



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE A CICLO UNICO IN MEDICINA E CHIRURGIA

DIPARTIMENTO DI SALUTE DELLA DONNA E DEL BAMBINO

Direttore: Ch.mo Prof. Giorgio Perilongo

SEDE DIPARTIMENTALE DI PEDIATRIA

Direttore: Ch.mo Prof. Giorgio Perilongo

TESI DI LAUREA

PET/RM PER LO STUDIO DI MORFOLOGIA E INFIAMMAZIONE POLMONARE IN BAMBINI E ADOLESCENTI AFFETTI DA DISCINESIA CILIARE PRIMITIVA

RELATORE: Dott.ssa Valentina Agnese Ferraro

CORRELATORI: Prof. Diego Cecchin
Prof.ssa Silvia Carraro

LAUREANDO: Francesca Ruzzon

MATRICOLA: 1152021

ANNO ACCADEMICO 2021/2022

INDICE

RIASSUNTO	1
1 INTRODUZIONE	5
1.1 LA DISCINESIA CILIARE PRIMITIVA	5
1.1.1 Struttura e funzione ciliare	6
1.1.2 Manifestazioni cliniche	7
1.1.3 Diagnosi	9
1.2 MONITORAGGIO	18
1.2.1 Funzionalità respiratoria	19
1.2.2 Microbiologia	20
2 INDAGINI STRUMENTALI PER LO STUDIO DEL PARENCHIMA POLMONARE	22
2.1 HRCT DEL TORACE	22
2.2 RM DEL TORACE	25
2.3 PET	28
3 SCOPI	31
4 MATERIALI E METODI	32
5 RISULTATI	34
5.1 CARATTERISTICHE DELLA POPOLAZIONE	34
5.1.1 Caratteristiche generali	34
5.1.2 Presentazione clinica	34
5.1.3 Diagnosi	35
5.2 FUNZIONALITÀ RESPIRATORIA	37
5.3 MICROBIOLOGIA	39
5.4 HRCT E RM	40
5.5 PET	43
5.6 CORRELAZIONI TRA IMAGING E DATI CLINICI	45
5.6.1 Correlazione tra PET/RM, HRCT e indagini microbiologiche	45
5.6.2 Correlazione tra PET e funzionalità respiratoria	47
5.6.3 Correlazione tra PET e riacutizzazioni infettive nell'ultimo anno	48
6 DISCUSSIONE	49
7 CONCLUSIONE	54
8 BIBLIOGRAFIA	55

RIASSUNTO

Introduzione: nello studio del polmone nel paziente con Discinesia Ciliare Primitiva (DCP), accanto alla tomografia computerizzata (TC) che rappresenta il gold standard, sta emergendo il ruolo della risonanza magnetica (RM) che non utilizza radiazioni ionizzanti. Tuttavia, entrambe le metodiche hanno scarse prestazioni nell'analisi dell'infiammazione polmonare.

Scopi: in bambini e adolescenti con DCP 1) analizzare l'entità e la distribuzione dell'infiammazione polmonare tramite PET/RM con ^{18}F -FDG del polmone, 2) valutare le prestazioni di sequenze ottimizzate della RM rispetto alla TC ad alta risoluzione (HRCT) del torace nell'identificare le alterazioni strutturali del polmone, 3) correlare l'andamento clinico e funzionale e i dati microbiologici con il grado di infiammazione mostrato alla PET e con i quadri morfologici di HRCT e RM.

Metodi: sono stati inclusi i pazienti con DCP di età ≥ 6 anni seguiti presso la nostra U.O.S.D. di Pneumologia e Allergologia Pediatrica, Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino, Azienda Ospedale Università di Padova. Ogni paziente è stato sottoposto a valutazione clinica, spirometria, esame colturale dell'espettorato, HRCT del torace e PET/RM polmonare. Le immagini della HRCT del Torace sono state acquisite presso la Radiologia Pediatrica utilizzando una TC a 64 strati GE Revolution Evo (General Electrics Healthcare), mentre le immagini PET sono state acquisite presso la U.O.C. di Medicina Nucleare utilizzando un tomografo PET/RM Siemens Biograph mRM con campo magnetico di 3 Tesla. Le immagini PET sono state acquisite utilizzando tecnica list mode (15 minuti) e quindi ricostruite in immagini attenuation corrected (AC) e non-AC (NAC). Sono state acquisite sequenze T2 pesate con trigger respiratorio e sequenze T1 pesate con tempo di eco vicino allo zero.

Risultati: sono stati arruolati 14 pazienti (6 maschi; 14.6 ± 4.6 anni). Dal punto di vista radiologico, le indagini di HRCT e RM del torace dei pazienti con DCP arruolati nel nostro studio hanno riscontrato in tutti i pazienti bronchiectasie, in circa il 65%

dei pazienti consolidamenti/atelettasie e nel 40-70% dei pazienti aspetti flogistici localizzati nelle vie aeree distali (mucus plug, tree-in-bud, aspetti nodulari). Le due indagini di imaging hanno mostrato da un lato una buona concordanza nella visualizzazione di bronchiectasie e consolidamenti/atelettasie (K-Cohen = 0,05) mentre una scarsa concordanza nella determinazione della flogosi alle vie aeree periferiche, più evidenti alla RM che alla HRCT del torace (K-Cohen = -0,07)

Dal punto di vista funzionale (PET), i pazienti sono stati suddivisi in due sottogruppi: uno (n=8) con infiammazione da molto-bassa a bassa, l'altro (n=6) con infiammazione da moderata ad alta. Nel nostro campione l'elevata captazione di tracciante non sembra correlare con il quadro di positività microbiologica alla coltura dell'espettorato/BAL, né con il numero di riacutizzazioni infettive presentate dai pazienti nel corso dell'anno precedente.

Per quanto riguarda la funzionalità respiratoria, invece, i pazienti con più alto grado di captazione mostrano un quadro spirometrico caratterizzato da volumi polmonari tendenzialmente più bassi, pur senza raggiungere la significatività statistica.

Conclusioni: la ^{18}F -FDG PET/RM, confrontata con l'HRCT del torace che costituisce il gold standard per lo studio del parenchima polmonare, si è dimostrata affidabile per gli aspetti morfologici e innovativa per gli aspetti funzionali, e potrebbe pertanto avere un ruolo centrale nel monitoraggio longitudinale dei pazienti affetti da DCP.

ABSTRACT

Background: although chest computed tomography (CT) is the gold standard for detecting structural abnormalities in Primary Ciliary Dyskinesia (PCD), there is a growing interest in magnetic resonance (MR) lung imaging, which does not involve ionizing radiation. Nonetheless, both techniques perform poorly in the assessment of lung inflammation.

Aim: In children and adolescents with PCD 1) to assess lung inflammation with ^{18}F -FDG PET coupled with MR, 2) to analyse, with respect to chest HRCT, the performances of MR optimized sequences in the study of lung morphology, 3) to compare clinical, functional and microbiological data with PET lung inflammation and HRCT and MR images.

Materials and Methods: we recruited PCD patients ≥ 6 years old followed at our Pediatric Allergy and Respiratory Medicine Unit, Department of Women's and Children's Health, University Hospital of Padova. They underwent clinical assessment, spirometry, sputum culture, chest HRCT and lung PET/MR. HRCT was acquired in Pediatric Radiology Unit using a 64-layer GE Revolution Evo CT (General Electrics Healthcare), while PET was acquired in Nuclear Medicine Unit using a PET/RM Siemens Biograph mRM with a 3 Tesla magnetic field. PET images were acquired using list mode (for 15min) and reconstructed in attenuation corrected (AC) and non-AC (NAC) images. MR consisted in a respiratory-triggered T2 sequence and a near zero echo time T1 sequence.

Results: 14 patients (6 male; 14.6 \pm 4.6 years) were enrolled. Chest HRCT and lung MR showed bronchiectasis in all PCD patients enrolled, consolidation/atelectasis in approximately 65% of PCD patients and images of distal airways inflammation (mucus plug, tree-in-bud, nodular aspects) in 40-70% of PCD patients. Comparing HRCT and MR, they both perform well in identify bronchiectasis and

consolidations/atelectasis (K-Cohen = 0,5), while distal airway inflammation is better visualized by MR than by HRCT (K-Cohen = -0.07).

According to PET, two subgroups of patients could be identified: one (n=8) with very-low to low inflammation in correspondence to bronchiectasis, the other (n=6) with moderate to high inflammation. In our cohort lung inflammation detected with PET/MR did not correlate with airway culture, nor with the number of acute respiratory infections in the last year. As for pulmonary function, patients with higher FDG uptake showed lower lung volumes, even if without a statistical significance.

Conclusions: ^{18}F -FDG PET/MR, compared with chest HRCT as the gold standard for the study of lung, provided reliable morphological information together with useful data on the degree of lung inflammation. We suggest that this technique could be successfully applied in the longitudinal monitoring of PCD patients.

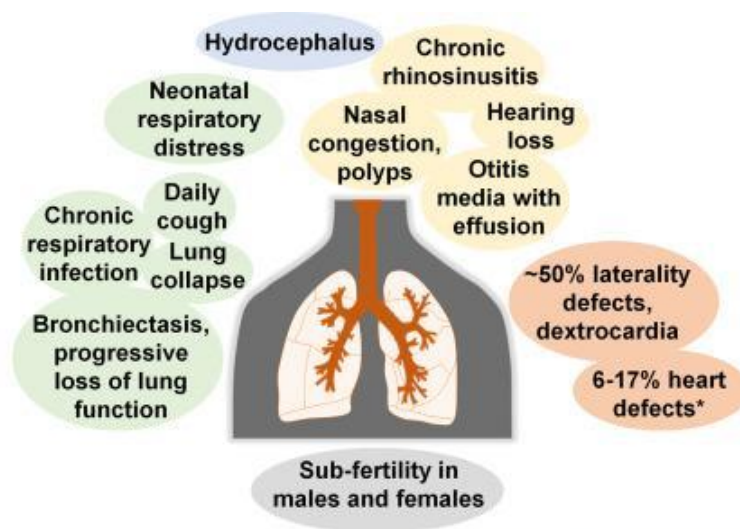
1 INTRODUZIONE

1.1 La Discinesia Ciliare Primitiva

La discinesia ciliare primitiva (DCP) è una patologia genetica ereditaria che colpisce le ciglia vibratili dell'organismo. Si tratta di una patologia ereditata prevalentemente per via autosomica recessiva la cui prevalenza nella popolazione europea è stimata 1 ogni 10000 nati, più comune nelle famiglie di consanguinei(1). Principalmente sono alterati la clearance mucociliare e la motilità delle ciglia(2). Le manifestazioni [Figura 1] si ritrovano soprattutto a carico dell'apparato respiratorio. Le anomalie ciliari non coinvolgono soltanto i polmoni ma anche l'orecchio medio, i seni paranasali, il sistema riproduttivo e l'ependima cerebrale(3). Il soggetto affetto da DCP può infatti manifestare distress respiratorio alla nascita, tosse catarrale persistente, rinosinusite cronica, bronchiectasie, otite media cronica, anomalie di lateralizzazione, disordini della fertilità, idrocefalo(4). Nel dettaglio, le anomalie di lateralizzazione presenti nei pazienti con DCP sono il situs viscerum inversus, presente in circa il 50% dei pazienti, e il situs ambiguus, nel 12%(5).

Nel gruppo delle ciliopatie si inserisce anche la sindrome di Kartagener caratterizzata dalla triade: situs viscerum inversus, sinusite e otiti croniche e malattia respiratoria che porta alla formazione di bronchiectasie (6).

Figura 1 Manifestazioni cliniche della DCP (7)



1.1.1 Struttura e funzione ciliare

Le ciglia delle vie aeree sono localizzate sulle superfici epiteliali di naso, seni paranasali, orecchie e vie aeree fino ai bronchioli respiratori e sono in grado di intrappolare e trasportare verso l'esterno le particelle e i patogeni inalati. Per questa loro azione, le ciglia sono le protagoniste nel meccanismo della clearance mucociliare, che viene portato a termine quando le secrezioni vengono espulse attraverso il naso o la bocca o eventualmente rimosse nel nasofaringe mediante la deglutizione(7).

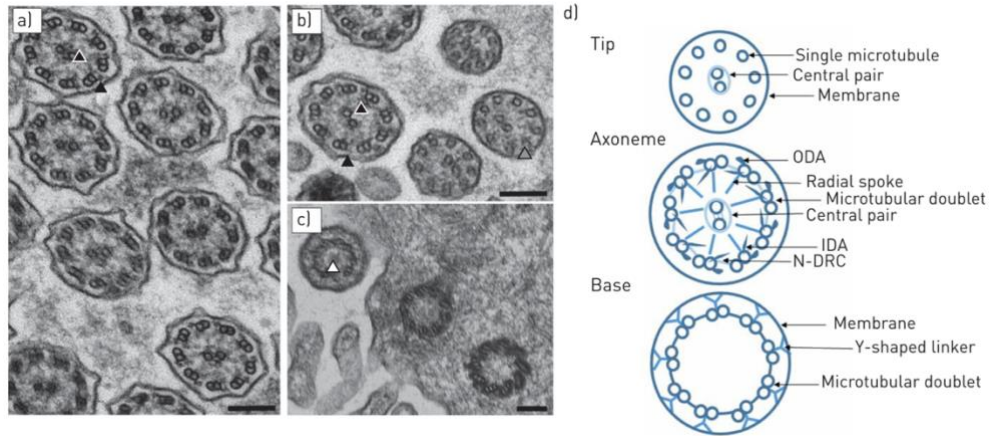
Ciascuna cellula ciliata presenta più di 100 ciglia sulla propria superficie. Queste strutture si proiettano dalla superficie cellulare verso il lume delle vie aeree e presentano un aspetto digitiforme. La struttura di ciascun ciglio [Figura 2] è costituita da un tronco centrale, formato dall'assonema, da un corpo basale (punto di attacco delle ciglia alla cellula) e da una corona (struttura specializzata che si attacca al muco).

L'assonema ha una caratteristica configurazione 9 + 2: presenta infatti 9 coppie di microtubuli esterne che circondano una coppia centrale(8).

Ciascuna coppia periferica consiste di un microtubulo completo (microtubulo A), ovvero formato da 13 unità di tubulina, e di un microtubulo incompleto (microtubulo B) costituito da 10-11 subunità(9).

Ogni coppia periferica si attacca all'altra tramite i nexin-dynein regulatory complex e tramite ponti o bracci di dineina (dynein arms) che si dividono in interni (inner dynein arm, IDA) ed esterni (outer dynein arm, ODA). La struttura base di ODA e IDA è rappresentata da più catene pesanti di dineina (DHC), catene intermedie di dineina e catene leggere di dineina. I microtubuli centrali, infine, si connettono ai periferici mediante i raggi assiali (radial spoke) [Figura 2(10)](8)(9).

Figura 2 Rappresentazione della normale ultrastruttura dell'assonema ciliare in sezione trasversale. Graficamente a destra, mediante TEM a sinistra. (10)



Le ciglia vibrano e si muovono grazie allo scorrimento dei microtubuli gli uni rispetto agli altri. A permettere il movimento dei microtubuli e quindi delle ciglia è l'idrolisi di ATP sulle DHC che induce uno scorrimento reciproco dei microtubuli. Il movimento è poi trasmesso a tutta la struttura ciliare grazie all'interazione presente tra nexin-dynein regulatory complex e i raggi assiali - coppia centrale(11). Le ciglia sono orientate funzionalmente e anatomicamente in maniera uniforme nella stessa direzione e si muovono con sincronia intra ed extra cellulare. Nell'apparato respiratorio la motilità delle ciglia e la coordinazione del battito ciliare sono essenziali per la clearance mucociliare delle vie respiratorie.

1.1.2 Manifestazioni cliniche

Le manifestazioni cliniche nel paziente affetto da DCP sono principalmente a carico dell'apparato respiratorio, interessando i seni paranasali, l'orecchio medio, le vie respiratorie e l'intero parenchima polmonare. Ad essi si associa poi uno spettro di anomalie di lateralizzazione, quali situs viscerum inversus e situs ambiguus, disordini della fertilità e idrocefalo (6).

Il paziente affetto da DCP inizia a manifestare i primi sintomi già nel periodo neonatale, anche se alcune manifestazioni cliniche compaiono più tipicamente in età prescolare, scolare o adulta [Figura 3](5)

Figura 3: prevalenza età-correlata delle manifestazioni cliniche nella DCP (5)

TABLE 1— Age-Related Prevalence of Clinical Features in Primary Ciliary Dyskinesia¹

PCD clinical feature	Youngest age when feature present in >50% of PCD	Youngest age when feature present in >80% of PCD
Neonatal respiratory distress	12 hr of life ²	24 hr of life ²
Organ laterality defects (SIT or SA)	Neonatal to school age	—
Recurrent otitis media with effusion	Infancy	Infancy
Year-round, daily cough	Infancy	Infancy
Year-round, daily nasal congestion	Infancy	Infancy
Chronic pansinusitis	Preschool ³	School age
Recurrent lower respiratory infections	Infancy	Preschool
Bronchiectasis	School age	Adult
Male infertility	—	Adult

SIT, situs inversus totalis; SA, situs ambiguus.

¹Adapted from Knowles et al.⁴

²Reference.²⁸

³Pansinusitis is seen in almost all patients with PCD who have sinus imaging studies, but these studies are not done often in pre-school age children.

