POLITECNICO DI MILANO

SCUOLA DI INGEGNERIA INDUSTRIALE E DELL'INFORMAZIONE

Corso di Laurea in Ingegneria Biomedica

Quantificazione Mediante Risonanza Magnetica Nucleare della Infiltrazione Lipidica e della Sofferenza Muscolare in Miopatie Degenerative e Genetiche

Relatori: Prof. Giuseppe BASELLI

Domenico AQUINO

Lorenzo MAGGI

Tesi di Laurea Magistrale di:

Federica MAZZI Matricola 809490

Anno Accademico 2016 - 2017

INDICE

LISTA DELLE FIGURE…….3

LISTA DELLE TABELLE…….....9

LISTA DELLE ABBREVIAZIONI……11

RINGRAZIAMENTI……..…….13

RIASSUNTO……..15

ABSTRACT……17

SOMMARIO……..….19

1. INTRODUZIONE…….29
   1.1 Background e scopo del lavoro……..…….29
   1.2 Miopatie…….…….30
      1.2.1 Distrofia Muscolare…….33
      1.2.2 Miopatie Infiammatorie……..40
   1.3 Tecniche Avanzate di RM nello studio dei muscoli…….……..44

2. TECNICHE AVANZATE DI RM…….……..49
   2.1 MR Dixon: Misura dell'infiltrazione lipidica…….49
      2.1.1 Fenomeni di fasamento e sfasamento…….49
      2.1.2 Sequenza Dixon: stima dei tempi di echo……..…….52
      2.1.3 Quantificazione dell'infiltrazione lipidica: Fat Fraction……56
   2.2 Rilassometria T2: Stima del tempo di rilassamento T2……..……59
   2.3 Diffusion Tensor Imaging: Valutazione del danno muscolare……..…….64
3. MATERIALI E METODI…….69
   3.1 Reclutamento dei soggetti: criteri di inclusione…….…….69
   3.2 Acquisizione MRI……..…….69
   3.3 Valutazioni Cliniche……..…….73
   3.4 Pre-Processing……..…..74
      3.4.1 Diffusion Tensor Imaging……..…….74
      3.4.2 Misura dell'infiltrazione lipidica: calcolo della FF……76

3.4.3 Analisi di rilassometria……..….77
3.4.4 Posizionamento delle Regioni di Interesse…….79
3.4.5 Stima dei valori di FF, FA, MD, RD, AD, T_2…….81
3.5 Analisi Statistica……..…83
4. RISULTATI…….….85
4.1 Popolazione in analisi…….……85
4.2 Esempio descrittivo……86
4.3 Analisi MRI.……97
4.3.1 Stima della FF media, dei parametri DTI e della Rilassometria T2..…98
4.3.2 Correlazioni dei parametri MRI con gli score clinici……...…110
4.3.2.1 IBM…….……110
4.3.2.2 BMD…….…...…114
5. DISCUSSIONE …….……119
5.1 Conclusione e Sviluppi Futuri……..……121
6. BIBLIOGRAFIA……123

LISTA DELLE FIGURE

Figure 1.1: Classificazione delle miopatie proposta da Weller et al ……....31

Figure 1.2: Estratto del libro "*Annali di medicina straniera"* compilati da Annibale Omodei nel 1838……...…..34

Figure 1.3: Guillaume Duchenne con un paziente ……..…35

Figure 1.4: La distrofina interagisce con altre proteine integrali di membrana per formare il complesso distrofina-glicoproteine che forma un ponte attraverso la membrana e lega in maniera flessibile la lamina basale della matrice extracellulare con il citoscheletro interno della cellula muscolare. La funzione principale del complesso è quella di stabilizzare il sarcolemma e proteggere le fibre muscolari dal danno legato alla contrazione muscolare……..……....…..36

Figure 1.5: Differenza presente nelle diverse distrofie rispetto al soggetto sano (in alto). La distrofina nella BMD è mutata mantenendo parzialmente la propria funzione (in basso a sinistra), nella DMD la funzione è persa completamente (in basso a destra) ……..……..…….37

Figure 2.6: Peter Emil Becker ……...37

Figure 1.7: Esami istologici a confronto. Partendo da sinistra, soggetto sano, soggetto affetto da BMD e soggetto affetto da DMD. La distrofina è sempre meno evidente …….…..…..38

Figure 1.8: Immagini raffiguranti esami istologici di un muscolo sano (in alto a sinistra), di un muscolo affetto da PM (in basso a sinistra), di un muscolo affetto da IBM (in alto a destra) e di un muscolo affetto da DM (in basso a destra)…….…….41

Figure 1.9: Immagine al microscopio di tessuto ottenuto tramite biopsia muscolare in un paziente affetto da IBM ……..…….……...44

Figure 1.10: Immagine di RM pesata in T2 delle cosce di un soggetto sano ……..……..….45

Figure 3.11: The Immagine di RM-Dixon delle cosce di un soggetto sano …….……...46

Figure 1.12: Mappa di FA delle cosce di un soggetto sano ricavata da immagini di diffusione ……...……..…..46

Figure 2.1: Ciclo di fase tra grasso ed acqua ad 1.5T ……..……..50

Figure 2.2: Un esempio di immagini (A) selettive all'acqua, (B) selettive al grasso, (C) in opposizione di fase e (D) in fase della coscia di un soggetto sano. Il vantaggio della tecnica Dixon è che si possono ottenere differenti contrasti nell'immagine con una singola scannerizzazione: immagini selettive all'acqua, selettive al grasso, in fase e in opposizione di fase……..…….…….……..52

Figure 2.3: Ricostruzioni two-point Dixon ,tramite dati gradient echo acquisiti con sistema a 1.5T, di entrambe le gambe di un controllo. Sopra, immagine Dixon selettiva all'acqua, sotto selettiva al grasso ……..……....53

Figure 2.4: Rappresentazione vettoriale del segnale complesso S - espresso dall'equazione [2.1] – per un determinato pixel. Vengono rappresentate le due componenti spettrali relative all'acqua (W: water) e al grasso (F: fat). $\boldsymbol{\alpha}$ è l'angolo di fase della componente F rispetto alla componente W dovuto alla differenza per chemical shift; $\boldsymbol{\phi}$ è l'errore di fase dovuto alle disomogeneità di campo magnetico mentre $\boldsymbol{\phi_0}$ esprime un errore di fase dovuto ad altre imperfezioni di sistema…….……...54

Figure 2.5: Mappa FF ottenuta da immagini Dixon-water e Dixon-fat - acquisite dalle cosce di un soggetto sano con uno scanner da 1.5T.....57

Figure 2.6: Correlazione del parametron Fat Fraction - derivato da immagine 2-point Dixon tramite MRI gradient echo ($\boldsymbol{FF_{DIXON}}$) – con il contenuto di grasso conosciuto (Muscle Fat Content, MSC) dei fantocci (a) e con il MFC degli studi *in vivo* (b) derivati dalla spettroscopia di risonanza magnetica (Magnetic Resonance Spectroscopy, MRS) ($\boldsymbol{FF_{MRS}}$). I dati sono visualizzati tramite grafici a punti con linee di regressione lineare (linee continue) e con linee di riferimento corrispondenti (linee punto a punto)..……..……..58

Figure 2.7: Coerenza di fase nel piano xy dopo l'impulso a radiofrequenza.....59

Figure 2.8: Decadimento della componente trasversale della magnetizzazione descritto come sfasamento degli spin nel piano xy nel tempo ……..…….....……60

Figure 2.9: Decadimento nel tempo del vettore $\boldsymbol{M_{xy}}$ e conseguente generazione del segnale FID.....60

Figure 2.10: Definizione del tempo di rilassamento T2 e generazione della mappa T2. (A) Il tempo di rilassamento T2 è il tempo necessario affinché il segnale riacquisisca il 37% (1/e) del suo valore iniziale dopo il ribaltamento della componente longitudinale sul piano magnetico trasversale. (B) Generazione della mappa T2. La mappa T2 è generata attraverso il campionamento di tempi di echo multipli usando sequenze multiecho e tracciando i TE *vs* il logaritmo naturale dell'intensità del segnale. Il tempo di rilassamento T2 è calcolato usando l'algoritmo di fitting basato sullo scarto ai minimi quadrati. La mappa a scala di grigi è convertita ad una mappa basata su codice cromatico: ogni colore rappresenta un range differente del tempo di rilassamento T2.....62

Figure 2.11: Immagine di una mappa T2 dei polpacci di un soggetto sano.....63

Figure 2.12: Tensore di Diffusione (DT).....65

Figure 2.13: A sinistra: diffusione isotropa, a destra: diffusione anisotropa.....66

Figure 3.1: Esempio di immagine T1 pesata assiale delle cosce acquisita con uno scanner da 1.5 Tesla ……..…….……..71

Figure 3.2: Esempio di immagine volumetrica T2 pesata delle cosce acquisita con uno scanner da 1.5 Tesla ……..…..……...71

Figure 3.3: Esempio di immagine di rilassometria delle cosce acquisita con uno scanner da 1.5 Tesla…….……...…….71

Figure 3.4: Esempio di immagini Dixon a due punti delle cosce acquisite con uno scanner da 1.5 Tesla. (A) selettive all'acqua, (B) selettive al grasso, (C) in opposizione di fase e (D) in fase……...72

Figure 3.5: Esempio di immagini di diffusione delle cosce acquisite con uno scanner da 1.5 Tesla……..……....72

Figura 3.6: Tabella dei parametri usati per la conversione dei nifti allo scopo di creare il file .mat necessario per la successiva estrazione delle mappe DTI con ExploreDTI….75

Figure 3.7: Esempio di mappa FA ottenuta tramite scanner da 1.5 Tesla delle cosce di un controllo……..…76

Figure 3.8: Mappa FF. Ogni pixel ha un valore in scala di grigi che corrisponde alla Fat Fraction in quel punto…….……77

Figure 3.9: Esempio di immagine risultante dalla coregistrazione dei dati grezzi di rilassometria alle immagini di Dixon in fase.…….……....78

Figure 3.10: Esempio di mappa T_2 ottenuta a partire dalle immagini reg_T_2……...78

Figure 3.11: Esempio di immagine delle ROI “di superficie” dei 10 muscoli presi in considerazione per le cosce di un soggetto di sano.……..…….....79

Figure 3.12: Esempio di immagine delle ROI “puntuali” dei 10 muscoli presi in considerazione per le cosce di un soggetto di sano ……..……..80

Figure 3.13: Esempio di immagine delle ROI “di superficie” dei 6 muscoli presi in considerazione per le gambe di un soggetto di sano.……..……80

Figure 3.14: Esempio di immagine delle ROI “puntuali” dei 6 muscoli presi in considerazione per le gambe di un soggetto di sano …….….81

Figure 3.15: Esempio di immagine di una mappa AD con sovrapposte le ROI “di superficie” dei 10 muscoli presi in considerazione per le cosce di un soggetto di sano …….……..……..82

Figure 3.16: Esempio di immagine di una mappa AD con sovrapposte le ROI “puntuali” dei 10 muscoli presi in considerazione per le cosce di un soggetto di sano.……..…...82

Figure 3.17: Esempio di immagine di una mappa AD con sovrapposte le ROI “di superficie” dei 6 muscoli presi in considerazione per le gambe di un soggetto di sano.…….……83

Figure 3.18: Esempio di immagine di una mappa AD con sovrapposte le ROI “puntuali” dei 6 muscoli presi in considerazione per le gambe di un soggetto di sano……...83

Figura 4.1: Immagine della mappa di Fat Fraction delle cosce un controllo sano.…….……...…….....86

Figura 4.2: Immagine della mappa di Fat Fraction delle cosce di un paziente IBM..…….…….….87

Figura 4.3: Immagine della mappa di Fat Fraction delle cosce di un paziente BMD.…….……..87

Figura 4.4: Immagine della mappa di FA delle cosce un controllo sano…..……..88

Figura 4.5: Immagine della mappa di FA delle cosce un paziente IBM….…….…..88

Figura 4.6: Immagine della mappa di FA delle cosce un paziente BMD….……..88

Figura 4.7: Immagine della mappa di AD delle cosce un controllo sano….……..89

Figura 4.8: Immagine della mappa di AD delle cosce un paziente IBM….…….…..89

Figura 4.9: Immagine della mappa di AD delle cosce un paziente BMD……..90

Figura 4.10: Immagine della mappa di RD delle cosce un controllo sano…….90

Figura 4.11: Immagine della mappa di RD delle cosce un paziente IBM……..91

Figura 4.12: Immagine della mappa di RD delle cosce un paziente BMD……....91

Figura 4.13: Immagine della mappa di MD delle cosce un controllo sano……....92

Figura 4.14: Immagine della mappa di MD delle cosce un paziente IBM…….…….....92

Figura 4.15: Immagine della mappa di MD delle cosce un paziente BMD…….…..92

LISTA DELLE TABELLE

Tabella 4.1: Tabella illustrativa delle analisi effettuate ……..……..85

Tabella 4.2: Numero di soggetti in ogni gruppo ……..……..85

Tabella 4.3: Età media dei soggetti in ognuno dei tre gruppi (IBM, BMD e Controlli sani).……..……..86

Tabella 4.4: Valori medi di FF nei 10 muscoli della coscia (L=left, R=right) di un soggetto sano (CON), un paziente IBM (IBM) e un paziente BMD (BMD) ……...….……...…….93

Tabella 4.5: Valori medi di FF nei 6 muscoli della gamba (L=left, R=right) di un soggetto sano (CON), un paziente IBM (IBM) e un paziente BMD (BMD)…….....94

Tabella 4.6: Valori medi di FA nei 10 muscoli della coscia (L=left, R=right) di un soggetto sano (CON), un paziente IBM (IBM) e un paziente BMD (BMD)…….…94

Tabella 4.7: Valori medi di FA nei 6 muscoli della gamba (L=left, R=right) di un soggetto sano (CON), un paziente IBM (IBM) e un paziente BMD (BMD)..……..95

Tabella 4.8: Valori medi di MD nei 10 muscoli della coscia (L=left, R=right) di un soggetto sano (CON), un paziente IBM (IBM) e un paziente BMD (BMD)…….....95

Tabella 4.9: Valori medi di MD nei 6 muscoli della gamba (L=left, R=right) di un soggetto sano (CON), un paziente IBM (IBM) e un paziente BMD (BMD)...……..96

Tabella 4.10: Media dei parametri MRI stimati in ognuno dei dieci muscoli delle cosce sinistra e destra dei pazienti IBM..……...……...…99

Tabella 4.11: Media dei parametri MRI stimati tra coscia destra e sinistra in ognuno dei dieci muscoli delle cosce dei pazienti IBM...……..……...……100

Tabella 4.12: Media dei parametri MRI stimati in ognuno dei sei muscoli delle gambe sinistra e destra dei pazienti IBM.……..102

Tabella 4.13: Media dei parametri MRI stimati tra gamba destra e sinistra in ognuno dei sei muscoli delle gambe dei pazienti IBM……...……...103

Tabella 4.14: Media dei parametri MRI stimati in ognuno dei dieci muscoli delle cosce sinistra e destra dei pazienti BMD……..……105

Tabella 4.15: Media dei parametri MRI stimati tra coscia destra e sinistra in ognuno dei dieci muscoli delle cosce dei pazienti BMD……..……..106

Tabella 4.16: Media dei parametri MRI stimati in ognuno dei sei muscoli delle gambe sinistra e destra dei pazienti BMD…….……..108

Tabella 4.17: Media dei parametri MRI stimati tra gamba destra e sinistra in ognuno dei sei muscoli delle gambe dei pazienti BMD……..109

Tabella 4.18: Correlazione tra i parametri MRI e la scala IBM-FRS nei pazienti IBM……..……110

Tabella 4.19: Correlazione tra i parametri MRI e la scala IBM-FRS per gli Arti Inferiori nei pazienti IBM…….……..111

Tabella 4.20: Correlazione tra i parametri MRI e il 6MWT nei pazienti IBM……..112

Tabella 4.21: Correlazione tra i parametri MRI e il Test funzionale cronometrato di 10 metri nei pazienti IBM …….…...…….……..113

Tabella 4.22: Correlazione tra i parametri MRI e il Valutazione clinica North Star nei pazienti BMD…….……..114

Tabella 4.23: Correlazione tra i parametri MRI e Test 6 MWT nei pazienti BMD ……..115

Tabella 4.24: Correlazione tra i parametri MRI e il Test funzionale cronometrato di 10 metri nei pazienti BMD…….…….……..116

Tabella 4.25 Correlazione tra i parametri MRI e il risultato valutativo dello Stand Up Test da terra cronometrato..……..…….……..117

LISTA DELLE ABBREVIAZIONI

6MWT 6 Minutes Walking Test

AD Axial Diffusivity

BMD Distrofia di Becker

CHESS CHEmical shift Spectral Saturation

DM DermatoMyositis

DMD Distrofia Muscolare di Duchenne

DT Tensore di Diffusione

DTI Diffusion Tensor Imaging

DWI Diffusion Weighted Imaging

ENMC European NeuroMuscolar Center

FA Fractional Anysotropy

FF Fat Fraction

FID Free Induction Decay

GRE Gradient Echo

H-MRS Proton Magnetic Resonance Spectroscopy

IBM Miosite da Corpi Inclusi

IBMFRS Inclusion Body Myositis Functional Rating Scale

IIM Idiopatic Inflammatory Myositis

IP In Phase

JDM Juvenile DermatoMyositis

MD Main Diffusivity

MFC Muscle Fat Content

MRC Medical Research Council

MRI Magnetic Resonance Imaging

MRS Magnetic Resonance Spectroscopy

NSAA North Star Ambulatory Assesment

OOP Out Of Phase

PACS Picture Archiving and Communication System

PM PolyMyositis

qRM Risonanza Magnetica quantitativa

RD Radial Diffusivity

RF Radio Frequenza

RM Risonanza Magnetica

STIR Short-T1 Inversion Recovery

TE Time Echo

TR Time Repetition

RINGRAZIAMENTI

RIASSUNTO

Ad oggi non esistono trattamenti terapeutici efficaci per la distrofia muscolare di Becker (BMD) e la miosite da corpi inclusi (IBM). Negli ultimi anni, però, sono state sviluppate strategie terapeutiche promettenti.

Le tecniche avanzate di RM (aRM) forniscono un valore aggiunto rispetto all'*imaging* convenzionale e alla valutazione clinica nella diagnosi di patologie muscolari, permettendo una diagnosi precoce mirata su specifici biomarker diagnostici, consentendo il follow-up della patologia e permettendo di valutare l'efficacia dei trattamenti impiegati. Obiettivo di questo studio è convalidare l'efficacia della Risonanza Magnetica quantitativa (qRM) come metodo di valutazione oggettiva dell'outcome clinico effettuando una correlazione tra le misure di qRM e le valutazioni cliniche e miometriche nei pazienti affetti da BMD e IBM.

Ventuno pazienti di età compresa tra 19 e 80 anni (56,4 ± 20,4) sono stati sottoposti a qRM mediante una RM da 1.5T; 11 affetti da IBM e 9 da BMD. Per ciascuno di essi sono state acquisite le immagini di RM di cosce e gambe. Il protocollo è composto da due sequenze di *imaging* convenzionale e tre sequenze aRM: 1) Sequenza Dixon per stima della frazione di acqua e grasso (Fat Fraction, FF); 2) Sequenza Gradient-Echo multi-echo per valutazione della rilassività T2 dei tessuti (Rilassometria T2); 3) Diffusion Tensor Imaging (DTI) per valutazione del danno e dell'infiltrazione lipidica a livello muscolare. I parametri di ognuna delle sequenze sono stati studiati a livello delle cosce e delle gambe ed è stata effettuata una correlazione tra i suddetti parametri e gli score clinici.

Il valore basale medio di FF per le cosce è 44,1 ± 10.1% (IBM) e 42 ± 15% (BMD), mentre per le gambe è 32 ± 15% (IBM) e 23,6 ± 9.3% (BMD). Il valore medio di T2 per le cosce è 110,4 ± 12 (IBM) e 90,8 ± 10,12 (BMD), per le gambe è 86,4 ± 6,8 (IBM) e 73 ± 5,7 (BMD).

Mentre per i BMD non esistono ancora studi specifici di MRI, l'analisi MRI sugli IBM conferma i risultati ottenuti in letteratura.

Dall'analisi statistica i risultati migliori sono stati ottenuti per i BMD: si sono trovate correlazioni significative e coerenti tra FF e T2 e tutti gli score clinici.

ABSTRACT

To date, Becker Muscular Dystrophy (BMD) and Inclusion Body Myositis (IBM) have no effective treatment yet; however, in the last few years, different and promising therapeutic strategies have been developed.

MR advanced techniques (aMR) give an added value compared to conventional imaging and clinical assessment in the diagnosis of muscular pathologies, allowing to obtain a targeted early diagnosis based on specific biomarkers, to do the follow-up of the pathology and to assess the effectiveness of the treatments performed.

The aim of this study is to validate the effectiveness of the quantitative Magnetic Resonance (qMR) as a method to objectively evaluate the clinical outcome by performing a correlation between qMR and the clinical and myometric measures in subjects with BMD and IBM.

Twenty-one patients, aged between 19 and 80 years (56,4 ± 20,4), have undergone a qMR (1.3T); 11 subjects were affected by IBM, 9 by BMD.

The acquisition of the MR images of lower limbs (thighs and legs) was performed for each of the subjects: the protocol was composed by two sequences of conventional imaging and three sequences of aMR: 1) Dixon Sequence to estimate the fat and water fraction (Fat Fraction, FF); 2) Multi - Echo Gradient - Echo Sequence to evaluate the relaxation T2 of the tissues (Relaxometry T2); 3) Diffusion Tensor Imaging (DTI) to assess the damage and the lipid infiltration in the muscles.

The parameters of each of the sequences have been studied for both thighs and legs and the correlation between those parameters and clinical outputs has been performed.

The mean basal value of FF for the thighs is 44,1 ± 10.1% (IBM) and 42 ± 15% (BMD), 32 ± 15% (IBM) and 23,6 ± 9.3% (BMD) for the legs. T2 mean value is 110,4 ± 12 (IBM) and 90,8 ± 10,12 (BMD) for the thighs, 86,4 ± 6,8 (IBM) and 73 ± 5,7 (BMD) for the legs.

While there are no specific MRI studies for BMD subjects yet, the MRI analysis performed on IBM subjects confirms the results contained in literature.

The statistical analysis shows strong results for BMD patients: significant and coherent correlations have been found between FF and T2 and all the clinical scores.

SOMMARIO

Introduzione

Ad oggi non esiste ancora un trattamento efficace per la maggior parte delle miopatie nonostante negli ultimi anni si stiano sviluppando numerose strategie terapeutiche promettenti. La valutazione della loro efficacia è ancora legata a valutazioni cliniche operatore-dipendenti e non esistono metodi di valutazione oggettiva dell'efficacia terapeutica. Sono perciò evidenti l'importanza e la necessità di nuovi strumenti quantitativi che siano specifici per la valutazione dell'efficacia delle nuove terapie e che consentano anche una valutazione della progressione della malattia stessa. La Risonanza Magnetica quantitativa (qRM) potrebbe essere la risposta.

Studi recenti hanno dimostrato la sensibilità del tempo di rilassamento trasversale T_2 a diverse caratteristiche fisiopatologiche tipiche della Distrofia Muscolare di Duchenne (DMD), quali il danno muscolare, l'infiammazione e l'infiltrazione di grasso, offrendo un valido metodo di monitoraggio della patologia stessa [1].

Altri studi inoltre mostrato che la quantità di grasso infiltrato nel muscolo - definita tramite il parametro Fat Fraction - è associata alla progressione della malattia ed è correlata con la performance dei pazienti ai test funzionali; tale indice è già stato preso in considerazione precedentemente su pazienti con distrofia di Duchenne [2] ma non è mai stato analizzato su pazienti affetti da Distrofia di Becker (BMD) e da Miosite da Corpi Inclusi (IBM).

Inoltre, la tecnica Diffusion Tensor Imaging, sensibile ai moti di diffusione delle molecule d'acqua nei tessuti, fornisce indirettamente informazioni relative alla micro-struttura degli stessi. Pertanto in questo lavoro la DTI è stata affiancata alle tecniche convenzionali di MRI sopra descritte sviluppando un protocollo mai effettuato negli studi sulla BMD e la IBM, allo scopo di fornire delle informazioni aggiuntive sul danno dell'architettura del tessuto muscolare.

Obiettivo di questo studio è quindi convalidare l'efficacia della Risonanza Magnetica come metodo di valutazione quantitativa ed effettuare una correlazione tra le misure di qRM e le valutazioni cliniche e miometriche, focalizzando l'attenzione su pazienti affetti da BMD e su pazienti affetti da IBM.

Con il termine miopatia ci si riferisce a una condizione patologica a carico del tessuto muscolare scheletrico, anche detto disordine primitivo del muscolo.È importante chiarire

che una sindrome è riconosciuta come miopatia solo nel caso in cui colpisca un muscolo volontario, venendo così definita “primitiva”. Un’altra classificazione molto più diffusa è quella che prevede la distinzione delle miopatie in congenite o ereditarie (distrofie), trasmesse solitamente per via familiare, e acquisite (miopatie infiammatorie), non caratterizzate da un fattore dreditario. La miopatia viene quasi sempre diagnosticata attraverso biopsia muscolare e/o test del DNA, in seguito a esami del sangue, diagnosi differenziale ed elettromiografia e solo negli ultimi anni anche tramite esami come la RM. In questo lavoro di tesi ci focalizzeremo su due particolari miopatie: la Distrofia Muscolare di Becker (BMD) e la Miosite da Corpi Inclusi (IBM).

- Distrofia Muscolare di Becker (BMD)

  È una malattia ereditaria con un quadro clinico simile alla distrofia di Duchenne; la grande differenza sta nel fatto che nei pazienti affetti da BMD la distrofina sintetizzata risulta alterata, mentre nei pazienti affetti da DMD la distrofina non viene sintetizzata affatto.

  La BMD viene descritta per la prima volta nel 1955 dal medico tedesco Peter Emil Becker [16]. La BMD rappresenta la forma più mite tra le distrofinopatie, ha una frequenza di un terzo rispetto alla DMD colpendo da 3 a 6 soggetti maschi su 100.000. Nella maggior parte dei casi l’età di esordio è tra i 5 e i 25 anni, con una maggior probabilità nella seconda decade.Il coinvolgimento cardiaco è una caratteristica importante della malattia e l’infarto è la causa più comune di morte nei pazienti affetti da BMD [19][20][21].

- Miosite da corpi inclusi

  Il termine Miosite da corpi inclusi (IBM) è stato usato per la prima volta da Yunis e Samaha [29] per definire un caso di miopatia che fenotipicamente sembrava indicare una polimiosite cronica ma che nella biopsia muscolare mostrava la presenza di vacuoli citoplasmatici ed inclusioni.

  La IBM si presenta tipicamente in pazienti che abbiano più di 40 anni e con il termine inclusione si intende la presenza di sostanze, organuli, cellule o tessuti anomali all’interno di una cellula o di un tessuto. Le modalità con cui la malattia si manifesta non sono totalmente definite; ciò che è certo è che tutti i casi evolvono in una sindrome caratterizzata da una debolezza diffusa, progressiva, asimmetrica, prossimale e distale, che sembra essere refrattaria ai trattamenti

immuno-sopressivi in uso. L'incidenza media varia tra 1:100000 e 1:14000, ma può triplicare se si considera solo la popolazione di età superiore a 50 anni.
Ha la particolarità di coinvolgere sia la muscolatura prossimale che distale. La disfagia può manifestarsi in circa il 66% dei pazienti nella fase avanzata della malattia e in alcuni casi può essere grave.
L'Imaging di Risonanza Magnetica (MRI) può aiutare nell'identificazione dei muscoli in cui è presente degenerazione muscolare in pazienti affetti dalla patologia e contribuisce a delineare il pattern caratteristico del coinvolgimento muscolare. Non è disponibile un trattamento per curare totalmente i pazienti che soffrono di IBM e le terapie anti-infiammatorie o immuno-modulatorie solitamente sono inefficaci.
Dopo cinque anni, la maggior parte dei pazienti richiede ausili per la deambulazione e, dopo dieci, la sedia a rotelle.

Metodi

L'imaging di risonanza magnetica (MRI) ha un enorme potenzialità nel fornire misure oggettive nella valutazione dello stato di salute del muscolo permettendo la rilevazione delle principali caratteristiche istologiche associate al danno muscolare e questo è particolarmente utile nell'analisi della DMD. Le tecniche di MRI quantitativa (spettroscopia RM, Rilassometria RM, Dixon) hanno mostrato una maggior affidabilità nella stima dell'infiltrazione del grasso in patologie muscolari, compresa la DMD [43], rispetto alle tecniche convenzionali. Numerose ricerche stanno inoltre concludendo che la tecnica DTI possa essere usata anche per valutare le strutture muscolari alterate.

MR Dixon: Misura dell'infiltrazione lipidica

I protoni di acqua e grasso hanno frequenze di risonanza leggermente diverse e, come conseguenza di tale differenza, gli spin si verranno a trovare in fase e in opposizione di fase l'uno con l'altro in funzione del tempo. A fine degli anni ottanta, si iniziò a realizzare che l'effetto di annullamento di fase sarebbe potuto essere utile per identificare e quantificare il contenuto di grasso nei tessuti. La tecnica consiste nell'ottenere una coppia di immagini GRE allo stesso Tempo di Ripetizione (Repetition Time, TR) ma con due diversi TE, uno coincidente con la condizione IP (In-Phase) e il secondo coincidente con la condizione OOP (Out-of-Phase). Nel 1984 Dixon propone un metodo di imaging basato sul chemical shift, sfruttando le due sopra citate condizioni di fase. L'approccio più semplice usa solo due immagini (2-point Dixon) [47] e l'assunzione di base è che ci

siano soltanto due componenti nell'immagine generica: acqua e grasso. L'intuizione di Dixon è stata che le immagini in fase e fuori fase potessero essere combinate in modo da creare immagini di solo grasso e sola acqua ("Fat Suppressed") [48][49]. La Dixon è una sequenza di tipo GRE (Gradient Echo) che prevede dunque l'acquisizione dello stesso volume anatomico a Tempi di Echo differenti.

Quantificazione dell'infiltrazione lipidica: Fat Fraction

Per quantificare la frazione di grasso nel muscolo (Fat Fraction, FF) si sfruttano le sequenze di tipo Dixon. Partendo dalle immagini di sola acqua e solo grasso generate dalla sequenza Dixon, si può determinare pixel per pixel il valore quantitativo della proporzione di grasso, calcolata come il rapporto tra l'intensità del segnale di solo grasso e la somma delle intensità dei segnali di acqua e grasso. La misura di FF muscolare usando la tecnica Dixon è non invasiva, oggettiva e riproducibile.
I valori di FF muscolare acquisiti con le immagini di RM-Dixon sono ben correlati con i risultati istopatologici in pazienti con disordini neuromuscolari [51] e sembrano essere accurati nel valutare la gravità della malattia in pazienti con la DMD [37][52].
Conclusione comune è che le misure quantitative di FF ottenute con le immagini di RM-Dixon possano essere degli utili biomarker nel quantificare l'infiltrazione lipidica per predire la progressione della malattia e l'efficienza della risposta terapeutica.

