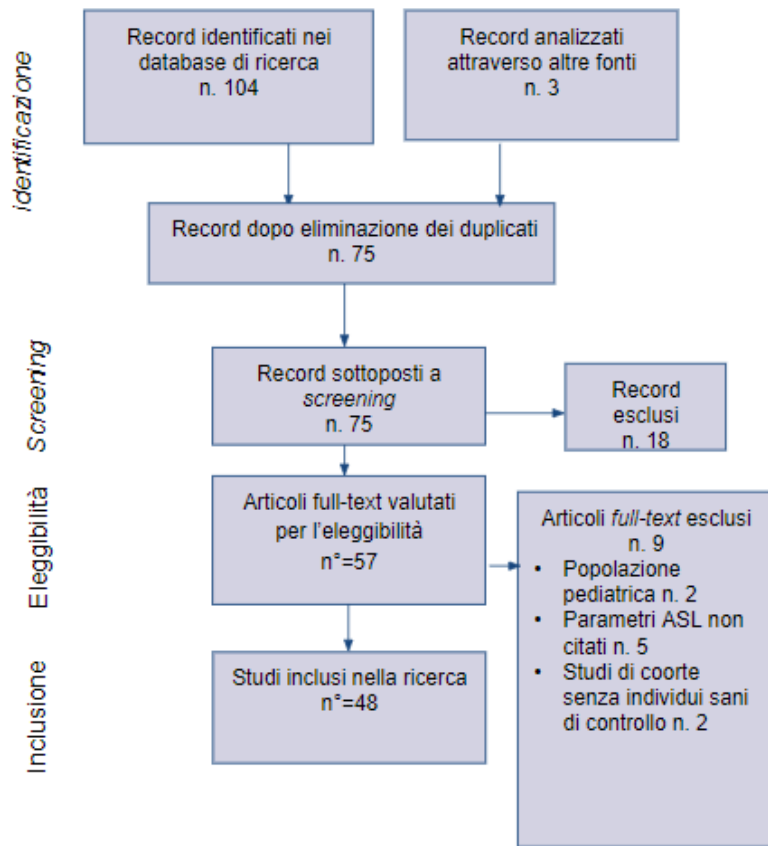
19. Boland, M. et al. *Accelerated 3D-GRASE imaging improves quantitative multiple post labeling delay arterial spin labeling*, 2018.
20. Alsop, DC. et al. *Recommended implementation of arterial spin-labeled perfusion MRI for clinical applications: A consensus of the ISMRM perfusion study group and the European consortium for ASL in dementia*, 2015.
21. Woods, JG. et al. *A general framework for optimizing arterial spin labeling MRI experiments*, 2019.
22. Knutsson, L. et al. *CEST, ASL, and magnetization transfer contrast: How similar pulse sequences detect different phenomena*, 2018.
23. Hernandez-Garcia, L. et al. *Recent Technical Developments in ASL: A Review of the State of the Art*, 2022.
24. Caruthers, SD. et al. *MR imaging: some applications of GRASE*, 1998.
25. Chu, ML. et al. *Gradient- and spin-echo (GRASE) MR imaging: a long-existing technology that may find wide applications in modern era*, 2019.
26. Ho, ML. et al. *Arterial spin labeling: Clinical applications*, 2018.
27. Havsteen, I. et al. *Significance of arterial spin labeling perfusion and susceptibility weighted imaging changes in patients with transient ischemic attack: a prospective cohort study*, 2018.
28. Soman, S. et al. *Relationship between Cerebral Perfusion on Arterial Spin Labeling (ASL) MRI with Brain Volumetry and Cognitive Performance in Mild Cognitive Impairment and Dementia due to Alzheimer's Disease*, 2021.
29. Joshi, D. et al. *Role of Arterial Spin Labeling (ASL) Images in Parkinson's Disease (PD): A Systematic Review*, 2022.
30. Soni, N. et al. *Perfusion MR imaging of enhancing brain tumors: Comparison of arterial spin labeling technique with dynamic susceptibility contrast technique*, 2017.
31. Ozsunar, Y. et al. *Glioma recurrence versus radiation necrosis? A pilot comparison of arterial spin-labeled, dynamic susceptibility contrast enhanced MRI, and FDG-PET imaging*, 2010.
32. Haller, S. et al. *Arterial Spin Labeling Perfusion of the Brain: Emerging Clinical Applications*, 2016.
33. DeLuca, GC. et al. *Cognitive impairment in multiple sclerosis: clinical, radiologic and pathologic insights*, 2015.
34. Benedict, RH. et al. *Cognitive reserve moderates decline in information processing speed in multiple sclerosis patients*, 2010.
35. Pettigrew, C. et al. *Defining Cognitive Reserve and Implications for Cognitive Aging*, 2019.