La prima manifestazione clinica del paziente con DCP è il distress respiratorio nelle prime 12-24 ore di vita, che colpisce più dell'80% dei nati a termine affetti da DCP e si manifesta con aumentato lavoro respiratorio, tachipnea, presenza di atelettasie delle alte e basse vie aeree alla radiografia del torace e necessità di ossigenoterapia. Nel caso in cui il distress respiratorio neonatale sia associato ad anomalie di lateralizzazione, la probabilità che il neonato sia affetto da DCP aumenta significativamente (11).

Nei primi anni di vita i bambini affetti da DCP presentano rinite persistente, tosse catarrale cronica, otite media ricorrente.

La rinite persistente è la principale manifestazione del coinvolgimento del tratto respiratorio superiore, che si associa a rinosinusite cronica (100%) e otite media (95%). La tosse catarrale cronica (84-100%) può essere un meccanismo di compenso della mancata clearance muco-ciliare, che in un soggetto sano permette di ripulire le vie aeree. Inoltre, sempre nei primi anni di vita, il paziente con DCP può avere un coinvolgimento dell'orecchio medio con otiti medie ricorrenti che possono portare allo sviluppo di ipoacusia trasmissiva(12). Frequente è anche il riscontro di poliposi nasale (fino al 18%).

La mancanza di una clearance muco-ciliare efficace nelle basse vie aeree porta allo sviluppo di episodi ricorrenti di infezioni e di polmoniti. L'accumulo di muco nelle vie aeree terminali inoltre è responsabile della formazione di bronchiectasie.

Queste sono delle dilatazioni irreversibili delle vie aeree di medio o piccolo calibro a livello delle quali possono svilupparsi infezioni, infiammazioni e distruzione delle pareti bronchiali. Possono localizzarsi esclusivamente in un segmento o in un lobo polmonare oppure si possono ritrovare diffusamente in entrambi i polmoni. Clinicamente si manifestano con tosse cronica ed eccessiva produzione di espettorato, spesso purulento. Le bronchiectasie inizialmente si localizzano prevalentemente al lobo medio, alla lingula e ai lobi inferiori (100% pazienti adulti, 55% dei pazienti pediatrici)(13).

I difetti di lateralità come il situs inversus sono presenti in più del 50% dei soggetti con DCP mentre nel 12% si riscontra la presenza di situs ambiguus. Tali difetti di lateralità si accompagnano ad un aumentato rischio di associazione con cardiopatie congenite(14).

Quasi la totalità dei soggetti di sesso maschile affetti da DCP ha problemi di fertilità secondari a dismotilità degli spermatozoi o, più raramente, ad azoospermia. Nelle femmine si ha disfunzione delle tube di Falloppio che si associa a ridotta fertilità e può portare a gravidanze ectopiche(4).

1.1.3 Diagnosi

Alcune manifestazioni cliniche della DCP sono simili ad altre condizioni patologiche quali la fibrosi cistica, l'immunodeficienza, l'inalazione di un corpo estraneo, l'asma e le infezioni respiratorie ricorrenti. Tuttavia, recentemente si sono identificate quattro caratteristiche cliniche peculiari della DCP: tosse catarrale cronica che si presenta per tutto l'arco dell'anno; rinosinusite cronica, non stagionale, ad insorgenza precoce durante l'infanzia, solitamente già poco dopo la nascita; distress respiratorio alla nascita definito come necessità di supplementazione con ossigeno o ventilazione a pressione positiva per più di 24 ore, in particolar modo se associato anche alla presenza di atelettasie; difetti di lateralizzazione, quali situs viscerum inversus, o altre anomalie di localizzazione, come il situs ambiguus(2). Se almeno due di queste caratteristiche cliniche sono presenti la sensibilità e la specificità nella diagnosi di DCP sono, rispettivamente, l'80% e il 72%. Altresì risultano suggestivi di DCP la combinazione di situs inversus

e distress respiratorio neonatale senza una causa identificabile. Test diagnostici per la ricerca di DCP dovrebbero essere condotti soltanto in quei pazienti che presentano un quadro clinico tipico per DCP.(15)(16)

Dal momento che la sintomatologia della DCP è poco specifica e le indicazioni su chi sottoporre a test diagnostici sono scarse, è stato sviluppato uno strumento pratico per identificare quali individui sottoporre ai test diagnostici(17).

Il tool è conosciuto come PICADAR ed è uno score diagnostico predittivo per determinare la probabilità che un individuo abbia la DCP. Questo score si applica a pazienti con tosse catarrale cronica e considera 7 parametri: nascita a termine, sintomi toracici neonatali, trasferimento in terapia intensiva neonatale, rinite cronica, otite o ipoacusia, situs inversus e anomalie cardiache congenite [Figura 4](17).

Figura 4 PICADAR SCORE

PICADAR		
Does the patient have a daily wet cough that started in early childhood?	Yes – complete PICADAR No – STOP. PICADAR is not designed for patients without a wet cough	
1. Was the patient born pre-term or full term?	Term	2
2. Did the patient experience chest symptoms in the neonatal period (e.g. tachypnoea, cough, pneumonia)?	Yes	2
3. Was the patient admitted to a neonatal unit?	Yes	2
4. Does the patient have a situs abnormality (situs inversus or heterotaxy)?	Yes	4
5. Does the patient have a congenital heart defect?	Yes	2
6. Does the patient have persistent perennial rhinitis?	Yes	1
7. Does the patient experience chronic ear or hearing symptoms (e.g. glue ear, serous otitis media, hearing loss, ear perforation)?	Yes	1
Total score =		

Score PICADAR: viene calcolato lo score totale e quindi la probabilità individuale di avere DCP. (17)

Uno score PICADAR ≥ 5 ha una Sensibilità del 90% e una Specificità del 75% nel differenziare pazienti DCP-positivi da pazienti DCP-negativi(17).

Nel 2017 l'European Respiratory Society(25) [Figura 5] e nel 2018 l'American Thoracic Society(15) [Figura 6] hanno entrambe pubblicato delle Linee Guida per la diagnosi della Discinesia Ciliare Primitiva.

Entrambe le società concordano nell'affermare che la diagnosi debba essere fatta in presenza di un quadro clinico caratteristico e suggestivo per DCP e l'esecuzione di indagini tecniche quali la misura dell'ossido nitrico nasale (nNO), l'analisi del battito ciliare mediante high-speed video microscopy (HSVA), l'analisi mediante microscopia elettronica (TEM), l'analisi genetica e l'immunofluorescenza di specifiche proteine dell'assonema.

Tuttavia, non esiste alcun gold standard per la diagnosi di DCP e ciascun singolo test, se applicato alla popolazione generale, non ha una sensibilità e specificità diagnostiche sufficienti.

Figura 5 Approccio diagnostico a step proposto dalla ERS (25)

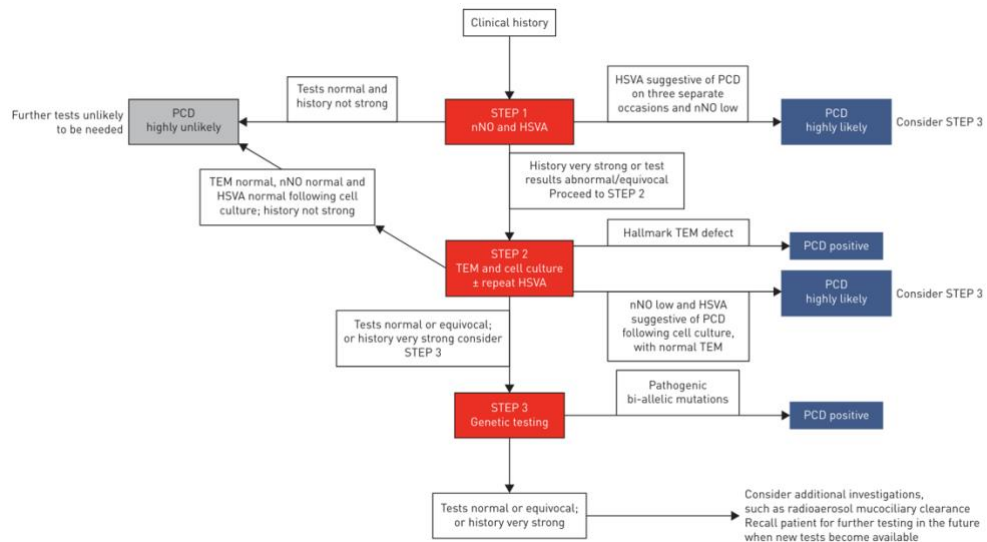
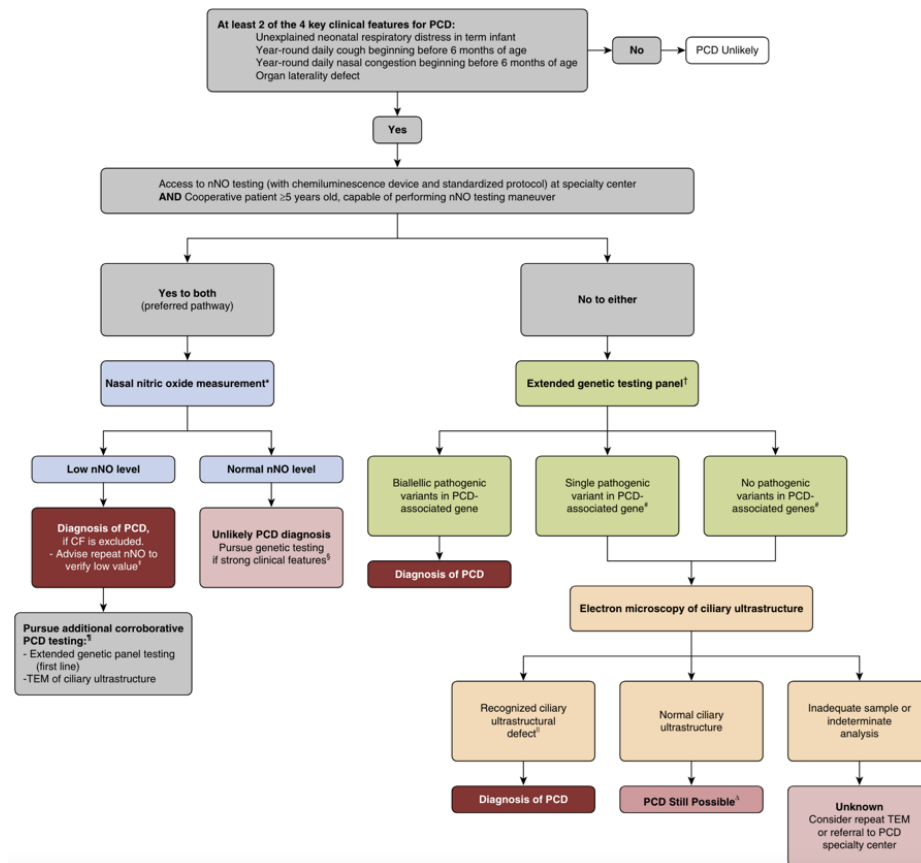


Figura 6 Algoritmo in soggetti con sospetta DCP suggerito dalla ATS (15)



1.1.3.1 Ossido nitrico nasale

L'ossido nitrico nasale (nasal NO, nNO) è un prodotto del metabolismo della L-arginina che si origina per l'azione di una delle tre possibili forme dell'Ossido Nitrico Sintetasi (NOS): NO-sintetasi neuronale (NOS1); NO-sintetasi inducibile (NOS2); NO-sintetasi endoteliale (NOS3). La sede principale di produzione di nNO sono i seni paranasali(19). Nelle vie aeree superiori l'NO svolge diverse funzioni: difesa specifica dell'ospite contro agenti infettivi (batteri, virus e funghi); modulazione della motilità ciliare; regolazione dell'umidificazione e del riscaldamento del flusso d'aria; messaggero aereo tra alte e basse vie respiratorie(18).

L'ossido nitrico nasale nei soggetti affetti da discinesia ciliare primitiva risulta molto spesso di gran lunga inferiore rispetto ai soggetti sani e rispetto al cut-off di normalità pari a 77 nl/min(19). Tale riduzione dell'nNO è stato ipotizzato sia secondaria ad un disaccoppiamento tra il battito ciliare e la produzione di NO, oppure ad un completo malfunzionamento di tutte e tre le isoforme di NOS(20). Tale test diagnostico nel corso degli ultimi decenni ha acquisito sempre più rilevanza nella diagnosi della DCP, ricoprendo il ruolo di primo test diagnostico da eseguire nel paziente con storia clinica suggestiva per DCP sia per le linee guida ATS(15) [Figura 6 (15)] che per le linee guida ERS [Figura 5 (25)].

La misurazione dell'nNO deve avvenire preferibilmente attraverso un analizzatore a chemiluminescenza e si effettua appoggiando un sensore alla narice del paziente mentre lo stesso esegue una manovra espiratoria orale contro resistenza, volta a far chiudere il velo palatino per eliminare la contaminazione derivante dai gas alveolari. La lettura del valore è possibile quando la determinazione raggiunge un valore di plateau. Nei pazienti in età prescolare, non capaci di eseguire la manovra sopradescritta, la determinazione si esegue con altre metodiche, o facendo trattenere il respiro o facendoli respirare a volume corrente tramite la bocca(21). Qualora i livelli di nNO siano risultati bassi, le linee guida suggeriscono di ripeterne la misurazione (possibilmente in un momento di benessere), in quanto i livelli di nNO possono risultare falsamente bassi a seguito di situazioni transitorie come sinusiti o infezioni virali(16).

Inoltre, è da tenere in considerazione che nel caso di pazienti con clinica fortemente suggestiva di DCP ma con riscontro di normali livelli di nNO, devono essere eseguiti ulteriori test diagnostici prima di escludere la diagnosi. Ci sono infatti delle particolari condizioni, tra i quali i soggetti con mutazione del gene RSPH1, in cui si riscontrano normali livelli di nNO(22)(24).

1.1.3.2 Microscopia elettronica a trasmissione (TEM)

L'indagine mediante TEM delle ciglia dell'apparato respiratorio ottenute tramite brushing della mucosa respiratoria nasale o bronchiale rappresenta una delle metodiche utilizzate per la diagnosi di DCP.

L'analisi ultrastrutturale delle ciglia con TEM permette di visualizzare i difetti che principalmente si riscontrano nei soggetti con DCP: l'assenza del braccio esterno di dineina (outer dynein arm, ODA), l'assenza del braccio interno di dineina (inner dynein arm, IDA), la disorganizzazione del microtubulo (MTD), e l'assenza della coppia centrale di microtubuli(23)[Figura 7].

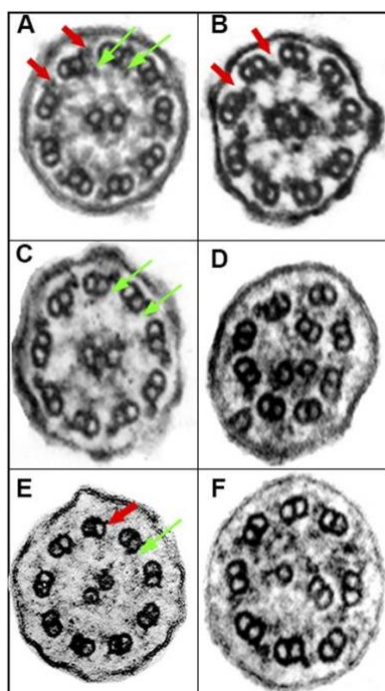


Figura 7: ultrastruttura ciliare in TEM. A) normale struttura ciliare; B) difetto di ODA; C) difetto di IDA; D) difetto di MTD con una coppia esterna che trasloca nella regione centrale; E) difetto di ODA + IDA; F) difetto del complesso centrale con una coppia esterna che trasloca nella regione centrale e perdita di una delle coppie centrali. Freccie rosse = ODA. Freccie verdi = IDA. (24)

I difetti che più frequentemente si riscontrano sono: assenza/accorciamento di ODA, assenza/accorciamento di ODA e IDA, assenza/accorciamento di IDA, assenza di IDA con MTD, difetti del complesso centrale(24).

Nonostante in passato l'analisi TEM fosse considerata il gold standard per la diagnosi di DCP, dati recenti suggeriscono che fino al 30% dei pazienti con DCP possano avere un quadro normale all'analisi ultrastrutturale delle ciglia(9). Da tale considerazione emerge l'importanza, nei pazienti con storia fortemente suggestiva di DCP ed analisi ultrastrutturale delle ciglia nella norma, di proseguire con ulteriori accertamenti prima di escludere in maniera definitiva la diagnosi di DCP.

1.1.3.3 High-Speed Video Analysis

Le indicazioni fornite dall'ERS suggeriscono quale test da eseguire in caso di sospetto clinico di DCP anche la High-Speed Video Analysis (HSVA)(25).

La HSVA è un test che permette di osservare *ex vivo* la funzionalità ciliare, quindi il movimento delle ciglia, che, nei soggetti con DCP, è solitamente alterato.

Dopo aver prelevato un campione di mucosa nasale o bronchiale dal paziente con sospetta DCP, il campione viene analizzato al microscopio per studiare il battito ciliare mediante registrazione video ad alta velocità. Successivamente, il video viene riprodotto a velocità ridotta per visualizzare il pattern di movimento e misurare la frequenza di battito(15).