Rilassometria: stima del tempo di rilassamento T2

Il rilassamento T2 è il processo mediante il quale le componenti trasversali della magnetizzazione (M_{xy}) decadono o sfasano. Il rilassamento trasversale segue una cinetica del primo ordine [54] risultando in un semplice decadimento esponenziale con costante di tempo T2.
Ricordiamo dunque che T2 è il tempo richiesto perché la magnetizzazione trasversale decada fino a circa il 37% (1/e) del suo valore iniziale.
Il concetto di decadimento è strettamente legato a quello di sfasamento degli spin e tale decadimento è l'unico responsabile della generazione del segnale RM, meglio conosciuto come "Free Induction Decay" (FID).
La mappatura del tempo di rilassamento T2, detta brevemente T2 mapping, è uno strumento utile in ambito clinico [55][56]. Le mappe di T2 possono essere usate per quantificare edemi muscolari ed infiammazioni in molti disordini dei muscoli scheletrici

che affliggono anche i bambini e per quantificare l'infiltrazione di grasso (FF) in bimbi con vari tipologie di distrofie muscolari [55][59].
Il T2msembra dunque avere una buona correlazione con il livello di infiltrazione del grasso [14]. Le mappe T2, infine, hanno un grande potenziale nel dimostrare il coinvolgimento non uniforme di muscoli in un gran numero di stati patologici, sottolineando l'eventuale sviluppo asimmetrico della malattia.
Diffusion Tensor Imaging: valutazione del danno muscolare

Le immagini ottenute dalla RM pesate in diffusione (DWI) si basano sul concetto di diffusione delle molecole legata alla loro energia termica intrinseca e, dunque, al loro moto Browniano, permettendo di studiare il tessuto in considerazione anche a livello sub-cellulare grazie all'analisi dei movimenti casuali delle molecole d'acqua nei tessuti biologici. L'immagine di RM pesata in diffusione sostanzialmente sfrutta le molecole d'acqua nel tessuto come mezzo di contrasto per sondare la struttura tissutale.

Primo caso (senza diffusione): durante un certo intervallo Δ la molecola non ha cambiato posizione lungo la direzione studiata;

Secondo caso (con diffusione): la molecola, durante l'intervallo Δ, ha subito una variazione di posizione lungo la direzione in esame;

Un'analisi più approfondita della diffusione può essere attuata utilizzando il *Diffusion Tensor Imaging* (DTI) attraverso il quale studiamo la diffusione in almeno 6 direzioni indipendenti: si tratta di una matrice 3x3 che descrive il comportamento diffusivo della specifica zona presa in esame.
I tessuti biologici sono molto strutturati e di solito hanno coefficienti di diffusione diversi lungo le diverse direzioni e sono perciò detti anisotropi. I muscoli scheletrici e i tendini, mostrano un'alta anisotropia. Nel caso in cui la diffusione è completamente isotropa in un determinato punto, il tensore risultante nello spazio 3D descriverà una sfera mentre nel caso in cui la diffusione avrà una direzione preferenziale, il tensore descriverà un ellissoide in cui l'asse principale giace sulla stessa direzione dell'autovettore principale .
Dal DT si possono ricavare importanti parametri quantitativi [65] in grado di descriverci la diffusione voxel per voxel e tra questi ricordiamo quelli più importanti: MD (Main Diffusivity), FA (Fractional Anisotrophy), AD (Axial Diffusivity), RD (Radial Diffusivity). E' possibile applicare la DTI all'imaging muscolare per esplorare

l’architettura muscolare [66] e definire i dettagli strutturali come ad esempio quando si devono valutare dei danni muscolari.La natura quantitativa del DTI può giocare un ruolo molto importante come marcatore surrogato non invasivo nel monitoraggio della risposta terapeutica nei danni muscolari [68]

Materiali E Metodi

Reclutamento dei soggetti: criteri di inclusione

Nello studio sono stati inclusi pazienti e controlli sani di entrambi i sessi, tra i 18 e i 75 anni di età:

- 9 pazienti affetti da BMD (9 maschi, età media: 38.44 ± 15.86)
- 11 pazienti affetti da IBM (10 maschi e 1 femmina, età media: 71 ± 8.09)
- Un campione di 12 soggetti sani (10 maschi e 2 femmine, età media: 40.5 ± 14.82)

I pazienti sono stati selezionati tra i pazienti della Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta di Milano.Per poter essere inclusi nello studio il criterio principale è stata la diagnosi clinica, biochimica e genetica di BMD o IBM.I controlli sono stati reclutati tra volontari della popolazione locale. Tutti i soggetti hanno firmato un consenso informato valido per la partecipazione allo studio di ricerca.

Acquisizione MRI

L’acquisizione delle immagini di RM è stata effettuata attraverso l’utilizzo di uno scanner a 1.5T (Siemens Avanto, Erlangen, Germany).

Il protocollo di RM è stato effettuato su due distretti corporei, uno a livello delle cosce e uno a livello delle gambe, e per ognuno l’operazione di acquisizione è stata ripetuta per due volte, acquisendo ogni arto separatamente. All’interno del protocollo RM sono state incluse due sequenze classiche (T1 assiale e volumetrica T2-pesata) e un set di tre sequenze di RM avanzata per la stima della quantità di grasso e acqua e la valutazione del danno muscolare (sequenza multi-echo per la stima del T2, Dixon 2-point, DTI). La durata media del protocollo MRI è di circa 60 minuti senza iniezione di contrasto alcuna.

Valutazioni Cliniche

Per valutare lo stato patologico dei pazienti è stato eseguito un protocollo clinico che prevede diversi test con specifiche scale di valutazione. La durata media del protocollo clinico è di circa trenta minuti.

Pre-processing ed Elaborazioni

Operazioni preliminari di correzione, modificha e coregistrazione sono state effettuate sui dati grezzi di risonanza magnetica, ottenendo le immagini Dixon, DTI e T2-pesate e ricavando da queste le mappe e le stime dei parametri MRI (FF, FA, MD, RD, AD, T2) all'interno di specifiche ROI.

Analisi Statistica

Per ogni malattia, è stato condotto il test di Spearman valutando il grado di correlazione tra i parametri MRI stimati e gli score clinici tipici nella valutazione delle due patologie in esame.

Risultati

IBM:

Parametri MRI **vs** Scala IBM-FRS: il parametro RD stimato per il distretto coscia mostra una forte correlazione con proporzionalità diretta.

BMD:

Parametri MRI **vs** Valutazione Clinica North Star: i parametri FF e T2 di entrambe la fasce muscolari e il parametro FA per il solo distretto muscolare delle cosce mostrano una forte correlazione con proporzionalità inversa.

Parametri MRI **vs** 6MWT: il parametro FF di entrambe la fasce muscolari e i parametri FA e T2 per le cosce mostrano una forte correlazione con proporzionalità inversa.

Parametri MRI **vs** Test Funzionale Cronometrato dei 10 Metri: il parametro T2 per il distretto cosce mostra forte correlazione con proporzionalità diretta.

Parametri MRI **vs** Test Cronometrato nell'alzarsi da Terra: i parametri T2 ed FF della fascia muscolare delle gambe mostrano una forte correlazione con proporzionalità diretta.

Discussioni

Il tempo di rilassamento T2, elevato nei muscoli distrofici, è stato collegato alla presenza di danno ed infiammazione muscolare ed infiltrazione di grasso nel tessuto [1]. Tale considerazione è coerente con i risultati ottenuti in questo studio.

Anche la frazione lipidica FF, di valore maggiore nelle distrofie muscolari, è collegata al livello di infiltrazione di grasso nel muscolo.

In entrambe le malattie si riscontra un deficit della forza muscolare associato all'infiltrazione lipidica: è probabile che una maggior quantità di grasso non permetta una diffusione isotropa a causa della natura idrofobica che lo caratterizza, vincolando le molecole d'acqua a diffondere in direzioni specifiche. Questo porterebbe ad un amento della FA nei muscoli distrofici.

Sviluppi Futuri

Alla luce dei risultati ottenuti nelle analisi della correlazione tra parametri qRM e test clinici, possiamo affermare che tali parametri risultano efficienti biomarker, ma soltanto per i pazienti BMD, mentre alcuna evidenza è stata riscontrata per gli IBM. Questo potrebbe essere dovuto alla eterogeneità troppo elevata del campione sia a livello di differenze di gravità della malattia, che di età. All'interno di uno stesso gruppo, infatti, ci sono sia pazienti con una lieve manifestazione della miopatia, che pazienti in cui l'infiltrazione lipidica è estremamente elevata.

Per migliorare l'accuratezza dell'analisi, potrebbe essere efficace tracciare le ROI in modo da prendere in considerazione unicamente il muscolo in analisi ignorando il più possibile le strutture limitrofe.

Includere i controlli sani nell'analisi statistica in modo da riuscire a caratterizzare meglio le due patologie potrebbe essere un'ulteriore strategia utile.

Sempre riguardo la popolazione in analisi, condurre uno studio concentrandosi su una popolazione omogenea dal punto di vista dell'età potrebbe rendere i risultati statistici più accurati. Altri fattori come il tempo di insorgenza della malattia e la gravità della malattia stessa dovrebbero essere considerati nelle indagini statistiche in modo da poter studiare eventuali correlazioni tra questi fattori in modo più dettagliato. Alla luce dell'efficacia documentata dei parametri qRM come biomarker di queste miopatie nei soggetti

particolarmente giovani, un primo suggerimento potrebbe essere quello di omogenizzare la popolazione considerando età che si concentrino nei range dell'infanzia.

In conclusione, anche se si è trattato di uno studio preliminare pilota per lo studio di queste due malattie che poco riscontro trovano in letteratura, questo lavoro sottolinea e conferma l'importanza della MRI negli studi sulle patologie muscolari.

1. INTRODUZIONE

1.1 Background e scopo del lavoro

Ad oggi non esiste ancora un trattamento efficace per la maggior parte delle miopatie nonostante negli ultimi anni si stiano sviluppando numerose strategie terapeutiche promettenti. La valutazione della loro efficacia è ancora legata a valutazioni cliniche operatore-dipendenti e non esistono metodi di valutazione oggettiva dell'efficacia terapeutica. Uno dei pochi e più usati metodi di indagine clinica di queste patologie è la biopsia muscolare, tecnica la cui ripetizione è limitata dalla sua invasività.
Sono perciò evidenti l'importanza e la necessità di nuovi strumenti quantitativi che siano specifici per la valutazione dell'efficacia delle nuove terapie e che consentano anche una valutazione della progressione della malattia stessa in modo meno invasivo e con maggiore continuità.
La Risonanza Magnetica quantitativa (qRM) potrebbe essere la risposta, sebbene fino ad ora non ci sia stato un consenso unanime riguardo i protocolli di imaging per lo studio muscolare.
Studi recenti hanno dimostrato la sensibilità del tempo di rilassamento trasversale T_2 a diverse caratteristiche fisiopatologiche tipiche della Distrofia Muscolare di Duchenne (DMD), quali il danno muscolare, l'infiammazione e l'infiltrazione di grasso, offrendo un valido metodo di monitoraggio della patologia stessa [1].
Studi recenti hanno inoltre mostrato che la quantità di grasso infiltrato nel muscolo - definita tramite il parametro Fat Fraction - è associata alla progressione della malattia ed è correlata con la performance dei pazienti ai test funzionali; tale indice è già stato preso in considerazione precedentemente su pazienti con distrofia di Duchenne [2] ma non è mai stato analizzato su pazienti affetti da Distrofia di Becker (BMD) e da Miosite da Corpi Inclusi (IBM).

Pochi sono gli studi di DTI (Diffusion Tensor Imaging) [3] effettuati sulle malattie muscolari: sono tutti molto recenti, concentrati su poche patologie ed hanno lo scopo di valutare la potenzialità del DTI come biomarker di gravità della malattia [4].

Tale tecnica, sensibile ai moti di diffusione delle molecule d'acqua nei tessuti, fornisce indirettamente informazioni relative alla micro-struttura degli stessi. Pertanto in questo lavoro la DTI è stata affiancata alle tecniche convenzionali di MRI sopra descritte

sviluppando un protocollo mai effettuato negli studi sulla BMD e la IBM, allo scopo di fornire delle informazioni aggiuntive sul danno dell'architettura del tessuto muscolare. Obiettivo di questo studio è quindi convalidare l'efficacia della Risonanza Magnetica come metodo di valutazione quantitativa ed effettuare una correlazione tra le misure di qRM e le valutazioni cliniche e miometriche, focalizzando l'attenzione su pazienti affetti da BMD e su pazienti affetti da IBM.

1.2 Miopatie

Le degenerazioni muscolari, definite miopatie in ambito clinico, sono un problema che da sempre affligge il genere umano e questo ha portato la scienza a occuparsene in modo sempre più approfondito per caratterizzarle e per trovare delle possibili cure.
Con il termine miopatia ci si riferisce a una condizione patologica a carico del tessuto muscolare scheletrico, che può essere causata da un difetto della fibra muscolare (variazioni nelle dimensioni delle fibre, degenerazione delle fibre con fagociti circostanti, etc), anche detto disordine primitivo del muscolo, o derivare da malattie sistemiche che provocano un danno miopatico secondario.
Nella figura 1.1 è mostrata la classificazione proposta nel libro di Weller et al.[5], nella quale le miopatie primitive e secondarie vengono suddivise in destruenti e non destruenti. Le prime sono istologicamente caratterizzate dalla perdita dell'integrità della fibrocellula muscolare che subisce un danno necrotico associato a fenomeni di rigenerazione secondaria. Le seconde sono caratterizzate, invece, da difetti enzimatici o disfunzioni di organuli o membrane cellulari che sfociano poi in un'anomala funzione muscolare ma non in una distruzione di fibrocellule. È importante chiarire che una sindrome è riconosciuta come miopatia solo nel caso in cui colpisca un muscolo volontario, venendo così definita "primitiva". Vengono quindi escluse tutte le sindromi che sono causa di alterazioni indirette del muscolo, colpendo il Sistema Nervoso Centrale (ad esempio la Sclerosi Multipla) e periferico (neuropatie del sistema periferico).

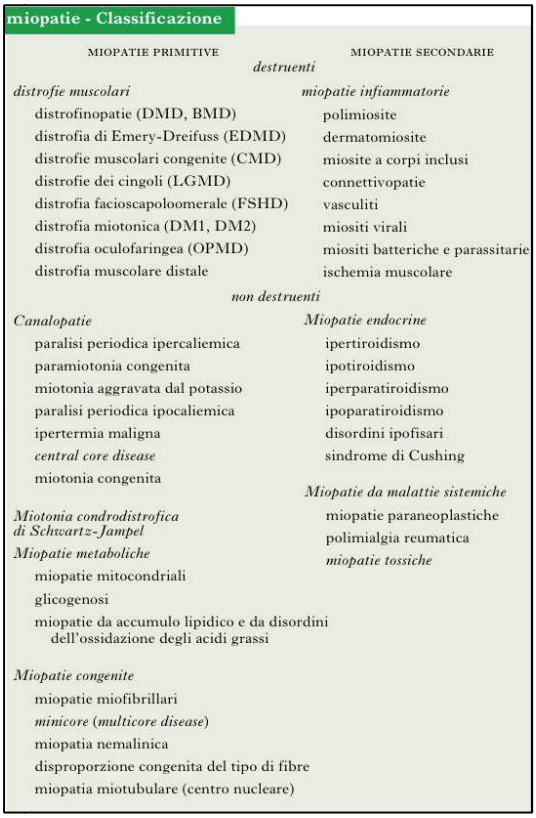


Figura 4.1: Classificazione delle miopatie proposta da Weller et al.

Un'altra classificazione molto più diffusa è quella che prevede la distinzione delle miopatie in congenite (o ereditarie) e acquisite. Ne esistono più di 100 tipi attualmente identificati. Tra le miopatie congenite citiamo le distrofie muscolari, le canalopatie, le miopatie congenite non distrofiche, le miopatie metaboliche e le miopatie mitocondriali. Tra le acquisite troviamo invece le miopatie infiammatorie, le miopatie associate a malattie sistemiche, quelle tossiche e nutrizionali.
Le miopatie congenite solitamente vengono trasmesse per via familiare:

- *Distrofie Muscolari*: gruppo caratterizzato da degenerazione e successiva rigenerazione delle fibre muscolari a causa di un difetto o della mancata produzione della proteina distrofina. Sono malattie progressive perché i fenomeni di rigenerazione non sono sufficienti a compensare la rapida degenerazione muscolare [6].

- *Canalopatie*: gruppo di disordini risultanti da una disfunzione dei canali ionici localizzati nelle membrane di tutte le cellule e di molti organelli cellulari. Sono

caratterizzate da ipostenia (riduzione della forza muscolare) e miotonia (contrazione prolungata persistente anche dopo la fine dello stimolo eccitatorio) [7].

- *Miopatie Congenite Non Distrofiche*: gruppo caratterizzato da alterazioni fisiologiche, biochimiche e/o strutturali ma in assenza di degenerazione distrofica o infiammatoria. In alcune il gene difettoso deve essere ancora identificato [8].

- *Miopatie Metaboliche*: gruppo di disordini muscolari ereditari causati da specifici difetti enzimatici dovuti a loro volta a geni difettosi. Hanno in comune tra loro delle alterazioni delle vie metaboliche impiegate dalle fibrocellule per la produzione di energia, che risultano poi in una disfunzione del muscolo scheletrico [9].
- *Miopatie Mitocondriali*: comprendono un vasto gruppo eterogeneo di disordini derivanti da una disfunzione primaria della catena respiratoria mitocondriale. A causa della presenza dei mitocondri in tutte le cellule dell'organismo, questa tipologia è quella a più ampia sintomatologia, specialmente con esordio in giovane età. Spesso sono difficili da identificare per somiglianza con altre miopatie [10].

Le miopatie acquisite sono quelle non caratterizzate da un fattore ereditario:

- *Miopatie Infiammatorie*: sono caratterizzate da infiltrato leucocitario tra le fibre muscolari con necrosi e fibrosi (riparazione di un danno tissutale mediante sostituzione delle cellule parenchimali con tessuto connettivo). Il quadro clinico è dominato da ipostenia e dolore. Tra queste è classificata la Miosite da Corpi Inclusi [11].

- *Miopatie associate a Malattie Sistemiche*: con questo termine si vogliono indicare tutte le miopatie legate a malattie che interessano tutto l'organismo. Tra queste si possono citare: le miopatie endocrine, come quella osservata in corso di ipotiroidismo, ipertiroidismo e ipoparatiroidismo (endocrinopatia abbastanza infrequente caratterizzata da un difetto di produzione di paratormone, che controlla il metabolismo del calcio, da parte delle ghiandole paratiroidi) e le miopatie associate a disionie (qualunque alterazione dell'equilibrio ionico dei liquidi organici, soprattutto del sangue, per alterato ricambio idrico e minerale).

- *Miopatie Tossiche e Nutrizionali*: Sono provocate dall'uso di farmaci o sostanze tossiche per il muscolo che, attraverso un'azione diretta sulla cellula muscolare o mediante alterazioni sistemiche (es. alterazione elettrolitica, ridotto apporto di ossigeno al muscolo, insufficienza renale, aumento della richiesta energetica muscolare), causano un danno al muscolo. Una delle conseguenze peggiori è la distruzione delle fibre muscolari con conseguente rilascio di mioglobina (proteina muscolare) nel sangue e nelle urine che assumono un colore rosso scuro [12].

Sebbene molto diverse tra loro, le varie miopatie sono caratterizzate da alcuni aspetti ricorrenti, tra i quali il deficit di forza (ipostenia) che può portare ad atrofia muscolare, l'aumento della percezione di fatica, la variazione della massa muscolare, l'ipotonia e le alterazioni dei riflessi profondi.
La miopatia viene quasi sempre diagnosticata attraverso biopsia muscolare e/o test del DNA, in seguito a esami del sangue, diagnosi differenziale ed elettromiografia e solo negli ultimi anni anche tramite esami come la RM.
Il piano terapeutico è diverso da una miopatia all'altra, e si fonda principalmente sulle cause che si supponga siano l'origine della malattia.
Lo scopo delle terapie è comunque sempre quello di rallentare la progressione della malattia ed alleviarne il più possibile i sintomi, dal momento che una vera e propria cura efficace ancora non è stata trovata.
In questo lavoro di tesi ci focalizzeremo su due particolari miopatie: la Distrofia Muscolare di Becker (BMD) e la Miosite da Corpi Inclusi (IBM), descritte più dettagliatamente nei paragrafi seguenti.

1.2.1 Distrofia Muscolare

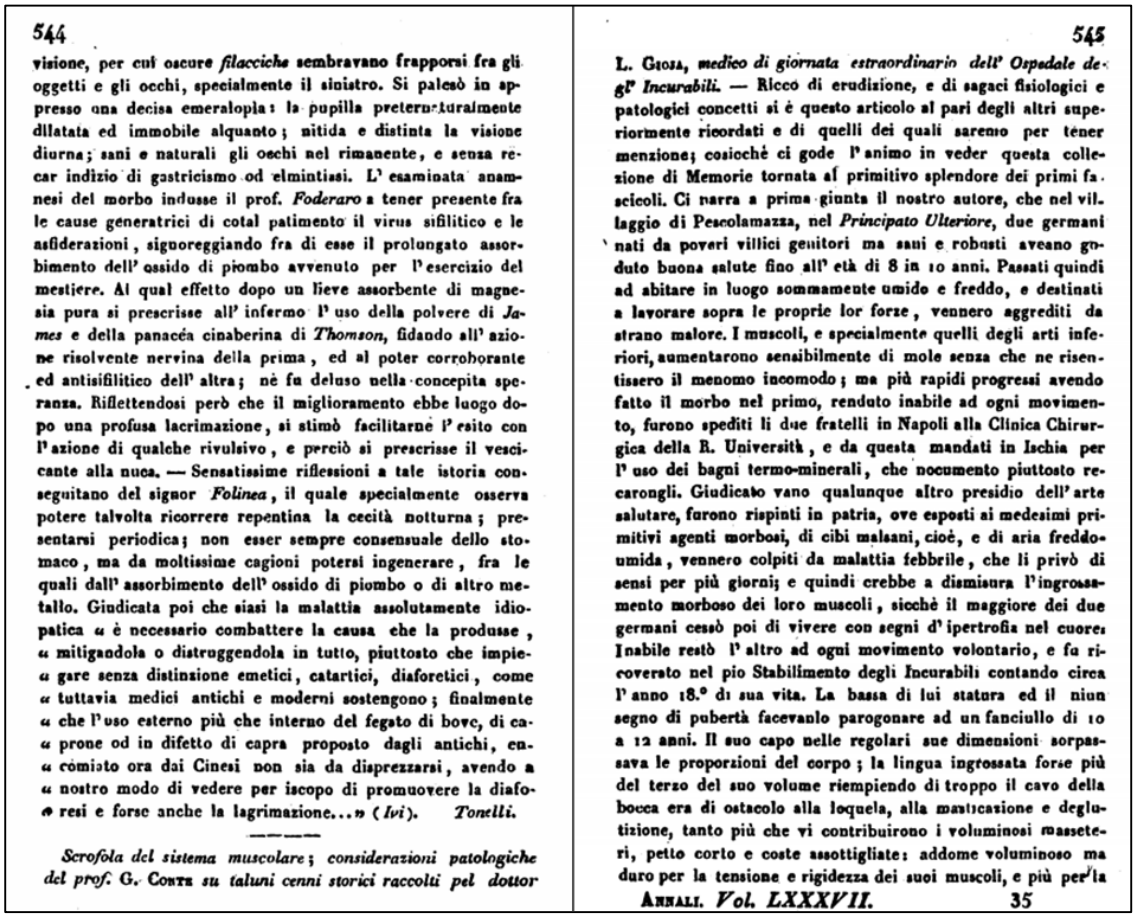
Il primo riscontro storico documentato di distrofia muscolare si ha nel 1836 grazie al contributo del professor G. Conte e del dottor L. Gioia [13].

Viene qui descritto il caso di due fratelli affetti da un progressivo indebolimento muscolare a partire dai dieci anni di età. Col passare del tempo, i pazienti sviluppano una debolezza ed una ipertrofia sempre più diffusa a diversi gruppi muscolari, elementi che

ora sappiamo riconoscere come caratteristici di uno specifico fenotipo di distrofia muscolare, la distrofia di Becker.

Basandosi sulle conoscenze del tempo, nonostante i forti dubbi sorti dall'analisi dei sintomi, la diagnosi risultante fu tubercolosi.

Nella figura seguente (figura 1.2) viene presentato un estratto del libro sopra citato [13], nello specifico le pagine 544 e 545.



544

visione, per cui oscure *filacciche* sembravano frapporsi fra gli oggetti e gli occhi, specialmente il sinistro. Si palesò in appresso una decisa emeralopia: la pupilla preternaturalmente dilatata ed immobile alquanto; nitida e distinta la visione diurna; sani e naturali gli occhi nel rimanente, e senza recar indizio di gastricismo od elmintiasi. L' esaminata anamnesi del morbo indusse il prof. *Foderaro* a tener presente fra le cause generatrici di cotal patimento il virus sifilitico e le asfiderazioni, signoreggiando fra di esse il prolungato assorbimento dell' ossido di piombo avvenuto per l' esercizio del mestiere. Al qual effetto dopo un lieve assorbente di magnesia pura si prescrisse all' infermo l' uso della polvere di *James* e della panacea cinaberina di *Thomson*, fidando all' azione risolvente nervina della prima, ed al poter corroborante ed antisifilitico dell' altra; nè fu deluso nella concepita speranza. Riflettendosi però che il miglioramento ebbe luogo dopo una profusa lacrimazione, si stimò facilitarne l' esito con l' azione di qualche rivulsivo, e perciò si prescrisse il vescicante alla nuca. — Sensatissime riflessioni a tale istoria conseguitano del signor *Folinea*, il quale specialmente osserva potere talvolta ricorrere repentina la cecità notturna; presentarsi periodica; non esser sempre consensuale dello stomaco, ma da moltissime cagioni potersi ingenerare, fra le quali dall' assorbimento dell' ossido di piombo o di altro metallo. Giudicata poi che siasi la malattia assolutamente idiopatica « è necessario combattere la causa che la produsse, « mitigandola o distruggendola in tutto, piuttosto che impie« gare senza distinzione emetici, catartici, diaforetici, come « tuttavia medici antichi e moderni sostengono; finalmente « che l' uso esterno più che interno del fegato di bove, di ca« prone od in difetto di capra proposto dagli antichi, en« comiato ora dai Cinesi non sia da disprezzarsi, avendo a « nostro modo di vedere per iscopo di promuovere la diafo« resi e forse anche la lagrimazione...» (*Ivi*). *Tonelli.*

Scrofola del sistema muscolare; considerazioni patologiche del prof. G. Conta *su taluni cenni storici raccolti pel dottor*

545

L. Gioja, *medico di giornata straordinario dell' Ospedale degl' Incurabili.* — Ricco di erudizione, e di sagaci fisiologici e patologici concetti si è questo articolo al pari degli altri superiormente ricordati e di quelli dei quali saremo per tener menzione; cosicchè ci gode l' animo in veder questa collezione di Memorie tornata al primitivo splendore dei primi fascicoli. Ci narra a prima giunta il nostro autore, che nel villaggio di Pescolamazza, nel *Principato Ulteriore*, due germani nati da poveri villici genitori ma sani e robusti aveano goduto buona salute fino all' età di 8 in 10 anni. Passati quindi ad abitare in luogo sommamente umido e freddo, e destinati a lavorare sopra le proprie lor forze, vennero aggrediti da strano malore. I muscoli, e specialmente quelli degli arti inferiori, aumentarono sensibilmente di mole senza che ne risentissero il menomo incomodo; ma più rapidi progressi avendo fatto il morbo nel primo, renduto inabile ad ogni movimento, furono spediti li due fratelli in Napoli alla Clinica Chirurgica della R. Università, e da questa mandati in Ischia per l' uso dei bagni termo-minerali, che nocumento piuttosto recarongli. Giudicato vano qualunque altro presidio dell' arte salutare, furono rispinti in patria, ove esposti ai medesimi primitivi agenti morbosi, di cibi malsani, cioè, e di aria freddo-umida, vennero colpiti da malattia febbrile, che li privò di sensi per più giorni; e quindi crebbe a dismisura l' ingrossamento morboso dei loro muscoli, sicchè il maggiore dei due germani cessò poi di vivere con segni d' ipertrofia nel cuore: Inabile restò l' altro ad ogni movimento volontario, e fu ricoverato nel pio Stabilimento degli Incurabili contando circa l' anno 18.° di sua vita. La bassa di lui statura ed il niun segno di pubertà facevanlo parogonare ad un fanciullo di 10 a 12 anni. Il suo capo nelle regolari sue dimensioni sorpassava le proporzioni del corpo; la lingua ingrossata forse più del terzo del suo volume riempiendo di troppo il cavo della bocca era di ostacolo alla loquela, alla masticazione e deglutizione, tanto più che vi contribuirono i voluminosi masseteri, petto corto e coste assottigliate: addome voluminoso ma duro per la tensione e rigidezza dei suoi muscoli, e più per la

Figura 1.2: Estratto del libro "*Annali di medicina straniera*" compilati da Annibale Omodei nel 1838.

Guillaume Duchenne, neurologo francese già famoso per la sua applicazione della faradizzazione - uso di correnti elettriche per stimolare muscoli e nervi - nel trattamento dei disordini neurologici, nel 1868 riporta in un suo studio quello che in seguito venne riconosciuto come il primo caso di distrofia muscolare [14].

Nella figura 1.3 è mostrata una foto del dottor Duchenne con un paziente

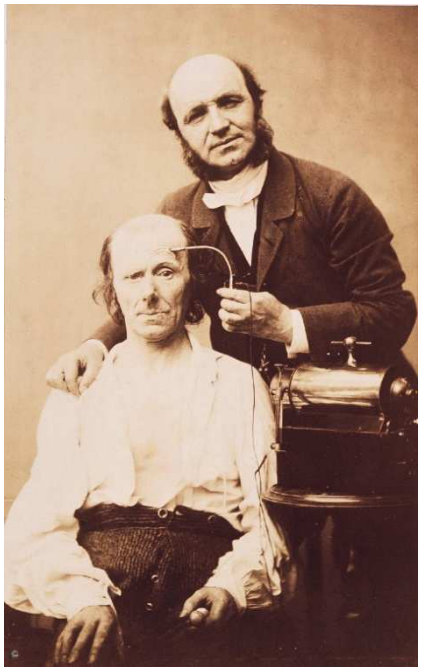


Figura 1.3: Guillaume Duchenne con un paziente.

La popolazione in analisi nello studio comprendeva 13 pazienti che mostravano gli stessi sintomi, riconducibili a quella che lui definì “paralysie musculaire pseudo-hypertrophique” (paralisi muscolare pseudo-ipertrofica).
Da quello studio molti altri ne seguirono, arrivando alla definizione del concetto di distrofia e al riconoscimento di diversi suoi fenotipi.
La distrofia muscolare di Duchenne (DMD) è il fenotipo più grave.
Negli anni ’80 gli studi sulla distrofia portano a importanti risultati, in particolare nel 1986 viene identificato il gene che, se mutato, causa la malattia. Nel 1987 Louis M. Kunkel riesce a mappare il gene e poco dopo identifica la proteina sintetizzata da questo, la distrofina [15]. La distrofina è una proteina di 3685 amminoacidi che fa parte di un complesso di proteine che connette il citoscheletro di una fibra muscolare alla matrice extracellulare circostante attraverso la membrana cellulare, conferendo così stabilità e resistenza meccanica al tessuto. Nella figura 1.4 è illustrato il posizionamento della distrofina tra le miofibrille. Il tessuto muscolare normale contiene piccole quantità di distrofina (circa 0.002% della quantità totale delle proteine muscolari) ma la sua assenza o la sua mutazione portano conseguenze molto gravi. L’alterazione o la mancanza di tale proteina rende le fibre muscolari più fragili e maggiormente soggette a rottura. Dunque, la sintesi difettosa di tale proteina determina una maggiore fragilità della membrana, che a

sua volta provoca un aumento della liberazione dell'enzima creatin-chinasi (hyperCKemia) e un eccessivo ingresso di calcio nella cellula con conseguente necrosi. Inizialmente la perdita di cellule muscolari è compensata da una parziale rigenerazione: con il progredire della malattia prevale la degenerazione e le fibre muscolari vengono rimpiazzate da tessuto connettivo e adiposo.