36. Kuhlmann, T. et al. *An updated histological classification system for multiple sclerosis lesions*, 2017.
37. Lapointe, E. et al. *What Have We Learned from Perfusion MRI in Multiple Sclerosis?* 2018.
38. Cairns, J. et al. *Diffusely abnormal white matter in multiple sclerosis*, 2022.
39. Kutzelnigg, A. et al. *Cortical lesions and brain atrophy in MS*, 2005.
40. Ontaneda, D. et al. *Deep grey matter injury in multiple sclerosis: a NAIMS consensus statement*, 2021.
41. Haider, L. et al. *Multiple sclerosis deep grey matter: the relation between demyelination, neurodegeneration, inflammation and iron*, 2014.
42. Pontillo, G. et al. *Unraveling Deep Gray Matter Atrophy and Iron and Myelin Changes in Multiple Sclerosis*, 2021.
43. Eshaghi, A. et al. *Deep gray matter volume loss drives disability worsening in multiple sclerosis*, 2018.
44. Tekok-Kilic, A. et al. *Independent contributions of cortical gray matter atrophy and ventricle enlargement for predicting neuropsychological impairment in multiple sclerosis*, 2007.
45. Lie, IA. et al. *Relationship Between White Matter Lesions and Gray Matter Atrophy in Multiple Sclerosis: A Systematic Review*, 2022
46. Pellicano, C. et al. *Cognitive impairment and its relation to imaging measures in multiple sclerosis: a study using a computerized battery*, 2013.
47. de la Peña, MJ. et al. *Early perfusion changes in multiple sclerosis patients as assessed by MRI using arterial spin labeling*, 2019.
48. Lagana, MM. et al. *Relationship between MRI perfusion and clinical severity in multiple sclerosis*, 2020.
49. Wuerfel, J. et al. *Changes in cerebral perfusion precede plaque formation in multiple sclerosis: a longitudinal perfusion MRI study*, 2004.
50. Testud, B. et al. *Brain grey matter perfusion in primary progressive multiple sclerosis: Mild decrease over years and regional associations with cognition and hand function*, 2022.
51. Hojjat, SP. et al. *Cortical Perfusion Alteration in Normal-Appearing Gray Matter Is Most Sensitive to Disease Progression in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis*, 2016.
52. Mulholland, AD. et al. *Spatial Correlation of Pathology and Perfusion Changes within the Cortex and White Matter in Multiple Sclerosis*, 2018.
53. Mascali, D. et al. *Pathophysiology of multiple sclerosis damage and repair: Linking cerebral hypoperfusion to the development of irreversible tissue loss in multiple sclerosis using magnetic resonance imaging*, 2023.

54. Sowa, P. et al. *Magnetic resonance imaging perfusion is associated with disease severity and activity in multiple sclerosis*, 2017.
55. Sourbron, SP. et al. *Classic models for dynamic contrast-enhanced MRI*, 2013.
56. Ingrisch, M. et al. *Dynamic Contrast-Enhanced Magnetic Resonance Imaging Suggests Normal Perfusion in Normal-Appearing White Matter in Multiple Sclerosis*, 2017.
57. Berard, JA. et al. *Imaging cognitive fatigability in multiple sclerosis: objective quantification of cerebral blood flow during a task of sustained attention using ASL perfusion fMRI*, 2020.
58. D'Ortenzio, RM. et al. *Comparison of Quantitative Cerebral Blood Flow Measurements Performed by Blockend Dynamic Susceptibility Contrast and Arterial Spin-Labeling MRI in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis*, 2016.