La valutazione deve essere fatta da microscopisti esperti oppure da sistemi computerizzati, in quanto il principale bias dell'analisi stessa è la soggettività dell'osservatore.

1.1.3.4 Immunofluorescenza

L'analisi microscopica mediante immunofluorescenza rappresenta un'ulteriore metodica nell'approccio diagnostico al paziente con sospetta DCP e permette di visualizzare le proteine dell'epitelio respiratorio mediante il legame di un anticorpo marcato fluorescente con la proteina che si intende individuare(26). L'immunofluorescenza è stata utilizzata principalmente per confermare l'assenza di alcune proteine a seguito della mutazione dei geni codificanti le stesse. Sono disponibili una serie di anticorpi diretti contro proteine del ciglio, inclusi anticorpi contro ODA, IDA, le teste dei radial-spoke e proteine dei complessi regolatori della dineina (25).

1.1.3.5 Genetica

Sia le linee guida ERS (25) che quelle ATS(15) hanno inserito l'indagine genetica tra i test da eseguire nel paziente in cui si sospetta la DCP. Infatti, questa patologia, è una malattia a trasmissione autosomica recessiva caratterizzata dalla mutazione dei geni responsabili della struttura e della motilità delle ciglia. Nel corso degli anni sono state identificate mutazioni in più di 40 geni responsabili della codifica di proteine ciliari; tuttavia, in circa il 25% dei soggetti affetti da DCP non si riesce ancora a identificare la causa genetica(27).

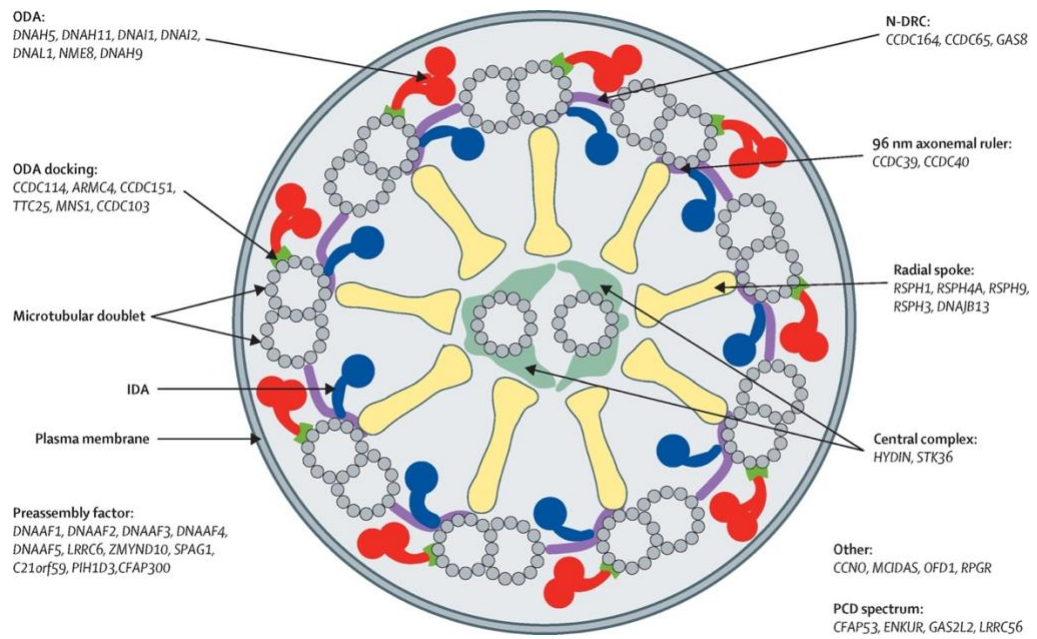
La maggior parte dei geni identificati quali responsabili di DCP se mutati, sono geni che codificano per proteine dell'assonema e quindi proteine essenziali per la corretta struttura e funzionalità ciliare. Nella maggior parte dei casi a ciascuna mutazione corrisponde uno specifico difetto ultrastrutturale(28).

Difetti di ODA si osservano in caso di mutazione dei geni DNAH5, DNAH11 che codificano per le catene pesanti, dei geni DNAI1 e DNAI2 che codificano per le catene intermedie e dei geni DNAL1 e NME8 per le catene leggere.

Gli ODA sono connessi alle coppie di microtubuli tramite dei complessi di attacco codificati da geni quali CCDC114, ARMC4, CCDC151 e TTC25 la cui mutazione può risultare in un ancoraggio anormale di ODA e apparire come assenza di ODA alla TEM.

Sono state identificate mutazioni nei geni CCDC39 e CCDC40 responsabili di alterazioni nella struttura di IDA e difetti nei raggi di connessione e nell'apparato centrale in caso di mutazione nei geni RSPH4A, RSPH9(18).

Figura 8: la figura mostra l'assonema e riassume i più di 40 geni associati a DCP suddivisi per struttura coinvolta. ODA = braccio esterno di dineina; IDA = braccio interno di dineina; CP = coppia centrale; N-DRC = complesso regolatore nexina-dineina. (27)



1.2 Monitoraggio

L'approccio al paziente con DCP deve avvenire da parte di un team multidisciplinare per garantire il miglior percorso di cura possibile. Il team dovrebbe includere specialisti pneumologi, fisioterapisti respiratori, otorinolaringoiatri, genetisti, biologi, cardiologi, radiologi ed andrologi. Soltanto così si riesce a fornire un percorso di cura multidisciplinare appropriato ai bambini con DCP(29).

Il follow-up pneumologico prevede valutazioni ambulatoriali da 2 a 4 volte l'anno presso centri specializzati nel trattamento di patologie polmonari croniche suppurative, durante le quali oltre alla valutazione clinica e funzionale devono essere eseguiti esami colturali dall'espettorato o del lavaggio bronco alveolare (BAL) che comprendano la ricerca di batteri e miceti(5).

Oltre al monitoraggio clinico, funzionale e microbiologico, il paziente con DCP deve essere monitorato anche dal punto di vista radiologico. L'indagine gold standard per tale valutazione è la TC del torace, che viene suggerita alla diagnosi e possibilmente sopra i 5-7 anni e che permette di identificare la presenza di bronchiectasie o altre anomalie polmonari. Il timing della sua ripetizione non è ad oggi chiaramente indicato in letteratura, ma deve essere definito principalmente in base all'andamento clinico del singolo paziente. [Figura 9](5).

Figura 9: Accertamenti e timing nel follow-up del paziente con DCP. (5)

Clinical visits	
Pulmonology:	2–4 times/year
Otolaryngology:	1–2 time/year in children, as needed in adults
Audiology:	at diagnosis and as needed per otolaryngology
Reproductive medicine:	As clinically needed
Long-term surveillance	
Chest radiography:	every 2–4 years
Chest computed tomography:	consider at least once after 5–7 years old (when sedation not required and images are of highest quality) ¹
Airway microbiology cultures:	2–4 times/year
Non-tuberculosis mycobacterial cultures:	every 2 years (and with unexplained clinical decline)
Pulmonary function testing:	2–4 times/year
ABPA testing: IgE levels ± evidence of aspergillus specificity at diagnosis, with new onset wheezing, unexplained clinical decline	
Preventative therapies	
Airway clearance:	daily
Nasal sinus lavage:	daily (when pertinent)
Standard vaccinations:	per local schedule
Influenza vaccine:	annually ²
13-valent pneumococcal vaccine:	per ACIP guidelines ³
23-valent pneumococcal vaccine:	per ACIP guidelines ⁴
RSV immunoprophylaxis:	consider monthly in first winter ⁵

¹And as clinically indicated on a case by case basis.

²After 6 months old, including household members.

³ACIP guidelines.

⁴ACIP guidelines.

⁵Specifically consider in infants with complicated respiratory courses, including prematurity, prolonged mechanical ventilation, prolonged need for supplemental oxygen, need for home supplemental oxygen, or frequent respiratory illnesses.

1.2.1 Funzionalità respiratoria

La valutazione della funzionalità respiratoria nei bambini, adolescenti e adulti affetti da DCP viene svolta mediante spirometria, indagine non invasiva e ripetibile che permette di dare una stima della funzionalità polmonare globale.

In letteratura, non vi è unanime consenso nel definire l'andamento nel tempo della funzionalità respiratoria nei pazienti affetti da DCP(30)(31) in quanto alcuni studi descrivono che la malattia polmonare si mantiene sostanzialmente stabile nel corso degli anni(32), mentre altri studi mostrano come vi sia nel tempo una progressiva riduzione della funzionalità respiratoria con un netto deterioramento in circa un terzo dei soggetti(33). La variabilità registrata dagli studi appena descritti dipende da molteplici fattori, in particolare il fenotipo di malattia dei pazienti analizzati e la loro storia clinica (aderenza alla terapia, infezioni, età alla diagnosi). A tal proposito, *Davis SD et al.* hanno dimostrato che pazienti con difetto di IDA/CA e MTD associati alla mutazione di CCDC39 e CCDC40 hanno valori spirometrici più bassi(34) e *Roden et al.* che l'infezione da *P. Aeruginosa* è correlata con un più precoce declino della funzionalità respiratoria(35).

1.2.2 Microbiologia

Le linee guida raccomandano l'esecuzione periodica di un esame colturale dell'espettorato, almeno 2 volte nell'arco dell'anno(25). I pazienti con DCP a causa dell'alterata clearance muco-ciliare sviluppano frequenti infezioni alle basse vie aeree, le quali rappresentano un'importante fattore di peggioramento delle condizioni di vita(36).

I patogeni più comunemente isolati nelle colture microbiologiche ottenute dall'espettorato o dal lavaggio bronco alveolare (BAL) dei bambini affetti da DCP, sono *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* e *Moraxella catharralis* [Figura 10]. Più temibili sono invece i batteri gram negativi, tra i quali *Pseudomonas Aeruginosa*, che nei pazienti pediatrici sono meno frequentemente riscontrati rispetto ai pazienti adulti e la stessa prevalenza aumenta progressivamente nell'adolescenza(35).

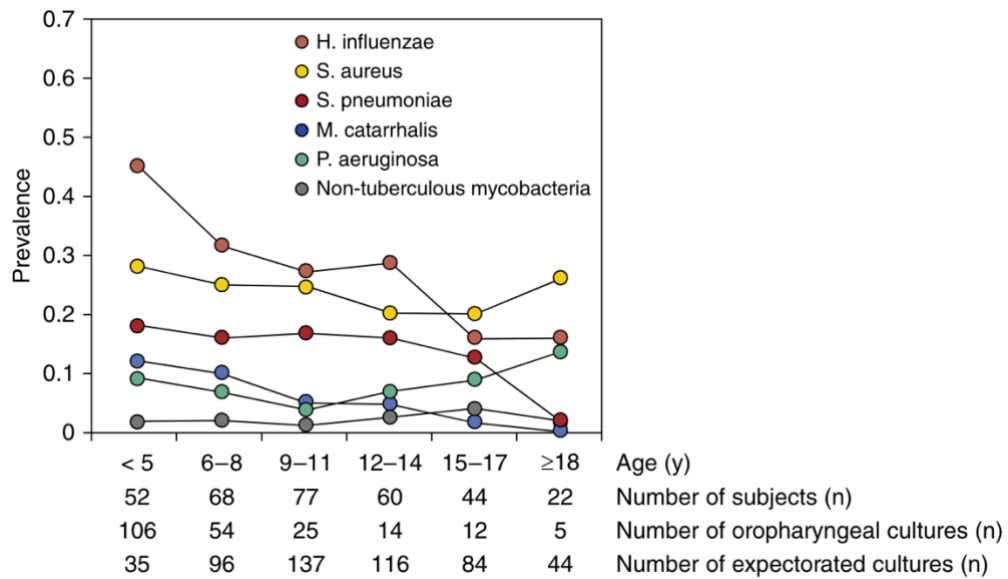
Un importante aspetto da considerare nei pazienti con DCP è l'eventuale colonizzazione da *P.aeruginosa*. In letteratura si considera colonizzato quel paziente in cui nell'arco di 1 anno a distanza di almeno 3 mesi l'una dall'altra almeno due colture dell'espettorato o da BAL siano risultate positive per *P.aeruginosa*(37). Studi hanno mostrato che i pazienti con colonizzazione da *P.aeruginosa* sono solitamente più adulti e hanno degli score alla TC del torace peggiori rispetto ai pazienti non colonizzati(37).

Altro aspetto che correla con la gravità della malattia definita come numero di lobi polmonari coinvolti, danno parenchimale, e deficit funzionale è il numero di esacerbazioni all'anno, definite come peggioramento dei sintomi respiratori. I pazienti con più di due esacerbazioni all'anno hanno mostrato peggior funzionalità polmonare e danni strutturali maggiori rispetto ai pazienti con minor numero di esacerbazioni(37).

La colonizzazione con *P.aeruginosa* rappresenta anche un fattore prognostico negativo nel paziente con bronchiectasie: pazienti adulti colonizzati hanno un rischio di mortalità 3 volte maggiore e un rischio di ospedalizzazione 7 volte maggiore rispetto ai pazienti non colonizzati(38).

Questo pone l'attenzione sull'importanza di identificare e trattare precocemente *P.aeruginosa* per evitare danni strutturali in pazienti con DCP(39).

Figura 10: cross-sectional plot della prevalenza dei batteri isolati da colture respiratorie in relazione all'età. (39)



2 Indagini strumentali per lo studio del parenchima polmonare

2.1 HRCT DEL TORACE

La TC ad alta risoluzione (High Resolution Computed Tomography, HRCT) del torace rappresenta il metodo di scelta per lo studio e il monitoraggio delle anomalie anatomiche a carico del parenchima polmonare e delle vie aeree(40). Tramite la sua elevata risoluzione, la HRCT del torace è infatti in grado di identificare con accuratezza sia le caratteristiche che la severità e la distribuzione delle anomalie polmonari nel paziente affetto da DCP. La HRCT riesce a raggiungere la massima risoluzione spaziale grazie ad una collimazione stretta, intorno a 1 mm, e all'uso di un algoritmo di ricostruzione ad alta frequenza spaziale. I protocolli HRCT solitamente usano una collimazione di 1-1.5 mm ogni 10-20 mm attraverso il torace(41).

Ulteriore suo punto di forza è il ridotto tempo di esecuzione(42).

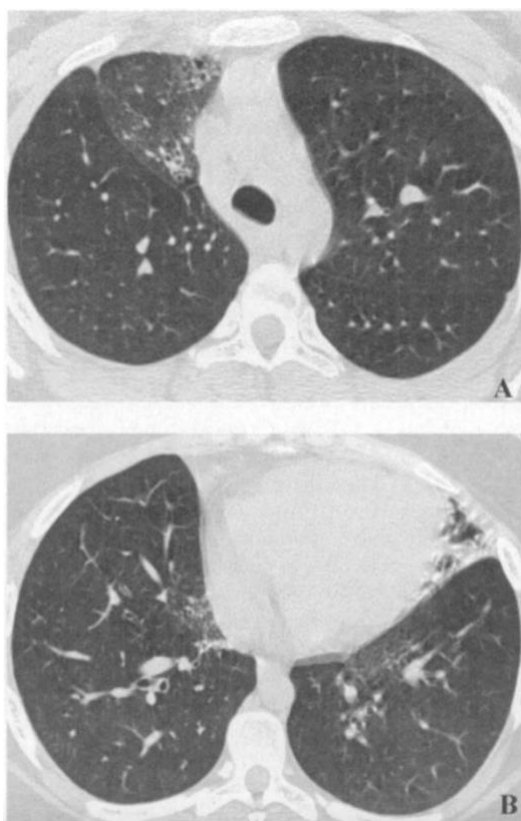


Figura 11: sezioni trasversali di HRCT in paziente 18enne con DCP. A) Presenza di bronchiectasie centrali e periferiche nel lobo medio. B) Presenza di bronchiectasie nel lobo inferiore destro e una consolidazione o atelettasia nella lingula. (42)

Tuttavia, essendo la DCP una patologia con una buona speranza di vita, il rischio connesso all'esposizione alle radiazioni limita l'utilizzo della HRCT del torace, soprattutto in ambito pediatrico. La TC si basa sull'utilizzo di raggi X, radiazioni che in letteratura sono state studiate per il possibile effetto cancerogeno sui tessuti, soprattutto quando il paziente è esposto ad alte dosi per lungo tempo o quando il paziente è un bambino. In particolare, l'attenzione va posta in ambito pediatrico in quanto tessuti e organi in via di sviluppo sono maggiormente sensibili all'effetto delle radiazioni rispetto a tessuti e organi adulti e in quanto l'esposizione ad una radiazione di un set fissato di parametri risulta in una dose relativamente più elevata in una stessa sezione trasversale di un bambino rispetto a quella di un adulto(43).

Ad oggi non ci sono studi che hanno attribuito un legame diretto tra l'esposizione alle radiazioni della TC e il rischio di cancro, ma la Biological Effects of Ionizing Radiation (BEIR) Committee of the National Academy of Sciences ha evidenziato come all'aumentare della dose di radiazione ionizzante a cui si è esposti aumenta linearmente il rischio di cancro (44).

Nell'esecuzione della HRCT del torace è pertanto importante bilanciare il rischio da esposizione a radiazioni con i benefici legati all'identificazione precoce delle anomalie anatomiche a carico del parenchima polmonare, che sono visibili alla HRCT del torace prima che compaiano deficit nella funzionalità respiratoria o anomalie alla radiografia del torace(45).