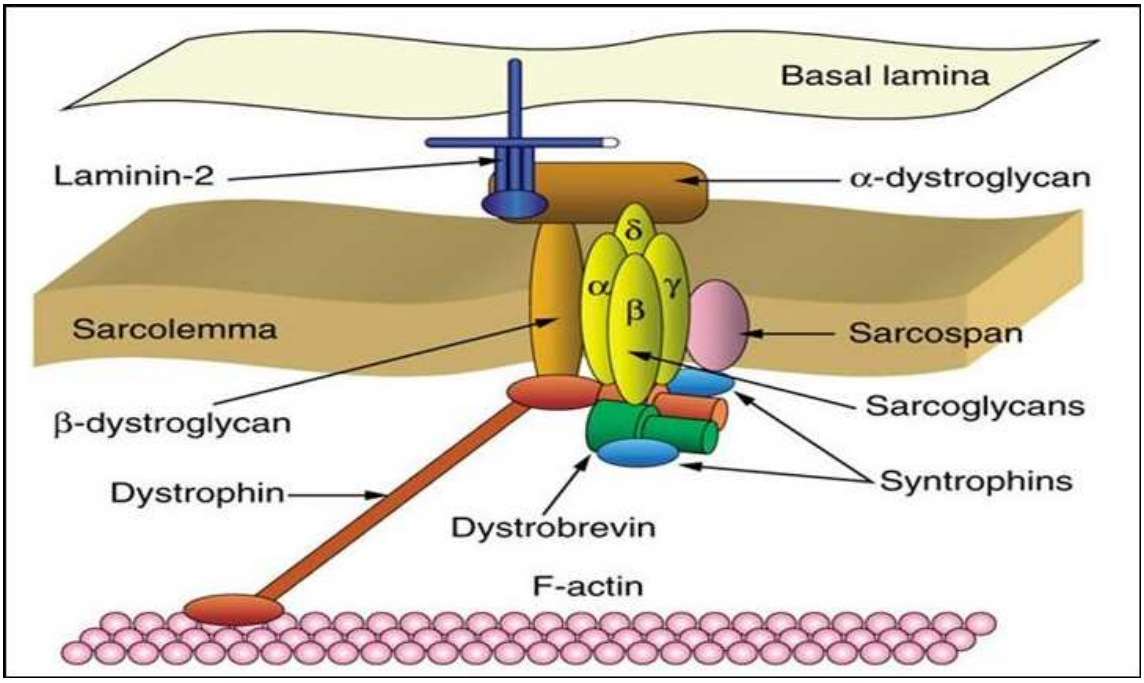


Figura 1.4: La distrofina interagisce con altre proteine integrali di membrana per formare il complesso distrofina-glicoproteine che forma un ponte attraverso la membrana e lega in maniera flessibile la lamina basale della matrice extracellulare con il citoscheletro interno della cellula muscolare. La funzione principale del complesso è quella di stabilizzare il sarcolemma e proteggere le fibre muscolari dal danno legato alla contrazione muscolare.

In questo studio approfondiremo una delle numerose tipologie di distrofia esistente, la distrofia muscolare di Becker:

- Distrofia Muscolare di Becker (BMD)
  È una malattia ereditaria con un quadro clinico simile alla distrofia di Duchenne; la grande differenza sta nel fatto che nei pazienti affetti da BMD la distrofina sintetizzata risulta alterata, mentre nei pazienti affetti da DMD la distrofina non viene sintetizzata affatto. Questo viene mostrato nella figura 1.5, in cui si evidenzia la differenza tra le due principali distrofie rispetto ad un soggetto sano.

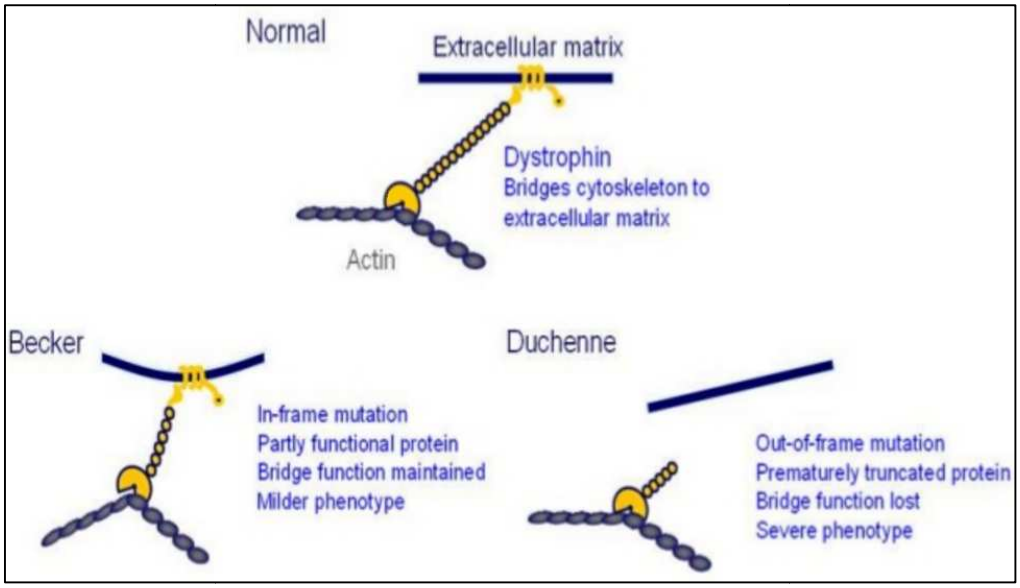


Figura 1.5: Differenza presente nelle diverse distrofie rispetto al soggetto sano (in alto). La distrofina nella BMD è mutata mantenendo parzialmente la propria funzione (in basso a sinistra), nella DMD la funzione è persa completamente (in basso a destra).

La BMD viene descritta per la prima volta nel 1955 dal medico tedesco Peter Emil Becker [16], di cui è mostrata una foto nella figura 1.6.

Figura 1.6: Peter Emil Becker

Come detto precedentemente, mentre nella DMD l'alterazione del gene sopra citato provoca la mancata produzione della distrofina, nella BMD la distrofina è presente ma risulta strutturalmente anormale. Nella figura seguente (figura 1.7) si

può osservare la differenza, appena accennata, tra le due distrofie di Duchenne e Becker.

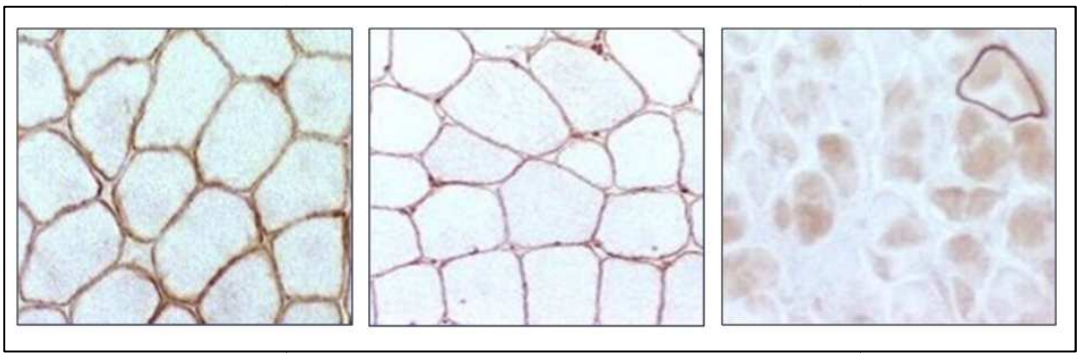


Figura 1.7: Esami istologici a confronto. Partendo da sinistra, soggetto sano, soggetto affetto da BMD e soggetto affetto da DMD. La distrofina è sempre meno evidente.

La BMD rappresenta la forma più mite tra le distrofinopatie, ha una frequenza di un terzo rispetto alla DMD colpendo da 3 a 6 soggetti maschi su 100.000. Le femmine sono colpite molto raramente, risultando come portatrici sane perché la malattia si eredita come carattere recessivo legato al cromosoma X. Avendo le donne due cromosomi X, pur in presenza della mutazione possiedono sull'altro cromosoma il gene che codifica per la sintesi corretta della distrofina. Sono riportati casi particolari in cui entrambi i genitori del paziente affetto da BMD sono risultati come non portatori dai test; questo indicherebbe che nel paziente si sia sviluppata una mutazione ex novo.
A differenza dei pazienti affetti da DMD costretti in carrozzina fin da prima degli 11 anni, quelli affetti da BMD a questa età sono ancora in grado di camminare. Nella maggior parte dei casi l'età di esordio è infatti tra i 5 e i 25 anni, con una maggior probabilità nella seconda decade. Quindi, nonostante i sintomi iniziali siano molto simili e anche le modalità di trasmissione ereditaria siano le stesse, le due malattie si distinguono per la diversa età in cui i sintomi si manifestano per la prima volta e nel modo in cui la malattia progredisce nel tempo; se superati i 12-13 anni il bambino è ancora in grado di camminare, è molto difficile che si tratti di DMD. Nel caso ci fossero dubbi si può valutare se nel muscolo vi sia una quantità, anche piccola, di distrofina, in tal caso non si tratterebbe di DMD.
Un'ulteriore particolarità è il fatto che, contrariamente a quanto avviene nella DMD, è frequente che i soggetti BMD, con una aspettativa di vita

significativamente maggiore, abbiano figli, sottolineando come la grande differenze tra le due distrofie sia anche evidenziata dalla diversa qualità della vita [17].
Rispetto alla DMD la progressione della malattia nella BMD è più variabile, passando da una hyperCKemia asintomatica ad un grande indebolimento dei muscoli che può causare la perdita della capacità di camminare nella tarda adolescenza [18].

Il coinvolgimento cardiaco è una caratteristica importante della malattia e l'infarto è la causa più comune di morte nei pazienti affetti da BMD, che comunque può avvenire anche nella quinta decade di età. [19][20][21].
Di rado la cardiomiopatia è il segno iniziale. Il coinvolgimento cardiaco si manifesta con una cardiomiopatia dilatativa (condizione patologica del cuore che è caratterizzata dalla dilatazione ventricolare e dalla compromissione della funzione sistolica e che, se non trattata, nel tempo può portare a scompenso cardiaco) che può essere di gravità non proporzionale al coinvolgimento dei muscoli scheletrici. L'esame clinico può rivelare pseudo-ipertrofia dei muscoli del polpaccio e atrofia di alcuni muscoli prossimali, come i quadricipiti. Si evidenzia una debolezza muscolare prossimale e simmetrica, più grave negli arti inferiori rispetto ai superiori. Possono presentarsi contratture articolari, in particolare nel tendine d'Achille. Non sono coinvolti i muscoli facciali, oculari e bulbari.
La BMD ha una progressione lenta e circa il 40% dei pazienti diventa alla fine dipendente dalla sedia a rotelle. Da non sottovalutare l'insorgere di debolezza nei muscoli intercostali e nel diaframma, che causa una insufficienza respiratoria di natura restrittiva.
La BMD è sospettata in base al quadro clinico, allo stato famigliare ed agli esami di laboratorio (aumento della creatinchinasi sierica 10-100 volte rispetto ai valori normali). La diagnosi viene confermata dalle biopsie muscolari (alterazioni e colorazione debole della distrofina) e/o dai test molecolari del gene DMD.
La diagnosi differenziale si pone con le distrofie muscolari dei cingoli, la distrofia muscolare di Duchenne, l'ipertermia maligna e le malattie metaboliche muscolari.
La diagnosi prenatale è possibile se è stata identificata l'anomalia genetica nei genitori.

È raccomandata la consulenza genetica: tutte le figlie di un maschio affetto sono portatrici e avranno il 50% di possibilità di avere figli maschi affetti.
La fisioterapia permette di ridurre le contratture articolari e di prolungare la capacità di deambulare. L'uso di ortesi caviglia-piedi nelle ore notturne è indicato nei bambini e permette di ridurre le contratture del tendine d'Achille.
È importante il monitoraggio cardiaco e respiratorio e, nei casi più gravi, il trapianto cardiaco potrebbe rivelarsi necessario. I pazienti con insufficienza respiratoria beneficiano di vaccini anti-pneumococco e anti-influenzali.
La BMD ha una progressione lenta e un'ampia variabilità fenotipica. Nonostante l'esordio infantile, la deambulazione indipendente è molto difficile che venga persa prima dei 16 anni.
L'aspettativa di vita può essere normale o significativamente ridotta dalla cardiomiopatia dilatativa o dall'insufficienza respiratoria.

1.2.2 Miopatie Infiammatorie

Le miopatie infiammatorie (miositi) sono caratterizzate da una infiammazione del muscolo che viene rilevata attraverso un esame istologico della biopsia muscolare. L'infiammazione può essere dovuta a cause note (malattie infettive) oppure le cause possono essere sconosciute ed in questo casa si parla di miopatia infiammatoria idiopatica (Idiopatic Inflammatory Myiositis, IIM). Le più frequenti forme idiopatiche sono la polimiosite (Polymyositis, PM), la dermatomiosite (Dermatomyositis, DM), e la miosite da corpi inclusi (Inclusion Body Myositis, IBM), che è quella su cui ci concentreremo in questo lavoro di tesi.
Nella figura 1.8 è mostrato come si presentano gli esami istologici di un muscolo sano, uno affetto da PM, uno da IBM e uno da DM.

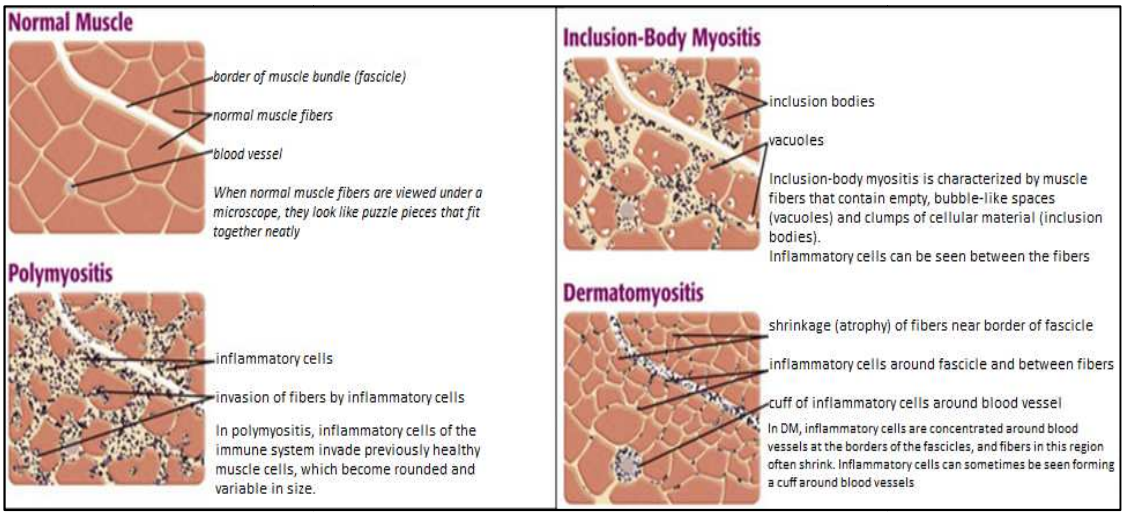


Figura 1.8: Immagini raffiguranti esami istologici di un muscolo sano (in alto a sinistra), di un muscolo affetto da PM (in basso a sinistra), di un muscolo affetto da IBM (in alto a destra) e di un muscolo affetto da DM (in basso a destra).

Nelle IIM c'è una alterazione del sistema immunitario, normalmente deputato a difendere l'organismo dagli attacchi esterni, che attacca erroneamente le cellule muscolari, danneggiandole e innescando così l'infiammazione. Il sintomo principale è una debolezza evidente soprattutto agli arti superiori ed inferiori che si sviluppa nell'arco di settimane o mesi. Possono essere colpiti anche i muscoli faringei legati alla deglutizione, con conseguente difficoltà ad ingoiare, ed i flessori del collo rendendo difficoltoso riuscire a sollevare la testa dal cuscino.
E' possibile l'insorgenza di disturbi dell'apparato respiratorio causati da una debolezza dei muscoli respiratori.
Nel tempo sono emersi diversi criteri per classificare le IIM [22]. Il criterio di Bohan e Peter del 1975 – ancora ampiamente usato - è stato il primo a suddividere le IIM in PM e DM [23]; in seguito nel 1991 ne viene proposto uno ulteriore da Dalakas [24].

Nessuno dei criteri sopracitati prende in considerazione la IBM: Griggs nel 1995 propone un criterio di classificazione che la comprende e che viene dunque usato come guida diagnostica [25]. A seguito del criterio proposto da Griggs, anche quello di Dalakas viene aggiornato tramite una rivisitazione nel 2003 in modo da tener conto della IBM [26].

Le IIM sono potenzialmente trattabili, rendendo le terapie tanto più efficaci quanto più tempestive sono le diagnosi.
Le IIM sono malattie rare e gli studi epidemiologici pubblicati a riguardo sono pochi; quello che si può dire è che, sia per le DM che per le PM, l'incidenza annuale è in aumento passando da 0.4 - 1.0 casi su 100.000 a 1.4 - 5.8 casi su 100.000 [22].
Questi studi escludono la IBM, ma questa è comunque considerata la più frequente miopatia acquisita dopo i 50 anni di età. [28].

- **Miosite da corpi inclusi**

  Il termine Miosite da corpi inclusi (IBM) è stato usato per la prima volta da Yunis e Samaha [29] per definire un caso di miopatia che fenotipicamente sembrava indicare una PM cronica ma che nella biopsia muscolare mostrava la presenza di vacuoli citoplasmatici ed inclusioni.

  La IBM si presenta tipicamente in pazienti che abbiano più di 40 anni e con il termine inclusione si intende la presenza di sostanze, organuli, cellule o tessuti anomali all'interno di una cellula o di un tessuto. Può essere embrionale - nel caso siano presenti cellule embrionali in un tessuto adulto - , citoplasmatica - in caso di corpuscoli di grandezza, aspetto e affinità tintoriali diverse che si osservano nel citoplasma cellulare in determinate malattie virali, come per esempio la rabbia, il vaiolo, il tracoma e alcune congiuntiviti che sono dette appunto da inclusione - , nucleare - quando sono presenti sostanze che si ritrovano all'interno dei nuclei cellulari in condizioni patologiche.

  Negli anni seguenti la IBM viene sempre più riconosciuta e documentata, soprattutto grazie ad una maggior consapevolezza riguardo tale condizione e ad uno sviluppo delle tecniche di analisi istologica.

  Nonostante i numerosi passi in avanti, le modalità con cui la malattia si manifesta sono comunque non totalmente definite; ciò che è certo è che tutti i casi evolvono in una sindrome caratterizzata da una debolezza diffusa, progressiva, asimmetrica, prossimale e distale, che sembra essere refrattaria ai trattamenti immuno-sopressivi in uso.

  La IBM ha un tasso di incidenza molto variabile, che dipende fattori geografici, etnici e correlati all'età. L'incidenza media varia tra 1:100000 e 1:14000, ma può triplicare se si considera solo la popolazione di età superiore a 50 anni. La

mancata diagnosi potrebbe spiegare l'alta variabilità etno-geografica. Il rapporto maschi:femmine è in media da 2 a 3:1. [30][31].

Rispetto alle altre IIM, ha la particolarità di coinvolgere sia la muscolatura prossimale che distale. L'indebolimento inizia nei muscoli flessori dell'avambraccio (flebo digitorum profundum e flebo pollicis longus) in due terzi dei pazienti. Anche i quadricipiti e i muscoli anteriori tibiali vengono colpiti presto e, a differenza della DM e della PM, è presente anche un leggero indebolimento facciale (fatta eccezione dei muscoli extraoculari). La disfagia può manifestarsi in circa il 66% dei pazienti nella fase avanzata della malattia e in alcuni casi può essere grave.

Il criterio di Griggs, precedentemente citato, riesce ad indirizzare molto meglio i clinici verso una diagnosi più accurata di questa patologia.

La biopsia muscolare è il metodo più validato per identificare la malattia ed è utile anche per differenziare le miopatie infiammatorie da alcune distrofie muscolari con caratteristiche cliniche simili. Per ottimizzare l'accuratezza diagnostica è prassi clinica analizzare nella biopsia un muscolo che abbia mostrato, nei risultati dei test valutativi, di non essere eccessivamente debole o forte.

L'Imaging di Risonanza Magnetica (MRI) può aiutare nell'identificazione dei muscoli in cui è presente degenerazione muscolare in pazienti affetti dalla patologia.

La diagnosi si basa sull'esame fisico (in particolare sul rilevamento della debolezza nei flessori delle dita tramite valutazioni funzionali). Ulteriori indizi diagnostici sono l'età del paziente e la durata dei sintomi oltre i 6 mesi. La biopsia muscolare permette di identificare cellule infiammatorie endomisiali, che circondando le miofibrille, e i vacuoli cerchiati, come è visibile dalla figura 1.9.

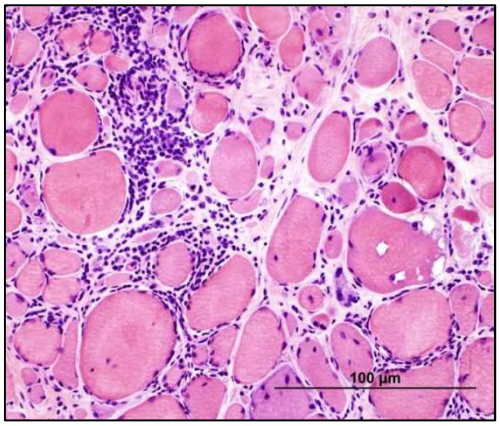


Figura 1.9: Immagine al microscopio di tessuto ottenuto tramite biopsia muscolare in un paziente affetto da IBM.

I risultati di laboratorio non sono specifici, in quanto la creatina chinasi nel siero è solo leggermente aumentata in alcuni casi. L'elettromiografia può essere d'aiuto confermando l'origine miopatica della debolezza e dell'atrofia. La risonanza magnetica contribuisce a delineare il pattern caratteristico del coinvolgimento muscolare. La diagnosi differenziale si pone con la PM e, nelle prime fasi della malattia, con l'artrite o con le altre malattie dei motoneuroni. Non è disponibile un trattamento per curare totalmente i pazienti che soffrono di IBM. Le terapie anti-infiammatorie o immuno-modulatorie solitamente sono inefficaci.
I trattamenti sintomatici comprendono gli esercizi fisici, l'ergoterapia, e l'uso di dispositivi ortotici. Dopo cinque anni, la maggior parte dei pazienti richiede ausili per la deambulazione e, dopo dieci, la sedia a rotelle. Non è stata osservata alcuna variazione dell'aspettativa media di vita [28].

1.3 Tecniche Avanzate di RM nello studio dei muscoli

L'MRI è uno strumento emergente per la valutazione delle malattie muscolari. È stato già usato in diversi studi come supporto in ambito diagnostico e farmacologico in diverse miopatie ed in particolare nella DMD [1][2][32][33][34].
Inoltre, ad oggi, si sta sempre più rafforzando la convinzione che le tecniche di MRI quantitativa riescano a rilevare la progressione delle miopatie in modo molto più sensibile di quanto riescano a fare le misure della funzionalità muscolare e l'MRI convenzionale.
In letteratura si fa un ampio uso del tempo di rilassamento trasversale (T2) perché si è

scoperto essere sensibile a molte caratteristiche fisiopatologiche delle miopatie [35][2][36] - in particolare nella DMD - tra cui:

- il danno muscolare
- l'infiammazione
- l'infiltrazione di grasso

In questo modo la rilassometria T2 offre un metodo potenziale per il monitoraggio della patologia in un'ampia gamma di età [1]. In figura 1.10 un esempio di immagine di rilassometria T2 delle cosce di un soggetto affetto da miopatia.

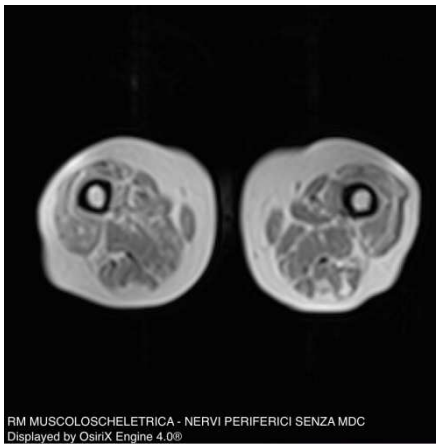


Figura 1.10: Immagine di RM pesata in T2 delle cosce di un soggetto sano.

Un altro parametro molto usato in letteratura è la Fat Fraction (definita come il rapporto tra il volume di grasso infiltrato nel muscolo e la somma tra il volume di grasso stesso e quello di acqua nella porzione analizzata), misurata tipicamente usando la spettroscopia protonica di risonanza magnetica standard e recentemente anche attraverso la tecnica di imaging Dixon a 2 punti/ 3 punti. [37][38]. Questo indice si è rilevato essere associato alla progressione della malattia e alla performance dei pazienti nei test funzionali,[36][39].
In figura 1.11 un esempio di immagine di Dixon delle cosce di un soggetto sano.

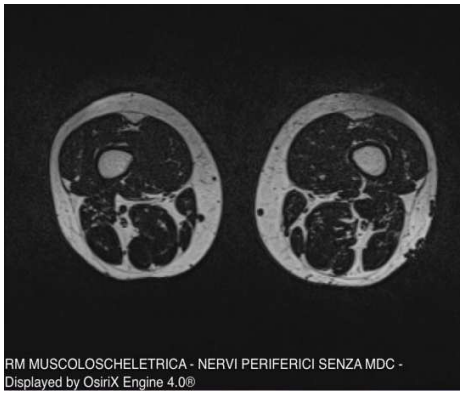


Figura 1.11: Immagine di RM-Dixon delle cosce di un soggetto sano.

Non c'è ancora un consenso unanime su quale protocollo di MRI debba essere usato nelle varie malattie muscolari ed anche all'interno della stessa miopatia. Anche il Diffusion Tensor Imaging (DTI) sembrerebbe promettente e finora tale tecnica è stata utilizzata per ottenere informazioni sulla struttura del muscolo e sui suoi cambiamenti funzionali (è noto che tramite DTI è possibile visualizzare gli strappi muscolari).[40].

Più recenti sono gli studi per valutare le potenzialità del DTI come marker della gravità della malattia in alcune miopatie, in particolare nella DMD.[4].

In figura 1.12 è mostrato un esempio di mappa di anisotropia frazionaria (Fractional Anysotropy FA) delle cosce di un soggetto sano.

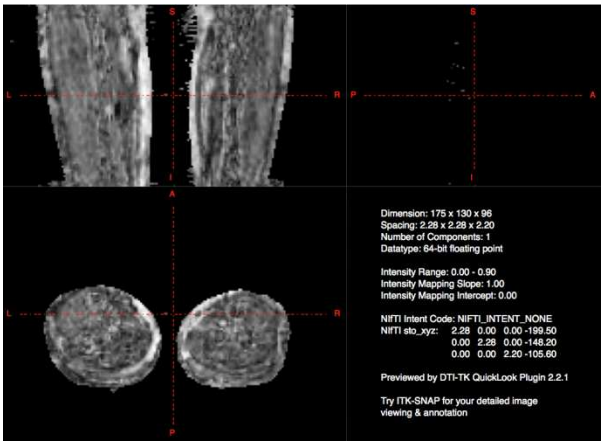


Figura 1.12: Mappa di FA delle cosce di un soggetto sano ricavata da immagini di diffusione.

MRI nella distrofia di Becker e nella IBM

La maggior parte degli studi di MRI muscolare sulle distrofinopatie si concentrano sulla DMD; pochi dati si hanno invece sulla BMD. Fino ad ora per misurare la progressione della BMD erano disponibili soltanto dati proveniente dalla MRI convenzionale, ottenuti usando scale di valutazione visive [41]. Pochi studi anche sulla MRI muscolare in pazienti IBM sono stati condotti: alcuni hanno cercato di esaminare il coinvolgimento di specifici muscoli nella patologia mentre altri si sono indirizzati verso una conferma della validità delle misure di risonanza magnetica [2][42].

Partendo da questi presupposti, in questo studio è stata condotta un'analisi tramite rilassometria T2, tramite tecnica Dixon per l'infiltrazione lipidica e tramite tecnica DTI; quest'ultima non è mai stata considerata negli studi precedenti riguardo la BMD e la IBM e si ipotizza possa fornire informazioni aggiuntive sul danneggiamento dell'architettura del tessuto muscolare.

2. TECNICHE AVANZATE DI RM

L'imaging di risonanza magnetica (MRI) ha un enorme potenzialità nel fornire misure oggettive nella valutazione dello stato di salute del muscolo permettendo la rilevazione delle principali caratteristiche istologiche associate al danno muscolare (atrofia muscolare, contorni irregolari, infiltrazioni di grasso, edema e fibrosi). Questo è particolarmente utile nell'analisi della DMD.

L'imaging di RM convenzionale si focalizza sulla valutazione qualitativa dell'infiltrazione del grasso e dell'edema muscolare usando rispettivamente tecniche T1 e STIR (Short-T1 Inversion Recovery) [27]; le tecniche di MRI quantitativa (spettroscopia RM, Rilassometria RM, Dixon) hanno mostrato invece una certa affidabilità nella stima dell'infiltrazione del grasso in patologie muscolari, compresa la DMD [43]. Numerose ricerche stanno inoltre concludendo che la tecnica DTI possa essere usata anche per valutare le strutture muscolari alterate. Il DTI si basa sul principio di diffusione anisotropa dell'acqua ed essendo l'anisotropia una caratteristica delle fibre muscolari, le misure di DTI potrebbero servire come misure surrogate della struttura e della architettura muscolare [44] [45]

2.1 MR Dixon: Misura dell'infiltrazione lipidica

2.1.1 Fenomeni di fasamento e sfasamento

I protoni di acqua e grasso hanno frequenze di risonanza leggermente diverse. La loro differenza viene indicata con Δf e, come conseguenza di tale differenza, gli spin si verranno a trovare in fase e in opposizione di fase l'uno con l'altro in funzione del tempo. Il periodo di questo ciclo di fase è $1/\Delta f$. A 1.5 T questo periodo vale $\frac{1}{220Hz} = 4.5\ msec$. In figura 2.1 viene mostrato come ad ogni ciclo i protoni di acqua e grasso si trovino a processare necessariamente una volta "in fase" e una volta in "opposizione di fase"; a 1.5 T questo avviene approssimativamente ogni $2.2\ msec$.

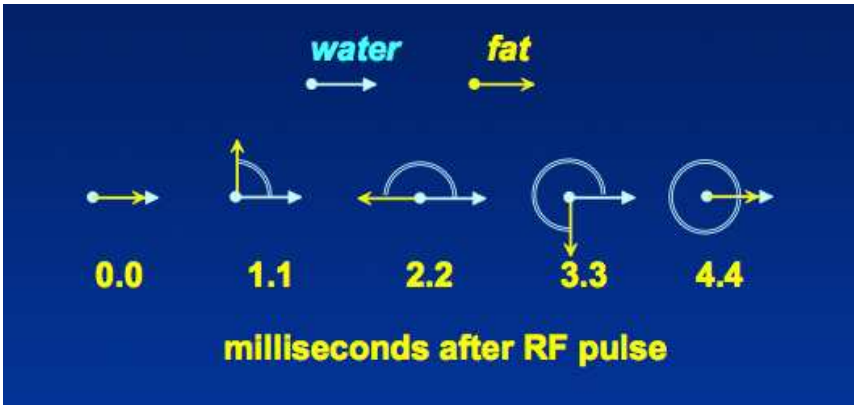


Figura 2.1: Ciclo di fase tra grasso ed acqua ad 1.5T.