*Allegato n. 1 PRISMA flow-chart, processo di selezione degli articoli*





**Allegato n.2 Tabella di estrazione degli articoli inclusi nella revisione**

n°	Autore	Anno	Disegno di studio	Titolo	Risultati
11	Wattjes, MP. et al	2021	Linee guida	2021 MAGNIMS-CMISC-NAIMS consensus recommendations on the use of MRI in patients with multiple sclerosis	Linee guida per il protocollo acquisitivo di RM per pazienti con sclerosi multipla: T <sub>1</sub> , T <sub>2</sub> , T <sub>2</sub> -FLAIR, DWI, DIR. Specifiche per la somministrazione di gadolinio
12	Granziera, C. et al	2021	Studio retrospettivo	Quantitative magnetic resonance imaging towards clinical application in multiple sclerosis	La QRM fornisce informazioni sul meccanismo della patologia. Sequenze nominate: Relaxometry, MTI, SWI, Perfusion MRI
13	Gulani, V. et al	2017	Studio retrospettivo	Gadolinium deposition in the brain: summary of evidence and recommendations	Con esami ripetuti nel tempo il gadolinio si accumula in regioni specifiche del cervello. Ad oggi non si conoscono le conseguenze dei depositi.
14	Dolui, S. et al	2021	Studio comparativo	Reliability of arterial spin labeling derived cerebral blood flow in periventricular white matter.	Ad oggi la WM si studia bene tanto quanto la GW per gli sviluppi tecnologici dell'ASL; single PLD elevato SNR ma multi-PLD reduce i bias tra AIF e MTT
15	Grade, M. et al	2015	Revisione della letteratura narrativa	A neuroradiologist's guide to arterial spin labeling MRI in clinical practice	pCASL, background suppression, applicazioni cliniche di ASL; l'artefatto da volume parziale dovuto alla dimensione del voxel e alla differenza di segnale tra WM e GM
16	Dai, W. et al	2008	Studio retrospettivo	Continuous flow driven inversion for arterial spin labeling using pulsed radiofrequency and gradient fields	pCASL come gold standard
17	Lindner, T. et al	2023	Studio prospettico	Current state and guidance on arterial spin labeling perfusion MRI in clinical neuroimaging.	Orientamento piano di label, multi-PLD per diagnosi più specifiche e ATT, single-PLD aumenta SNR
18	De Graaf, R.A. et al	1997	Studio prospettico	Adiabatic rf pulses: Applications to <i>in vivo</i> NMR	Impulsi RF adiabatici: funzionamento e vantaggi
19	Boland, M. et al	2018	Studio di Coorte trasversale	Accelerated 3D-GRASE imaging improves quantitative multiple post	Definizione; 3D GRASE/3D RARE come gold standard

				labeling delay arterial spin labeling.	
20	Alsop, D. C. et al	2014	Linee guida	Recommended Implementation of Arterial Spin-Labeled Perfusion MRI for Clinical Applications: A Consensus of the ISMRM Perfusion Study Group and the European Consortium for ASL in Dementia	ISMRM consensus statement: pCASL, parametri di RF e gradienti, 3D RARE readout, multi-PLD, background suppression
21	Woods, JG. et al	2019	Studio comparativo	A general framework for optimizing arterial spin labeling MRI experiments	Confronto tra single e multi-PLD
22	Knutsson, L. et al	2018	Studio comparativo	CEST, ASL, and magnetization transfer contrast: How similar pulse sequences detect different phenomena	Il magnetization transfer effect: definizione e strategie di risoluzione
23	Hernandez-Garcia, L. et al	2022	Revisione della letteratura	Recent Technical Developments in ASL: A Review of the State of the Art.	Modalità di readout, riduzione del rumore, deep learning e machine learning
24	Caruthers, SD. et al	1998	Studio comparativo	MR imaging: some applications of GRASE	Funzionamento GRASE e confronto con TSE ed EPI
25	Chu, ML. et al	2019	Studio retrospettivo	Gradient- and spin-echo (GRASE) MR imaging: a long-existing technology that may find wide applications in modern era	GRASE funzionamento, pros & cons
26	Ho, ML. et al	2018	Studio retrospettivo	Arterial spin labeling: Clinical applications.	Panoramica sulle applicazioni cliniche dell'ASL e sugli artefatti