Nel bilanciare rischi e benefici, la comunità medica deve agire in modo da usare la minor dose di radiazioni possibile per ottenere le informazioni diagnostiche, limitare queste indagini soltanto quando veramente necessarie, preferire qualora possibile altre metodiche di imaging che non usano radiazioni, quali la ecografia o la risonanza magnetica(43).

Le anomalie polmonari più comunemente riscontrate nelle immagini della HRCT del torace nel paziente affetto da DCP sono: bronchiectasie (BE) atelettasia/consolidamento, mucus plugging (MP) e tree-in-bud (46) [Figura 12].

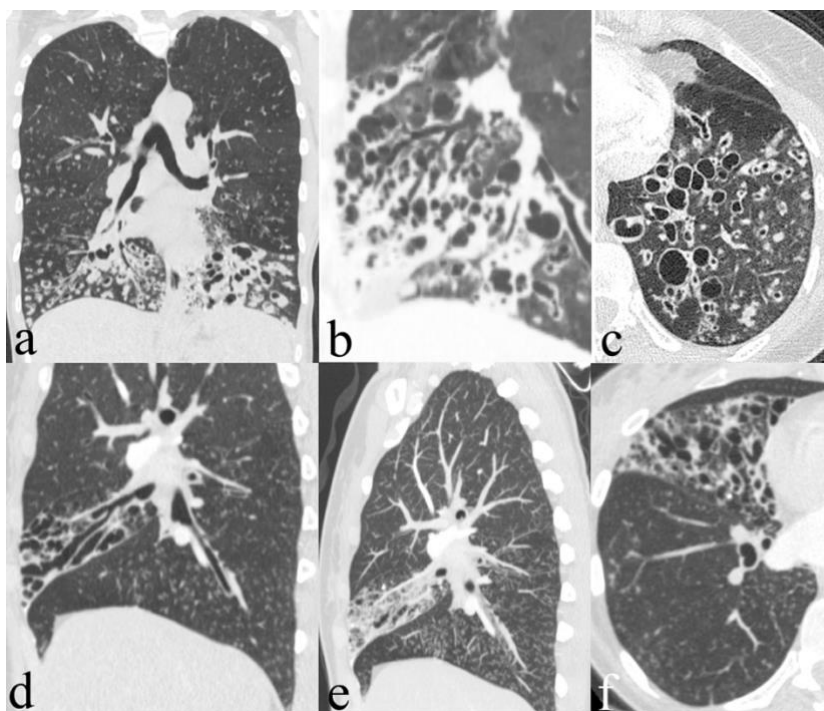
Le bronchiectasie sono delle dilatazioni delle vie aeree che si accompagnano a mancanza di tapering, inteso come riduzione del diametro delle vie aeree dal

centro alla periferia. Solitamente sono il risultato di infezioni ripetute, infiammazioni e danni alle vie aeree (47). Si tratta di una delle più comuni anomalie strutturali visualizzate alla TC dei pazienti con DCP (circa 50% dei pazienti pediatrici) prevalentemente al lobo medio e ai lobi inferiori(48).

Con il termine atelettasia si indica una regione del parenchima polmonare collassata e non areata che può originarsi da tre meccanismi diversi: ostruzione delle vie aeree, compressione del parenchima e aumentata tensione superficiale negli alveoli e nei bronchioli(49).

Il mucus plugging e il tree-in-bud sono presenti quando il muco riempie le vie aeree, che di conseguenza possono dilatarsi; è frequentemente osservabile a livello delle bronchiectasie oppure quale condizione pre-bronchiectasia(50).

Figura 12 HRCT del torace in pazienti con DCP. a-b-c) bronchiectasie cistiche ai lobi inferiori; mucus plug e pattern tree-in-bud. d-e-f) bronchiectasie varicose al lobo medio; mucus plug e associato tree-in-bud al lobo superiore destro. (48)



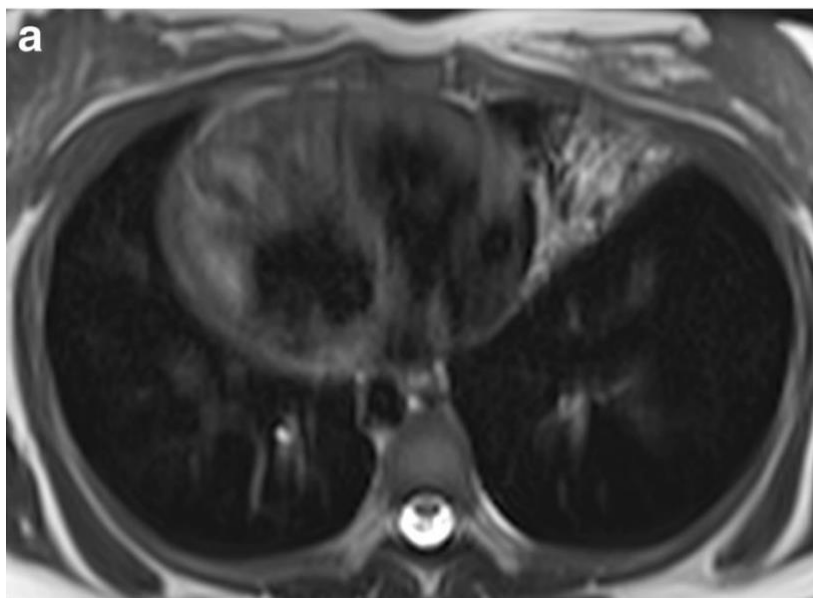
2.2 RM DEL TORACE

La risonanza magnetica (RM) del torace è un'indagine diagnostica che permette di studiare il parenchima polmonare e le restanti strutture toraciche. A differenza della TC, la RM presenta il vantaggio di non sottoporre il paziente a radiazioni ionizzanti e di permettere contemporaneamente lo studio di ventilazione (mediante inalazione di gas iperpolarizzati, enhancement di ossigeno o metodi dinamici motion-based) e perfusione polmonare(51). D'altro canto ha però lo svantaggio di produrre immagini a più scarsa qualità per la combinazione di bassa densità protonica del parenchima polmonare, di estese interfacce aria-tessuto e di artefatti dati dalle pulsazioni cardiovascolari e dai movimenti respiratori(51). Inoltre, la RM non è sempre disponibile in tutti i centri, spesso il medico radiologo ha una scarsa esperienza nell'interpretazione delle immagini relative al torace, ha lunghi tempi di acquisizione delle immagini e un costo più elevato rispetto alla TC(52).

Diverse strategie sono state messe in atto nel corso degli ultimi anni per migliorare la qualità delle immagini della RM polmonare, tra le quali l'acquisizione delle immagini durante una manovra di apnea (VIBE – volumetric interpolated breath-hold examination) al fine di ridurre gli artefatti respiratori. Soprattutto nel bambino, per ottenere una corretta VIBE, è necessario un training sulle modalità di esecuzione delle manovre respiratorie, che comunque spesso sotto i 6 anni difficilmente sono eseguite in maniera corretta(53).

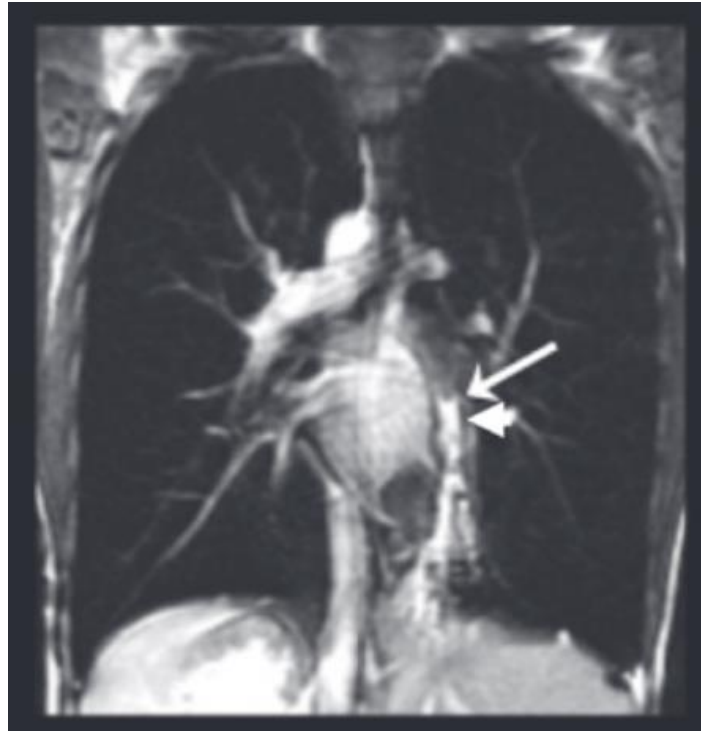
Inoltre, è stata introdotta la tecnica ultrashort echo (UTE) che permette di ottenere delle immagini submillimetriche ad alta risoluzione minimizzando il tempo di eco in modo da mitigare l'effetto della perdita di segnale e ottenere un rendimento migliore. L'esecuzione della risonanza magnetica con sequenze UTE si è dimostrata particolarmente adatta alla visualizzazione del parenchima polmonare e delle vie aeree(54)(55) [Figura 13].

Figura 13: sezione trasversale di RM in paziente con DCP e situs viscerum inversus che mostra un'area di consolidamento nel lobo medio. (52)



Uno studio di comparazione tra TC e RM in un gruppo di pazienti con malattie polmonari croniche, tra cui anche pazienti con DCP, ha mostrato come vi sia una buona correlazione tra la densità polmonare alla TC e l'intensità del segnale alla RM. La RM ha individuato tutte le anomalie anatomiche tipiche della DCP e visualizzate alla HRCT: bronchiectasie, mucus plugging, consolidamenti (56). Lo studio ha mostrato una concordanza eccellente tra RM e HRCT in tutti gli score che valutano le principali anomalie anatomiche della DCP, validando la RM come indagine in grado di equiparare la HRCT nell'individuazione di queste anomalie anatomiche. Da questo studio è anche emerso come la RM permetta una miglior visualizzazione del mucus plugging e dell'ispessimento parietale rispetto alla TC, mentre sia meno informativa nella individuazione delle bronchiectasie(57) [Figura 14].

Figura 14: RM del torace in paziente con DCP. Mostra collasso del lobo inferiore sinistro, con dilatazione dei bronchi (freccia) e mucus plugging (punta di freccia). (57)



2.3 PET

La tomografia ad emissione di positroni (PET) è una tecnica diagnostica di medicina nucleare nella quale si somministra un radiotracciante per via intravenosa e si misura la sua distribuzione nel corpo. Le informazioni che si ottengono sono di tipo funzionale, motivo per il quale le immagini PET si combinano con immagini morfologiche ottenute con TC (PET/TC) o RM (PET/RM)(58). L'acquisizione di immagini in tempo reale tramite PET/RM permette la contemporanea visualizzazione di dati dinamici PET e di dati anatomici/funzionali alla RM. In Figura 15 sono riassunti i punti di forza e le debolezze di entrambe le tecniche(59).

Figura 15: Tabella riassuntiva dei punti di forza (Strengths) e delle Limitazioni (Limitations) di PET/TC e PET/RM. (59)

	Strengths	Limitations
PET/CT	<ul style="list-style-type: none"> • Widely available • Established imaging protocols • Evidence proven indications • Familiarity among ordering providers • Quantitative accuracy well established • Imaging of small pulmonary nodules • Exams performed in as little as 30 minutes 	<ul style="list-style-type: none"> • Limited soft tissue contrast • Fast CT exam does not provide extra time for PET acquisition • IV contrast not routinely used • If focused MRI needed, must be additional exam • Ionizing radiation from CT component
PET/MRI	<ul style="list-style-type: none"> • Improved soft tissue contrast • Added value of DWI • Increased available time to collect PET data • Better motion correction • Convenience and time savings with combined exams • Use of MRI specific contrast agents • No ionizing radiation from MRI component 	<ul style="list-style-type: none"> • Limited availability • Protocols and indications still in development • Require technologist knowledgeable in both NM and MRI • Quantitative accuracy still being determined • Exams may take 1 hour or longer • Limited evaluation of pulmonary parenchyma

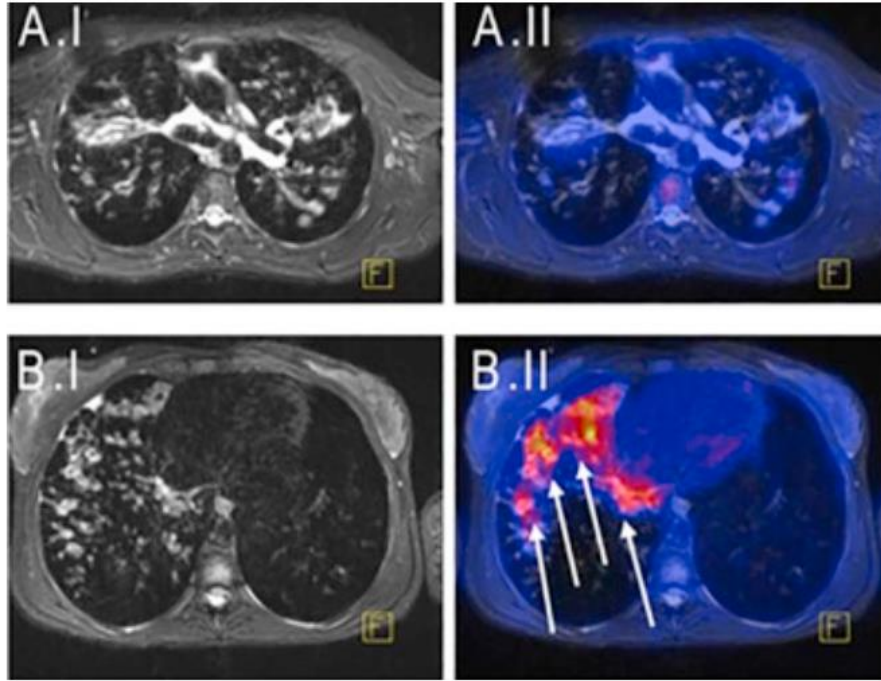
La PET/RM, rispetto alla PET/TC, permette una miglior visualizzazione dei tessuti molli, una minor esposizione a radiazioni e fornisce informazioni funzionali (quali perfusione, diffusione e metabolismo)(59). Inoltre, la PET/RM permette di identificare infezioni e infiammazioni attraverso la somministrazione endovenosa di ^{18}F -FDG (18-fluorodesossiglucosio), radiotracciante più comunemente utilizzato come marker per il metabolismo del glucosio, essendo un analogo non fisiologico del glucosio(60). Nel dettaglio, il ^{18}F -FDG viene trasportato all'interno delle cellule dai trasportatori del glucosio (GLUT). Il recettore GLUT trova una maggiore espressione nel tessuto tumorale in quanto le cellule tumorali basano il loro

metabolismo prevalentemente sulla glicolisi e quindi necessitano di un elevato uptake di glucosio. Un aumento dell'espressione di GLUT si riscontra anche nell'infiammazione, poiché le cellule che intervengono nell'infiammazione, quali ad esempio i macrofagi, hanno un rapido metabolismo glucidico e necessitano quindi di elevate quantità di glucosio. Lo stesso vale per le infezioni, in cui sia il sistema immunitario sia il patogeno hanno elevata attività e per questo necessitano di glucosio ed esprimono ampiamente GLUT(61). Nell'infiammazione i meccanismi per cui si rileva un'aumentata captazione sono diversi: aumento della permeabilità vascolare e quindi del radiotracciante nella sede infiammata, aumentata glicolisi, attiva proliferazione delle cellule infiammatorie. Una volta captato dalla cellula il ^{18}F -FDG viene quindi fosforilato da un'esochinasi a ^{18}F -2'-FDG-6 fosfato e non più metabolizzato, rimanendo così intrappolato all'interno della cellula(62).

Nel polmone, il ^{18}F -FDG viene maggiormente captato nelle aree di infiammazione o infezione e pertanto la PET/RM permette di individuare e localizzare tali aree [Figura 16].(63)

Nonostante questo promettente utilizzo in Pneumologia Pediatrica, ad oggi la PET/RM viene utilizzata esclusivamente in Oncologia Pediatrica per la stadiazione e il follow-up, mentre in ambito non oncologico ancora non sono state sviluppate chiare linee guida o indicazioni di utilizzo(64).

Figura 16 PET/RM in paziente con fibrosi cistica e infezione polmonare acuta. La PET/RM mostra infiammazione nei lobi inferiori (64)



3 SCOPI

Il presente studio ha l'obiettivo di valutare la sensibilità della PET e della RM, utilizzando una tecnica combinata PET/RM, nella valutazione dell'infiammazione polmonare nei bambini-adolescenti affetti da DCP e di analizzare, nel confronto con la HRCT del torace, la performance della RM utilizzando sequenze ottimizzate per lo studio della morfologia polmonare.

Nello specifico, lo studio si prefigge i seguenti scopi principali:

1. Analizzare l'entità e la distribuzione dell'infiammazione polmonare in bambini-adolescenti affetti da DCP tramite PET/RM con ^{18}F -FDG delle basse vie aeree;
2. Confrontare gli aspetti anatomico-funzionali evidenziati dalla RM del polmone ottenuta mediante applicazione delle sequenze ottimizzate per lo studio della morfologia polmonare con gli aspetti evidenziati dalla HRCT del torace, attualmente considerata "gold standard" per lo studio del polmone;
3. Correlare l'andamento clinico e funzionale e la positività microbiologica su espettorato o BAL con il grado di infiammazione mostrato alla PET e con i quadri morfologici di HRCT e RM.