Per questo motivo, le immagini gradient echo (GRE) ottenute a 1.5 T a $TE = 2.2, 6.6, 11\ msec$, sono chiamate "Out-Of-Phase" (OOP); quelle ottenute a $TE = 4.4, 8.8\ msec$.. sono dette "In-phase" (IP).

A fine degli anni ottanta, si iniziò a realizzare che l'effetto di annullamento di fase sarebbe potuto essere utile per identificare e quantificare il contenuto di grasso nei tessuti. La tecnica consiste nell'ottenere una coppia di immagini GRE allo stesso Tempo di Ripetizione (Repetition Time, TR) ma con due diversi TE, uno coincidente con la condizione IP e il secondo coincidente con la condizione OOP. L'osservazione della perdita di intensità del segnale nelle immagini OOP in confronto con le immagini IP consente di effettuare una valutazione qualitativa della presenza di grasso nel tessuto, anche se si sta trattando di piccole quantità [46].

Nel 1984 Dixon propone un metodo di imaging basato sul chemical shift, sfruttando le due sopra citate condizioni di fase. Come detto precedentemente, l'approccio più semplice usa solo due immagini (2-point Dixon) [47] e l'assunzione di base è che ci siano soltanto due componenti nell'immagine generica: acqua e grasso. Nella tecnica originale si acquisiscono due set di immagini spin-echo con TE leggermente diversi in un unico tempo di ripetizione TR: il primo con acqua e grasso in fase al centro dell'eco, il secondo con un TE aggiustato di pochi millisecondi in modo che i segnali di acqua e grasso siano in opposizione di fase. L'intuizione di Dixon è stata che le immagini in fase e fuori fase potessero essere combinate in modo da creare immagini di solo grasso e sola acqua ("Fat Suppressed") [48][49]. Se indichiamo con inP l'intensità del segnale dei pixel dell'immagine in fase e con outP l'intensità del segnale dei pixel dell'immagine in opposizione di fase, avremo per definizione:

$$inP = W + F$$

$$outP = W - F \qquad 2.1$$

Dove W ed F sono rispettivamente i contributi di acqua e grasso al segnale.
Mediando la somma e la differenza dei dati provenienti da ogni punto si possono ricostruire immagini di “acqua pura” (W di seguito) e “grasso puro” (F di seguito):

$$\frac{1}{2}[inP + outP] = \frac{1}{2}[(W + F) + (W - F)] = W$$

$$\frac{1}{2}[inP - outP] = \frac{1}{2}[(W + F) - (W - F)] = F \qquad 2.2$$

Il metodo 2-point Dixon richiede un B_0 perfettamente omogeneo. Durante gli anni novanta, proprio per questo, vengono proposti diversi sviluppi della tecnica di Dixon, tra i quali:

- Metodo 3-point Dixon [50]
- Modulazione dell’ampiezza degli echo
- Alternanza di fase RF
- Codifica diretta di fase

Nel 2000, con i magneti moderni e le tecniche di shimming, le misure ottenute tramite la tecnica Dixon e gli algoritmi ad essa correlati hanno mostrato significativi miglioramenti, rendendo le sequenze Dixon sempre più considerate in ambito clinico e riducendo così la differenza tra il metodo a 2 punti e metodo a 3 punti. Tutte le sequenze Dixon attualmente in uso producono quattro set di immagini: water only, fat only, IP e OOP. Un esempio di questo set di immagini è mostrato nell’immagine 2.2.

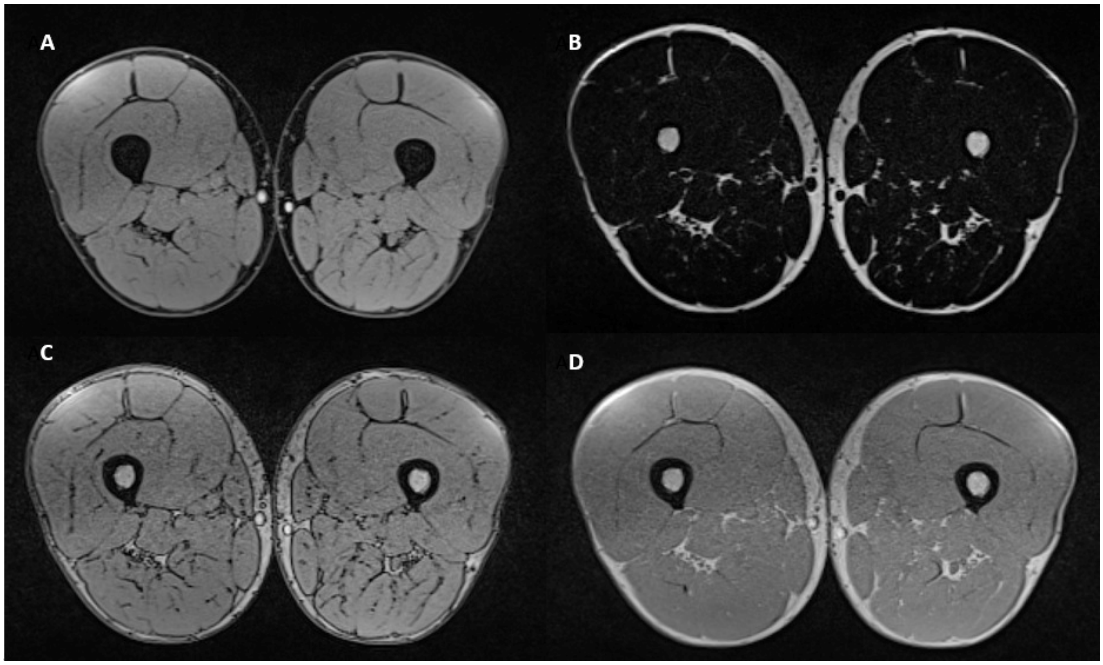


Figura 2.2: Un esempio di immagini (A) selettive all'acqua, (B) selettive al grasso, (C) in opposizione di fase e (D) in fase della coscia di un soggetto sano. Il vantaggio della tecnica Dixon è che si possono ottenere differenti contrasti nell'immagine con una singola scannerizzazione: immagini selettive all'acqua, selettive al grasso, in fase e in opposizione di fase.

Le immagini di solo grasso offrono un potenziale per la quantificazione del volume del grasso stesso. Sebbene migliori delle sequenze CHESS(CHEmical shift Spectral Saturation)/Fat-Sat, i metodi Dixon moderni hanno ancora i loro limiti, in particolar modo in alcune aree molto disomogenee come il collo. Un particolare artefatto, detto "fat-water swap" (scambio grasso e acqua), si verifica occasionalmente: dove i calcoli matematici convergono alla sostanza sbagliata, viene prodotta una immagine di solo grasso quando invece dovrebbe essere di solo acqua [47][50].

2.1.2 Sequenza Dixon: stima dei tempi di echo

La Dixon è una sequenza di tipo GRE (Gradient Echo) che prevede l'acquisizione dello stesso volume anatomico a Tempi di Echo differenti. Come precedentemente descritto, combinazioni lineari dei volumi acquisiti producono volumi selettivi all'acqua e/o al grasso. L'approccio più semplice è quello che utilizza due volumi e l'ipotesi di partenza è che ci siano solo due componenti nell'immagine, acqua e grasso, come mostrato in figura 2.3 [47].

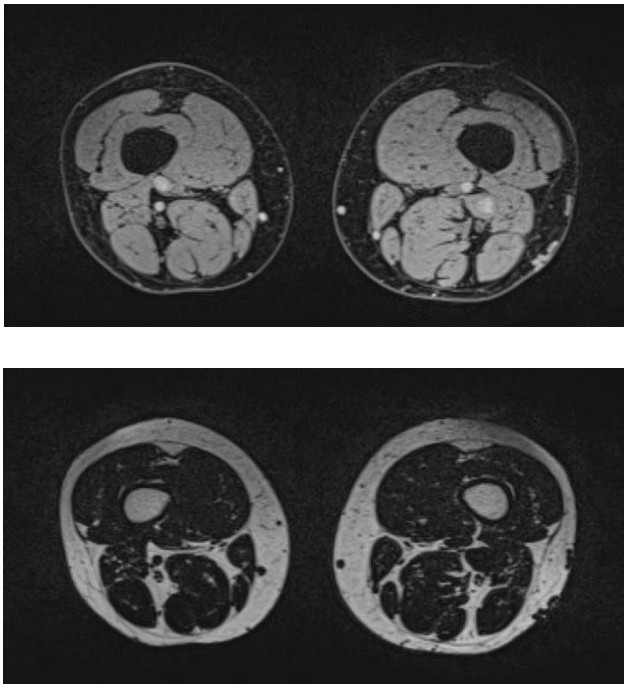


Figura 2.3: Ricostruzioni two-point Dixon ,tramite dati gradient echo acquisiti con sistema a 1.5T, di entrambe le gambe di un controllo. Sopra, immagine Dixon selettiva all'acqua, sotto selettiva al grasso.

Come descitto in precedenza, la sequenza Dixon si basa sulla differenza tra le frequenze di precessione degli spin dell'acqua e grasso a partità di campo magnetico applicato. All'interno del voxel il segnale sarà quindi determinato da due contributi, uno imputabile al grasso e uno all'acqua, e i loro valori saranno proporzionali al contenuto degli elementi di riferimento nel volume. Se il voxel contiene solo acqua o grasso il suo segnale complessivo per le due acquisizioni sarà lo stesso, perché il segnale da una delle due componenti sarà zero. Al contrario, un voxel contenente sia acqua che grasso avrà diversi segnali dalle due acquisizioni. Per comprendere bene le immagini ottenute con la tecnica Dixon potrebbe essere utile sfruttare il modello utilizzato per rappresentare il segnale acquisito.
Il segnale viene espresso genericamente come:

$$S(TE) = (W + Fe^{i2\pi\Delta fTE}) \qquad 2.3$$

W ed F in generale sono numeri reali e non negativi, rappresentanti le ampiezze delle magnetizzazioni in un certo pixel per acqua e grasso rispettivamente; TE è il tempo di

eco; con Δf indichiamo la differenza di frequenza tra gli spin di acqua (frequenza di Larmour dell'acqua a 1.5T presa come riferimento, $f_L = 63.86\ MHz$) e grasso.
Dunque:

- W = ampiezza della magnetizzazione risultante dal grasso
- F = ampiezza della magnetizzazione risultante dall'acqua
- TE = tempo di eco [msec]

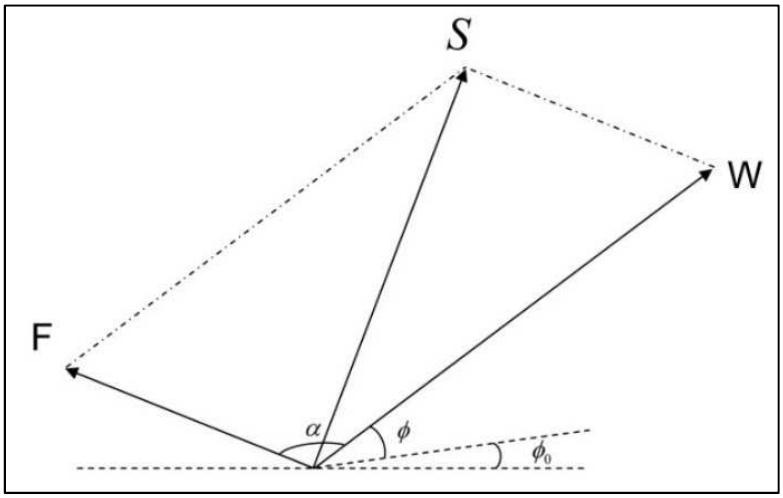


Figura 2.4: Rappresentazione vettoriale del segnale complesso S - espresso dall'equazione [2.1] – per un determinato pixel. Vengono rappresentate le due componenti spettrali relative all'acqua (W: water) e al grasso (F: fat). α è l'angolo di fase della componente F rispetto alla componente W dovuto alla differenza per chemical shift; ϕ è l'errore di fase dovuto alle disomogeneità di campo magnetico mentre ϕ_0 esprime un errore di fase dovuto ad altre imperfezioni di sistema.

La figura 2.4 qui sopra illustra graficamente la relazione vettoriale tra le varie quantità della equazione 2.3. In particolare α rappresenta l'angolo di fase del grasso relativo a quello dell'acqua, dovuto alle loro differenze di chemical shift; Φ rappresenta l'errore di fase dovuto alle inomogeneità di campo magnetico e ϕ_0 un altro errore di fase dovuto ad altre imperfezioni del sistema (come la dipendenza spaziale della penetrazione di RF e i ritardi temporali del segnale nella catena ricevente).
Indichiamo con teta (θ) lo sfasamento tra gli spin di grasso e acqua:

$$\theta = 2\pi\Delta f TE \qquad 2.4$$

Acqua e grasso sono in fase quando $\theta = 2k\pi$ e sono sfasati quando θ = kπ, con k=0,1,2…

Oltre al defasamento dovuto alle diverse frequenze di precessione si deve considerare anche il defasamento dovuto alle inomogeneità di campo (ΔB_0) e le differenze dovute ad imperfezioni del sistema (θ_0).

Quindi il segnale diventa:

$$S(TE) = \left(W + Fe^{i2\pi\Delta fTE} \right) e^{i2\pi\Delta B_0 TE} e^{\theta_0} \qquad 2.5$$

Siccome la frequenza di precessione del grasso può essere calcolata come $\omega = \gamma B_0(\delta_F - \delta_W)$ e il chemical shift del grasso è $(\delta_F - \delta_W) = 3.35\ ppm$, a 1.5T la differenza di frequenza sarà:

$$\Delta f = 1.5T\ \frac{42.57\ MHz}{T}\ 3.35\ ppm \approx 220MHz \qquad 2.6$$

(42.57 MHz è la frequenza dell'acqua a 1T. Moltiplicandola per 1.5T ottengo la frequenza dell'acqua a 1.5T, cioè 63.86 MHz).

Gli spin saranno in fase quando

$$\theta = 2\pi\Delta fTE = 2\pi k \qquad 2.7$$

$$TE_k = \frac{k}{\Delta f} = \frac{k}{220} \qquad 2.8$$

Mentre saranno fuori-fase quando

$$\theta = 2\pi\Delta fTE = \pi k + \pi = \pi(1 + k) \qquad 2.9$$

$$TE_k = \frac{k}{2\Delta f} = \frac{k}{440} \qquad 2.10$$

Alla fine (scartando i valori a k=0 per non avere $TE_i = 0$ e prendendo ad esempio k=1) si ha:

$$TE_{i(1)} = \frac{1}{220}\ mesc = 4.4\ msec$$

$$TE_{o(1)} = \frac{1}{440} msec = 2.2 mesc \qquad 2.11$$

Quindi nel caso generale:

$$TE_i = \frac{k}{220} msec = (4.4\ \cdot k) msec$$

$$TE_o = \frac{k}{440} msec = \big(2.2\ \cdot (1+k)\big) msec \text{ con } k = 1,3,5,\ldots \qquad 2.12$$

Tipici tempi a 1.5T perciò saranno TE_i = 4.4, 8.8, 13.2, … nel caso “in fase” e TE_o = 2.2, 6.6, 11, … nel caso “in opposizione di fase”.

Calcolando la somma dei moduli dei segnali quando gli spin sono in fase e fuori fase:

$S_i = (W + F)\ e^{i2\pi\Delta B_0 TE} e^{\theta_0} \quad \rightarrow \quad |S_i| = |W| + |F|$ condizione “In Phase”

2.13

$S_o = (W - F)\ e^{i2\pi\Delta B_0 TE} e^{\theta_0} \quad \rightarrow \quad |S_o| = |W| - |F|$ condizione “Out of Phase”

Quindi, avendo 2 volumi in fase e fuori-fase, si possono ricavare grasso e acqua:

$$|W| = \frac{|S_i| + |S_o|}{2}$$

$$|F| = \frac{|S_i| - |S_o|}{2} \qquad 2.14$$

Questo è il principio di funzionamento della 2-point Dixon.

2.1.3 Quantificazione dell’infiltrazione lipidica: Fat Fraction

Solitamente negli studi MRI sulle degenerazioni muscolari si utilizza la spettroscopia protonica di risonanza magnetica (Proton Magnetic Resonance Spectroscopy,H-MRS)

per rilevare la frazione di grasso nel muscolo (Fat Fraction, FF) [1]. La FF può essere quantificata anche mediante le sequenze di tipo Dixon. Partendo dalle immagini di sola acqua e solo grasso generate dalla sequenza Dixon, si può determinare pixel a pixel il valore quantitativo della proporzione di grasso, calcolata come il rapporto tra l'intensità del segnale di solo grasso e la somma delle intensità dei segnali di acqua e grasso:

$$FF = \frac{F}{F + W}$$

In questo modo i valori di FF possono essere rappresentati come una mappa con la possibilità di analizzare l'intero volume o una specifica ROI.
In figura 2.5 è mostrato come si presenta una mappa FF.

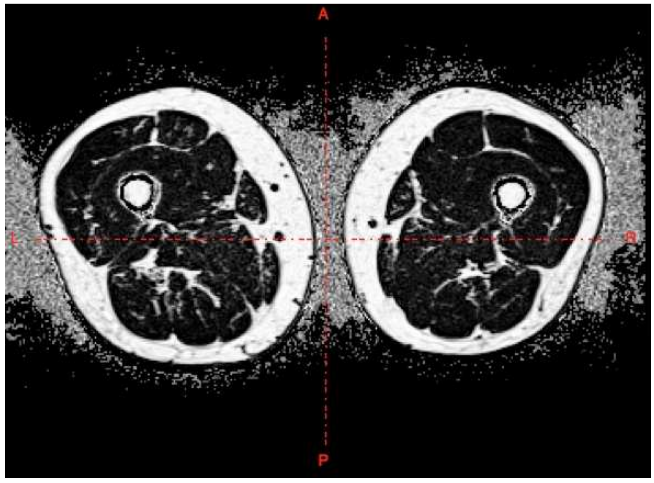


Figura 2.5: Mappa FF ottenuta da immagini Dixon-water e Dixon-fat - acquisite dalle cosce di un soggetto sano con uno scanner da 1.5T

La misura di FF muscolare usando la tecnica Dixon è non invasiva, oggettiva e riproducibile.
Gaeta et al. in uno studio del 2012 arrivano alla conclusione che i valori di FF muscolare acquisiti con le immagini di RM-Dixon sono ben correlate con i risultati istopatologici in pazienti con disordini neuromuscolari [51]. Altri studi mostrano come i valori di FF ottenuti con questa tecnica siano accurati nel valutare la gravità della malattia in pazienti con la DMD e siano correlati con l'istologia muscolare [37][52].

Conclusione comune è che le misure quantitative di FF ottenute con le immagini di RM-Dixon possano essere degli utili biomarker nel quantificare l'infiltrazione lipidica per predire la progressione della malattia e l'efficienza della risposta terapeutica.
Un esempio di misura della quantità di grasso nel volume muscolare in analisi tramite la 2-point RM-Dixon è riportato dallo studio di Fischer et al. del 2014, confrontando tale tecnica con i risultati ottenuti tramite la MRS convenzionale e la valutazione visiva del Muscle Fat Content (MFC). Tale studio riporta una eccellente correlazione della FF Dixon con la FF MRS concludendo che la 2-point RM-Dixon garantisce una accurata quantificazione del contenuto di grasso nel muscolo [53]. In figura 2.6 viene evidenziata tale correlazione.

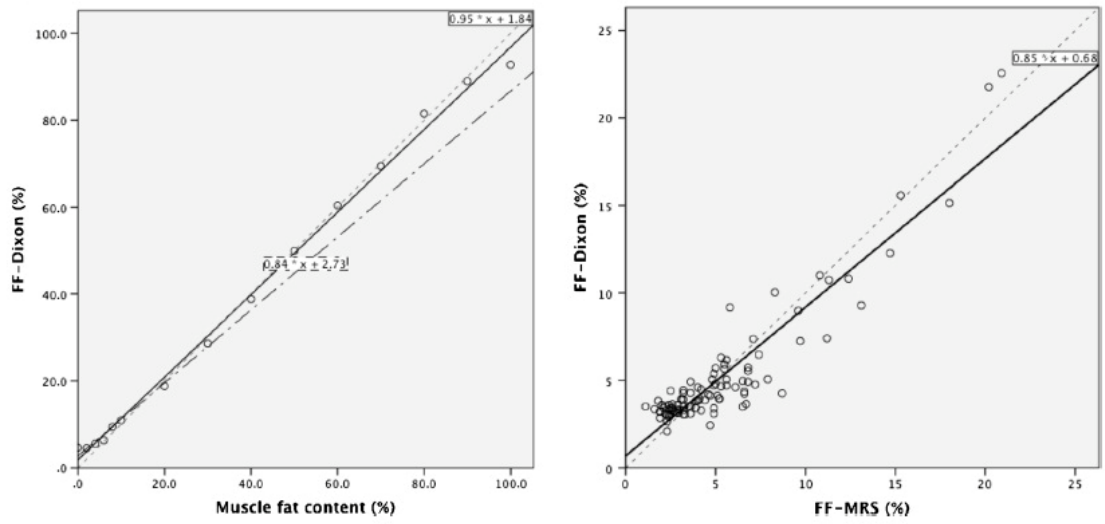


Figura 2.6: Correlazione del parametron Fat Fraction - derivato da immagine 2-point Dixon tramite MRI gradient echo (FF_{DIXON}) – con il contenuto di grasso conosciuto (Muscle Fat Content, MSC) dei fantocci (a) e con il MFC degli studi *in vivo* (b) derivati dalla spettroscopia di risonanza magnetica (Magnetic Resonance Spectroscopy, MRS) (FF_{MRS}). I dati sono visualizzati tramite grafici a punti con linee di regressione lineare (linee continue) e con linee di riferimento corrispondenti (linee punto a punto).

La tecnica Dixon a due punti offre molti vantaggi rispetto alla MRS, tra cui una copertura volumetrica dell'anatomia muscolare completa e molto veloce con la possibilità di attuare un numero molto maggiore di elaborazioni post processing (voxel analyses, ROI analyses, …).

2.2 Rilassometria T2: stima del tempo di rilassamento T2

Il rilassamento T2 è il processo mediante il quale le componenti trasversali della magnetizzazione (M_{xy}) decadono o sfasano. Il rilassamento trasversale segue una cinetica del primo ordine [54] risultando in un semplice decadimento esponenziale con costante di tempo T2, come si può osservare nell'equazione 2.15:

$$M_x(t) = M_0 e^{-t/T_2} \sin(\omega t)$$

$$M_y(t) = M_0 e^{-t/T_2} \cos(\omega t) \qquad 2.15$$

Ricordiamo dunque che T2 è il tempo richiesto perché la magnetizzazione trasversale decada fino a circa il 37% (1/e) del suo valore iniziale.
Il capovolgimento di *M* sul piano trasversale implica necessariamente che ci sia un orientamento condiviso dalla maggior parte degli spin, ovvero che siano in fase. Quello che succede realmente è che gli spin prima dell'impulso RF mostrano una preferenza statistica per la direzione z, mentre dopo l'impulso vengono portati sul piano trasversale. L'ordinamento iniziale degli spin (distribuzione di Boltzman) nella direzione z, viene preservato e poi trasformato con la rotazione in quella che viene chiamata "coerenza di fase" nel piano xy. Questo coincide, come è illustrato in figura 2.6, nella conversione del valore iniziale (prima dell'impulso a RF) di M nella direzione z (M_z) in una magnetizzazione trasversale netta M_{xy} (dopo l'impulso), come si può vedere dal diagramma qui sotto

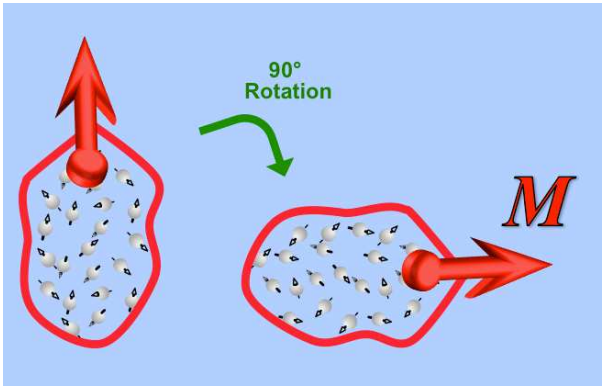


Figura 2.7: Coerenza di fase nel piano xy dopo l'impulso a radiofrequenza.

Una volta ribaltate sul piano xy e terminato l'impulso RF, il comportamento delle componenti trasversali degli spin è riassunto dal moto di precessione alla frequenza di Larmor del vettore somma trasversale (M_{xy}) che ne descrive il decadimento. Il concetto di decadimento è strettamente legato a quello di sfasamento degli spin, come illustrato nell'immagine 2.7.

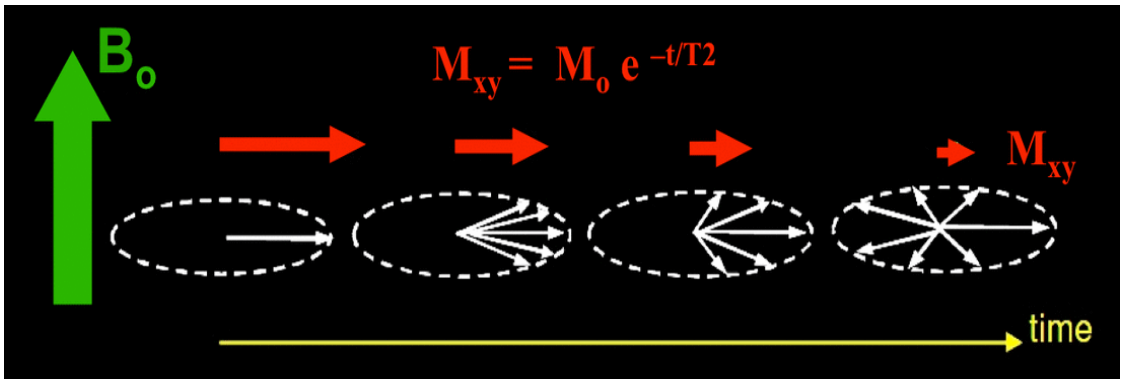


Figura 2.8: Decadimento della componente trasversale della magnetizzazione descritto come sfasamento degli spin nel piano xy nel tempo.

La figura 2.16 aiuta a capre come il decadimento della M_{xy} e la conseguente ricrescita dell'intensità di M_z portino ad ottenere una corrente indotta nelle bobine riceventi; tale decadimento è l'unico responsabile della generazione del segnale RM, meglio conosciuto come "Free Induction Decay" (FID).

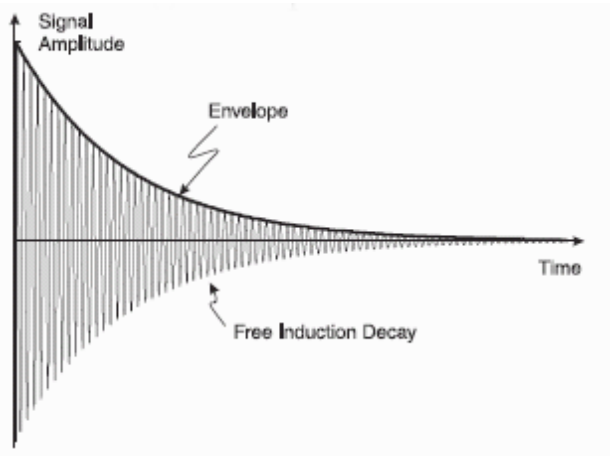


Figura 2.9: Decadimento nel tempo del vettore M_{xy} e conseguente generazione del segnale FID.

È importante sottolineare che qualsiasi fenomeno causi un rilassamento T1 genererà necessariamente anche un rilassamento T2, ma ci sono fenomeni che portano unicamente alla generazione di quest'ultimo, come ad esempio [54]:

- sfasamento causato dal disturbo di un campo magnetico statico locale
- gli scambi "flip-flop" tra spin (una coppia di spin si scambia le componenti dei propri momenti angolari longitudinali, generando unicamente un rilassamento T2).

La mappatura del tempo di rilassamento T2, detta brevemente T2 mapping, è uno strumento utile in ambito clinico e il suo impiego è ampio nella valutazione della cartilagine articolare [55][56].
Il T2 può essere affetto da molti fattori:

- I cambiamenti fisiologici dell'ambiente macromolecolare dei muscoli scheletrici, alterando i legami dell'acqua con le molecole vicine [55].
- Specifiche malattie dei muscoli scheletrici come infiammazioni/edemi ed infiltrazioni di grasso.
- Intensità del campo magnetico (il T2 è maggiore se misurato con campi magnetici meno intensi rispetto a quando è misurato con campi magnetici più intensi) [57]

Una mappa T2 è generata campionando TE multipli e plottando il TE in funzione del logaritmo naturale dell'intensità del segnale, come mostrato in figura 2.9.

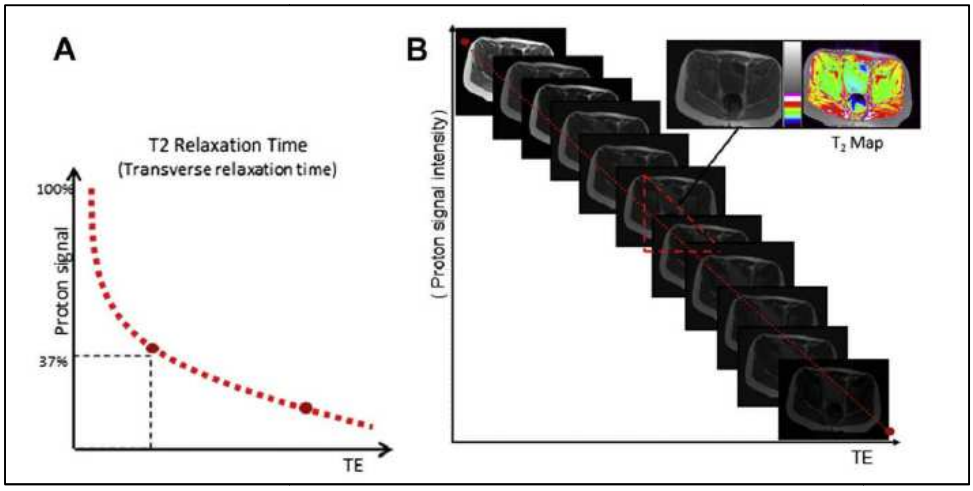


Figura 2.10: Definizione del tempo di rilassamento T2 e generazione della mappa T2. (A) Il tempo di rilassamento T2 è il tempo necessario affinché il segnale riacquisisca il 37% (1/e) del suo valore iniziale dopo il ribaltamento della componente longitudinale sul piano magnetico trasversale. (B) Generazione della mappa T2. La mappa T2 è generata attraverso il campionamento di tempi di echo multipli usando sequenze multiecho e tracciando i TE *vs* il logaritmo naturale dell'intensità del segnale. Il tempo di rilassamento T2 è calcolato usando l'algoritmo di fitting basato sullo scarto ai minimi quadrati. La mappa a scala di grigi è convertita ad una mappa basata su codice cromatico: ogni colore rappresenta un range differente del tempo di rilassamento T2.

Il T2 è calcolato usando un algoritmo di fitting ai minimi quadrati (least square curve fitting algorithm).

Le mappe di T2 possono essere usate per quantificare edemi muscolari ed infiammazioni in molti disordini dei muscoli scheletrici che affliggono anche i bambini.

Le miopatie pediatriche più comuni sono legate a distrofie muscolari ereditarie e malattie autoimmuni non ereditarie. La dermatomiosite giovanile (Juvenile Dermatomyositis, JDM) è una delle più comuni miositi idiopatiche ed è stata presa in considerazione in molti studi legati al T2. Mainard e colleghi nel 2004 [58], descrivono un aumento significativo del T2 nei muscoli di bambini che si trovano in uno stato attivo della malattia in confronto a bambini sani e bambini che si trovano in uno stato inattivo della patologia.