27	Havsteen, I. et al	2018	Studio di Coorte trasversale	Significance of arterial spin labeling perfusion and susceptibility weighted imaging changes in patients with transient ischemic attack: a prospective cohort study. BMC Med Imaging	Utilizzare l'ASL in combinazione con la DWI in pazienti con TIA permette una diagnosi più accurata
28	Soman, S. et al	2021	Studio di Coorte trasversale	Relationship between Cerebral Perfusion on Arterial Spin Labeling (ASL) MRI with Brain Volumetry and Cognitive Performance in Mild Cognitive Impairment and Dementia due to Alzheimer's Disease	Applicazioni cliniche dell'ASL per AD e PD: efficiente per lobi parietali e temporali per il precuneo e la corteccia cingolata, ma presenta poca precisione nello studio della sostanza grigia
29	Joshi, D. et al	2022	Revisione sistematica	Role of Arterial Spin Labeling (ASL) Images in Parkinson's Disease (PD): A Systematic Review	Ottima sensibilità per lo studio funzionale dei gangli della base, del lobo frontale-parietale e del precuneo. Diagnosi differenziale tra PD e altre malattie neurodegenerative
30	Soni, N. et al	2017	Studio comparativo di Coorte	Perfusion MR imaging of enhancing brain tumors: Comparison of arterial spin labeling technique with dynamic susceptibility contrast technique.	Valori perfusionali ottenuti con DSC sovrapponibili ai valori ottenuti con pCASL. Difficoltà nella stima del CBF per la WM. ASL più che adatta al monitoraggio.
31	Ozsunar, Y. et al	2009	Studio comparativo di Coorte	Glioma recurrence versus radiation necrosis? A pilot comparison of arterial spin-labeled, dynamic susceptibility contrast enhanced MRI, and FDG-PET imaging.	Confronto nello studio del glioblastoma tra la tecnica ASL, la DSC e la PET. L'ASL presenta la sensibilità maggiore quando i pazienti si sottopongono a sedute di radioterapia che induce necrosi
32	Haller, S. et al	2016	Studio retrospettivo	Arterial Spin Labeling Perfusion of the Brain: Emerging Clinical Applications.	Applicazioni cliniche dell'ASL per stroke, TIA, MAV, FAV, epilessia
33	DeLuca, GC. et al.	2015	Revisione della letteratura narrativa	Cognitive impairment in multiple sclerosis: clinical, radiologic and pathologic insights	Panoramica sul decadimento cognitivo della SM; rassegna delle strutture cerebrali e delle patologie che si presentano;

34	Benedict, RH. et al	2010	Studio di Coorte	Cognitive reserve moderates decline in information processing speed in multiple sclerosis patients	La riserva cognitiva può rallentare il processo di decadimento soprattutto per quanto riguarda la velocità di elaborazione
35	Pettigrew, C. et al	2019	Studio retrospettivo	Defining Cognitive reserve and implications for cognitive aging	Definizione della riserva cognitiva
36	Kuhlmann, T. et al	2017	Studio retrospettivo	An updated histological classification system for multiple sclerosis lesions.	Classificazione delle placche focali nella sclerosi multipla
37	Lapointe, E. et al	2018	Studio retrospettivo	What have we learned from perfusion MRI in multiple sclerosis?	Panoramica sulle tecniche PWI quali DSC, DCE, ASL. Caratteristiche perfusorie delle placche (iperperfusione). Iperperfusione rilevata generalmente in NAWM e NAGM. Le alterazioni perfusionali sono debolmente correlate con la scala EDSS. L'iperperfusione del centro semiovale riscontrata nel PASAT; iperperfusione di CGM e DGM correlate con riduzione della memoria visiva e di richiamo e con la fatigue