4 MATERIALI E METODI

Il presente studio è stato svolto su bambini (età ≥ 6 anni) e adolescenti affetti da discinesia ciliare primitiva (DCP) seguiti presso la UOSD di Pneumologia e Allergologia Pediatrica del Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino dell'Azienda Ospedale-Università di Padova.

La diagnosi di DCP è stata posta secondo i criteri diagnostici della European Respiratory Society(25).

Al momento dell'arruolamento sono stati raccolti i dati anamnestici, anche tramite consultazione di cartella elettroniche e cartacee relative a visite ambulatoriali, di DH o di ricoveri. Ogni paziente è stato quindi sottoposto ad esame obiettivo ed ha eseguito: esame colturale dell'espettorato o del BAL, spirometria, HRCT del torace, PET/RM del torace con ^{18}F -FDG (HRCT del torace e PET/RM a breve distanza, ovvero entro 1 mese).

Le spirometrie sono state eseguite utilizzando uno spirometro a campana da 10 litri (Biomedin, Padova, Italia). I valori spirometrici (FEV1, FVC, FEV1/FVC e FEF 25-75) sono stati espressi come % rispetto ai valori teorici e come Z-score come da indicazioni del Global Lung Function Initiative promosso dall'European Respiratory Society (ERS)(25) utilizzando i parametri del "GLI Spirometry Task Force".

Le indagini di HRCT del Torace sono state acquisite presso la Radiologia Pediatrica utilizzando una TC a 64 strati GE Revolution Evo (General Electrics Healthcare), mentre le immagini di PET/RM del torace sono state acquisite presso la U.O.C. di Medicina Nucleare utilizzando un tomografo PET/RM Siemens Biograph mRM con campo magnetico di 3 Tesla. L'analisi delle immagini ottenute tramite HRCT e PET/RM è stata effettuata presso una workstation della U.O.C. di Medicina Nucleare congiuntamente da un radiologo e da un medico nucleare.

Le basse vie respiratorie sono state analizzate mediante tomografo integrato PET/RM (sequenze standard T1 e T2 pesate + 1 sequenza T1 "work in progress" (WIP) "UTE spiral VIBE" con tempo di eco vicino allo zero + una sequenza T2 blade

ottimizzata per i fluidi con trigger respiratorio per un totale stimato di 15 minuti). Le immagini PET sono state acquisite utilizzando tecnica list mode (15 minuti) e quindi ricostruite in immagini corrette per l'attenuazione (AC) e non corrette per l'attenuazione (NAC).

Nei pazienti con situs viscerum inversus abbiamo considerato polmone destro quello in cui si trova il bronco lobare medio e il lobo medio corrispondente.

Le immagini ottenute sono state quindi valutate congiuntamente da un radiologo e da un medico nucleare esperti, mediante sistema Syngo-via e layout dedicato al progetto, prima in cieco rispetto alla CT e poi confrontando i dati RM e CT.

La raccolta e l'elaborazione dei dati è stata eseguita mediante il programma Excel di Microsoft Office 365. Per l'analisi statistica si è fatto uso del test t-di Student per dati parametrici e test Mann-Whitney per dati non parametrici per confrontare i dati spirometrici e i dati riguardanti le riacutizzazioni.

Per la determinazione della concordanza tra le tecniche di imaging HRCT e RM è stato applicato il coefficiente Kappa di Cohen.

Lo studio è stato approvato dal comitato etico dell'Azienda Ospedaliera Universitaria di Padova (CESC 4818/AO/20 e codice URC AOP1724 approvato il 18/02/2021). Tutti i genitori dei pazienti se minorenni e i pazienti stessi se maggiorenni hanno firmato il documento di consenso informato per la partecipazione allo studio e al trattamento dei dati personali secondo la legge italiana.

5 RISULTATI

5.1 Caratteristiche della popolazione

5.1.1 Caratteristiche generali

Sono stati arruolati un totale di 14 pazienti (range età: 7,8-25,5 anni) affetti da DCP da Giugno 2021 a Gennaio 2022. Le caratteristiche dei pazienti sono riassunte nella Tabella I.

Tabella I Caratteristiche generali della popolazione. IQR = range interquartile.

CARATTERISTICHE	
Genere	Maschi 6 (42,8%) Femmine 8 (57,1%)
Età mediana (IQR)	14,15 anni (IQR 12 – 16,9)
Situs viscerum inversus	4 pazienti (28,6%)
Pregressa lobectomia	1 paziente (7,1%)

5.1.2 Presentazione clinica

Il 57,1% dei pazienti, ovvero 8 su 14, ha manifestato distress respiratorio alla nascita e in 4 di questi si è resa necessaria la supplementazione di ossigeno nei primi giorni di vita (vedi Tabella II). Inoltre, 4 pazienti presentano situs viscerum inversus (completo).

Nei pazienti con DCP analizzati, il sintomo più frequente è la tosse catarrale cronica, presente nell'85,7% (12 su 14) dei pazienti, seguito da rinite/sinusite cronica, rilevata nel 73% dei pazienti (Tabella II). Altre manifestazioni cliniche dei pazienti con DCP analizzati nel nostro studio sono riassunte in Tabella II.

Tra le comorbidità, descritte in Tabella II, la più frequente è l'asma bronchiale che è presente in 10 pazienti su 14 (71,4%). Tra questi, 6 presentano anche sensibilizzazione ad inalanti.

Tabella II Manifestazioni cliniche della DCP

SINTOMI	N (%)
Distress respiratorio neonatale	8 (57,1%)
	Supplementazione di O ₂ 4 (28,6%)
Tosse catarrale cronica	12 (85,7%)
Rinite/sinusite cronica	11 (78,6%)
	Poliposi nasale 4 (28,6%)
Otiti ricorrenti	4 (28,6%)
	Ipoacusia trasmissiva 4 (28,6%)
Altri sintomi associati	Patologia cardiaca 2 (14,3%)
	Scoliosi 1 (7,1%)
	Ventricolomegalia 3 (21,4%)
Comorbidità	Asma bronchiale 10 (71,4%)
	Sensibilizzati a inalanti 6 (42,8%)
	Celiachia 1 (7,1%)
	Depressione maggiore 1 (7,1%)

5.1.3 Diagnosi

Per tutti i pazienti analizzati la diagnosi di DCP è stata eseguita secondo le linee guida ERS (25) e tutti i pazienti hanno eseguito l'analisi ultrastrutturale delle ciglia dell'apparato respiratorio mediante microscopia elettronica. I campioni sono stati ottenuti da brushing della mucosa nasale o bronchiale ed analizzati presso il "Servizio di Microscopia Elettronica – A.O.U. Ospedali Riuniti di Ancona".

Con l'analisi di microscopia elettronica sono emersi (Tabella III):

- 9 pazienti (64,3%) con difetto del braccio esterno e del braccio interno di dineina (ODA + IDA);
- 1 paziente (7,1%) con difetto di ODA e IDA più dislocazione della coppia centrale;
- 1 paziente (7,1%) con difetto di IDA e disarrangiamento dei microtubuli (IDA + DMT);
- 1 paziente con allineamento delle ciglia alterato ed ultrastruttura normale;
- 1 paziente con ridotta generazione delle ciglia;

- 1 paziente senza alterazioni visibili alla TEM.

In 12 pazienti (85,7%) è stata eseguita la determinazione dell'ossido nitrico nasale (Tabella III), risultato patologico nel 100% dei pazienti (valore medio di 48,3 ppb), considerando un valore normale di nNO > 250 ppb (equivalente a 77 nL/min).

In tutti i pazienti è stata fatta inoltre l'analisi genetica per la ricerca delle mutazioni geniche più frequentemente associate a DCP riportate in letteratura. Le mutazioni genetiche riscontrate sono riassunte in Tabella III e i geni mutati sono CCDC40, DNAH5, CCDC114, LRRC6, SPAG1, CCNO, tutti associati a DCP (25). Attualmente risulta ancora in corso l'analisi genetica di un paziente.

Tabella III Mutazione genetica, quadro riscontrato alla TEM e valore medio di ossido nitrico nasale (nNO) nei pazienti affetti da DCP. ODA = braccio esterno di dineina; IDA = braccio interno di dineina; DMT = disarrangiamento dei microtubuli

Paziente	Gene mutato	TEM	nNO
01	SPAG1	Assenza ODA + IDA	5,5 ppb
02	In corso	Allineamento ciglia alterato con ultrastruttura normale	18,5 ppb
03	CCDC40	Assenza IDA + DMT	Non disponibile
04	CCDC40	Dislocazione della coppia centrale; assenza ODA + IDA	18 ppb
05	CCDC114	Assenza ODA + IDA	42,5 ppb
06	DNAH5	Nessuna alterazione	206,5 ppb
07	CCDC40	Assenza ODA + IDA	Non disponibile
08	CCNO	Ridotta generazione delle ciglia	55 ppb
09	CCDC114	Assenza ODA + IDA	51 ppb
10	LRRC6	Assenza ODA + IDA	46,5 ppb
11	DNAH5	Assenza ODA + IDA	20,5 ppb
12	DNAH5	Assenza ODA + IDA	55 ppb
13	DNAH5	Assenza ODA + IDA	43,5 ppb

14	Non identificate mutazioni patogenetiche	Assenza ODA + IDA	17 ppb
-----------	--	-------------------	--------

Andando a confrontare l'esito della genetica con il difetto ultrastrutturale (Tabella IV), in accordo con i dati della letteratura (25)(65), abbiamo evidenziato che le mutazioni del gene DNAH5, CCDC114, LRRC6 e SPAG1 sono associate a difetto ODA + IDA, le mutazioni del gene CCDC40 sono associate a difetto IDA + DMT oppure IDA + ODA, le mutazioni del gene CCNO con il quadro di ridotta generazione delle ciglia.

Tabella IV Mutazioni genetiche e corrispettivi quadri microscopici

N	Gene mutato	Quadro riscontrato alla TEM
4 (28,6%)	DNAH5	ODA + IDA (3) Nessuna alterazione (1)
3 (21,4%)	CCDC40	IDA + DMT (1) IDA + ODA (2)
2 (14,3%)	CCDC114	ODA + IDA
1 (7,1%)	CCNO	Ridotta generazione delle ciglia
1 (7,1%)	LRRC6	ODA + IDA
1 (7,1%)	SPAG1	ODA + IDA

5.2 Funzionalità respiratoria

La funzionalità respiratoria è stata analizzata mediante spirometria su tutti i pazienti arruolati nello studio. I valori spirometrici considerati (Tabella V) sono: FEV1, FVC, FEV1/FVC, FEF25-75.

Tabella V Valori spirometrici espressi come % predetto e come Z-score

	FEV1 (%pred)	FEV1 (Z-score)	FVC (%pred)	FVC (Z-score)	FEV1/FVC	FEF25-75 (%pred)	FEF25-75 (Z-score)
01	49,41	-4,14	54,19	-4,00	0,81	40,54	-3,07
02	86,29	-1,14	94,41	-0,46	0,81	69,07	-1,38
03	53,09	-3,86	63,16	-3,13	0,75	33,45	-3,57
04	68,03	-2,65	82,71	-1,41	0,71	40,11	-3,10
05	58,19	-3,49	74,23	-2,56	0,70	33,14	-3,65
06	89,29	-0,91	87,46	-1,07	0,90	79,51	-0,96
07	74,83	-2,11	74,77	-2,22	0,85	74,06	-1,24
08	85,39	-1,27	82,62	-1,52	0,88	91,06	-0,41
09	90,45	-0,81	96,24	-0,33	0,81	75,54	-1,15
10	50,63	-3,61	55,16	-3,58	0,85	42,56	-2,70
11	98,16	-0,15	108,79	0,76	0,77	77,59	-1,06
12	91,78	-0,70	94,09	-0,49	0,87	93,02	-0,33
13	99,63	-0,03	86,81	-1,16	0,99	122,17	0,93
14	84,13	-1,37	92,07	-0,69	0,79	57,55	-2,14
Media	77,09	-1,88	81,9	-1,5	0,82	66,38	-1,70
DS	17,94	1,42	16,02	1,37	0,08	26,42	1,39

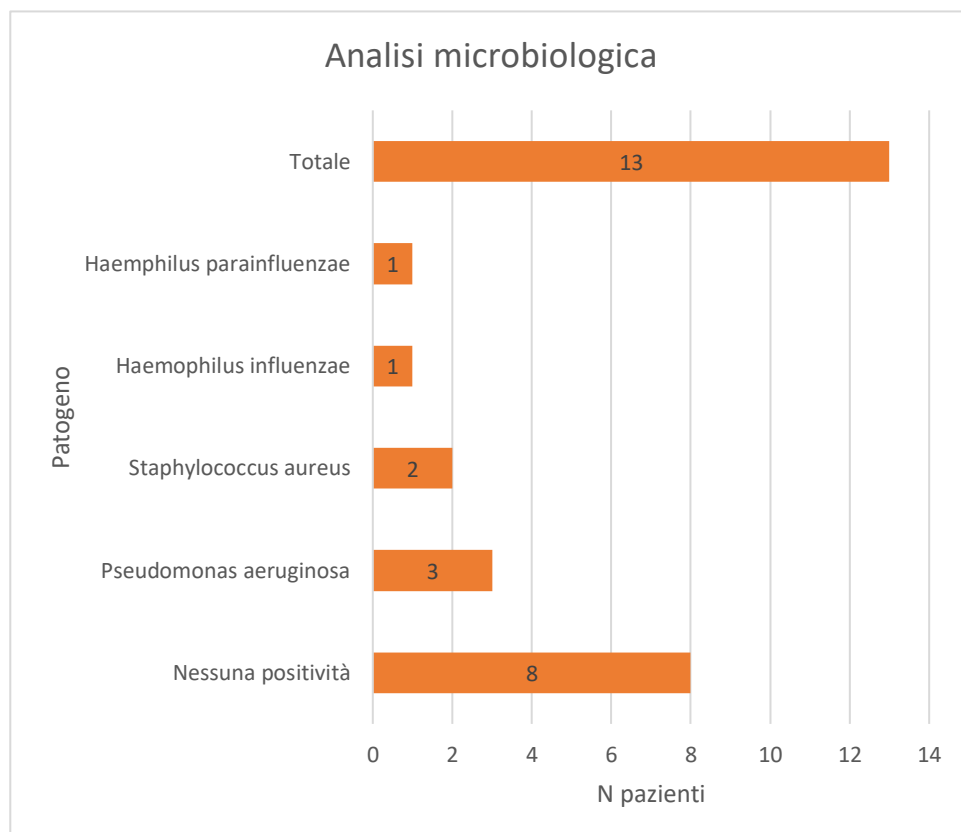
5.3 Microbiologia

In 13 pazienti (92,8%) abbiamo eseguito l'analisi colturale di espettorato o broncolavaggio, raccogliendo i campioni nell'arco temporale di 1 mese dall'esecuzione di HRCT del torace e PET/RM. L'indagine colturale è stata eseguita in 11 pazienti (78,6%) su espettorato e in 2 pazienti (14,3%) su BAL. In 1 paziente non è stato possibile riuscire ad avere un campione da analizzare per incapacità a produrre una quantità adeguata di materiale.

8 pazienti (57,1%) non hanno mostrato positività all'esame colturale di espettorato o BAL. Nei restanti 5 pazienti (35,7%), i patogeni riscontrati in ordine di frequenza sono stati: *Pseudomonas aeruginosa* in 3 pazienti, *Staphylococcus aureus* in 2 pazienti, *Haemophilus influenzae* in 1 paziente e *Haemophilus parainfluenzae* in 1 paziente. Il paziente con *Haemophilus influenzae* è risultato contemporaneamente positivo anche a *S. Aureus*, mentre un paziente è risultato positivo a *S. Aureus* e *P.Aeruginosa*.

Nella Tabella VI sono rappresentati gli esiti delle colture microbiologiche.

Tabella VI Assetto microbiologico attuale

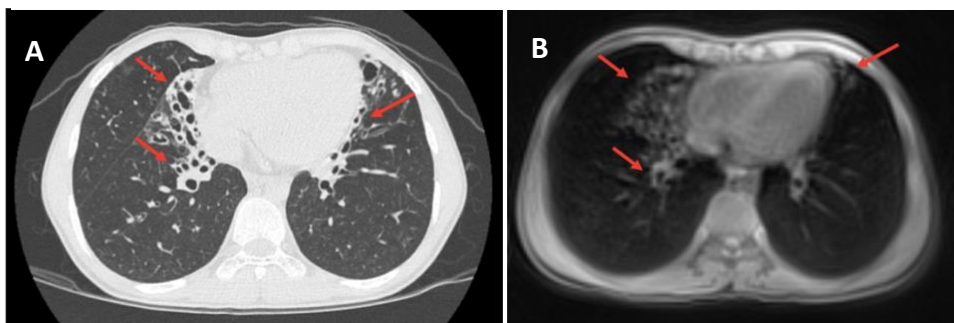


Dalla valutazione delle riacutizzazioni infettive, calcolate come numero di antibiotici assunti negli ultimi 12 mesi, è emersa una media nella popolazione di 1,6 (dev.std 1,5) riacutizzazioni per paziente nell'ultimo anno.