Le mappe di T2 possono essere usate anche per quantificare l'infiltrazione di grasso (FF) in bimbi con vari tipologie di distrofie muscolari. Prendendo in considerazione la DMD, ad esempio, l'imaging di RM può mostrare la sostituzione graduale e simmetrica di certi gruppi muscolari con grasso. Alcuni studi hanno descritto la mappatura T2 in bambini con la DMD, mostrando un aumento del T2 conseguente alla infiltrazione di grasso [55][59].

Il T2 quindi sembra avere una buona correlazione con il livello di infiltrazione del grasso, valutato qualitativamente con le immagini T1 pesate di RM e con le scale di valutazione funzionale cliniche sui pazienti DMD [14]. Le mappe T2 possono essere usate anche per quantificare la piccola quantità di grasso fisiologico nei muscoli di soggetti sani e permettere di distinguere completamente i ragazzi con DMD dai ragazzi sani anche quando le differenze nell'infiltrazione del grasso non sono facilmente apprezzabili nelle immagini T1 pesate [60].

In figura 2.10 è mostrato un esempio di mappa T2 dei polpacci di un soggetto sano.

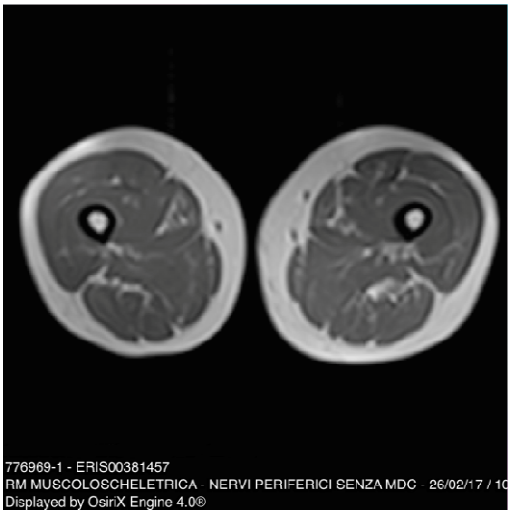


Figura 2.11: Immagine di una mappa T2 dei polpacci di un soggetto sano.

L'acquisizione delle immagini T2 pesate - da cui poi estrapolare le corrispondenti mappe T2 - senza e con le tecniche di soppressione del grasso, consente la distinzione tra infiltrazioni di grasso derivanti da edemi e/o infiammazioni in bambini con la DMD [35]. L'applicazione di questo metodo di RM quantitativo e oggettivo può essere esteso ad uno studio prolungato nel tempo per determinare la risposta a trattamenti applicati a pazienti affetti da malattie muscolari [55]. Il tempo T2 può essere affetto anche dalla attività muscolare. La contrazione muscolare, infatti, richiede consumo di energia e produce come sottoprodotti osmoliti, come sodio, fosfato e lattato. L'aumento della osmolarità (misura della concentrazione di una soluzione) causa un flusso di acqua nel muscolo che a sua volta risulta in un aumento dell'acqua intracellulare. Questo aumento del contenuto di acqua causa un aumento del T2 [61]. Perciò, quando si usano le mappe T2, è importante

che il soggetto non sottoponga ad eccessiva ambulazione ed esercizio i muscoli in analisi nelle dodici ore precedenti la risonanza [62].
Le mappe T2, infine, hanno un grande potenziale nel dimostrare il coinvolgimento non uniforme di muscoli in un gran numero di stati patologici, sottolineando l'eventuale sviluppo asimmetrico della malattia.

2.3 Diffusion Tensor Imaging: valutazione del danno muscolare

Le immagini ottenute dalla RM pesate in diffusione (DWI) si basano sul concetto di diffusione delle molecole legata alla loro energia termica intrinseca e, dunque, al loro moto Browniano, permettendo di studiare il tessuto in considerazione anche a livello sub-cellulare, nello specifico, grazie all'analisi dei movimenti casuali delle molecole d'acqua nei tessuti biologici. Tali immagini, in grado di dare informazioni sulla microstruttura tissutale, sono usate in maniera complementare alle tecniche di imaging convenzionali, così da fornire un quadro clinico più generale e preciso. L'immagine di RM pesata in diffusione sostanzialmente sfrutta le molecole d'acqua nel tessuto come mezzo di contrasto per sondare la struttura tissutale.

Per misurare la diffusione dell'acqua nel tessuto biologico in una direzione preferenziale si applica un gradiente di campo magnetico statico diretto lungo la direzione in esame. La sequenza base di diffusione comprende un impulso di eccitazione a radiofrequenza seguito da un impulso di gradiente avente pendenza lungo la direzione che si vuole indagare. Questo gradiente viene applicato per un certo intervallo di tempo δ, determinando una variazione lineare del campo statico complessivo e una variazione della fase degli spin in dipendenza della posizione in cui si trovano lungo la direzione in esame. Seguendo la sequenza di diffusione, si applica un gradiente di intensità pari a quello precedente ma con polarizzazione opposta dopo un ritardo Δ. Focalizzandoci sulle variazioni di fase delle molecole, si possono presentare due casi:

- *Primo caso (senza diffusione)*: durante l'intervallo Δ la molecola non ha cambiato posizione lungo la direzione studiata, la variazione di fase netta è nulla poiché la variazione di fase causata dal secondo gradiente è uguale ed opposta a quella causata dal primo

- *Secondo caso (con diffusione)*: la molecola, durante l'intervallo Δ, ha subito una variazione di posizione lungo la direzione in esame; la variazione netta di fase degli spin nucleari legati alla molecola sarà diversa da zero poiché le variazioni di fase dovute all'applicazione dei due gradienti sono opposte ma non uguali.

Quest'ultima situazione determina un'attenuazione del segnale ricevuto.

Maggiore è dunque lo spostamento delle molecole lungo quella determinata direzione durante l'intervallo Δ, maggiore sarà l'attenuazione del segnale ricevuto. Con questa sequenza di diffusione in una precisa direzione riusciamo ad ottenere una cosiddetta immagine "pesata in diffusione" (DWI). In queste immagini, nei voxel con maggior valore di diffusione, verrà riscontrata un'intensità del valore di grigio ridotta.

Un'analisi più approfondita della diffusione può essere attuata utilizzando il *Diffusion Tensor Imaging* (DTI) attraverso il quale studiamo la diffusione in almeno 6 direzioni indipendenti (generalmente ≥ 32 per via del rumore) calcolando il cosiddetto *Tensore di Diffusione* (DT) [3] (Figura 2.11), una matrice 3x3 che descrive il comportamento diffusivo della specifica zona presa in esame.

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

Figura 2.12: Tensore di Diffusione (DT)

Per molti fluidi ed alcuni materiali omogenei come i gel, la diffusione è la stessa in ogni direzione. Queste sostante sono chiamate isotropiche e sono caratterizzate da un singolo coefficiente di diffusione (D). I tessuti biologici, invece, sono molto strutturati e di solito hanno coefficienti di diffusione diversi lungo le diverse direzioni e sono perciò detti anisotropi. La sostanza bianca, ad esempio, è molto anisotropa a causa dell'orientamento parallelo delle sue fibre nervose. Anche altri tessuti, come i muscoli scheletrici e i tendini, mostrano un'alta anisotropia.
Nei materiali anisotropi la diffusione non può essere descritta da un singolo numero, ma viene descritta da una matrice [3x3] chiamato tensore di diffusione. I tre elementi diagonali ($D_{xx}D_{yy}D_{zz}$) rappresentano i coefficienti di diffusione misurati nel sistema di

riferimento lungo ognuna delle 3 direzioni principali (x,y,z). Gli altri 6 elementi ($D_{xy}D_{yz}$ ....) rappresentano la correlazione tra i movimenti casuali corrispondenti ad ogni coppia di direzioni principali.
Per il caso speciale di diffusione perfettamente isotropica (ad esempio nei liquidi puri) gli elementi fuori dalla diagonale sono tutti zero. Gli elementi sulla diagonale sono tutti uguali è pari a D (coefficiente di diffusione di un materiale isotropico: $D_{xx} = D_{yy} = D_{zz}$ = D) [64] [64].

Se la diffusione è completamente isotropa in un determinato punto, il tensore risultante nello spazio 3D descriverà una sfera (figura 2.12 a sinistra); se, invece, la diffusione avrà una direzione preferenziale, il tensore descriverà un ellissoide in cui l'asse principale giace sulla stessa direzione dell'autovettore principale (figura 2.12 a destra).

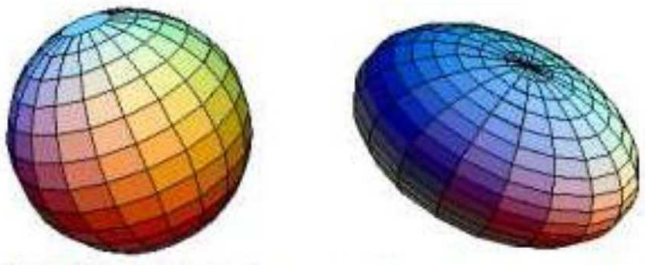


Figura 2.13: A sinistra: diffusione isotropa, a destra: diffusione anisotropa

Il DTI comprende un insieme di tecniche, in cui gli autovalori (λ_1, λ_2, λ_3) e gli autovettori ($\varepsilon_1, \varepsilon_2, \varepsilon_3$) del DT sono usati per creare immagini che riflettono varie proprietà di diffusione del tessuto.

Dal DT si possono, infatti, ricavare importanti parametri quantitativi [65] in grado di descriverci la diffusione voxel per voxel e tra questi ricordiamo quelli più importanti:

- **MD (Main Diffusivity)**: parametro che dà un'indicazione di quanto è intensa la diffusione di un determinato voxel senza, però, dare alcuna informazione sulla direzione di tale diffusione:

$$MD = \frac{\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3}{3} \qquad 2.17$$

- **FA (Fractional Anisotrophy)**: il parametro che permette di capire il grado di anisotropia. Per una diffusione del tutto isotropa ($\lambda_1 = \lambda_2 = \lambda_3$), tale parametro avrà un valore pari a 0 (l'elissoide collassa in una sfera), per una diffusione del tutto direzionata avremo invece un valore pari a 1 (l'elissoide diventa più allungato);

$$FA = \sqrt{\frac{3}{2}} * \frac{\sqrt{(\lambda_1 - MD)^2 + (\lambda_2 - MD)^2 + (\lambda_3 - MD)^2}}{\sqrt{\lambda_1^{\,2} + \lambda_2^{\,2} + \lambda_3^{\,2}}} \qquad 2.18$$

La mappa di FA è un'immagine a scala di grigi che codificano i valori di FA in ogni pixel. Aree più chiare corrispondono a punti con maggiore diffusione anisotropa.

- **AD (Axial Diffusivity)**: l'autovalore principale del DT, descrittore della direzione principale;

$$AD = \lambda_1 \qquad 2.19$$

- **RD (Radial Diffusivity)**: indice della diffusione nella direzione perpendicolare a quella principale: sostanzialmente la media tra il secondo e il terzo autovalore.

$$RD = \frac{\lambda_2 + \lambda_3}{2} \qquad 2.20$$

Risultati importanti sono stati ottenuti nello studio del distretto encefalico, dove le tecniche di diffusione sono impiegate per studiare la sostanza bianca celebrale, rappresentata dagli assoni dei neuroni. La sostanza bianca ha una struttura fibrillare che vincola le molecole a diffondere liberamente lungo una sola direzione preferenziale; tale architettura strutturale fa sì che la FA abbia valori elevati. Basandosi su simili concetti ed

ipotesi, è possibile applicare la DTI anche all'imaging muscolare per esplorare l'architettura muscolare [66] e definire i dettagli strutturali come ad esempio quando si devono valutare dei danni muscolari. I danni muscolari dovuti a traumi o a neuropatie minano l'integrità della microstruttura del muscolo e, quindi, causano un cambiamento nei parametri di DTI. Questi cambiamenti microstrutturali spesso si riflettono in cambiamenti nella FA e spesso precedono variazioni morfologiche o anatomiche maggiori del muscolo, permettendo così il rilevamento "precoce" di malattie muscolari [67]. La natura quantitativa del DTI può giocare un ruolo molto importante come marcatore surrogato non invasivo nel monitoraggio della risposta terapeutica nei danni muscolari. [68].

3. MATERIALI E METODI

Di seguito verranno descritti nel dettaglio i criteri di inclusione dei soggetti nello studio, il sistema di acquisizione usato, le valutazioni cliniche effettuate sui pazienti e tutte le tecniche di pre -processing, compresa la definizione di ROI nei muscoli di cosce e gambe dei soggetti. Infine, verrà riportata l'analisi statistica effettuata.

3.1 Reclutamento dei soggetti: criteri di inclusione

Nello studio sono stati inclusi pazienti e controlli sani di entrambi i sessi, tra i 18 e i 75 anni di età:

- 9 pazienti affetti da BMD (9 maschi, età media: 38.44 ± 15.86)
- 11 pazienti affetti da IBM (10 maschi e 1 femmina, età media: 71 ± 8.09)
- Un campione di 12 soggetti sani (10 maschi e 2 femmine, età media: 40.5 ± 14.82)

I pazienti sono stati selezionati tra i pazienti della Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta di Milano.

Per poter essere inclusi nello studio il criterio principale è stata la diagnosi clinica, biochimica e genetica di BMD o IBM. Entrambe le patologie sono state definite secondo i criteri dell'European Neuromuscular Center (ENMC) [70].Sono stati esclusi dal protocollo i pazienti BMD asintomatici per i quali si è registrata solo una hyperCKemia.

I controlli sono stati reclutati tra volontari della popolazione locale. Nessuno dei controlli ha evidenziato precedentemente problemi neuro-muscolari o subito interventi agli arti inferiori.

Tutti i soggetti hanno firmato un consenso informato valido per la partecipazione allo studio di ricerca.

3.2 Acquisizione MRI

L'acquisizione delle immagini di RM è stata effettuata attraverso l'utilizzo di uno scanner a 1.5T (Siemens Avanto, Erlangen, Germany).

Il protocollo di RM è stato effettuato su due distretti corporei, uno a livello delle cosce e uno a livello delle gambe, e per ognuno l'operazione di acquisizione è stata ripetuta per due volte, acquisendo ogni arto separatamente.

All'interno del protocollo RM sono state incluse due sequenze classiche e un set di tre sequenze di RM avanzata per la stima della quantità di grasso e acqua e la valutazione del danno muscolare:

- Sequenza T1 assiale di tipo Turbo Spin-Echo (TR= 550 ms, TE= 8.6 ms, FA= 146°, voxel= 1.97x1.97x5 mm, Matrix= 192x192) (figura 3.1);

- Sequenza volumetrica T2-pesata (TR= 2000 ms, TE= 172 ms, FA=150°, voxel=1x1x1 mm, Matrix= 254x384) (figura 3.2) [fig 3.2];

- Sequenza multi-echo di tipo Spin-Echo da 12 Echi per la stima del tempo di rilassamento T2 (TR= 2500 ms, TE= 8.4/142.8 ms, voxel=1.48x1.48x10 mm, Matrix= 256x256) (figura 3.3);

- Sequenza Dixon a 2 punti (TR= 11.1 ms, TE= 2.39/4.78 ms, FA= 10°, voxel= 1.13x1.13x1.1 mm, Matrix= 260x352) per la quantificazione della FF e del muscolo residuo (figura 3.4);

- Sequenza di Diffusion Tensor Imaging (DTI) (TR= 5300 ms, TE= 68 ms, voxel=3.03x3.03x5 mm, Matrix= 132x84x50, 64 direzioni non collineari, 9 volumi b=0 e 64 volumi b=500 s/mm^2), per studiare la diffusività dell'acqua nel tessuto muscolare (figura 3.5);

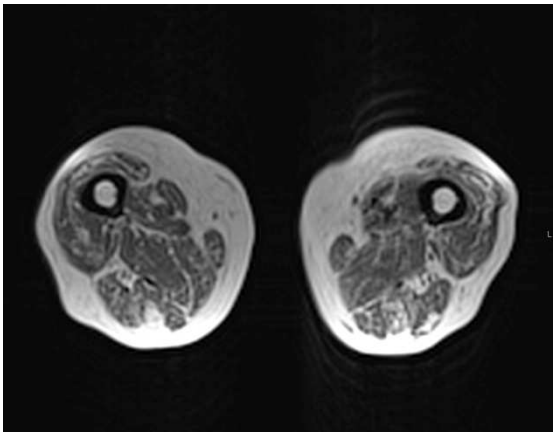


Figura 3.1: Esempio di immagine volumetrica T1 pesata assiale delle cosce acquisita con uno scanner da 1.5 Tesla

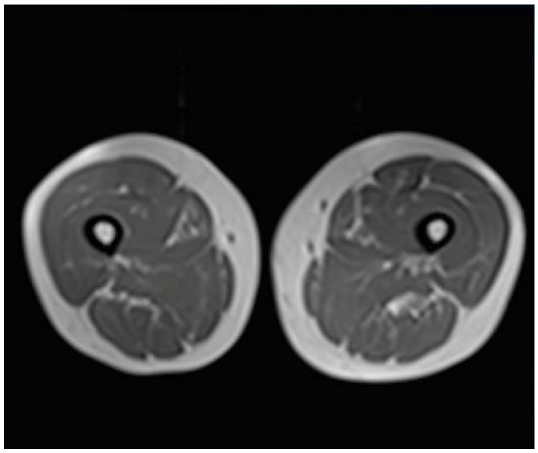


Figura 3.2: Esempio di immagine volumetrica T2 pesata delle cosce acquisita con uno scanner da 1.5 Tesla

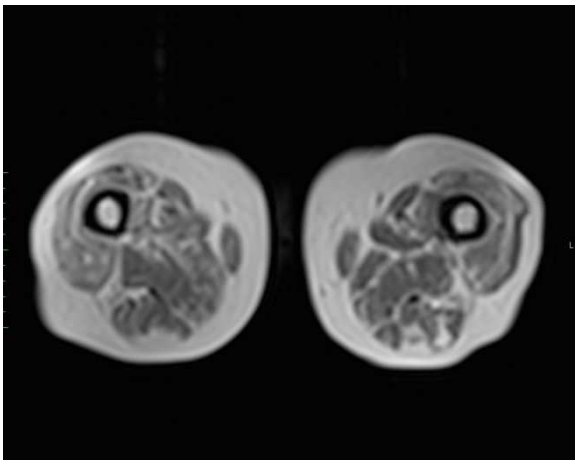


Figura 3.3: Esempio di immagine di rilassometria delle cosce acquisita con uno scanner da 1.5 Tesla

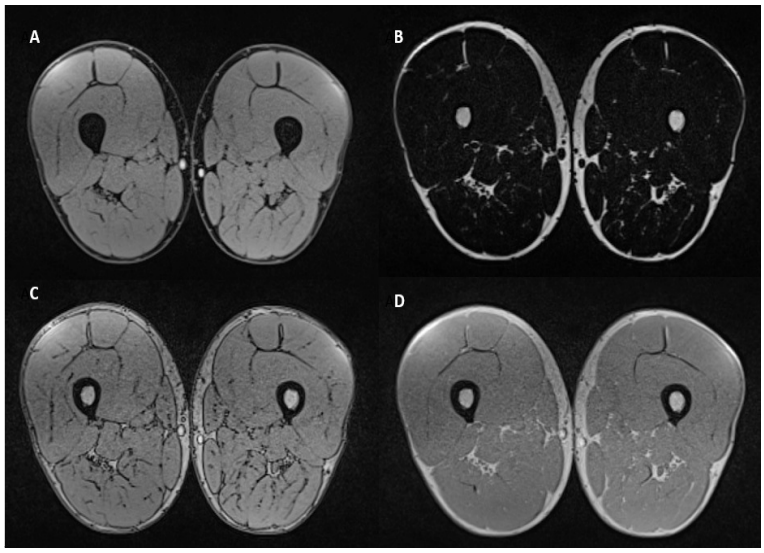


Figura 3.4: Esempio di immagini Dixon a due punti delle cosce acquisite con uno scanner da 1.5 Tesla. (A) selettive all'acqua, (B) selettive al grasso, (C) in opposizione di fase e (D) in fase.

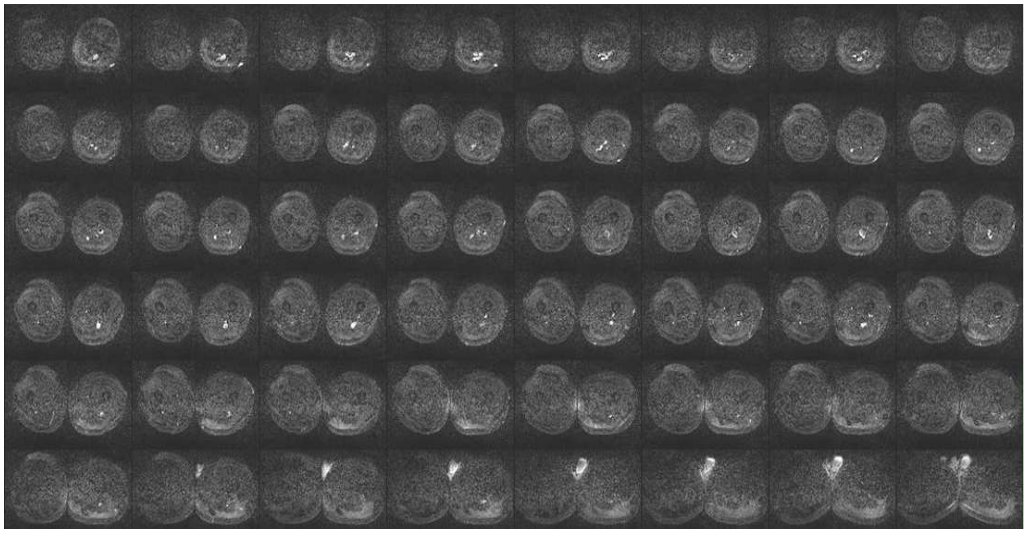


Figura 3.5: Esempio di immagini di diffusione delle cosce acquisite con uno scanner da 1.5 Tesla

I dati di RM muscolare sono stati confrontati con un gruppo di soggetti sani per verificare la validità dei risultati. La durata media del protocollo MRI è di circa 60 minuti e nello studio non è stata effettuata iniezione di contrasto.

3.3 Valutazioni Cliniche

Per valutare lo stato patologico dei pazienti è stato eseguito il seguente protocollo clinico:

- Ai pazienti IBM è stata applicata la “Inclusion Body Myositis Functional Rating Scale” (IBMFRS) [71]: è una scala di valutazione a dieci punti in cui vengono esaminati deglutizione, scrittura a mano (con la mano dominante), uso del coltello e utilizzo di utensili, vari compiti motori fini (apertura porta, uso di chiavi, raccolta di piccoli oggetti), la capacità nel vestirsi autonomamente, di occuparsi della propria igiene, di coricarsi e aggiustarsi le coperte, di alzarsi da seduti, camminare e fare le scale. Ogni azione viene valutata con un punteggio da 0 (totale incapacità nell’eseguire il task in modo indipendente) a 4 (perfetta capacità di esecuzione). Il punteggio massimo è 40, e più il valore raggiunto è alto, migliore è lo stato funzionale del paziente;

- Per i pazienti BMD è stata usata la “North Star Ambulatory Assesment” (NSAA) [72]: al paziente viene chiesto di fare 17 attività diverse (alzarsi, camminare, salire e scendere da un cubo, etc) e viene valutato con una scala da 0 (totale incapacità nell’eseguire il task in modo indipendente) a 2 (perfetta capacità di esecuzione);

- Test del cammino di 6 minuti “6 Minute Walking Test” (6MWT) [73]: questo test consente la misura della capacità funzionale residua di un paziente e consiste nel far camminare il soggetto per sei minuti lungo un corridoio di lunghezza minima pari a 30 metri avente una superficie di marcia rigida, alla velocità scelta dal paziente;

- Valutazione della potenza di estensione del ginocchio tramite miometria;

- Valutazione della forza usando la scala “Medical Research Council” MRC: si esamina la forza nei vari distretti muscolari con una valutazione da 0 a 5, in cui lo zero indica l’assenza di movimento e il 5 la capacità di movimento contro resistenza massima;

- Test funzionali cronometrati (10 metri di cammino-corsa, alzarsi da terra, salire e scendere quattro scalini);

La durata media del protocollo clinico è di circa trenta minuti.

3.4 Pre-processing

Per prima cosa sono state scaricate tutte le immagini dal PACS (Picture Archiving and Communication System) di reparto tramite il software Osirix (versione 5.8.3, 32-bit). I file DICOM delle sequenze T1, echo-planari di diffusione e Dixon sono stati successivamente convertiti in formato NIFTI mediante il software dcm2nii [21]. La conversione delle immagini di diffusione produce due ulteriori file di estensione *.bval e *.bvec, rispettivamente rappresentanti i b-value utilizzati per ogni volume DWI acquisito e la tabella dei gradienti (un file contenente i coseni direttori dei gradienti utilizzati).

3.4.1. Diffusion Tensor Imaging

In questo lavoro di tesi, il pre-processing dei dati di diffusione è stato effettuato mediante il software *ExploreDTI,* un graphical toolbox sviluppato da Alexander Leemans per il processing dei dati di DTI-MRI e la trattografia [74]. Il software è liberamente scaricabile sia in versione stand-alone che come pacchetto Matlab .

Il preprocessing dei dati di diffusione è riassunto nei punti seguenti:

- Conversione dei file *.bval e *.bvec in un unico file, la B-matrix ("*Convert *.bval/*.bvect to B-matrix *.txt file(s)*").
- Ordinamento dei volumi così che quelli a b=0 s/mm^2 si trovino all'inizio del file 4D di diffusione ("*Sort DWI *.nii file(s)").* All'interno della sequenza di diffusione vengono generalmente inseriti a distanze temporali costanti dei volumi a b=0. Questo serve a facilitare il processo di correzione del movimento e a raccogliere più campioni a b=0 così da avere un fitting tensoriale migliore.
- Il software necessita che i file NIFTI vengano convertiti in formato Matlab *.mat. Nel processo di conversione va specificato che la stima del tensore di diffusione è una stima robusta, il b-value massimo, il numero di immagini non DWI (b=0 s/mm^2), il numero di immagini DWI, la dimensione del voxel e la

dimensione della matrice. Questo viene fatto con il comando "*Convert Raw Data to *.mat*". In figura 3.6 si riporta la tabella dei parametri usata.

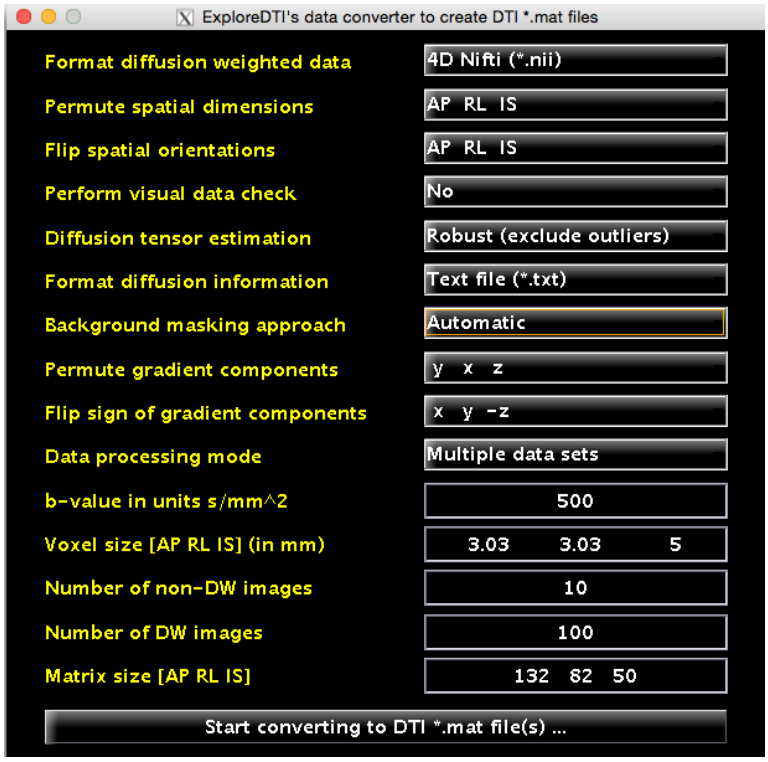


Figura 3.6: Tabella dei parametri usati per la conversione dei nifti allo scopo di creare il file .mat necessario per la successiva estrazione delle mappe DTI con ExploreDTI

- I pazienti sono stati acquisiti in posizione supina; conseguentemente le immagini prodotte hanno la parte destra del soggetto nel campo visivo sinistro dell'osservatore che analizza l'immagine.

- Correzione delle immagini dagli artefatti da distorsione geometrica, eddy current e da movimento: la correzione avviene mediante coregistrazione (affine ed elastica) ad un volume di riferimento, in questo caso la componente Water della sequenza volumetrica Dixon. Questa parte del pre-processing è la più lunga e richiede una buona potenza di calcolo. I nostri dati sono stati corretti sfruttando un server Linux con 12 processori dual-core e 48GB di RAM. E' stato inoltre utilizzato il parallel computing toolbox di Matlab che ha permesso di suddividere il processing sui differenti cores. La correzione è avventuta tramite il comando: "*SM/EC/EPI correction*".

- La procedura riportata finora è quella usata per le cosce; per le gambe c'è una piccola variazione: bisogna procedere con la creazione di una maschera di

threshold da applicare ai NIFTI originali e alle immagini W-Dixon; ciò è possibile variando la threshold per ogni soggetto attraverso la valutazione visiva per ottenere risultati maggiormente performanti e tale operazione viene effettuata attraverso un apposito script di Matlab.

- Si procede infine con la stima delle mappe (FA, MD, L1, L2, L3) usando una procedura di fitting robusta. Per ottenere le mappe AD ed RD è stato utilizzato uno script di Matlab da noi creato, per cui AD = L1 ed RD = (L2 + L3)/2, dove L_i sono gli autovalori del tensore; un esempio di mappa FA è mostrato in fig. 3.7;

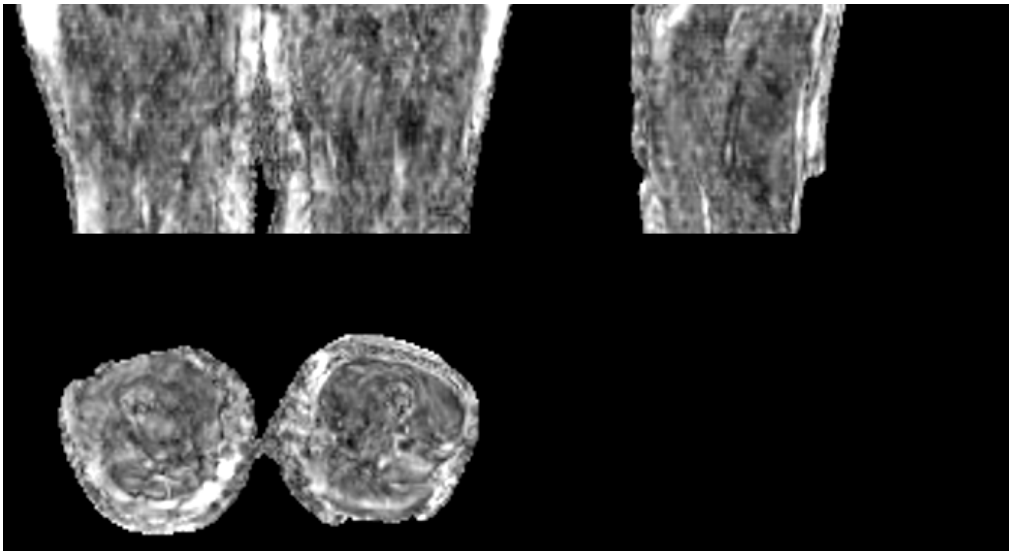


Figura 3.7: Esempio di mappa FA ottenuta tramite scanner da 1.5 Tesla delle cosce di un controllo.