38	Cairns, J. et al	2022	Studio retrospettivo	Diffusely abnormal white matter in multiple sclerosis	Definizione, patologia e imaging della DAWM
39	Kutzelnigg, A. et al	2005	Studio retrospettivo	Multiple sclerosis deep grey matter: the relation between demyelination, neurodegeneration, inflammation and iron	Correlazioni tra EDSS score e patologia; stato infiammatorio della DGM; elevata atrofia nel talamo e nel nucleo caudato e lesioni riscontrate in tutte le strutture della DGM
40	Ontaneda, D. et al	2021	Linee guida	Deep grey matter injury in multiple sclerosis: a NAIMS consensus statement	Patologia della DGM; le placche si concentrano di più nel talamo, nel nucleo caudato, nell'ipotalamo e nell'ippocampo, mentre l'atrofia colpisce maggiormente talamo e putamen; sequenze nominate T <sub>1</sub> , T <sub>2</sub> , e T <sub>2</sub> -FLAIR, T <sub>2</sub> *, DIR, DWI, MTI; l'accumulo di gadolinio più danneggiare le strutture della GDM
41	Heider, L. et al	2014	Studio retrospettivo	Multiple sclerosis deep grey matter: the relation between demyelination, neurodegeneration, inflammation and iron	Lesioni riscontrate su talamo, ipotalamo, nucleo caudato putamen e globus pallidus. Perdita neuronale riscontrata nel talamo. La correlazione statistica tra danneggiamenti strutturali e EDSS non è significativa. L'infiammazione della WM ha un grado maggiore rispetto alla GM.
42	Pontillo, G. et al	2021	Studio prospettico	Unraveling Deep Gray Matter Atrophy and Iron and Myelin Changes in Multiple Sclerosis.	Sequence nominate: 3D T <sub>1</sub> , 3D T <sub>2</sub> -FLAIR, double-echo spoiled gradient echo per l'ottenimento di mappe QSM; depositi di ferro a livello dei nuclei della base, dovuti probabilmente ad atrofia; risultati sui depositi di ferro nel talamo discordanti

43	Eshaghi, A. et al	2018	Studio retrospettivo	Deep gray matter volume loss drives disability worsening in multiple sclerosis	L'atrofia della DGM comporta a rallentamento nella velocità di elaborazione, difficoltà nelle funzioni esecutive, carenza di fluency verbale, danneggiamento della memoria
44	Tekok-Kilic, A. et al	2007	Studio retrospettivo	Independent contributions of cortical gray matter atrophy and ventricle enlargement for predicting neuropsychological impairment in multiple sclerosis	L'atrofia della sostanza grigia ha un valore predittivo più autorevole per il decadimento cognitivo dei pazienti; l'aumento del volume del terzo ventricolo indica una atrofia del talamo
45	Lie, IA. et al	2022	Revisione della letteratura	Relationship Between White Matter Lesions and Gray Matter Atrophy in Multiple Sclerosis	Studio della patologia della SM attraverso sequenze convenzionali; l'atrofia della GM ha duplice natura: è successiva alla formazione di placche e è primitiva all'interno della DGM
46	Pellicano, C. et al	2013	Studio di Coorte trasversale	Cognitive impairment and its relation to imaging measures in multiple sclerosis: a study using a computerized battery	La riduzione di volume della GM e della WM causa deterioramento della velocità di elaborazione e alla memoria; DTI rileva associazione tra atrofia della WM e riduzione della memoria di lavoro
47	de la Peña, MJ. et al	2019	Studio di Coorte trasversale	Early perfusion changes in multiple sclerosis patients as assessed by MRI using arterial spin labeling	Una riduzione del CBF è stata riscontrata nella corteccia frontale, nel taamo e nel nucleo caudato. Le zone ipoperfuse non erano atrofiche. Non sono state colte correlazioni tra gli esiti perfusionali e la scala EDSS