5.4 HRCT E RM

Tutti e 14 i pazienti arruolati nello studio hanno eseguito HRCT del torace e PET/RM.

Figura 17 HRCT del Torace (riquadro A) e RM del Torace (riquadro B) di un paziente arruolato nello studio (età 14 anni) con diffuse bronchiectasie (freccie rosse) a livello del segmento antero-basale e medio-basale del lobo inferiore destro e a livello della lingua.

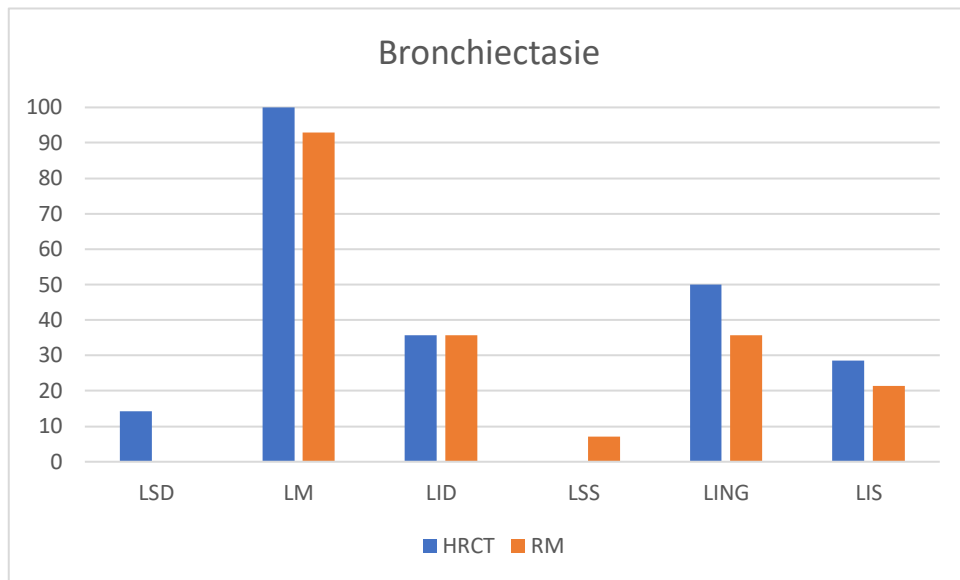


Le anomalie patologiche maggiormente riscontrate alla HRCT del torace e alla RM del torace sono state:

1) Bronchiectasie: rilevate in tutti i pazienti sia alla HRCT sia alla RM. Le due metodiche radiologiche hanno dimostrato una buona concordanza nella localizzazione delle bronchiectasie come evidenziato dal grafico riportato in Figura 18. La sede maggiormente coinvolta è il lobo medio risultato coinvolto nel 100% dei casi alla HRCT e nel 92,9% dei casi alla RM. Seguono per frequenza di coinvolgimento la lingua (interessata nel 50% alla HRCT e 35,7% alla RM) e i lobi inferiori, interessati in circa 1/3 dei casi. Molto meno frequente il riscontro di

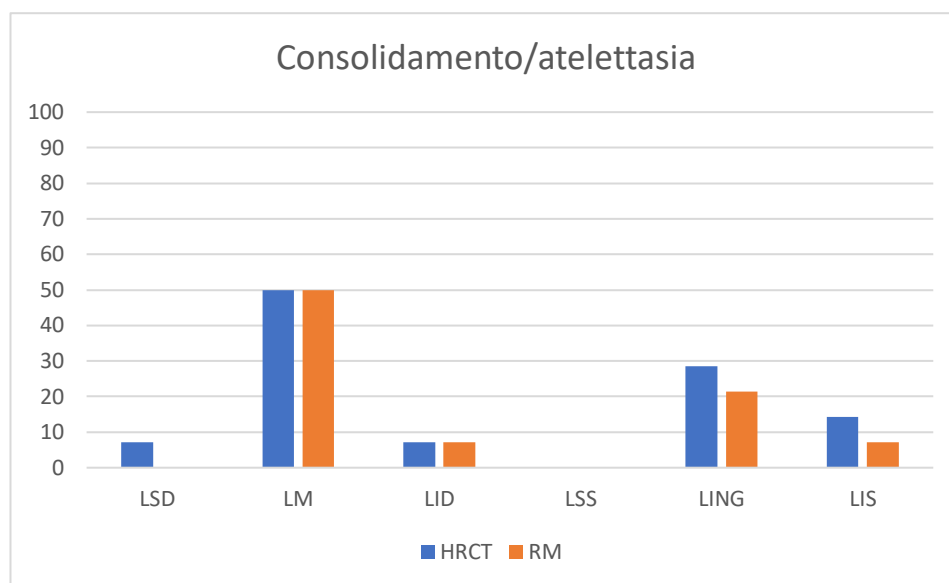
bronchiectasie ai lobi superiori. Nella Figura 18 sono rappresentati i dati percentuali sulle bronchiectasie alla HRCT e alla RM.

Figura 18 Bronchiectasie rilevate alla HRCT e alla RM del torace. LSD = lobo superiore destro; LM= lobo medio; LID = lobo inferiore sinistro; LSS = lobo superiore sinistro; LING = lingula; LIS = lobo inferiore sinistro.



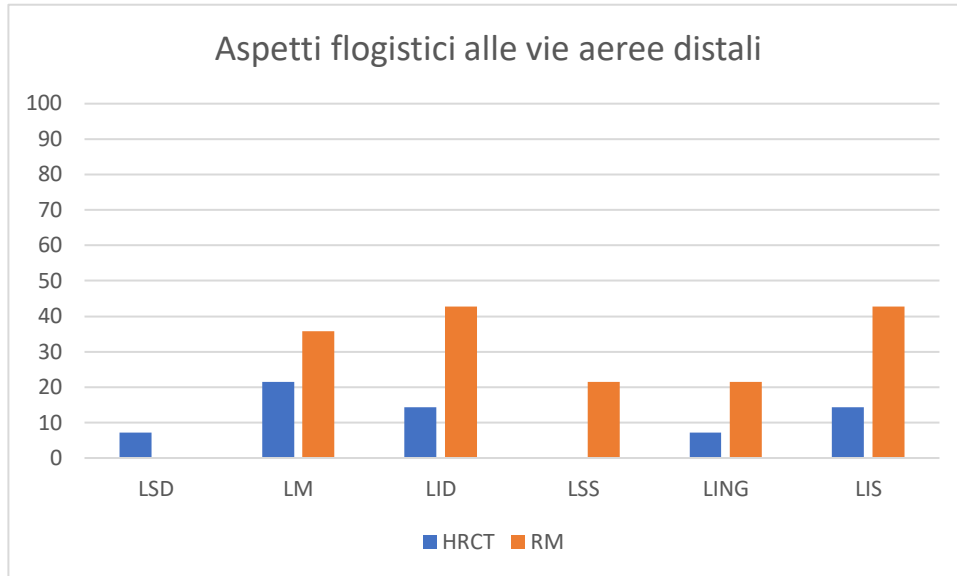
2) Consolidamento/atelettasia: consolidamenti sono stati rilevati in più della metà dei pazienti dello studio, nel dettaglio nel 64,2% dei pazienti all'HRCT e 64,2% alla RM, con un buon livello di concordanza ($k\text{-Cohen} = 0.5$) per il riscontro di consolidamenti/atelettasie. Con entrambe le metodiche, la localizzazione principale risulta essere il lobo medio (coinvolto in circa la metà dei casi), seguito dalla lingula e dai lobi inferiori. Il coinvolgimento dei lobi superiori è stato riscontrato solo in un caso e solo dalla HRCT. Tutti i lobi interessati da consolidamenti/atelettasie e la relativa frequenza in percentuale sono riportati nella Figura 19.

Figura 19 Consolidamento/Atelettasia rilevati alla HRCT e alla RM del torace. LSD = lobo superiore destro; LM= lobo medio; LID = lobo inferiore sinistro; LSS = lobo superiore sinistro; LING = lingula; LIS = lobo inferiore sinistro.



3) Aspetti flogistici localizzati nelle vie aeree distali, ovvero mucus plug, “tree-in-bud” e noduli infiammatori: la HRCT ha consentito di evidenziare flogosi delle vie aeree distali nel 42,8% dei pazienti, mentre la RM ha evidenziato aspetti flogistici nelle vie aeree periferiche nel 71,4% dei pazienti, con uno scarso livello di concordanza tra le due metodiche ($k\text{-Cohen} = -0.07$). La RM ha evidenziato la presenza di focolai flogistici in particolar modo ai lobi inferiori (42,8%) e al lobo medio (35,7%). Meno interessati la lingula così come i lobi superiori. Alla HRCT il lobo medio è risultato il più frequentemente coinvolto (21,4%), seguito dai lobi inferiori (14,3%), mentre lingula e lobi superiori risultano poco interessati da aspetti flogistici a carico delle vie aeree periferiche.

Figura 20 Aspetti flogistici localizzati nelle vie aeree distali, confronto tra valori percentuali alla HRCT e alla RM. LSD = lobo superiore destro; LM= lobo medio; LID = lobo inferiore sinistro; LSS = lobo superiore sinistro; LING = lingula; LIS = lobo inferiore sinistro.



5.5 PET

I risultati ottenuti alla PET sono stati suddivisi a seconda del grado di ipermetabolismo tramite uno score che va da 0 a 3, dove 0 indica nessuna captazione del radiotracciante e 3 indica marcata captazione del tracciante e quindi marcato ipermetabolismo.

I pazienti sono quindi stati distribuiti in due sottogruppi a seconda del grading polmonare alla PET: un primo gruppo il cui score è risultato 0 o 1 (n=8; 57,1%), indicativo di molto lieve o lieve infiammazione del parenchima polmonare, un secondo gruppo il cui score è 2 o 3 (n=6; 42,8%), indicativo di infiammazione da moderata a elevata.

Figura 21 PET, RM e PET/RM di un paziente arruolato nello studio: A) immagini PET, B-D-E) immagini RM, C) immagini PET/RM. Riscontro di zona di consolidamento/atelettasia (freccia rossa) a livello del segmento anteromediale basale del lobo inferiore di sinistra, priva di captazione del tracciante (grading 0).

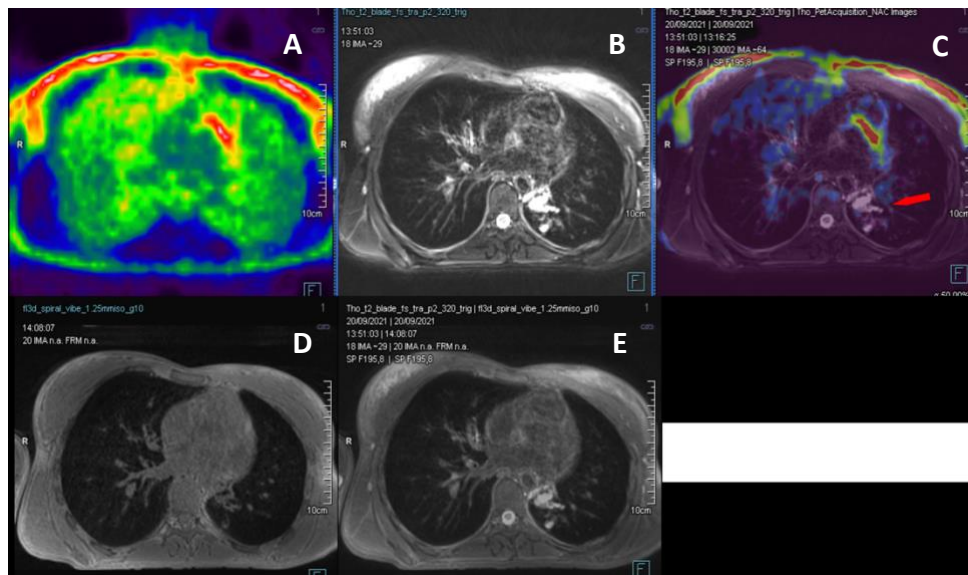
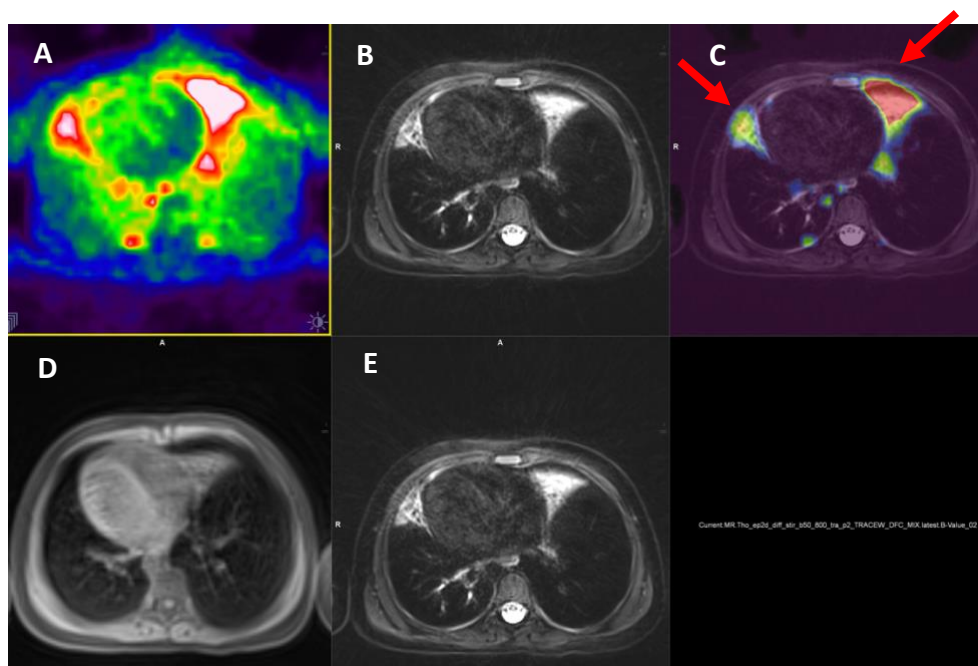


Figura 22: PET, RM e PET/RM di un paziente arruolato nello studio (presente situs viscerum inversus): A) immagini PET, B-D-E) immagini RM, C) immagini PET/RM. Riscontro di zona di consolidamento/atelettasia (freccia rossa) a livello del lobo medio sinistro-posto e a livello della lingula destro-posta, entrambi i lobi polmonari con marcato ipermetabolismo (grading 4).



5.6 Correlazioni tra imaging e dati clinici

5.6.1 Correlazione tra PET/RM, HRCT e indagini microbiologiche

Nei pazienti con grading 2-3 le zone interessate da netto ipermetabolismo si localizzano prevalentemente in corrispondenza di aree di consolidamento parenchimale, anche se non tutte le aree di consolidamento rilevate alla RM o alla HRCT corrispondono a zone di marcata captazione del tracciante. Inoltre, in corrispondenza delle bronchiectasie, la PET ha rilevato nella maggior parte dei casi un livello lieve di captazione suggestivo di una modesta flogosi cronica.

La presenza di ipermetabolismo non sembra correlare con dati microbiologici. Infatti, solo 2/6 dei pazienti con grading PET 2-3 avevano esame colturale dell'espettorato positivo (in un caso per *Pseudomonas Aeruginosa* e in un caso per *Haemophilus Parainfluenzae*); viceversa 3/7 dei pazienti con grading PET 0-1 avevano esame colturale dell'espettorato patologico (positività per *Pseudomonas Aeruginosa*, in 2 casi anche per *Stafilococco Aureus*).

Di seguito sono riportate nel dettaglio le caratteristiche dei pazienti con grading PET 2-3.

- Paziente 1: netto ipermetabolismo al lobo inferiore sinistro (LIS) e al lobo medio (LM). La HRCT del torace mostra in queste sedi la presenza di bronchiectasie e ispessimento delle pareti bronchiali. Al LIS descrive anche la presenza di mucus plug. La RM del torace conferma le bronchiectasie al LM e al LIS dove individua anche un consolidamento, plug mucosi ed aspetto pseudonodulare. La coltura dell'espettorato eseguita ad una settimana di distanza dalla PET risulta negativa.
- Paziente 2: ipermetabolismo del tracciante al LM, alla lingula e ai lobi inferiori. Alla HRCT del torace si visualizzano numerose bronchiectasie in queste sedi. La RM del torace conferma le bronchiectasie ed individua anche aree di consolidamento al LM e alla lingula ed aspetti micronodulari ai lobi inferiori. L'ultimo espettorato, ottenuto 11 giorni dalla PET, risulta negativo alla presenza di patogeni.

- Paziente 3: ipermetabolismo del tracciante al LM, alla lingula e ai lobi inferiori. La HRCT del torace mostra a livello di lobo medio e lingula la presenza di bronchiectasie, ispessimenti delle pareti bronchiali e plug mucosi. Al lobo inferiore destro (LID) identifica anche un consolidamento focale. La RM del torace conferma le bronchiectasie in queste stesse sedi e il consolidamento al LID, descrive inoltre aspetti nodulari ai lobi inferiori. L'ultima coltura dell'espettorato, ottenuta a distanza di 1 giorno dalla PET, risulta positiva per *Pseudomonas Aeruginosa*.
- Paziente 4: ipermetabolismo al LM. Alla HRCT del torace si distinguono bronchiectasie e consolidamento al LM. La RM del torace conferma le bronchiectasie e l'addensamento parenchimale in tale sede. Non è disponibile una coltura dell'espettorato per incapacità del paziente di produrre materiale sufficiente all'analisi.
- Paziente 5: netto ipermetabolismo del tracciante al LM e alla lingula. In tali sedi la HRCT del torace mostra la presenza di bronchiectasie e di atelettasia. La RM del torace conferma tali alterazioni anatomiche al LM e alla lingula. La coltura dell'espettorato eseguita 6 giorni prima della PET, è risultata negativa
- Paziente 6: ipermetabolismo del tracciante al LM. Alla HRCT del torace sono presenti in tale sede, bronchiectasie e consolidamento parenchimale. La RM conferma queste alterazioni anatomiche al lobo medio. L'ultimo espettorato, datato 6 giorni prima della PET, risulta positivo per *Haemophilus Parainfluenzae*.