3.4.2 Misura dell'infiltrazione lipidica: calcolo della FF

Ultimato il caricamento di tutte le immagini Dixon-Water e Dixon-Fat per ogni singolo soggetto tramite Osirix, si è proceduto con la conversione dei file DICOM in file *.mat tramite una funzione (dicom2mat.m) Matlab da noi implementata. Successivamente, utilizzando ancora una volta uno script implementato da noi, sono state generate le mappe di FF per ogni soggetto. La mappa FF è costituita da pixel il cui valore in scala di grigi esprime la percentuale di grasso (0-100%) nel punto definito dal pixel stesso, come mostrato in figura 3.8. Tale valore è stimato tramite la formula espressa dall'equazione 3.1

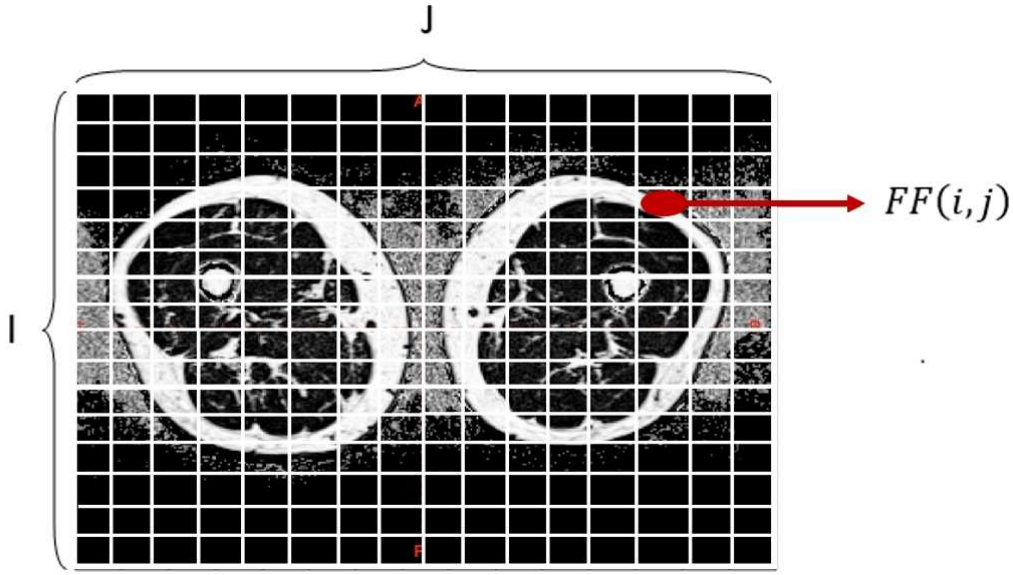


Figura 3.8: Mappa FF. Ogni pixel ha un valore in scala di grigi che corrisponde alla Fat Fraction in quel punto.

$$FF(i,j) = \frac{Fat\ (i,j)}{Fat\ (i,j)+Water\ (i,j)} \qquad 3.1$$

Da queste si è potuta poi calcolare la FF media come vedremo nel prossimo capitolo.

3.4.3. Analisi di rilassometria

Con uno script creato in Matlab i dati grezzi di rilassometria T2 sono stati coregistrati alle immagini Dixon IP ottenendo quelli che chiameremo per semplicità "*reg_T2*",un esempio dei quali è mostrato in figura 3.9. Per stimare il T2 di ogni voxel si è usato il software "*Nordic Ice*" [75], un "Advanced MRI Perfusion Software" (versione 4.0.4). Le mappe T2 sono state stimate a partire dai *reg_T2* per ogni soggetto, usando il modulo "*T2-relax*" e specificando come output "*T2*" e sono mostrate in figura 3.10. Il tutto è avvenuto dopo aver corretto le sequenze reg_T2 dagli artefatti da movimento del soggetto.

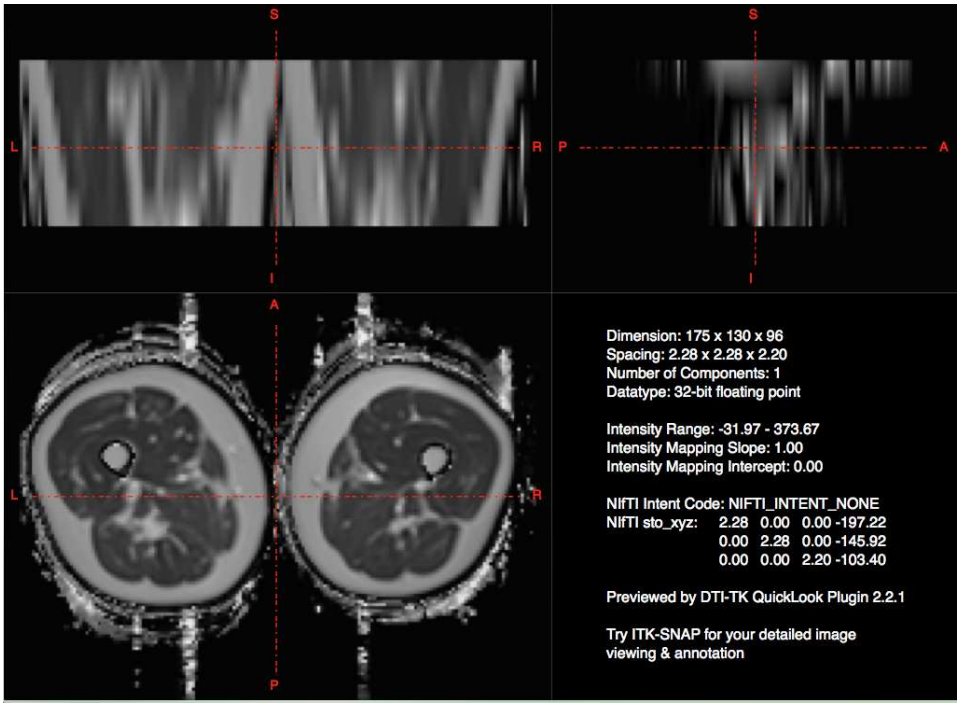


Figura 3.9: Esempio di immagine risultante dalla coregistrazione dei dati grezzi di rilassometria alle immagini di Dixon in fase

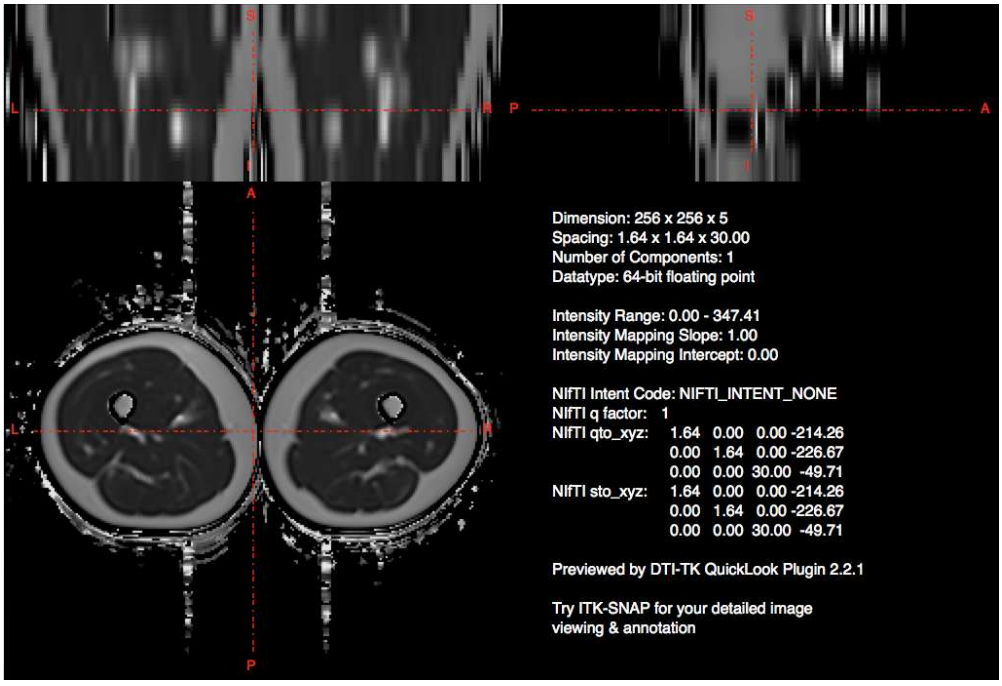


Figura 3.10: Esempio di mappa T_2 ottenuta a partire dalle immagini reg_T_2

3.4.4. Posizionamento delle Regioni di Interesse

Per entrambe le cosce e le gambe di ogni soggetto, un neuroradiologo esperto ha tracciato le Regions of Interest (ROI) sulle immagini Dixon-water usando il programma "*itk_snap*" (http://www.itksnap.org). In particolare sono state tracciate delle ROI "di superficie" che circondassero l'intero muscolo preso in considerazione, e delle ROI circolari di 21 pixel, all'interno degli stessi muscoli. Queste ultime sono state introdotte per avere la sicurezza di ottenere una ROI consistente, evitando le contaminazioni con strutture che non siano muscolo.

Per tracciare le ROI si è fatto riferimento al lavoro di Morrow et. al. Del 2016 [2], prendendo in analisi gli stessi gruppi muscolari considerati nell'articolo. In particolare, nelle cosce sono stati presi in considerazione i seguenti 10 muscoli: rectus femoris (RF), vastus lateralis (VL), vastus medialis (VM), vastus intermedius (VI), sartorius (Sa), gracilis (G), adductor magnus (AM), semimembranosus (SM), semitendinosus (ST), biceps femoris (BF). Nelle gambe, invece, sono stati considerati i seguenti 6 muscoli: tibialis anterior group (TA), medialis head of gastrocnemius (MG), soleus (So), tibialis posterior (TP), peroneus longus (PL), lateral head of gastrocnemius (LG).

Nelle figure 3.11e 3.12 sono mostrati due esempi di presentazione delle ROI, rispettivamente "di superficie" e "puntuali", tracciate sui muscoli presi in considerazione per le cosce.

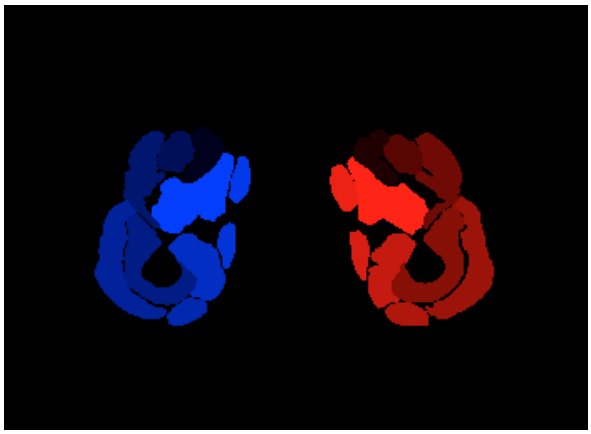


Figura 3.11: Esempio di immagine delle ROI "di superficie" dei 10 muscoli presi in considerazione per le cosce di un soggetto di sano.

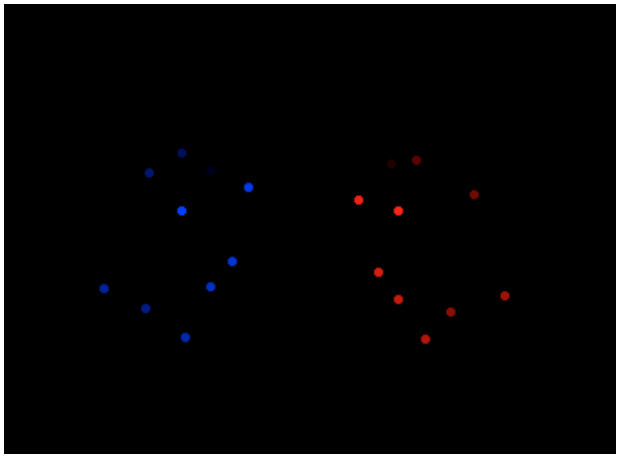


Figura 3.15: Esempio di immagine delle ROI “puntuali” dei 10 muscoli presi in considerazione per le cosce di un soggetto di sano.

Allo stesso modo, nelle figure 3.13 e 3.14 vengono proposti due esempi di come si presentano le ROI, rispettivamente “di superficie” e “puntuali”, tracciate per i muscoli presi in considerazione per le gambe.

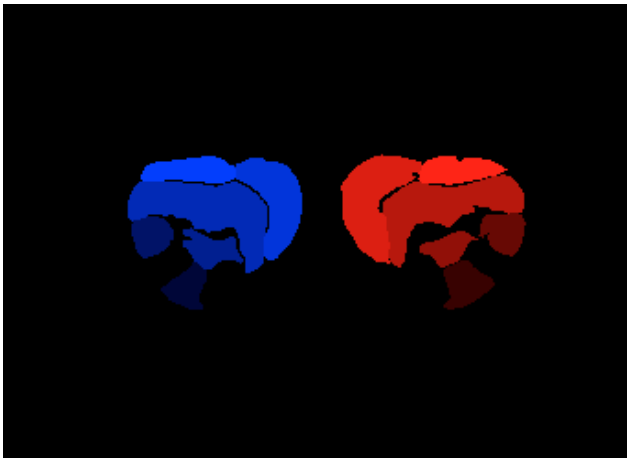


Figura 3.13: Esempio di immagine delle ROI “di superficie” dei 6 muscoli presi in considerazione per le gambe di un soggetto di sano.

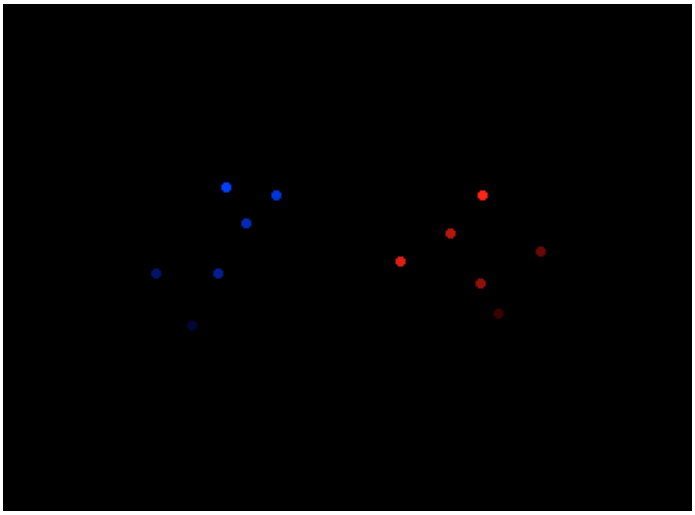


Figura 3.14: Esempio di immagine delle ROI "puntuali" dei 6 muscoli presi in considerazione per le gambe di un soggetto di sano.

Le immagini con le ROI sovrapposte verranno utilizzate per ricavare i valori di FF, FA, MD, RD, AD e T_2 nei singoli muscoli.

3.4.5 Stima dei valori di FF, FA, MD, RD, AD, T_2

Le ROI tracciate sono state applicate a ciascuna delle mappe ottenute (FF, FA, MD, RD, AD, T_2) dei distretti gamba e coscia di ogni soggetto. Dalle immagini ottenute si sono poi calcolati i 6 parametri oggetto di questo studio. Per farlo è stato usato lo script Matlab "*MeanVal.mat*" (Besta's property, all rights reserved), dando come input la mappa del parametro da calcolare e l'immagine con le ROI tracciate. I valori dei parametri ottenuti sono stati ordinati in tabelle per poi essere usati nella successiva analisi statistica.

In figura 3.15 e 3.16 sono mostrati due esempi di mappe AD con sovrapposte le ROI, rispettivamente "di superficie" e "puntuali", rappresentanti i 10 muscoli presi in considerazione per le cosce.

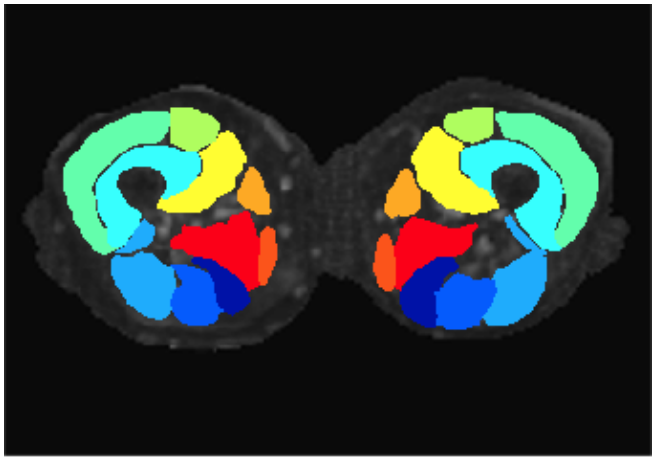


Figura 3.15: Esempio di immagine di una mappa AD con sovrapposte le ROI "di superficie" dei 10 muscoli presi in considerazione per le cosce di un soggetto di sano.

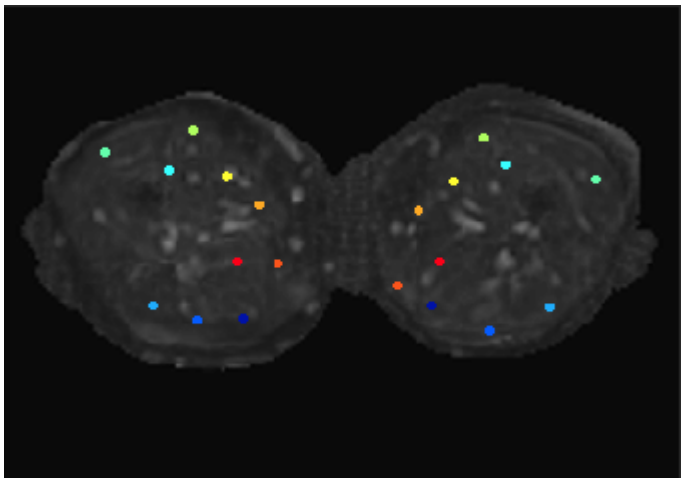


Figura 3.16: Esempio di immagine di una mappa AD con sovrapposte le ROI "puntuali" dei 10 muscoli presi in considerazione per le cosce di un soggetto di sano.

In figura 3.17 e 3.18 sono mostrati due esempi di mappe di AD con sovrapposte le ROI, rispettivamente "di superficie" e "puntuali" rappresentanti i 6 muscoli presi in considerazione per le gambe.

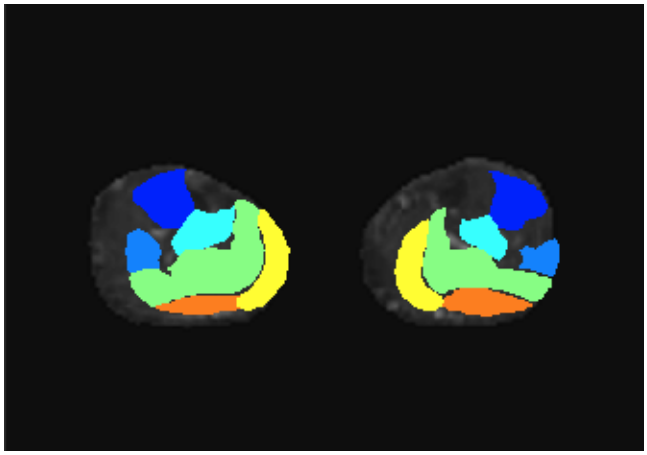


Figura 3.17: Esempio di immagine di una mappa AD con sovrapposte le ROI “di superficie” dei 6 muscoli presi in considerazione per le gambe di un soggetto di sano.

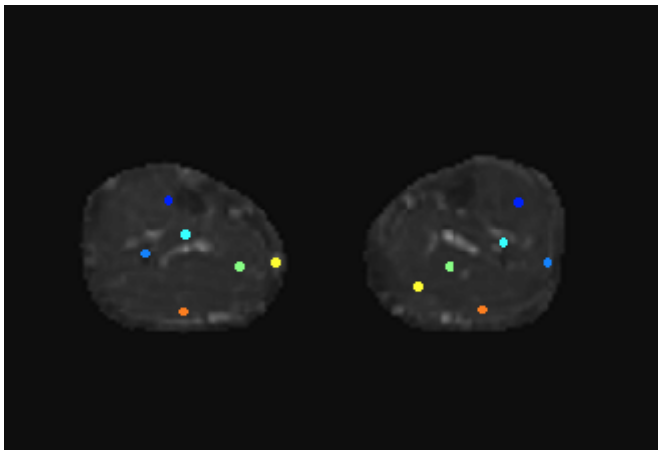


Figura 3.18: Esempio di immagine di una mappa AD con sovrapposte le ROI “puntuali” dei 6 muscoli presi in considerazione per le gambe di un soggetto di sano.

3.5 Analisi Statistica

Dopo aver calcolato tutti i parametri MRI per entrambi i gruppi di pazienti e per ogni distretto muscolare, è stata condotta un’analisi statistica per lo studio della correlazione tra tali parametri e gli score clinici specifici per le due patologie in esame citati precedentemente. Specificatamente è stata effettuata una correlazione di Spearman, un modello di correlazione non parametrico il cui coefficiente ρ permette di valutare la forza del rapporto tra due variabili; essa si utilizza quando la distribuzione delle variabili X e Y

non risulta normale o quando le sottopopolazioni dei valori X od Y non risultino avere la stessa varianza.

Il coefficiente di correlazione di Spearman assume valori tra -1 e +1 indicando nel segno e nel valore il tipo e la forza della correlazione. Il segno + indica una correlazione direttamente proporzionale, il segno – indica una correlazione inversamente proporzionale; valori di ρ vicini ad uno indicano una correlazione perfetta, valori di ρ molto vicini allo zero indicano una correlazione nulla.

La correlazione è stata effettuata dopo aver verificato che le variabili non fossero distribuite normalmente.

4. RISULTATI

Il capitolo è organizzato in due parti, la prima concentrata sulla descrizione della popolazione analizzata, la seconda riguardante la presentazione dei risultati ottenuti in tutte le analisi effettuate.

I pazienti sono suddivisi in IBM e BMD perché queste sono le due patologie in esame.

In tabella 4.1 sono presentate tutte le analisi effettuate in questo studio.

		PARAMETRI E MAPPE OTTENUTI
ANALISI	*DTI*	Mappe e valori di FA, MD, AD, RD
	InfiltrazioneLipidica	Mappe e valori di Fat Fraction
	Rilassometria	Mappe e valori di T_2

Tabella 4.1: Tabella illustrativa delle analisi effettuate

La presentazione dei risultati sarà divisa in quattro sotto-capitoli: analisi DTI, misura dell'infiltrazione lipidica, analisi di rilassometria e correlazione con gli score clinici.

4.1 Popolazione in analisi

Il numero di soggetti considerati nello studio sono riportati nella tabella 4.2.

	Patologia		
	IBM	BMD	Controlli Sani
Numero di soggetti	11	9	12

Tabella 4.2: Numero di soggetti in ogni gruppo.

Nella tabella 4.3 sono riportate le età medie di ogni gruppo considerato nell'analisi.

	Patologia		
	IBM	BMD	Controlli Sani
Età media	71 ± 8.09	38.44 ± 15.86	40.5 ± 14.82

Tabella 4.3: Età media dei soggetti in ognuno dei tre gruppi (IBM, BMD e Controlli sani).

4.2 Esempio descrittivo

Per rendere più comprensibili i risultati mostrati in seguito e per interpretare meglio le patologie in esame, vengono qui presentati 3 soggetti (un soggetto sano, un paziente IBM e un paziente BMD) con le immagini più significative e i valori medi dei parametri studiati.

Nelle figure 4.1, 4.2 e 4.3 sono presentate le mappe di Fat Fraction ottenute dalle immagini Dixon- water e Dixon- fat delle cosce rispettivamente di un controllo sano, un paziente IBM e un BMD. In bianco è mostrata la parte lipidica ed in nero la parte muscolare del distretto analizzato. Dalle immagini si nota una prevalenza muscolare nel controllo sano ed una prevalenza lipidica nei due pazienti (IBM e BMD).

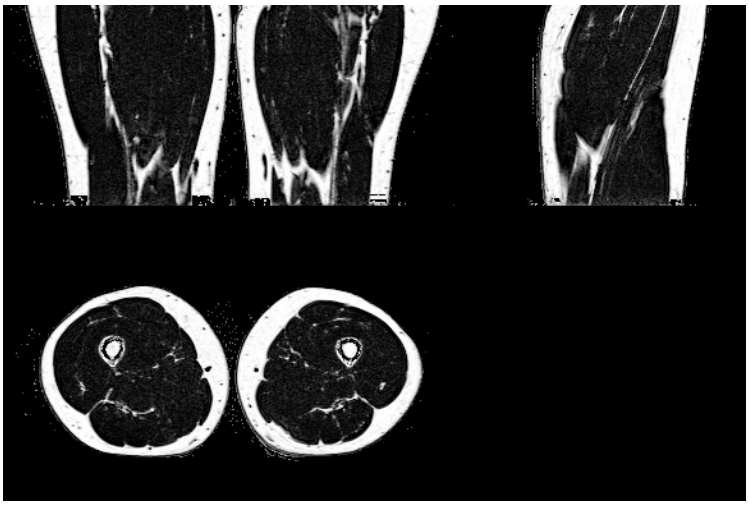


Figura 4.1: Immagine della mappa di Fat Fraction delle cosce un controllo sano.

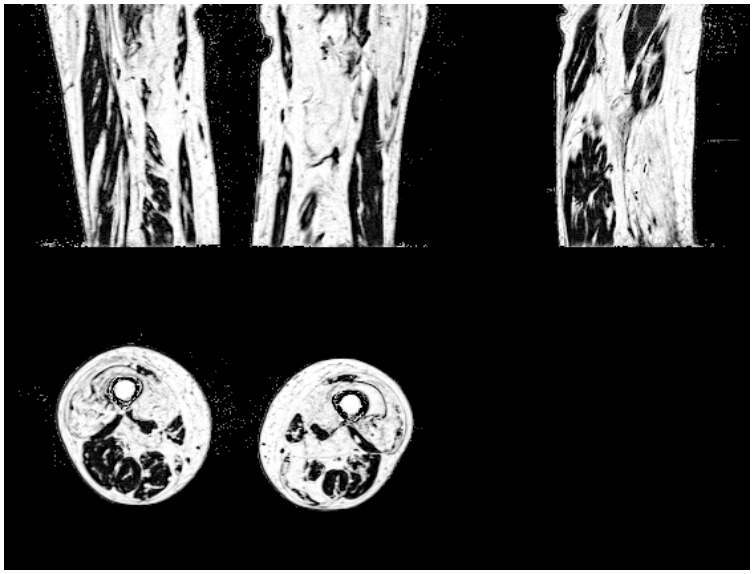


Figura 4.2: Immagine della mappa di Fat Fraction delle cosce di un paziente IBM.

Figura 4.3: Immagine della mappa di Fat Fraction delle cosce di un paziente BMD.

Nelle figure 4.4, 4.5 e 4.6 sono mostrate le mappe di FA ottenute dalle immagini di diffusione delle cosce, rispettivamente di un controllo sano, un paziente IBM e un paziente BMD. Dalle immagini si notano dei valori maggiori di FA nei due pazienti rispetto al controllo sano (le parti bianchi nelle mappe di FA indicano un valore alto del corrispondente parametro).

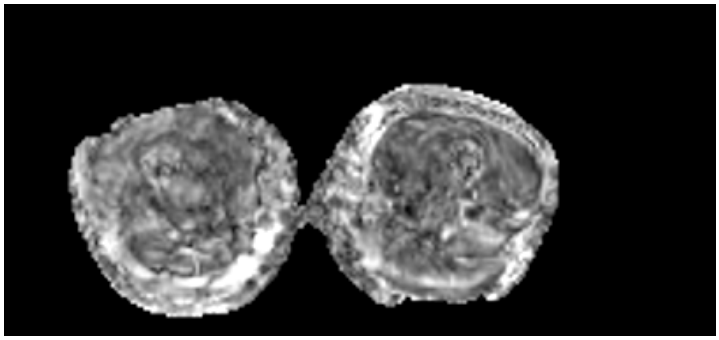


Figura 4.4: Immagine della mappa di FA delle cosce un controllo sano

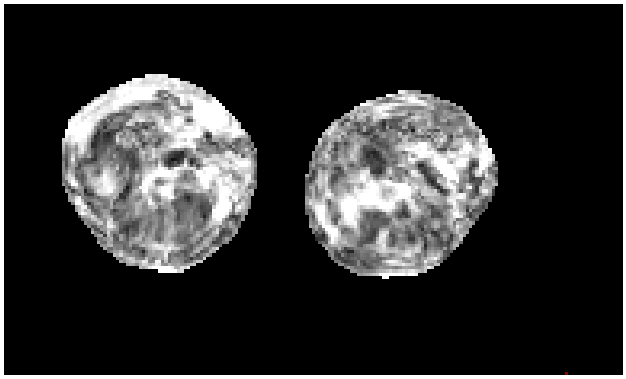


Figura 4.5: Immagine della mappa di FA delle cosce un paziente IBM

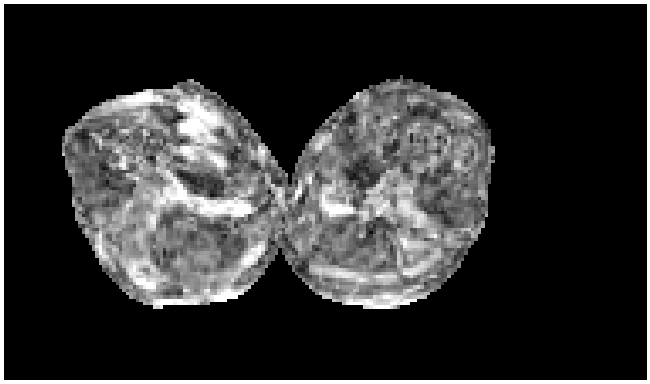


Figura 4.6: Immagine della mappa di FA delle cosce un paziente BMD

Nelle figure 4.7, 4.8 e 4.9 sono mostrate le mappe di AD ottenute dalle immagini di diffusione delle cosce, rispettivamente di un controllo sano, un paziente IBM e un paziente BMD. Dalle immagini si notano dei valori minori di AD nei due pazienti rispetto al controllo sano (le parti bianche nelle mappe di AD indicano un valore alto del corrispondente parametro)

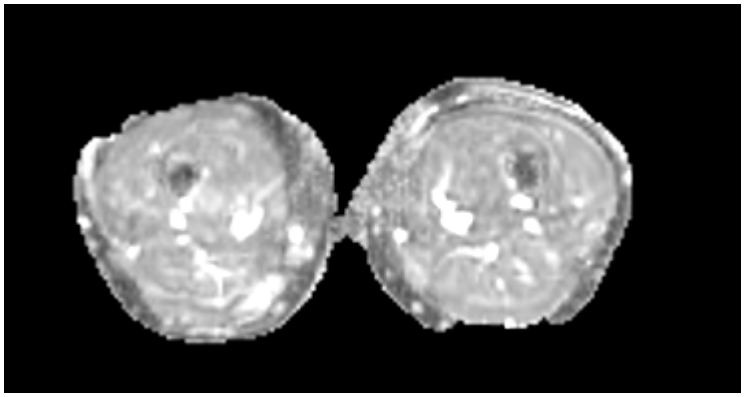


Figura 4.7: Immagine della mappa di AD delle cosce un controllo sano

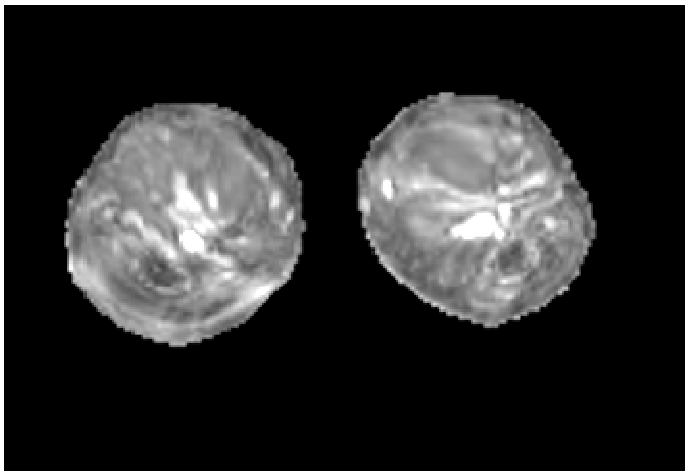


Figura 4.8: Immagine della mappa di AD delle cosce un paziente IBM

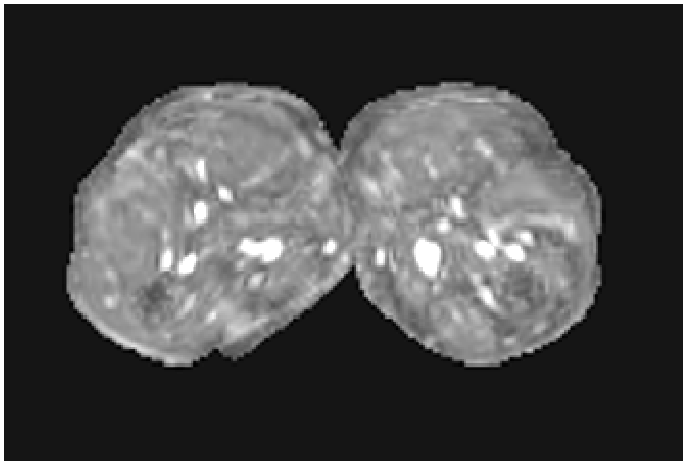


Figura 4.9: Immagine della mappa di AD delle cosce un paziente BMD

Nelle figure 4.10, 4. 11 e 4. 12 sono mostrate le mappe di RD ottenute dalle immagini di diffusione delle cosce, rispettivamente di un controllo sano, un paziente IBM e un paziente BMD. Dalle immagini si notano dei valori minori di RD nei due pazienti rispetto al controllo sano (le parti bianche nelle mappe di RD indicano un valore alto del corrispondente parametro).