48	Laganà, MM. et al	2020	Revisione della letteratura	Relationship between MRI perfusion and clinical severity in multiple sclerosis	Panoramica delle sequenze PWI quali DSC, DCE, ASL. Variazioni perfusionali nelle placche, nella NAWM e nella NAGM; L'associazione tra variazione della perfusione e decadimento cognitivo sembra più forte rispetto alla correlazione con la disabilità; limite nei confronti e nei risultati
49	Wuerfel, J. et al	2005	Studio di Coorte longitudinale	Changes in cerebral perfusion precede plaque formation in multiple sclerosis: a longitudinal perfusion MRI study	Con tecniche di imaging PWI (DSC) è possibile rilevare alterazioni perfusionali prima che si manifestino le placche in aree che non sono colpite da atrofia; le cause della variazione della perfusione possono essere primitive
50	Testud, B. et al	2022	Studio di Coorte longitudinale	Brain grey matter perfusion in primary progressive multiple sclerosis: Mild decrease over years and regional associations with cognition and hand function.	Riscontrabile una lieve diminuzione del CBF nei pazienti durante i follow-up. Il fenotipo SM-PP mostra un CBF minore rispetto al fenotipo SM-RR indicando che il CBF è più associato al grado di neurodegenerazione più che al grado di infiammazione
51	Hojjat, SP. et al	2016	Studio di Coorte trasversale	Cortical perfusion alteration in Normal-Appearing Gray Matter is most sensitive to disease progression in relapsing-remitting multiple sclerosis	Pattern perfusorio delle placche; i pazienti hanno perfusione ridotta rispetto ai soggetti sani ed è correlata con esiti in MACFIMS
52	Mulholland, AD. et al	2017	Studio di Coorte trasversale	Spatial Correlation of Pathology and Perfusion Changes within the Cortex and White Matter in Multiple Sclerosis	Non è stata rilevata una forte associazione tra le aree atrofiche e le aree ipoperfuse, quindi le alterazioni perfusionali possono essere un sintomo primitivo nella SM

53	Mascoli, D. et al	2023	Studio di Coorte trasversale	Pathophysiology of multiple sclerosis damage and repair: Linking cerebral hypoperfusion to the development of irreversible tissue loss in multiple sclerosis using magnetic resonance imaging	L'ipoperfusione è riscontrabile a livello della sostanza grigia corticale ed è maggiormente pronunciata in pazienti che presentano un danno irreversibile alla WM; l'atrofia non è strettamente correlata ai dati derivanti dalla PWI; applicazione dell'ASL
54	Sowa, P. et al	2017	Studio di Coorte longitudinale	Magnetic resonance imaging perfusion is associated with disease severity and activity in multiple sclerosis.	DSC per la perfusione nei pazienti con sclerosi multipla. Correlazione tra MTT e disabilità nei pazienti.
55	Sourbron, SP. et al	2013	Studio retrospettivo	Classic models for dynamic contrast-enhanced MRI	Panoramica sulla DCE, modelli di deconvoluzioni, applicazioni cliniche
56	Ingrisch, M. et al	2017	Studio di Coorte trasversale	Dynamic Contrast-Enhanced magnetic resonance imaging suggests normal perfusion in normal-appearing white matter in multiple sclerosis	Applicazione della DCE in pazienti con SM-RR e soggetti sani. Non rilevabile l'ipoperfusione
57	Berard, J-A. et al	2020	Studio di Coorte trasversale	Imaging cognitive fatigability in multiple sclerosis: objective quantification of cerebral blood flow during a task of sustained attention using ASL perfusion fMRI	La fatigue è un sintomo molto comune, fortemente debilitante e prettamente soggettivo. L'ASL dimostra variazioni del CBF nell'esecuzione del PVT tra i pazienti con sclerosi multipla e i soggetti sani. Le aree più colpite dalle alterazioni del CBF sono il giro medio-frontale e la corteccia cingolata anteriore

58	D'Ortenzio, RM. et al	2016	Studio comparativo con Coorte	Comparison of quantitative cerebral blood flow measurements performed by bookend Dynamic Susceptibility contrast and Arterial Spin-Labeling MRI in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis	La sostanza bianca è una struttura che intrinsecamente mostra un basso SNR; i valori perfusionali riportati con DSC e ASL non mostrano differenze significative
----	-----------------------	------	-------------------------------	---	---