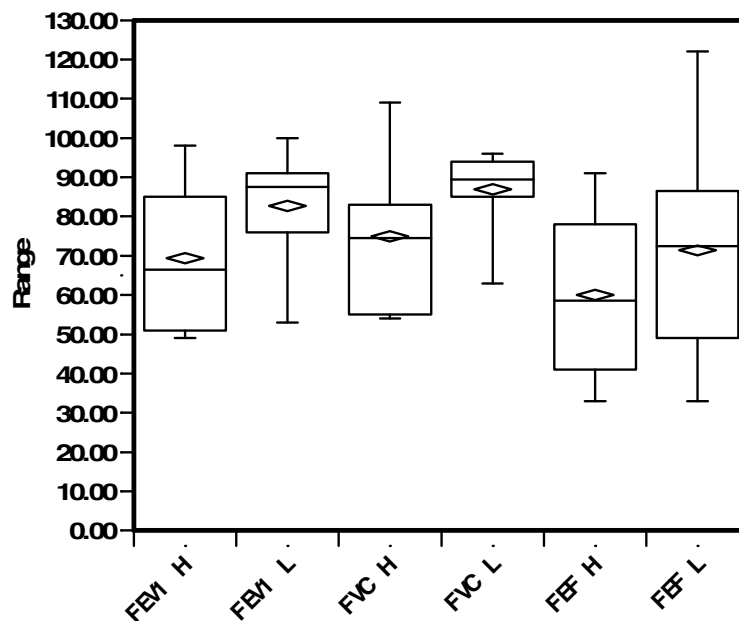
5.6.2 Correlazione tra PET e funzionalità respiratoria

Abbiamo confrontato i dati spirometrici dei pazienti con grading 2-3 alla PET e quelli dei pazienti con grading 0-1. Nonostante non sia emersa alcuna differenza statisticamente significativa, per quanto riguarda sia il FEV1 che l'FVC si riscontra un trend verso valori più bassi nei pazienti con grading PET più elevato ($p=0,10$ e $p=0,11$ rispettivamente per FEV1 e FVC) (Tabella VII e Figura 21).

Tabella VII: Confronto dei parametri di funzionalità respiratoria nei pazienti con DCP, suddivisi in base al grading riscontrato alla PET. Valori espressi in %predetto, media (DS)

	pazienti con grading 0-1	pazienti con grading 2-3	p-value
FEV1	82,83 (15,02)	69,43 (19,95)	0,10
FVC	87,12 (10,71)	74,96 (20,13)	0,11
FEV1/FVC	94,16 (10,41)	91,98 (8,67)	0,34
FEF25-75	71,30 (28,75)	59,82 (23,98)	0,21

Figura 23 Box-plot con confronto dei parametri di funzionalità respiratoria nei pazienti con DCP, suddivisi in base al grading riscontrato alla PET (H=grading 2-3, L=grading 0-1). Valori espressi in %predetto. Parte centrale del rombo=media; parte inferiore e superiore del rombo = intervallo di confidenza del 95 %



5.6.3 Correlazione tra PET e riacutizzazioni infettive nell'ultimo anno

Sono stati confrontati i dati riguardanti le riacutizzazioni infettive nei 12 mesi precedenti l'esecuzione della PET/RM e il grading alla PET. Le riacutizzazioni infettive sono intese come numero di volte in cui vi è stata assunzione di terapia antibiotica per peggioramento della sintomatologia respiratoria o per positività microbiologica all'espettorato/BAL. Non è risultata alcuna differenza statisticamente significativa tra i due gruppi ($p > 0,05$). In media nel gruppo con grading PET 0-1 si sono registrate $1,75 \pm 1,49$ riacutizzazioni l'anno; nei pazienti con grading PET 2-3 le riacutizzazioni annue sono state in media $1,8 \pm 1,64$. Il p-value è risultato 0,48.

6 DISCUSSIONE

Il nostro studio ha analizzato un gruppo di pazienti affetti da DCP, malattia congenita rara caratterizzata dall'alterazione della clearance mucociliare, dimostrando che, confrontata con l'HRCT del torace che costituisce il gold standard per lo studio del parenchima polmonare, la ¹⁸F-FDG PET/RM è in grado di identificare le alterazioni strutturali polmonari e, contemporaneamente, di fornire informazioni rilevanti sul grado di infiammazione polmonare.

La diagnosi di DCP nei pazienti arruolati nel nostro studio è stata eseguita secondo le Linee Guida ERS ed ATS (25)(15), combinando misurazione dell'ossido nitrico nasale, analisi in microscopia elettronica (TEM) delle ciglia dell'apparato respiratorio ed indagine genetica. Nonostante ad oggi in letteratura sia stata ipotizzata la corrispondenza tra mutazione genetica e alterazione alla TEM(16) solo in 4 pazienti arruolati nel nostro studio viene rispettata questa corrispondenza. Tale dato, come anche la letteratura più recente sottolinea, rafforza l'importanza dell'integrazione tra i diversi test nella diagnosi di DCP (66)

Dal punto di vista clinico, il sintomo più comune nei 14 pazienti affetti da DCP arruolati nel nostro studio è la tosse catarrale cronica (presente in 12 pazienti), seguita da rinite/sinusite cronica (presente in 11 pazienti). I sintomi descritti nella nostra coorte di pazienti confermano quanto già descritto in letteratura(67). In particolare un recente studio dello Swiss PCD Research Group(67) ha descritto la tosse come il sintomo più frequente riferito dal 99% dei pazienti con DCP intervistati, associato ad una produzione eccessiva di espettorato (riferita sempre dal 99% degli intervistati). L'insorgenza della tosse catarrale cronica è da ritenersi un meccanismo di difesa nel paziente affetto da DCP, che tramite la tosse tende a sopperire al ristagno di muco nelle vie aeree secondario all'alterata clearance mucociliare. Si tratta di una tosse da congestione, non necessariamente associata a infezioni respiratorie e caratterizzata dall'espettorazione di muco chiaro. In caso di infezione la tosse aumenta in intensità e l'espettorato si modifica per quantità e colore (68).

I dati di funzionalità respiratoria nei pazienti arruolati nel nostro studio mostrano in media valori inferiori ai limiti di norma. Analizzando i dati spirometrici dei nostri pazienti in base all'età, emerge che i pazienti più piccoli presentano valori spirometrici migliori rispetto ai pazienti adolescenti/adulti. Questo dato è confermato anche da una recente revisione sistematica che ha concluso che, tra i pazienti affetti da DCP, gli adulti hanno valori di funzionalità respiratoria inferiori rispetto alla popolazione pediatrica (31). Inoltre, questo trend in peggioramento dei valori di funzionalità respiratoria nel corso degli anni è confermato anche da uno studio longitudinale su pazienti affetti da DCP, nel quale viene descritto un declino della funzionalità respiratoria dall'infanzia all'adolescenza fino all'età adulta (69).

Più di 1/3 dei nostri pazienti ha mostrato positività all'espettorato/BAL eseguito al massimo 1 mese prima o dopo l'esecuzione delle indagini di imaging. I germi maggiormente isolati sono stati *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ed *Haemophilus influenzae*. Nel dettaglio i pazienti con *P.Aeruginosa* su espettorato erano 3, rispettivamente di 17, 13 e 12 anni. Tali dati sono in accordo con i dati della letteratura che rilevano principalmente *S.aureus* ed *H.influenzae* nei pazienti pediatrici e *P.aeruginosa* nei pazienti adolescenti e adulti (70).

Dal punto di vista radiologico, le indagini di HRCT e RM del torace dei pazienti con DCP arruolati nel nostro studio hanno riscontrato in tutti i pazienti bronchiectasie, in circa il 65% dei pazienti consolidamenti/atelettasie e nel 40-70% dei pazienti aspetti flogistici localizzati nelle vie aeree distali (mucus plug, tree-in-bud, aspetti nodulari). Queste anomalie sono le stesse descritte in precedenti studi che hanno analizzato le anomalie del parenchima polmonare tramite HRCT del torace su pazienti con DCP (13). Nello studio di *Kennedy et al.* le bronchiectasie sono state rilevate nel 56% dei pazienti pediatrici e nel 100% degli adulti, con localizzazione prevalente al lobo medio. Consolidamenti e mucus plug sono stati descritti in una percentuale minore della popolazione pediatrica (rispettivamente 38% e 13%).

In uno studio più recente(48), svolto su una coorte di pazienti adulti, sono riportati come riscontri più frequenti alla HRCT del torace le bronchiectasie al lobo medio e ai lobi inferiori, il mucus plug, il pattern tree-in-bud e le atelettasie al lobo medio o ai lobi inferiori, stesse caratteristiche che abbiamo riscontrato anche nella nostra popolazione.

Le due indagini di imaging hanno mostrato da un lato una buona concordanza nella visualizzazione di bronchiectasie e consolidamenti/atelettasie, dato che conferma quanto già descritto in letteratura in uno studio svolto su 50 bambini-adolescenti, di cui 17 affetti da DCP, nel quale gli autori hanno concluso attribuendo alla RM del torace una buona-eccellente affidabilità nel riconoscere le anomalie anatomiche identificate con la HRCT del torace(71). D'altro lato, il nostro studio descrive una scarsa concordanza nella determinazione della flogosi alle vie aeree periferiche, intesa come mucus plug, aspetti nodulari e tree-in-bud, più evidenti alla RM che alla HRCT del torace. Questo potrebbe derivare dal fatto che il muco, parimenti al materiale infiammatorio in senso allargato, ha un'elevata densità protonica e pertanto risulta ben visibile alla RM pesata in T2, dove i fluidi vengono ottimamente visualizzati. Dati simili ai nostri sono infatti stati riportati in uno studio su una coorte di pazienti con fibrosi cistica(72).

E' importante sottolineare che i risultati del nostro studio sono dati preliminari e, prima di poter essere confermati, necessitano di essere analizzati in una popolazione più numerosa. Ad oggi, infatti, il gold standard nello studio del parenchima polmonare è la HRCT del torace, ma sempre più rilevante è il ruolo che sta acquisendo la RM del torace. A tal proposito, nel 2020 in un position paper della Fleischner Society(73), società internazionale di riferimento in radiologia toracica, è stato raccomandato l'utilizzo della RM del Torace nel monitoraggio dei pazienti con fibrosi cistica.

La localizzazione delle anomalie polmonari appena descritte (bronchiectasie, consolidamento/atelettasia, flogosi delle vie aeree periferiche) è stata prevalentemente al lobo medio, alla lingula e ai lobi inferiori, dato che conferma quanto già descritto in letteratura(74). La localizzazione prevalentemente al lobo

medio e ai lobi inferiori potrebbe essere dovuta al più difficile drenaggio dei fluidi contrastato nei lobi inferiori dall'azione della forza di gravità(46).

Tramite l'esecuzione di ^{18}F -FDG PET del torace, il nostro studio ha inoltre permesso di evidenziare la presenza di aree di ipercaptazione del tracciante.

L'ipermetabolismo evidenziato in queste aree potrebbe essere dovuto ad una accentuazione regionale del processo infiammatorio, alla presenza di focolai infettivi, oppure ad un insieme di questi due aspetti.

Sulla base della captazione del ^{18}F -FDG, i nostri pazienti sono stati suddivisi in 2 gruppi: alto e basso grado di ipermetabolismo.

6 dei 14 pazienti (43%) sono stati classificati nel gruppo "alto grado". In questi pazienti il netto ipermetabolismo è stato localizzato prevalentemente in corrispondenza di aree di consolidamento parenchimale, indicando la probabile presenza in tale sede di infiammazione parenchimale acuta.

È inoltre interessante notare che nella nostra coorte di pazienti, nonostante nel confronto tra pazienti con alto e basso grado PET non siano emerse differenze statisticamente significative nei parametri di funzionalità respiratoria, l'FVC e il FEV1 dimostrano un trend verso valori più bassi nei pazienti con alto grado PET, compatibile con una riduzione volumetrica dovuta alla presenza di significative aree addensate.

Per quanto riguarda la possibile origine infettiva dell'ipermetabolismo evidenziato alla PET, questa non sembra essere implicata nei nostri pazienti in quanto solo 2 dei 6 pazienti che presentavano alto grado PET avevano un esame colturale dell'espettorato positivo e, viceversa, l'esame microbiologico è risultato positivo in 3 dei pazienti che presentavano basso grado PET.

A differenza di quanto riscontrato in alcune delle aree addensate, a livello delle bronchiectasie, le immagini PET hanno rilevato nella maggior parte dei casi un livello lieve di captazione, suggestivo di una modesta flogosi cronica.

Ad oggi in letteratura non sono presenti studi che abbiano analizzato il parenchima polmonare dei pazienti affetti da DCP tramite PET/RM, ma in uno studio condotto su pazienti con fibrosi cistica è emerso un quadro PET/TC caratterizzato da un

basso grado di infiammazione diffuso e un'elevata ipercaptazione a livello di focolai infettivi(75). L'analisi di correlazione ha mostrato una corrispondenza tra le esacerbazioni di malattia e l'identificazione dei focolai ipercaptanti. La ripetizione della PET/TC a 2-10 settimane dal trattamento antibiotico endovena ha mostrato una significativa riduzione dell'ipercaptazione, ad indicare come probabilmente quei foci ipermetabolici visti alla prima analisi fossero dei focolai infettivi risoltisi con il trattamento. Nella nostra popolazione questa correlazione tra esacerbazioni infettive e l'ipercaptazione alla PET/RM non è stata invece rilevata, in quanto tutti i pazienti della nostra coorte sono stati analizzati in un momento di benessere (lontano dalle riacutizzazioni infettive) e, inoltre, il grado di captazione del radiotracciante non è risultato correlare con il numero di riacutizzazioni infettive presentate dai pazienti nell'ultimo anno.

Limiti del nostro studio sono ascrivibili alla bassa numerosità del campione e alla mancanza di un follow-up longitudinale. Proprio a tal proposito, il nostro gruppo di ricerca auspica nel corso dei prossimi mesi di ampliare l'arruolamento e di studiare i pazienti inclusi in un follow-up sia clinico che radiologico al fine di valutare l'evoluzione nel tempo, in particolare delle aree interessate dall'ipercaptazione del tracciante.

7 CONCLUSIONE

Il nostro studio ha analizzato un gruppo di pazienti affetti da DCP, malattia congenita rara caratterizzata dall'alterazione della clearance mucociliare, dimostrando che, confrontata con l'HRCT del torace che costituisce il gold standard per lo studio del parenchima polmonare, la ^{18}F -FDG PET/RM è in grado di identificare accuratamente le alterazioni strutturali polmonari e, contemporaneamente, di fornire informazioni rilevanti sul grado di infiammazione polmonare.

In particolare, relativamente alla captazione del radiofarmaco, è stato possibile identificare 2 sottogruppi di pazienti, uno con assente-lieve ipercaptazione (grading PET 0-1), uno con medio-elevata intensità di captazione (grading PET 2-3).

Nel nostro campione l'elevata captazione di tracciante non sembra correlare con il quadro di positività microbiologica alla coltura dell'espettorato/BAL, né con il numero di riacutizzazioni infettive presentate dai pazienti nel corso dell'anno precedente.

Per quanto riguarda la funzionalità respiratoria, invece, i pazienti con più alto grado di captazione mostrano un quadro spirometrico caratterizzato da volumi tendenzialmente più bassi, pur senza raggiungere la significatività statistica.

Sarà fondamentale seguire nel tempo questi pazienti per studiare l'evoluzione delle aree ipermetaboliche in relazione all'andamento dei parametri clinico-funzionali.

In conclusione, la PET/RM nello studio del polmone dei pazienti con DCP si è dimostrata affidabile per gli aspetti morfologici e innovativa per gli aspetti funzionali, e potrebbe pertanto avere un ruolo centrale nel monitoraggio longitudinale dei pazienti affetti da DCP.