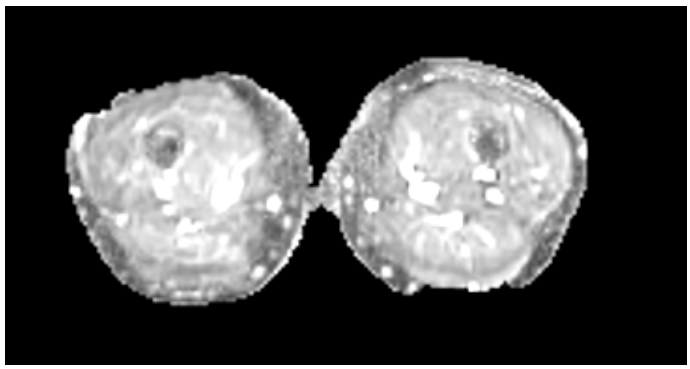


Figura 4.10: Immagine della mappa di RD delle cosce un controllo sano

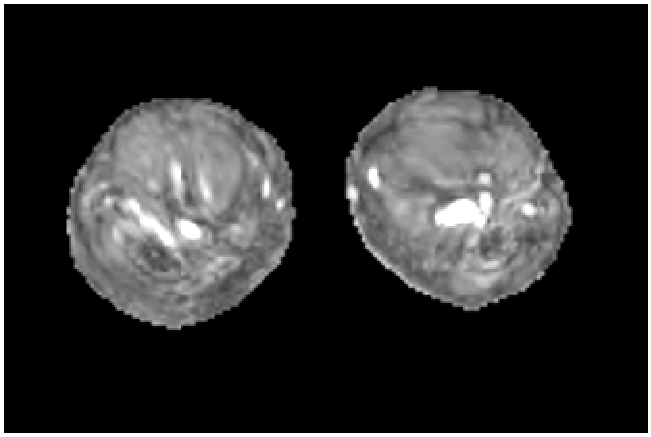


Figura 4.11: Immagine della mappa di RD delle cosce un paziente IBM

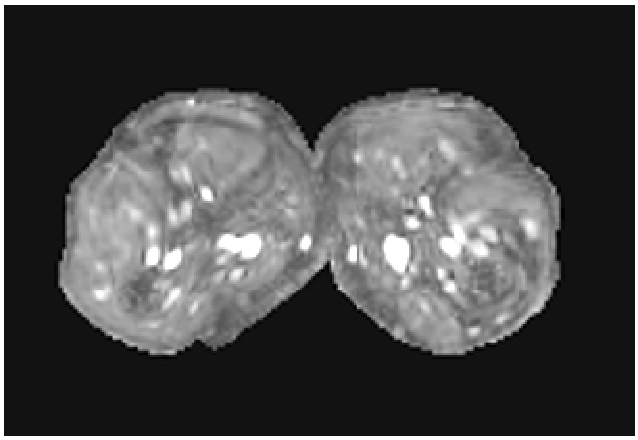


Figura 4.12: Immagine della mappa di RD delle cosce un paziente BMD

Nelle figure 4.13, 4. 14 e 4. 15 sono mostrate le mappe di MD ottenute dalle immagini di diffusione delle cosce, rispettivamente di un controllo sano, un paziente IBM e un paziente BMD.

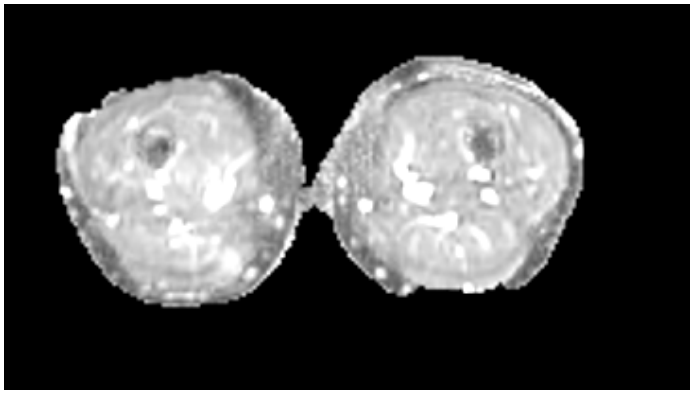


Figura 4.13: Immagine della mappa di MD delle cosce un controllo sano

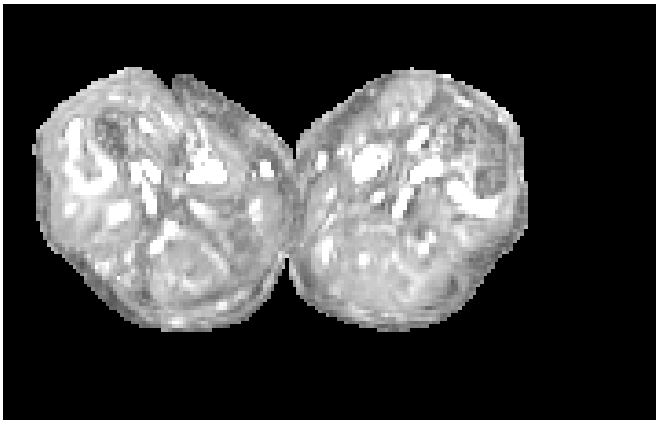


Figura 4.14: Immagine della mappa di MD delle cosce un paziente IBM

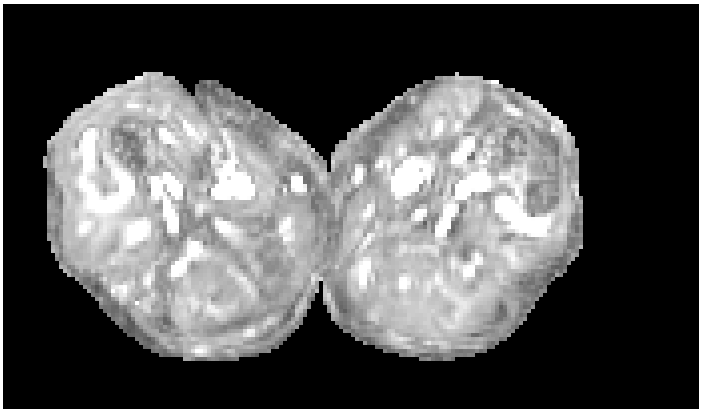


Figura 4.15: Immagine della mappa di MD delle cosce un paziente BMD

Nelle tabelle 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9 sono mostrati i parametri FF, FA, MD, AD, RD e T_2 stimati sulle mappe di cosce e gambe di un soggetto sano, un paziente IBM e un paziente BMD. I suddetti parametri sono calcolati all'interno di ROI muscolari tracciate sulle cosce (10 muscoli) e sulle gambe (6 muscoli). Nello specifico FF è il parametro associato all'infiltrazione lipidica, FA, MD, AD ed RD sono i parametri DTI associati al danno muscolare e all'infiltrazione lipidica a livello muscolare e T_2 è il parametro di rilassometria.

COSCE	**FF**					
Muscoli	**ConL**	**ConR**	**IBM L**	**IBM R**	**BMD L**	**BMD R**
VL	0.08	0.087	0.395	0.251	0.337	0.346
ST	0.058	0.057	0.148	0.148	0.145	0.175
BF	0.065	0.063	0.240	0.234	0.444	0.558
VI	0.068	0.067	0.746	0.608	0.715	0.436
VL	0.073	0.073	0.746	0.786	0.456	0.115
RF	0.078	0.069	0.264	0.226	0.089	0.082
VM	0.085	0.067	0.766	0.823	0.779	0.801
Sa	0.193	0.109	0.292	0.366	0.138	0.154
G	0.169	0.094	0.289	0.280	0.136	0.150
AM	0.083	0.09	0.881	0.793	0.902	0.881

Tabella 4.4: Valori medi di FF nei 10 muscoli della coscia (L=left, R=right) di un soggetto sano (CON), un paziente IBM (IBM) e un paziente BMD (BMD).

Nella tabella 4.4 si nota una media dei valori di FF nettamente superiore nei muscoli delle cosce dei pazienti IBM (46.1%) e BMD (39.2%) rispetto al soggetto sano (8.6%).

GAMBA	FF					
Muscoli	**ConL**	**ConR**	**IBM L**	**IBM R**	**BMD L**	**BMD R**
TA	0,056	0,063	0.116	0.142	0.481	0.506
PL	0,082	0,11	0.267	0.128	0.238	0.222
TP	0,076	0,081	0.107	0.112	0.094	0.089
So	0,068	0,062	0.163	0.166	0.223	0.170
MG	0,091	0,059	0.631	0.646	0.189	0.190
LG	0,061	0,082	0.186	0.118	0.138	0.144

Tabella 4.5: Valori medi di FF nei 6 muscoli della gamba (L=left, R=right) di un soggetto sano (CON), un paziente IBM (IBM) e un paziente BMD (BMD).

Nella tabella 4.5 si nota una media dei valori di FF nettamente superiore nei muscoli delle gambe dei pazienti IBM (23.1%) e BMD (22.3%) rispetto al soggetto sano (7.5%).

COSCE	FA					
Muscoli	**ConL**	**ConR**	**IBM L**	**IBM R**	**BMD L**	**BMD R**
VL	0.213	0.353	0. 375	0,204	0.234	0.211
ST	0.266	0.288	0.324	0,204	0.185	0.233
BF	0.249	0.243	0.33	0,252	0.325	0.23
VI	0.156	0.184	0.179	0,339	0.169	0.194
VL	0.204	0.222	0.182	0,189	0.176	0.203
RF	0.191	0.194	0.194	0,217	0.252	0.203
VM	0.151	0.166	0.234	0,244	0.307	0.203
Sa	0.224	0.270	0.305	0,292	0.168	0.227
G	0.278	0.431	0.347	0,341	0.276	0.282
AM	0.206	0.223	0.366	0,225	0.373	0.302

Tabella 4.6: Valori medi di FA nei 10 muscoli della coscia (L=left, R=right) di un soggetto sano (CON), un paziente IBM (IBM) e un paziente BMD (BMD)

Nella tabella 4.6 si nota una media dei valori di FA che non si discosta significativamente tra le cosce dei pazienti IBM (0.268) e BMD (0,239) rispetto al soggetto sano (0.235).

GAMBA	**FA**					
Muscoli	**ConL**	**ConR**	**IBM L**	**IBM R**	**BMD L**	**BMD R**
TA	0.23	0.26	0.287	0.224	0.242	0.329
PL	0.22	0.23	0.205	0.388	0.235	0.388
TP	0.21	0.22	0.205	0.248	0.234	0.238
So	0.19	0.18	0.222	0.204	0.215	0.22
MG	0.2	0.31	0.24	0.336	0.194	0.235
LG	0.28	0.24	0.239	0.236	0.304	0.321

Tabella 4.7: Valori medi di FA nei 6 muscoli della gamba (L=left, R=right) di un soggetto sano (CON), un paziente IBM (IBM) e un paziente BMD (BMD).

Nella tabella 4.7 si nota una media dei valori di FA che non si discosta significativamente tra le gambe dei pazienti IBM (0.253) e BMD (0,263) rispetto al soggetto sano (0.237).

COSCE	**MD**					
Muscoli	**ConL**	**ConR**	**IBM L**	**IBM R**	**BMD L**	**BMD R**
VL	0.00166	0.00188	0.0013	0.00163	0.00136	0.00141
ST	0.0017	0.00173	0.0014	0.00172	0.00156	0.00153
BF	0.0016	0.00168	0.0017	0.00162	0.00138	0.00149
VI	0.00171	0.00182	0.0022	0.00131	0.00169	0.00172
VL	0.00168	0.00152	0.0019	0.00123	0.00168	0.00137
RF	0.00157	0.00151	0.0018	0.00173	0.0015	0.00167
VM	0.00175	0.00179	0.0019	0.00172	0.00145	0.00155
Sa	0.00185	0.00142	0.0014	0.00196	0.00159	0.00141
G	0.00164	0.00127	0.0013	0.00188	0.00143	0.00141
AM	0.00182	0.00179	0.0013	0.00172	0.00139	0.00135

Tabella 4.8: Valori medi di MD nei 10 muscoli della coscia (L=left, R=right) di un soggetto sano (CON), un paziente IBM (IBM) e un paziente BMD (BMD)

Nella tabella 4.8 si nota una media dei valori di MD che non si discosta significativamente tra le cosce dei pazienti IBM (1.65E-03) e BMD (1.51E-03) rispetto al soggetto sano (1.67E-03).

GAMBA	**MD**					
Muscoli	**ConL**	**ConR**	**IBM L**	**IBM R**	**BMD L**	**BMD R**
TA	0.0014	0.0016	0.00234	0.00187	0.00135	0.00193
PL	0.001	0.0016	0.00186	0.00233	0.00151	0.00181
TP	0.0018	0.002	0.00266	0.0022	0.00179	0.00241
So	0.0016	0.0016	0.00189	0.00223	0.00174	0.00166
MG	0.0017	0.0011	0.00146	0.00186	0.00173	0.00146
LG	0.0015	0.0017	0.00151	0.00197	0.00201	0.00213

Tabella 4.9: Valori medi di MD nei 6 muscoli della gamba (L=left, R=right) di un soggetto sano (CON), un paziente IBM (IBM) e un paziente BMD (BMD).

Nella tabella 4.9 si nota una media dei valori di MD che non si discosta significativamente tra le gambe dei pazienti IBM (2.03E-03) e BMD (1.79E-03) rispetto al soggetto sano (0.237 E-03).

I parametri e le immagini degli esempi presi in considerazione rispecchiano l'andamento generale dei soggetti appartenenti al medesimo gruppo, con ovvie variazioni dovute all'avanzamento e alla gravità della malattia nei pazienti IBM e BMD e alle normali differenze muscolari che si possono riscontrare negli arti inferiori nella popolazione di controlli sani.

Inoltre il confronto qualitativo tra i tre soggetti presi come esempio è in accordo con quello più generico tra le tre popolazioni che rappresentano: l'aumento della FF nei pazienti rispetto ai controlli sani è, ad esempio, quello che si riscontra anche in un confronto più ampio (aumentando il numero dei soggetti).

Come vedremo nel capitolo sull'analisi statistica, in questo studio ci focalizzeremo più sulla correlazione dei sei parametri (FF, FA, MD, RD, AD e T_2) con gli indici di valutazione clinica, piuttosto che su un confronto tra controlli sani e gruppi di patologici.

4.3 Analisi MRI

In questo paragrafo sono presentati i risultati ottenuti dalle analisi MRI effettuate sui pazienti IBM e BMD. I parametri sono presentati in due modalità:

1. Valor medio in ognuno dei dieci muscoli della coscia e dei sei muscoli della gamba divisi per arto destro e sinistro
2. Valor medio in ognuno dei dieci muscoli della coscia e dei sei della gamba facendo una media tra destra e sinistra.

In particolare i muscoli considerati per la coscia sono: rectus femoris (RF), vastus lateralis (VL), vastus medialis (VM), vastus intermedius (VI), sartorius (Sa), gracilis (G), adductor magnus (AM), semimembranosus (SM), semitendinosus (ST), biceps femoris (BF). Nelle gambe, invece, sono stati considerati i seguenti 6 muscoli: tibialis anterior group (TA), medialis head of gastrocnemius (MG), soleus (So), tibialis posterior (TP), peroneus longus (PL), lateral head of gastrocnemius (LG).

4.3.1 Stima della FF media, del DTI e della Rilassometria T_2

IBM cosce:

	IBM	*Parametri*								
	Muscoli Cosce	**FF**			**FA**			**MD(E-03)**		
L	SM	0,299	±	0,130514	0,27	±	0,055099	1,585	±	0,000204
	ST	0,371	±	0,192216	0,283	±	0,057068	1,633	±	0,000164
	BF	0,249	±	0,104075	0,272	±	0,077856	1,595	±	0,000118
	VI	0,547	±	0,212494	0,242	±	0,040156	1,847	±	0,000259
	VL	0,613	±	0,13485	0,254	±	0,073448	1,697	±	0,000282
	RF	0,487	±	0,146569	0,278	±	0,060898	1,583	±	0,000383
	VM	0,547	±	0,227036	0,216	±	0,040299	2,005	±	0,000312
	Sa	0,425	±	0,202604	0,231	±	0,074152	2,16	±	0,000446
	G	0,453	±	0,197662	0,275	±	0,078851	1,674	±	0,000273
	AM	0,44	±	0,263248	0,222	±	0,066867	1,781	±	0,000252
R	SM	0,333	±	0,100789	0,263	±	0,06236	1,677	±	0,000207
	ST	0,41	±	0,195529	0,254	±	0,052435	1,76	±	0,000137
	BF	0,282	±	0,14186	0,236	±	0,033186	1,78	±	0,000123
	VI	0,545	±	0,201224	0,237	±	0,042797	1,776	±	0,000234
	VL	0,575	±	0,173176	0,223	±	0,031514	1,732	±	0,000267
	RF	0,466	±	0,171474	0,246	±	0,053608	1,568	±	0,000214
	VM	0,489	±	0,227301	0,215	±	0,049296	829,8	±	2,74623
	Sa	0,439	±	0,18971	0,301	±	0,093897	1,795	±	0,000587
	G	0,454	±	0,202089	0,29	±	0,082023	1,655	±	0,000321
	AM	0,396	±	0,247398	0,22	±	0,035782	1,83	±	0,000179

Parametri									IBM	
AD(E-03)			RD(E-03)			T2			*Muscoli Cosce*	
2,028	±	0,000236	1,215	±	0,000206	96,486	±	10,79198	SM	
2,101	±	0,000203	1,219	±	0,000162	93,466	±	17,37866	ST	
2,039	±	0,00021	1,216	±	0,000122	102,049	±	17,38181	BF	
2,305	±	0,000293	1,472	±	0,000254	124,162	±	14,30579	VI	
2,145	±	0,000301	1,398	±	0,000286	107,958	±	17,98142	VL	L
2,061	±	0,000469	1,433	±	0,000353	118,62	±	25,27482	RF	
2,441	±	0,000384	1,623	±	0,000287	119,178	±	21,00101	VM	
2,678	±	0,000634	1,378	±	0,000402	121,652	±	15,71351	Sa	
2,141	±	0,000289	1,246	±	0,000286	101,867	±	27,82965	G	
2,178	±	0,000239	1,381	±	0,000271	101,774	±	21,40092	AM	
2,134	±	0,000274	1,3	±	0,000196	99,373	±	15,5429	SM	
2,223	±	0,00016	1,267	±	0,000149	86,648	±	16,82745	ST	
2,218	±	0,000179	1,277	±	0,000108	91,864	±	13,52114	BF	
2,196	±	0,000271	1,479	±	0,000223	117,226	±	14,52675	VI	
2,132	±	0,000349	1,422	±	0,000232	115,309	±	9,429763	VL	R
1,966	±	0,000241	1,429	±	0,000214	123,447	±	16,63342	RF	
830,3	±	2,746196	1,594	±	2,746247	124,76	±	16,60783	VM	
2,428	±	0,000949	1,35	±	0,000456	127,925	±	20,65976	Sa	
2,163	±	0,000411	1,275	±	0,000297	124	±	20,10095	G	
2,234	±	0,000196	1,416	±	0,000177	108,705	±	20,59433	AM	

Tabella 4.10: Media dei parametri MRI stimati in ognuno dei dieci muscoli delle cosce sinistra e destra dei pazienti IBM

Nella tabella 4.10 sono riportati i valori medi dei sei parametri calcolati in tutti i pazienti IBM a livello dei muscoli della coscia destra e sinistra, i cui valori mediati tra coscia destra e sinistra sono riportati nella tabella 4.11.

	IBM	Parametri								
	Muscoli Cosce	FF			FA			MD(E-03)		
MeanTot	SM	0,313	±	0,115128	0,266	±	0,057551	1,631	±	0,000206
	ST	0,391	±	0,190295	0,269	±	0,055519	1,697	±	0,000161
	BF	0,266	±	0,122603	0,254	±	0,061188	1,688	±	0,000152
	VI	0,546	±	0,201951	0,24	±	0,040563	1,811	±	0,000244
	VL	0,594	±	0,152666	0,239	±	0,057409	1,715	±	0,000269
	RF	0,477	±	0,156057	0,262	±	0,058474	1,576	±	0,000303
	VM	0,518	±	0,223657	0,215	±	0,043944	415,9	±	1,941857
	Sa	0,432	±	0,191681	0,266	±	0,089829	1,977	±	0,000542
	G	0,454	±	0,19507	0,282	±	0,078878	1,664	±	0,000291
	AM	0,418	±	0,250291	0,221	±	0,052343	1,805	±	0,000214

Parametri									IBM	
AD(E-03)			RD(E-03)			T2			Muscoli Cosce	
2,081	±	0,000255	1,257	±	0,000201	97,93	±	13,14087	SM	
2,162	±	0,000189	1,243	±	0,000166	91,057	±	16,87409	ST	
2,129	±	0,000211	1,246	±	0,000149	96,956	±	16,06533	BF	
2,251	±	0,000281	1,475	±	0,000234	120,694	±	14,51022	VI	
2,138	±	0,000318	1,41	±	0,000256	111,633	±	14,50735	VL	MeanTot
2,014	±	0,000367	1,431	±	0,000285	121,033	±	21,02496	RF	
416,3	±	1,941832	1,608	±	1,94187	121,969	±	18,69555	VM	
2,553	±	0,000798	1,364	±	0,000472	124,789	±	18,19716	Sa	
2,152	±	0,000347	1,26	±	0,000285	112,4	±	26,39883	G	
2,206	±	0,000215	1,399	±	0,000225	105,239	±	20,80007	AM	

Tabella 4.11: Media dei parametri MRI stimati tra coscia destra e sinistra in ognuno dei dieci muscoli delle cosce dei pazienti IBM

Nella Tabella 4.11 sono riportati i valori medi dei sei parametri calcolati in tutti i pazienti IBM a livello delle cosce. Non si notano grandi differenze tra cosce destra e sinistra, i cui valori medi ottenuti sono 44.9±18% per la FF, 0.25±0.06 per la FA, 0.0017±0.0003 per la MD, 0.0022±0.0003 per la AD, 0.0013±0.0003 per la RD e 110.3±18 per il T_2

IBM gambe:

	IBM	Parametri		
	Muscoli Gambe	FF	FA	MD(E-03)
L	TA	0,266 ± 0,218928	0,223 ± 0,0707	1,681 ± 0,000459
	PL	0,294 ± 0,155902	0,175 ± 0,063996	1,457 ± 0,000487
	TP	0,135 ± 0,027961	0,222 ± 0,031405	2,126 ± 0,000331
	So	0,18 ± 0,063058	0,213 ± 0,024079	1,775 ± 0,000146
	MG	0,6 ± 0,279224	0,257 ± 0,075747	1,849 ± 0,000315
	LG	0,363 ± 0,235224	0,219 ± 0,053562	1,603 ± 0,000218
R	TA	0,31 ± 0,209999	0,24 ± 0,047101	1,751 ± 0,000353
	PL	0,33 ± 0,186522	0,237 ± 0,059483	1,833 ± 0,000423
	TP	0,194 ± 0,216221	0,231 ± 0,0384	2,325 ± 0,000347
	So	0,233 ± 0,187499	0,224 ± 0,039622	1,861 ± 0,00027
	MG	0,576 ± 0,19892	0,253 ± 0,094629	1,659 ± 0,000551
	LG	0,362 ± 0,245303	0,226 ± 0,051151	1,771 ± 0,000407

Parametri			IBM	
AD(E-03)	RD(E-03)	T2	Muscoli Gambe	
2,154 ± 0,000644	1,445 ± 0,000365	75,769 ± 28,11257	TA	
1,765 ± 0,000588	1,304 ± 0,000403	68,88 ± 28,55158	PL	
2,614 ± 0,000434	1,882 ± 0,000286	91,598 ± 18,44342	TP	L
2,177 ± 0,00019	1,574 ± 0,000127	81,315 ± 17,0907	So	
2,372 ± 0,000497	1,587 ± 0,000243	94,702 ± 31,82135	MG	
2,002 ± 0,000377	1,404 ± 0,000195	81,557 ± 28,8498	LG	
2,205 ± 0,000438	1,523 ± 0,000323	90,807 ± 40,76455	TA	
2,32 ± 0,000597	1,59 ± 0,000364	85,308 ± 27,04059	PL	
2,865 ± 0,00041	2,055 ± 0,000324	92,885 ± 19,39656	TP	R
2,31 ± 0,000337	1,637 ± 0,00025	85,155 ± 20,065	So	
2,203 ± 0,000755	1,386 ± 0,000459	97,366 ± 46,78634	MG	
2,213 ± 0,00053	1,55 ± 0,000357	91,179 ± 28,60181	LG	

Tabella 4.12: Media dei parametri MRI stimati in ognuno dei sei muscoli delle gambe sinistra e destra dei pazienti IBM

Nella tabella 4.12 sono riportati i valori medi dei sei parametri calcolati in tutti i pazienti IBM a livello dei muscoli della gamba destra e sinistra i cui valori mediati tra coscia destra e sinistra sono riportati nella tabella 4.13

	IBM	Parametri								
	Muscoli Gambe	FF			FA			MD(E-03)		
MeanTot	TA	0,287	±	0,210494	0,231	±	0,059267	1,716	±	0,000396
	PL	0,312	±	0,168757	0,206	±	0,068061	1,645	±	0,000473
	TP	0,165	±	0,153438	0,226	±	0,034548	2,226	±	0,000344
	So	0,207	±	0,139193	0,219	±	0,032478	1,818	±	0,000216
	MG	0,588	±	0,196752	0,255	±	0,083667	1,754	±	0,000444
	LG	0,362	±	0,234525	0,223	±	0,051227	1,687	±	0,000341

Parametri									IBM	
AD(E-03)			RD(E-03)			T2			Muscoli Gambe	
2,179	±	0,000538	1,484	±	0,000339	83,288	±	35,02673	TA	
2,042	±	0,000644	1,447	±	0,000402	77,094	±	28,40876	PL	
2,739	±	0,000432	1,969	±	0,000311	92,227	±	18,48108	TP	MeanTot
2,244	±	0,000276	1,605	±	0,000197	83,235	±	18,29396	So	
2,288	±	0,00063	1,487	±	0,000373	96,034	±	39,06931	MG	
2,108	±	0,000462	1,477	±	0,00029	86,368	±	28,46293	LG	

Tabella 4.13: Media dei parametri MRI stimati tra gamba destra e sinistra in ognuno dei sei muscoli delle gambe dei pazienti IBM

Nella tabella 4.13 sono riportati i valori medi dei sei parametri calcolati in tutti i pazienti IBM a livello delle gambe. Non si notano grandi differenze tra gambe destra e sinistra, i cui valori medi ottenuti sono 32±18% per la FF, 0.23±0.05 per la FA, 0.0018±0.0003 per la MD, 0.0023±0.0005 per la AD, 0.0015±0.0003 per la RD e 86.37±27.9 per il T_2

BMD cosce:

	BMD	*Parametri*								
	Muscoli Cosce	**FF**			**FA**			**MD(E-03)**		
	SM	0,523	±	0,352707	0,33	±	0,078203	1,469	±	0,000158
	ST	0,447	±	0,338661	0,353	±	0,141368	1,495	±	0,000183
	BF	0,576	±	0,317237	0,393	±	0,121863	1,542	±	0,000109
	VI	0,426	±	0,277174	0,229	±	0,052968	1,669	±	0,000162
L	VL	0,359	±	0,23467	0,23	±	0,058067	1,589	±	0,000115
	RF	0,247	±	0,235594	0,216	±	0,034196	1,607	±	0,000178
	VM	0,502	±	0,271102	0,221	±	0,048257	1,814	±	0,000513
	Sa	0,242	±	0,133998	0,232	±	0,037302	1,563	±	0,000165
	G	0,239	±	0,194216	0,292	±	0,055848	1,473	±	0,000111
	AM	0,642	±	0,336507	0,296	±	0,076862	1,625	±	0,000286
	SM	0,537	±	0,369739	0,348	±	0,120186	1,615	±	0,000125
	ST	0,524	±	0,367228	0,326	±	0,093786	1,546	±	0,000187
	BF	0,57	±	0,337451	0,316	±	0,081453	1,538	±	0,000222
	VI	0,41	±	0,265919	0,222	±	0,037783	1,666	±	0,000144
R	VL	0,337	±	0,2439	0,224	±	0,044702	1,611	±	0,000212
	RF	0,213	±	0,210689	0,206	±	0,029463	1,598	±	0,000112
	VM	0,504	±	0,278568	0,202	±	0,02413	1,772	±	0,000245
	Sa	0,227	±	0,118841	0,243	±	0,03488	1,55	±	9,32E-05
	G	0,239	±	0,251497	0,27	±	0,038194	1,488	±	0,000127
	AM	0,646	±	0,333796	0,305	±	0,075589	1,684	±	0,00015

Parametri									BMD	
AD(E-03)			RD(E-03)			T2			*Muscoli Cosce*	
1,979	±	0,000157	1,215	±	0,000184	96,812	±	38,55702	SM	
2,049	±	0,000221	1,219	±	0,000248	86,106	±	42,88612	ST	
2,194	±	0,000207	1,216	±	0,00017	103,021	±	31,6893	BF	
2,064	±	0,000264	1,472	±	0,000133	75,464	±	36,48255	VI	
1,972	±	0,000197	1,398	±	0,000103	73,01	±	35,97886	VL	**L**
1,955	±	0,000188	1,433	±	0,000177	70,369	±	25,39833	RF	
2,197	±	0,00054	1,623	±	0,000504	100,534	±	36,18518	VM	
1,933	±	0,000198	1,378	±	0,000158	84,978	±	31,83325	Sa	
1,926	±	0,000134	1,246	±	0,000118	73,573	±	30,50687	G	
2,113	±	0,000275	1,381	±	0,000311	103,993	±	39,7152	AM	
2,244	±	0,000335	1,3	±	0,000133	96,882	±	31,45359	SM	
2,105	±	0,00033	1,267	±	0,000186	89,495	±	39,69684	ST	
2,062	±	0,000275	1,277	±	0,000233	101,949	±	33,59905	BF	
2,041	±	0,000251	1,479	±	0,000101	93,044	±	34,01631	VI	
1,988	±	0,000314	1,422	±	0,000177	90,193	±	29,40812	VL	**R**
1,937	±	0,000131	1,429	±	0,000109	93,079	±	27,75027	RF	
2,129	±	0,000288	1,159	±	0,000227	98,221	±	31,3567	VM	
1,948	±	0,000167	1,35	±	6,94E-05	95,505	±	25,19259	Sa	
1,915	±	0,000167	1,275	±	0,000118	79,465	±	21,1235	G	
2,221	±	0,000196	1,416	±	0,000178	109,44	±	37,89459	AM	

Tabella 4.14: Media dei parametri MRI stimati in ognuno dei dieci muscoli delle cosce sinistra e destra dei pazienti BMD

Nella tabella 4.14 sono riportati i valori medi dei sei parametri calcolati in tutti i pazienti BMD a livello dei muscoli della coscia destra e sinistra. Non si notano grandi differenze tra cosce destra e sinistra, i cui valori mediati tra coscia destra e sinistra sono riportati nella tabella 4.15.