8 BIBLIOGRAFIA

1. Afzelius BA, Stenram U. Prevalence and genetics of immotile-cilia syndrome and left-handedness. *Int J Dev Biol.* 1 settembre 2004;50(6):571–3.
2. Goutaki M, Meier AB, Halbeisen FS, Lucas JS, Dell SD, Maurer E, et al. Clinical manifestations in primary ciliary dyskinesia: systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J.* 1 ottobre 2016;48(4):1081–95.
3. Afzelius B. Cilia-related diseases. *J Pathol.* novembre 2004;204(4):470–7.
4. Knowles M, Zariwala M, Leigh M. Primary Ciliary Dyskinesia. *Clin Chest Med.* settembre 2016;37(3):449–61.
5. Shapiro AJ, Zariwala MA, Ferkol T, Davis SD, Sagel SD, Dell SD, et al. Diagnosis, monitoring, and treatment of primary ciliary dyskinesia: PCD foundation consensus recommendations based on state of the art review. *Pediatr Pulmonol.* febbraio 2016;51(2):115–32.
6. Mishra M, Kumar N, Jaiswal A, Verma AK, Kant S. Kartagener's syndrome: A case series. *Lung India Off Organ Indian Chest Soc.* 2012;29(4):366–9.
7. Legendre M, Zaragosi LE, Mitchison HM. Motile cilia and airway disease. *Semin Cell Dev Biol.* 1 febbraio 2021;110:19–33.
8. Kempeneers C, Chilvers MA. To beat, or not to beat, that is question! The spectrum of ciliopathies. *Pediatr Pulmonol.* 2018;53(8):1122–9.
9. Bustamante-Marin XM, Ostrowski LE. Cilia and Mucociliary Clearance. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* aprile 2017;9(4):a028241.
10. Shoemark A, Boon M, Brochhausen C, Bukowy-Bieryllo Z, Santi MMD, Goggin P, et al. International consensus guideline for reporting transmission electron microscopy results in the diagnosis of primary ciliary dyskinesia (BEAT PCD TEM Criteria). *Eur Respir J [Internet].* 1 aprile 2020;55(4).
11. Ishikawa T. Axoneme Structure from Motile Cilia. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* gennaio 2017;9(1):a028076.
12. Leigh MW, Pittman JE, Carson JL, Ferkol TW, Dell SD, Davis SD, et al. Clinical and genetic aspects of primary ciliary dyskinesia/Kartagener syndrome. *Genet Med.* 1 luglio 2009;11(7):473–87.
13. Kennedy MP, Noone PG, Leigh MW, Zariwala MA, Minnix SL, Knowles MR, et al. High-Resolution CT of Patients with Primary Ciliary Dyskinesia. *Am J Roentgenol.* maggio 2007;188(5):1232–8.

14. Shapiro AJ, Davis SD, Ferkol T, Dell SD, Rosenfeld M, Olivier KN, et al. Laterality Defects Other Than Situs Inversus Totalis in Primary Ciliary Dyskinesia. *Chest*. novembre 2014;146(5):1176–86.
15. Shapiro AJ, Davis SD, Polineni D, Manion M, Rosenfeld M, Dell SD, et al. Diagnosis of Primary Ciliary Dyskinesia. An Official American Thoracic Society Clinical Practice Guideline. *Am J Respir Crit Care Med*. 15 giugno 2018;197(12):e24–39.
16. Lucas JS, Burgess A, Mitchison HM, Moya E, Williamson M, Hogg C. Diagnosis and management of primary ciliary dyskinesia. *Arch Dis Child*. 1 settembre 2014;99(9):850–6.
17. Behan L, Dimitrov BD, Kuehni CE, Hogg C, Carroll M, Evans HJ, et al. PICADAR: a diagnostic predictive tool for primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J*. 1 aprile 2016;47(4):1103–12.
18. Ferraro VA, Zanconato S, Baraldi E, Carraro S. Nitric Oxide and Biological Mediators in Pediatric Chronic Rhinosinusitis and Asthma. *J Clin Med*. novembre 2019;8(11):1783.
19. Leigh MW, Hazucha MJ, Chawla KK, Baker BR, Shapiro AJ, Brown DE, et al. Standardizing Nasal Nitric Oxide Measurement as a Test for Primary Ciliary Dyskinesia. *Ann Am Thorac Soc*. dicembre 2013;10(6):574–81.
20. Pifferi M, Bush A, Maggi F, Michelucci A, Ricci V, Conidi ME, et al. Nasal nitric oxide and nitric oxide synthase expression in primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J*. 1 marzo 2011;37(3):572–7.
21. ATS/ERS Recommendations for Standardized Procedures for the Online and Offline Measurement of Exhaled Lower Respiratory Nitric Oxide and Nasal Nitric Oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med*. 15 aprile 2005;171(8):912–30.
22. Collins SA, Gove K, Walker W, Lucas JSA. Nasal nitric oxide screening for primary ciliary dyskinesia: systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J*. 1 dicembre 2014;44(6):1589–99.
23. Rezaei M, Soheili A, Ziai SA, Fakharian A, Toreyhi H, Pourabdollah M, et al. Transmission electron microscopy study of suspected primary ciliary dyskinesia patients. *Sci Rep*. 11 febbraio 2022;12:2375.
24. Knowles MR, Daniels LA, Davis SD, Zariwala MA, Leigh MW. Primary Ciliary Dyskinesia. Recent Advances in Diagnostics, Genetics, and Characterization of Clinical Disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 15 ottobre 2013;188(8):913–22.
25. Lucas JS, Barbato A, Collins SA, Goutaki M, Behan L, Caudri D, et al. European Respiratory Society guidelines for the diagnosis of primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J [Internet]*. 1 gennaio 2017; 49(1).

26. Shoemark A, Frost E, Dixon M, Ollosson S, Kilpin K, Patel M, et al. Accuracy of Immunofluorescence in the Diagnosis of Primary Ciliary Dyskinesia. *Am J Respir Crit Care Med.* 1 luglio 2017;196(1):94–101.
27. Lucas JS, Davis SD, Omran H, Shoemark A. Primary ciliary dyskinesia in the genomics age. *Lancet Respir Med.* febbraio 2020;8(2):202–16.
28. Collins SA, Walker WT, Lucas JS. Genetic Testing in the Diagnosis of Primary Ciliary Dyskinesia: State-of-the-Art and Future Perspectives. *J Clin Med.* 9 maggio 2014;3(2):491–503.
29. Mirra V, Werner C, Santamaria F. Primary Ciliary Dyskinesia: An Update on Clinical Aspects, Genetics, Diagnosis, and Future Treatment Strategies. *Front Pediatr.* 9 giugno 2017;5:135.
30. Halbeisen FS, Goutaki M, Spycher BD, Amirav I, Behan L, Boon M, et al. Lung function in patients with primary ciliary dyskinesia: an iPCD Cohort study. *Eur Respir J.* agosto 2018;52(2):1801040.
31. Halbeisen FS, Jose A, de Jong C, Nyilas S, Latzin P, Kuehni CE, et al. Spirometric indices in primary ciliary dyskinesia: systematic review and meta-analysis. *ERJ Open Res.* 10 maggio 2019;5(2):00231–2018.
32. Maglione M, Bush A, Nielsen KG, Hogg C, Montella S, Marthin JK, et al. Multicenter analysis of body mass index, lung function, and sputum microbiology in primary ciliary dyskinesia. *Pediatr Pulmonol.* 2014;49(12):1243–50.
33. Marthin JK, Petersen N, Skovgaard LT, Nielsen KG. Lung Function in Patients with Primary Ciliary Dyskinesia. *Am J Respir Crit Care Med.* giugno 2010;181(11):1262–8.
34. Davis SD, Ferkol TW, Rosenfeld M, Lee HS, Dell SD, Sagel SD, et al. Clinical Features of Childhood Primary Ciliary Dyskinesia by Genotype and Ultrastructural Phenotype. *Am J Respir Crit Care Med.* 1 febbraio 2015;191(3):316–24.
35. Roden L, Görlich D, Omran H, Peters G, Große-Onnebrink J, Kahl BC. A retrospective analysis of the pathogens in the airways of patients with primary ciliary dyskinesia. *Respir Med.* 1 settembre 2019;156:69–77.
36. Lucas JS, Gahleitner F, Amorim A, Boon M, Brown P, Constant C, et al. Pulmonary exacerbations in patients with primary ciliary dyskinesia: an expert consensus definition for use in clinical trials. *ERJ Open Res [Internet].* 1 febbraio 2019;5(1).
37. Piatti G, De Santi MM, Farolfi A, Zuccotti GV, D'Auria E, Patria MF, et al. Exacerbations and *Pseudomonas aeruginosa* colonization are associated with altered lung structure and function in primary ciliary dyskinesia. *BMC Pediatr.* 13

aprile 2020;20:158.

38. Finch S, McDonnell MJ, Abo-Leyah H, Aliberti S, Chalmers JD. A Comprehensive Analysis of the Impact of *Pseudomonas aeruginosa* Colonization on Prognosis in Adult Bronchiectasis. *Ann Am Thorac Soc.* novembre 2015;12(11):1602–11.
39. Davis SD, Rosenfeld M, Lee HS, Ferkol TW, Sagel SD, Dell SD, et al. Primary Ciliary Dyskinesia: Longitudinal Study of Lung Disease by Ultrastructure Defect and Genotype. *Am J Respir Crit Care Med.* 15 gennaio 2019;199(2):190–8.
40. Rossi UG, Owens CM. The radiology of chronic lung disease in children. *Arch Dis Child.* 1 giugno 2005;90(6):601–7.
41. Gotway MB, Reddy GP, Webb WR, Elicker BM, Leung JWT. High-Resolution CT of the Lung: Patterns of Disease and Differential Diagnoses. *Radiol Clin North Am.* 1 maggio 2005;43(3):513–42.
42. Santamaria F, Montella S, Tiddens HAWM, Guidi G, Casotti V, Maglione M, et al. Structural and Functional Lung Disease in Primary Ciliary Dyskinesia. *Chest.* 1 agosto 2008;134(2):351–7.
43. Brody AS, Frush DP, Huda W, Brent RL, and the Section on Radiology. Radiation Risk to Children From Computed Tomography. *Pediatrics.* 1 settembre 2007;120(3):677–82.
44. Council NR, Studies D on E and L, Research B on RE, Radiation C to AHR from E to LL of I. Health Risks from Exposure to Low Levels of Ionizing Radiation: BEIR VII Phase 2. National Academies Press; 2006. 422 pag.
45. Maglione M, Bush A, Montella S, Mollica C, Manna A, Esposito A, et al. Progression of lung disease in primary ciliary dyskinesia: Is spirometry less accurate than CT? *Pediatr Pulmonol.* 2012;47(5):498–504.
46. Jain K, Padley SPG, Goldstraw EJ, Kidd SJ, Hogg C, Biggart E, et al. Primary ciliary dyskinesia in the paediatric population: range and severity of radiological findings in a cohort of patients receiving tertiary care. *Clin Radiol.* 1 ottobre 2007;62(10):986–93.
47. Sly PD, Gangell CL, Chen L, et al. Risk factors for bronchiectasis in children with cystic fibrosis. *N Engl J Med.* 2013;368(21):1963-1970. doi:10.1056/NEJMoa1301725
48. Dettmer S, Ringshausen F, Vogel-Claussen J, Fuge J, Faschkami A, Shin H oh, et al. Computed tomography in adult patients with primary ciliary dyskinesia: Typical imaging findings. *PLoS ONE.* 6 febbraio 2018;13(2):e0191457.

49. Peroni DG, Boner AL. Atelectasis: mechanisms, diagnosis and management. *Paediatr Respir Rev.* 1 settembre 2000;1(3):274–8.
50. Tepper LA, Caudri D, Rovira AP, Tiddens HAWM, de Bruijne M. The development of bronchiectasis on chest computed tomography in children with cystic fibrosis: can pre-stages be identified? *Eur Radiol.* 2016;26(12):4563–9.
51. Ciet P, Tiddens HAWM, Wielopolski PA, Wild JM, Lee EY, Morana G, et al. Magnetic resonance imaging in children: common problems and possible solutions for lung and airways imaging. *Pediatr Radiol.* 2015;45(13):1901–15.
52. Maglione M, Montella S, Mollica C, Carnovale V, Iacotucci P, De Gregorio F, et al. Lung structure and function similarities between primary ciliary dyskinesia and mild cystic fibrosis: a pilot study. *Ital J Pediatr.* 12 aprile 2017;43:34.
53. Liszewski MC, Ciet P, Sodhi KS, Lee EY. Updates on MRI Evaluation of Pediatric Large Airways. *Am J Roentgenol.* maggio 2017;208(5):971–81.
54. Veldhoen S, Heidenreich JF, Metz C, Petritsch B, Benkert T, Hebestreit HU, et al. Three-dimensional Ultrashort Echo-time Magnetic Resonance Imaging for Combined Morphologic and Ventilation Imaging in Pediatric Patients With Pulmonary Disease. *J Thorac Imaging.* gennaio 2021;36(1):43–51.
55. Darçot E, Delacoste J, Dunet V, Dournes G, Rotzinger D, Bernasconi M, et al. Lung MRI assessment with high-frequency noninvasive ventilation at 3 T. *Magn Reson Imaging.* 1 dicembre 2020;74:64–73.
56. Montella S, Maglione M, Bruzzese D, Mollica C, Pignata C, Aloj G, et al. Magnetic resonance imaging is an accurate and reliable method to evaluate non-cystic fibrosis paediatric lung disease. *Respirology.* 2012;17(1):87–91.
57. Smith LJ, West N, Hughes D, Marshall H, Johns CS, Stewart NJ, et al. Imaging Lung Function Abnormalities in Primary Ciliary Dyskinesia Using Hyperpolarized Gas Ventilation MRI. *Ann Am Thorac Soc.* dicembre 2018;15(12):1487–90.
58. Beuthien-Baumann B. PET/MRT. *Radiol.* 1 marzo 2018;58(3):211–7.
59. Ehman EC, Johnson GB, Villanueva-Meyer JE, Cha S, Leynes AP, Larson PEZ, et al. PET/MRI: Where Might It Replace PET/CT? *J Magn Reson Imaging JMRI.* novembre 2017;46(5):1247–62.
60. Vaidyanathan S, Patel CN, Scarsbrook AF, Chowdhury FU. FDG PET/CT in infection and inflammation—current and emerging clinical applications. *Clin Radiol.* 1 luglio 2015;70(7):787–800.
61. Hasnain N, Mustafa RM, Bakhshi SK, Shamim MS. Efficacy of Positron Emission Tomography in distinguishing brain tumours from inflammation. *JPMA J Pak Med Assoc.* dicembre 2020;70(12(A)):2291–3.

62. Sollini M, Berchiolli R, Kirienko M, Rossi A, Glaudemans AWJM, Slart R, et al. PET/MRI in Infection and Inflammation. *Semin Nucl Med.* 1 maggio 2018;48(3):225–41.
63. Lillington J, Brusaferrri L, Kläser K, Shmueli K, Neji R, Hutton BF, et al. PET/MRI attenuation estimation in the lung: A review of past, present, and potential techniques. *Med Phys.* febbraio 2020;47(2):790–811.
64. Gatidis S, Bender B, Reimold M, Schäfer JF. PET/MRI in children. *Eur J Radiol.* 1 settembre 2017;94:A64–70.
65. Guan Y, Yang H, Yao X, Xu H, Liu H, Tang X, et al. Clinical and Genetic Spectrum of Children With Primary Ciliary Dyskinesia in China. *Chest.* 1 maggio 2021;159(5):1768–81.
66. Shapiro AJ, Leigh MW. Value of transmission electron microscopy for primary ciliary dyskinesia diagnosis in the era of molecular medicine: Genetic defects with normal and non-diagnostic ciliary ultrastructure. *Ultrastruct Pathol.* dicembre 2017;41(6):373–85.
67. Goutaki M, Hüsler L, Lam YT, Koppe HM, Jung A, Lazor R, et al. Respiratory symptoms of Swiss people with primary ciliary dyskinesia. *ERJ Open Res.* 11 aprile 2022;8(2):00673–2021.
68. Hughes D. Primary ciliary dyskinesia. *Paediatr Child Health.* ottobre 2008;13(8):672–4.
69. Halbeisen FS, Pedersen ESL, Goutaki M, Spycher BD, Amirav I, Boon M, et al. Lung function from school age to adulthood in primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J.* 17 marzo 2022;2101918.
70. Alanin MC, Nielsen KG, Buchwald C von, Skov M, Aanaes K, Høiby N, et al. A longitudinal study of lung bacterial pathogens in patients with primary ciliary dyskinesia. *Clin Microbiol Infect.* 1 dicembre 2015;21(12):1093.e1-1093.e7.
71. Montella S, Maglione M, Bruzzese D, Mollica C, Pignata C, Aloj G, et al. Magnetic resonance imaging is an accurate and reliable method to evaluate non-cystic fibrosis paediatric lung disease. *Respirol Carlton Vic.* gennaio 2012;17(1):87–91.
72. Puderbach M, Eichinger M, Gahr J, Ley S, Tuengerthal S, Schmähl A, et al. Proton MRI appearance of cystic fibrosis: Comparison to CT. *Eur Radiol.* 1 marzo 2007;17(3):716–24.
73. Hatabu, Hiroto et al. “Expanding Applications of Pulmonary MRI in the Clinical Evaluation of Lung Disorders: Fleischner Society Position Paper.” *Radiology* vol. 297,2 (2020): 286-301. doi:10.1148/radiol.2020201138

74. Ullmann N, Porcaro F, Petreschi F, Cammerata M, Allegorico A, Negro V, et al. Noncystic fibrosis bronchiectasis in children and adolescents: Follow-up over a decade. *Pediatr Pulmonol.* 2021;56(9):3026–34.
75. Klein M, Cohen-Cymerknoh M, Armoni S, Shoseyov D, Chisin R, Orevi M, et al. 18F-Fluorodeoxyglucose-PET/CT Imaging of Lungs in Patients With Cystic Fibrosis. *Chest.* 1 novembre 2009;136(5):1220–8.