BMD	Parametri								
	Muscoli Cosce	FF			FA			MD(E-03)		
MeanTot	SM	0,53	±	0,350605	0,339	±	0,098792	1,542	±	0,000157
	ST	0,483	±	0,343415	0,34	±	0,117177	1,521	±	0,000181
	BF	0,573	±	0,317738	0,354	±	0,108255	1,54	±	0,00017
	VI	0,418	±	0,263633	0,225	±	0,044787	1,668	±	0,000149
	VL	0,348	±	0,232453	0,227	±	0,050349	1,6	±	0,000166
	RF	0,23	±	0,217522	0,211	±	0,031391	1,63	±	0,000144
	VM	0,503	±	0,266655	0,212	±	0,038201	1,793	±	0,00039
	Sa	0,234	±	0,123104	0,237	±	0,035461	1,556	±	0,00013
	G	0,239	±	0,217981	0,281	±	0,047804	1,48	±	0,000116
	AM	0,644	±	0,325154	0,301	±	0,074091	1,655	±	0,000224

Parametri									BMD	
AD(E-03)			RD(E-03)			T2			Muscoli Cosce	
2,112	±	0,000288	1,257	±	0,000162	96,847	±	34,13451	SM	
2,077	±	0,000274	1,243	±	0,000214	87,801	±	40,12637	ST	
2,128	±	0,000246	1,246	±	0,0002	102,485	±	31,68785	BF	
2,052	±	0,00025	1,475	±	0,000115	84,254	±	35,39308	VI	
1,98	±	0,000254	1,41	±	0,000141	81,601	±	33,08027	VL	MeanTot
1,946	±	0,000158	1,431	±	0,000143	81,724	±	28,32782	RF	
2,163	±	0,000421	1,608	±	0,000379	99,377	±	32,8678	VM	
1,941	±	0,000178	1,364	±	0,000119	90,242	±	28,37028	Sa	
1,92	±	0,000147	1,26	±	0,000115	76,519	±	25,63451	G	
2,167	±	0,000238	1,399	±	0,000247	106,716	±	37,76079	AM	

Tabella 4.15: Media dei parametri MRI stimati tra coscia destra e sinistra in ognuno dei dieci muscoli delle cosce dei pazienti BMD

Nella tabella 4.15 sono riportati i valori medi dei sei parametri calcolati in tutti i pazienti BMD a livello delle cosce. Non si notano grandi differenze tra cosce destra e sinistra, i

cui valori medi ottenuti sono 42±27% per la FF, 0.27±0.06 per la FA, 0.0016±0.0002 per la MD, 0.002±0.0003 per la AD, 0.0014±0.0002 per la RD e 90.8±32 per il T_2.

BMD gambe:

	BMD	*Parametri*								
	Muscoli Gambe	**FF**			**FA**			**MD(E-03)**		
L	TA	0,182	±	0,17211	0,223	±	0,0255	1,543	±	0,000201
	PL	0,251	±	0,214304	0,222	±	0,041877	1,438	±	0,000214
	TP	0,105	±	0,037161	0,223	±	0,023086	1,943	±	0,00015
	So	0,216	±	0,113556	0,225	±	0,037664	1,64	±	0,000139
	MG	0,397	±	0,279224	0,282	±	0,093371	1,567	±	0,000168
	LG	0,297	±	0,233497	0,28	±	0,103887	1,602	±	0,000481
R	TA	0,192	±	0,176249	0,255	±	0,035223	1,6	±	0,000152
	PL	0,253	±	0,241154	0,241	±	0,056891	1,512	±	0,000237
	TP	0,114	±	0,060223	0,254	±	0,029363	1,911	±	0,000358
	So	0,187	±	0,088179	0,231	±	0,060683	1,629	±	0,000244
	MG	0,363	±	0,268909	0,273	±	0,100295	1,516	±	0,000369
	LG	0,279	±	0,167603	0,269	±	0,051769	1,712	±	0,000233

Parametri									BMD	
AD(E-03)			RD(E-03)			T2			*Muscoli Gambe*	
1,909	±	0,000242	1,36	±	0,000184	66,123	±	15,7972	TA	
1,783	±	0,000287	1,265	±	0,00019	70,214	±	34,1096	PL	
2,378	±	0,000182	1,726	±	0,000143	74,988	±	19,40601	TP	**L**
2,042	±	0,000176	1,438	±	0,000134	66,93	±	21,31465	So	
2,072	±	0,000274	1,315	±	0,000184	86,807	±	37,8461	MG	
2,164	±	0,000734	1,32	±	0,000381	78,658	±	34,448	LG	
2,059	±	0,000268	1,371	±	0,000103	70,657	±	25,60401	TA	
1,911	±	0,000379	1,313	±	0,000186	75,664	±	25,34085	PL	
2,418	±	0,000403	1,657	±	0,000338	67,461	±	14,8546	TP	**R**
2,062	±	0,000335	1,413	±	0,00022	68,593	±	22,00232	So	
1,994	±	0,000549	1,277	±	0,000312	80,132	±	37,30946	MG	
2,208	±	0,000359	1,463	±	0,000188	70,533	±	30,72327	LG	

Tabella 4.16: Media dei parametri MRI stimati in ognuno dei sei muscoli delle gambe sinistra e destra dei pazienti BMD

Nella tabella 4.16 sono riportati i valori medi dei sei parametri calcolati in tutti i pazienti BMD a livello dei muscoli della gamba destra e sinistra i cui valori mediati tra coscia destra e sinistra sono riportati nella tabella 4.17.

BMD	Muscoli Gambe	Parametri FF			Parametri FA			Parametri MD(E-03)		
MeanTot	TA	0,187	±	0,169065	0,239	±	0,034148	1,572	±	0,000175
	PL	0,252	±	0,221315	0,231	±	0,049419	1,475	±	0,000222
	TP	0,11	±	0,048795	0,238	±	0,030021	1,927	±	0,000267
	So	0,201	±	0,099796	0,228	±	0,049078	1,634	±	0,000193
	MG	0,38	±	0,266494	0,278	±	0,094114	1,542	±	0,000279
	LG	0,288	±	0,197373	0,274	±	0,079808	1,657	±	0,000371

Parametri AD(E-03)			Parametri RD(E-03)			Parametri T2			BMD Muscoli Gambe	
1,984	±	0,00026	1,365	±	0,000145	68,39	±	20,76965	TA	
1,847	±	0,000332	1,289	±	0,000184	72,939	±	29,28425	PL	
2,398	±	0,000304	1,692	±	0,000254	71,224	±	17,20639	TP	MeanTot
2,052	±	0,00026	1,426	±	0,000177	67,761	±	21,03188	So	
2,033	±	0,000423	1,296	±	0,000249	83,469	±	36,61815	MG	
2,186	±	0,000561	1,392	±	0,000301	74,596	±	31,93905	LG	

Tabella 4.17: Media dei parametri MRI stimati tra gamba destra e sinistra in ognuno dei sei muscoli delle gambe dei pazienti BMD

Nella tabella 4.17 sono riportati i valori medi dei sei parametri calcolati in tutti i pazienti BMD a livello delle gambe. Non si notano grandi differenze tra gambe destra e sinistra, i cui valori medi ottenuti sono 29±19% per la FF, 0.27±0.08 per la FA, 0.0016±0.0004 per la MD, 0.0022±0.0006 per la AD, 0.0014±0.0003 per la RD e 74.6±31.9 per il T_2

4.3.2 Correlazione dei parametri MRI con gli score clinici

In questo paragrafo sono mostrati i risultati ottenuti dalle analisi statistiche di correlazione dei sei parametri con gli score clinici. I valori sono presentati in tabelle in cui il primo valore rappresenta l'indice di correlazione ρ, il secondo il numero di osservazioni ed il terzo il p-value.

4.3.2.1 IBM

IBM-FRS

	IBM-FRS PARAMETRI	ρ	Numero osservzioni	p-value
Cosce	FF	1	11	0,6074
	FA	-0,3357	11	0,3129
	MD	0,5793	11	0,0618
	AD	0,4977	11	0,1193
	RD	0,6575	11	0,0279
	T2	0,3219	11	0,3344
Gambe	FF	-0,5426	11	0,0846
	FA	0,2143	11	0,5269
	MD	-0,1655	11	0,6267
	AD	-0,1104	11	0,7467
	RD	-0,2759	11	0,4116
	T2	-0,492	11	0,1243

Tabella 4.18: Correlazione tra i parametri MRI e la scala IBM-FRS nei pazienti IBM.

Come si può osservare dalla tabella 4.18 soltanto la correlazione con il parametro RD nelle cosce da un p-value significativo (minore di 0.05): il valore positivo ed elevato di ρ (0.6575) indica rispettivamente una correlazione direttamente proporzionale e forte tra parametro e score clinico.

IBM-FRS- Arti Inferiori

	IBM-FRS arti inferiori PARAMETRI	ρ	Numero osservzioni	p-value
Cosce	FF	-0,2818	11	0,4011
	FA	-0,0047	11	0,9891
	MD	0,1785	11	0,5995
	AD	0,0683	11	0,8419
	RD	0,2067	11	0,542
	T2	-0,202	11	0,5514
Gambe	FF	-0,4181	11	0,2007
	FA	0,3837	11	0,244
	MD	-0,0564	11	0,8692
	AD	-0,0799	11	0,8155
	RD	-0,1738	11	0,6093
	T2	-0,4369	11	0,1791

Tabella 4.19: Correlazione tra i parametri MRI e la scala IBM-FRS per gli Arti Inferiori nei pazienti IBM.

Come si può osservare dalla tabella 4.19 non sono risultate correlazioni significative tra i parametri MRI e lo score clinico IBM-FRS per gli Arti Inferiori.

6 MWT

	6MWT PARAMETRI	ρ	Numero osservzioni	p-value
Cosce	FF	-0,5333	9	0,1392
	FA	0,2167	9	0,5755
	MD	0,0833	9	0,8312
	AD	0,0167	9	0,9659
	RD	0,0833	9	0,8312
	T2	-0,2333	9	0,5457
Gambe	FF	0,1	9	0,798
	FA	-0,25	9	0,5165
	MD	-0,2833	9	0,46
	AD	-0,3833	9	0,3085
	RD	-0,1667	9	0,6682
	T2	0,05	9	0,8984

Tabella 4.20: Correlazione tra i parametri MRI e il 6MWT nei pazienti IBM.

Come si può osservare dalla tabella 4.20 non sono risultate correlazioni significative tra i parametri MRI e il Test 6 MWT.

Test funzionale cronometrato dei 10 metri

	Test 10 metri PARAMETRI	ρ	Numero osservzioni	p-value
Cosce	FF	0,5	9	0,1705
	FA	-0,3	9	0,4328
	MD	0,0667	9	0,8647
	AD	0,0753	9	0,8473
	RD	0	9	1
	T2	0,2667	9	0,4879
Gambe	FF	-0,15	9	0,7001
	FA	0,1833	9	0,6368
	MD	-0,1333	9	0,7324
	AD	-0,0333	9	0,9322
	RD	-0,2333	9	0,5457
	T2	-0,45	9	0,2242

Tabella 4.21: Correlazione tra i parametri MRI e il Test funzionale cronometrato di 10 metri nei pazienti IBM.

Come si può osservare dalla tabella 4.21 non sono risultate correlazioni significative tra i parametri MRI e il Test funzionale cronometrato di 10 metri.

Stand Up Test da Terra cronometrato

I dati relativi a questo score clinico era disponibile per un unico soggetto, perciò non è stato possibile effettuare le correlazioni.

4.3.2.2 BMD

North Star

	North Star PARAMETRI	ρ	Numero osservzioni	p-value
Cosce	FF	-0,7731	9	0,0145
	FA	-0,6723	9	0,0473
	MD	0,4454	9	0,2296
	AD	0,0504	9	0,8975
	RD	0,5378	9	0,1353
	T2	-0,6891	9	0,04
Gambe	FF	-0,7983	9	0,0099
	FA	-0,6135	9	0,0789
	MD	0,084	9	0,8298
	AD	-0,4202	9	0,2602
	RD	0,2941	9	0,4423
	T2	-0,9496	9	0,0001

Tabella 4.22: Correlazione tra i parametri MRI e il Valutazione clinica North Star nei pazienti BMD.

Come si può osservare dalla tabella 4.22 le correlazioni significative (p-value molto minore di 0.05) sono con la FF di cosce e gambe, la FA delle cosce ed il T_2 di cosce e gambe: i valori negativi ed elevati di ρ indicano rispettivamente una correlazione inversamente proporzionale e forte tra parametri e score clinico.

6 MWT

	6MWT PARAMETRI	ρ	Numero osservzioni	p-value
Cosce	FF	-0,7619	8	0,028
	FA	-0,5238	8	0,1827
	MD	0,4524	8	0,2604
	AD	0,0714	8	0,8665
	RD	0,5238	8	0,1827
	T2	-0,619	8	0,1017
Gambe	FF	-0,7619	8	0,028
	FA	-0,7143	8	0,0465
	MD	-0,3571	8	0,3851
	AD	-0,5952	8	0,1195
	RD	-0,0476	8	0,9108
	T2	-0,881	8	0,0039

Tabella 4.23: Correlazione tra i parametri MRI e Test 6 MWT nei pazienti BMD.

Come si può osservare dalla tabella 4.23 le correlazioni significative (p-value molto minore di 0.05) sono con la FF di cosce e gambe, la FA delle gambe ed il T_2 delle gambe: i valori negativi ed elevati di ρ indicano rispettivamente una forte correlazione inversamente proporzionale tra parametri e score clinico.

Test funzionale cronometrato dei 10 metri

	Test 10 metri PARAMETRI	ρ	Numero osservzioni	p-value
Cosce	FF	0,5476	8	0,16
	FA	0,4524	8	0,2604
	MD	-0,3333	8	0,4198
	AD	0,0476	8	0,9108
	RD	-0,3333	8	0,4198
	T2	0,4048	8	0,3199
Gambe	FF	0,6905	8	0,058
	FA	0,5	8	0,207
	MD	0,2381	8	0,5702
	AD	0,4762	8	0,2329
	RD	0,0238	8	0,9554
	T2	0,9524	8	0,0003

Tabella 4.24: Correlazione tra i parametri MRI e il Test funzionale cronometrato di 10 metri nei pazienti BMD.

Come si può osservare dalla tabella 4.24 soltanto la correlazione con il parametro T_2 delle gambe mostra un p-value significativo (minore di 0.05): il valore positivo ed elevato di ρ (0.9524) indica rispettivamente una correlazione direttamente proporzionale e forte tra parametro e score clinico.

Stand Up Test da terra cronometrato

	Stand Up Test PARAMETRI	ρ	Numero osservzioni	p-value
Cosce	FF	0,6667	8	0,071
	FA	0,40488	8	0,3199
	MD	-0,4286	8	0,2894
	AD	0	8	1
	RD	-0,381	8	0,3518
	T2	0,5952	8	0,1195
Gambe	FF	0,8095	8	0,0149
	FA	0,6667	8	0,071
	MD	0,2381	8	0,5702
	AD	0,5238	8	0,1827
	RD	-0,0476	8	0,9108
	T2	0,9048	8	0,002

Tabella 4.25 Correlazione tra i parametri MRI e il risultato valutativo dello Stand Up Test da terra cronometrato.

Come si può osservare dalla tabella 4.25 le correlazioni significative (p-value molto minore di 0.05) sono con la FF delle gambe ed il T_2 delle gambe: i valori positivi ed elevati di ρ (0.8095 e 0.9048) indicano rispettivamente una forte correlazione direttamente proporzionale tra parametri e score clinico.

5. DISCUSSIONI

Obiettivo del presente lavoro era la correlazione dei parametri quantitativi di RM, misurati per entrambi i distretti degli arti inferiori, con i punteggi clinici di gravità di malattia. La ricerca di tale correlazione risulta finalizzata, in ultima istanza, all'individuazione di biomarker oggettivi di progressioen di malattia che permettano di valutare l'efficacia di eventuali terapie.

I risultati ottenuti riguardanti l'infiltrazione lipidica e lo studio del tempo di rilassamento T2 sono risultati coerenti con quanto riportato in letteratura. Diversamente, l'analisi DTI ha documentato alterazioni che non correlano significativamente con le valutazioni cliniche.

Dall'analisi MRI inoltre emergono altri dati coerenti con la letteratura: i parametri FF e T2 calcolati per il distretto delle cosce sono risultati sempre maggiori di quelli calcolati per il distretto corporeo delle gambe [2]. Il tempo di rilassamento T2, elevato nei muscoli distrofici, è stato collegato alla presenza di danno ed infiammazione muscolare ed infiltrazione di grasso nel tessuto [1]. Tale considerazione è coerente con i risultati ottenuti in questo studio, sottolineando come valori alti di T2 (circa 90 ms) siano strettamente correlati a valori alti di FF (42%) e questo è particolarmente evidente in corrispondenza delle cosce. Tale correlazione diretta è confermata dal fatto che ad un valore di FF delle gambe inferiore rispetto a quello delle cosce (29%) corrisponde ad un valore di T2 delle gambe sempre inferiore rispetto a quello delle cosce (circa 74 ms).

Per quanto riguarda il DTI, i valori di FA dei pazienti (sia di IBM che di BMD) sono stati trovati superiori rispetto ai valori di FA dei controlli. In entrambe le malattie si riscontra un deficit della forza muscolare associato all'infiltrazione lipidica: è probabile che una maggior quantità di grasso non permetta una diffusione isotropa a causa della natura idrofobica che lo caratterizza, vincolando le molecole d'acqua a diffondere in direzioni specifiche. Tale analisi, insieme ai valori ottenuti di FA, porterebbe all'ipotesi che il grasso si accumuli nel tessuto muscolare non casualmente ma seguendo un disegno strutturale di deposito ordinato, creando dunque un percorso che vincola appunto la diffusione delle molecole di acqua.

Per quanto riguarda l'analisi statistica, i risultati più significativi sono stati ottenuti per i pazienti BMD per i quali sono state trovate correlazioni tra i parametri MRI e gli score clinici in tutti i confronti, mentre per quanto riguarda i pazienti IBM soltanto un confronto ha mostrato una correlazione significativa.

Nella fattispecie:

BMD

- North Scale:
  I parametri FF e T2 di entrambi i distretti sono risultati fortemente correlati con proporzionalità inversa. Tale correlazione inversa è stata riscontrata anche per l'FA ma unicamente per il distretto delle cosce (FF: ρ=[-0.7983 -0.7731]; T2: ρ=[-0.9496 -0.6892]; FAcosce: ρ= -0.6723). Tali risultati spiegano come all'aumentare di questi parametri – che corrispondono ad un aumento della infiltrazione lipidica, dell'infiammazione e del danno muscolare – ci si aspetti un punteggio inferiore del test preso in analisi nel confronto, sottolineando il calo delle prestazioni fisiche atteso.

- *6MWT*
  I parametri FF e T2 di entrambi i distretti sono risultati fortemente correlati con proporzionalità inversa. Tale correlazione inversa è stata riscontrata anche per l'FA ma unicamente per il distretto delle cosce (FF: ρ=[-0.7619 -0.7619]; T2: ρ=[-0.881 -0.7143]). Tali risultati spiegano come all'aumentare di questi parametri – che corrispondono ad un aumento della infiltrazione lipidica, dell'infiammazione e del danno muscolare – ci si aspetti un punteggio inferiore del test preso in analisi nel confronto, sottolineando il calo delle prestazioni fisiche atteso.

- *Test funzionale cronometrato dei 10 metri*
  Il parametro T2 delle gambe è risultato fortemente correlato direttamente con il test in analisi. Valori alti di T2, come sottolineato più volte in questo lavoro, indicano una situazione patologica che ben spiega i maggiori tempi di percorrenza cronometrati durante il test (T2: ρ=-0.9524).

- *Stand Up Test da Terra cronometrato*

In questa analisi di correlazione i parametri T2 ed FF delle gambe sono risultati fortemente correlati direttamente con il test clinico. Tempi maggiori per eseguire il task motorio sono attesi in caso di soggetto patologico, caratterizzato generalmente da valori maggiori rispetto al soggetto sano dei due parametri in analisi (FF: ρ= 0.8095; T2: ρ= 0.9048).

IBM

- *IBM-FRS*
  Tale confronto è l'unico che ha portato un risultato significativamente valido nell'analisi della patologia IBM. In particolare, il parametro RD è correlato positivamente con il test clinico (FF: ρ= 0.6575). RD maggiori, quindi, sembrerebbero essere associati ad uno stato meno patologico in quanto all'aumentare del parametro RD aumenta anche la prestazione al test.

Negli altri confronti non sono state rilevate correlazioni significative tra i parametri di qRM e gli score dei test clinici.

5.1 Conclusioni e Sviluppi Futuri

Lo scopo di questo studio era quello di convalidare l'efficacia della Risonanza Magnetica Quantitativa (qRM) come metodo di indagine e valutazione oggettiva dell'outcome clinico effettuando una correlazione tra le misure di qRM e le valutazioni cliniche e miometriche nei pazienti affetti da IBM e BMD.

Alla luce dei risultati ottenuti nelle analisi della correlazione tra parametri qRM e test clinici, possiamo affermare che tali parametri risultano efficienti biomarker, ma soltanto per i pazienti BMD, mentre alcuna evidenza è stata riscontrata per gli IBM. Questo potrebbe essere dovuto alla eterogeneità troppo elevata del campione sia a livello di differenze di gravità della malattia, che di età. All'interno di uno stesso gruppo, infatti, ci sono sia pazienti con una lieve manifestazione della miopatia, che pazienti in cui l'infiltrazione lipidica è estremamente elevata.

Per migliorare l’accuratezza dell’analisi, potrebbe essere efficace tracciare le ROI in modo da prendere in considerazione unicamente il muscolo in analisi ignorando il più possibile le strutture limitrofe.

Includere i controlli sani nell’analisi statistica in modo da riuscire a caratterizzare meglio le due patologie potrebbe essere un’ulteriore strategia utile.

Sempre riguardo la popolazione in analisi, condurre uno studio concentrandosi su una popolazione omogenea dal punto di vista dell’età potrebbe rendere i risultati statistici più accurati. Altri fattori come il tempo di insorgenza della malattia e la gravità della malattia stessa dovrebbero essere considerati nelle indagini statistiche in modo da poter studiare eventuali correlazioni tra questi fattori in modo più dettagliato. Alla luce dell’efficacia documentata dei parametri qRM come biomarker di queste miopatie nei soggetti particolarmente giovani, un primo suggerimento potrebbe essere quello di omogenizzare la popolazione considerando età che si concentrino nei range dell’infanzia.

In conclusione, anche se si è trattato di uno studio preliminare pilota per lo studio di queste due malattie che poco riscontro trovano in letteratura, questo lavoro sottolinea e conferma l’importanza della MRI negli studi sulle patologie muscolari.

BIBLIOGRAFIA

[1] Arpan I, Willcocks RJ, Forbes SC et al. “Examination of Effects of Corticosteroids on Skeletal Muscles of Boys with DMD Using MRI and MRS.” Neurology 83.11 (2014): 974–980. PMC. Web. 18 July 2017.

[2] Morrow JM, Sinclair CDJ, Fischmann A et al. “MRI Biomarker Assessment of Neuromuscular Disease Progression: A Prospective Observational Cohort Study.” The Lancet. Neurology 15.1 (2016): 65–77. PMC. Web. 18 July 2017.

[3] Basser PJ, Mattiello J, LeBihan D, “MR diffusion tensor spectroscopy and imaging” Biophysical Journal, vol. 66, no. 1, pp. 259–267, 1994.

[4] Ponrartana S, Ramos-Platt L, Wren TA et al. “Effectiveness of diffusion tensor imaging in assessing disease severity in Duchenne muscular dystrophy: preliminary study”, Pediatric Radiology. 2014.

[5] Goebel HH, Sewry CA, Weller RO, “Muscle Disease: Pathology and Genetics”, 2nd Edition, Wiley-Blackwell, 2013.

[6] Muscular Dystrophy Information Page, National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS). March 4, 2016. Retrieved 12 September 2016.

[7] Kim JB, “Channelopaties”, Korean J Pediatr. 2014 January; 57(1): 1-18.

[8] Tubridy N, Fontaine B, Eymard B, “Congenital myopathies and congenital muscular dystrophies”, Current Opinion in Neurology. 2001 October; 14:575-582.

[9] Bashar K, Lorenzo N et al., “Metabolic Myopathies”, October, 2016.

[10] Pfeffer G, Chinnery PF, “Diagnosis and treatment of mitocondrial myopathies”, Annals of Medicine. 2013 February; 45(1):4-16.

[11] Malik A, Hayat G, Kalia JS, Guzman MA, “Idiopathic Inflammatory Myopathies: Clinical Approach and Management”, Frontiers in Neurology. 2016 May; 7:64.

[12] http://www.studiotripoli.org/index.php/it/pages/46-0/malattie-dei-muscoli-(miopatie).html.

[13] Conte G, Gioia L, “Scrofola del sistema muscolare”, Annali Clinici dell’Ospedale degli Incurabili, volume 91 pag 544-45, 1836.

[14] Duchenne DB, “Reserches sur la paralysie musculaire pseudo-hypertrophique ou paralysie myo-sclerosique”, Archives générales de medicine; 11:5, 1886.

[15] Hoffman EP, Brown RH Jr, Kunkel LM, “Dystrophin: The protein product of the duchenne muscular dystrophy locus”, Cell. 1987 Dec 24; 51(6):919-28.

[16] Becker PE, Kiener F, “A new x-chromosonal muscular dystrophy”, Archiv fur Psychiatrie und Nervenkrankheiten. 1955; 193(4): 427-48.

[17] www.laboratoriogenoma.eu/

[18] Beggs AH, Hoffman EP, Snyder JR et al. “Exploring the molecular basis for variability among patients with Becker muscular dystrophy: dystrophin gene and protein studies.” Am J Hum Genet. 1991 July; 49:54–67.

[19]. Melacini P, Fanin M, Danieli GA et al. “Cardiac involvement in Becker muscular dystrophy”. J Am Coll Cardiol. 1993 Dec; 22:1927–34.

[20] Kaspar RW, Allen HD, Montanaro F, “Current understanding and management of dilated cardiomyopathy in Duchenne and Becker muscular dystrophy”. Journal of the American Academy of Nurse Practitioners. 2009; 21(5):241-249.

[21] http://www.cabiatl.com/mricro/mricron/

[22] Malik A, Hayat G, Kalia JS, Guzman MA, “Idiopathic Inflammatory Myopathies: Clinical Approach and Management”. Frontiers in Neurology. 2016; 7:64.

[23] Bohan A, Peter JB, “Polymyositis and dermatomyositis (first of two parts)” N Engl J Med. 1975;292:344.

[24] Dalakas MC, Hohlfeld R, “Polymyositis and dermatomyositis”, Lancet, 1991.

[25] Griggs RC, Askanas V, DiMauro S et al. “Inclusion body myositis and myopathies”. Ann Neurol. 1995;38(5):705–713.

[26] Dalakas MC “Polymyositis, dermatomyositis, and inclusion-body myositis”. N Engl J Med. 1991 Nov 21;325(21):1487-98.

[27] Marden FA, Connolly AM, Siegel MJ, Rubin DA, “Compositional analysis of muscle in boys with Duchenne muscular dystrophy using MR imaging”. Skeletal Radiol. 2005;34:140–148

[28] www.orphanet.net

[29] Yunis E, Samaha F, “Inclusion body myositis”. Lab Invest, 1971.

[30] Lotz BP, Engel AG, Nishino H et al. “Inclusion body myositis. Observations in 40 patients”. Brain. 1989 Jun;112 (Pt 3):727-47.

[31] Amato AA, Gronseth GS, Jackson CE et al. “Inclusion body myositis: clinical and pathological boundaries”. Ann Neurol. 1996 Oct;40(4):581-6.

[32] Willis TA, Hollingsworth KG, Coombs A et al. “Quantitative muscle MRI as an assessment tool for monitoring disease progression in LGMD2I: a multicentre longitudinal study”, PLoS One. 2013 Aug 14;8(8)

[33] Willcocks RJ, Arpan I, Forbes SC et al. “Longitudinal measurements of MRI-T2 in boys with Duchenne muscular dystrophy: effects of age and disease progression”, Neuromuscul Disord. 24 (2014), pp. 393-401

[34] Hogrel JY, Wary C, Moraux A et al. “Longitudinal functional and NMR assessment of upper limbs in Duchenne muscular dystrophy”, Neurology. 2016 Mar 15;86(11):1022-30.

[35] Arpan I, Forbes SC, Lott DJ et al. “T2 mapping provides multiple approaches for the characterization of muscle involvement in neuromuscolar diseases: a cross sectional study of lower leg muscles in 5-15 year old boys with Duchenne muscular dystrophy”, NMR Biomed. 2013 Mar; 26(3): 320–328.

[36] Forbes SC, Walter GA, Rooney WD et al. “Skeletal muscles of ambulant children with duchenne muscular dystrophy: validation of multicenter study of evaluation with MR imaging and MR spectroscopy”, Radiology. 2013 Oct; 269(1): 198–207.

[37] Wren TAL, Bluml S, Tseng-Ong L, Gilsanz V, “Three-Point Technique of Fat Quantification of Muscle Tissue as a Marker of Disease Progression in Duchenne Muscular Dystrophy: Preliminary Study” AJR. 2008 Jan;190(1):W8-12.

[38] Wokke B, van den Bergen J, Aartsma-Rus A et al. “Quantitative assessment of the inter- and intra-muscle fat fraction variability in Duchenne muscular dystrophy patients”, 2011.

[39] Triplett WT, Baligand C, Forbes SC et al. “Chemical shift-based MRI to measure fat fractions in dystrophic skeletal muscle”, Magn Reson Med. 2014 Jul;72(1):8-19.

[40] McMillan AB, Shi DA, Pratt SJP, Lovering RM, “Diffusion Tensor MRI to Assess Damage in Healthy and Dystrophic Skeletal Muscle after Lengthening Contractions”, J Biomed Biotechnol. 2011: 970726.

[41] Tasca G, Iannaccone E, Monforte M, et al. “Muscle MRI in Becker muscular dystrophy”, Neuromuscul Disord. 2012;22(Suppl 2):S100–S106

[42] Cox FM, Reijnierse M, van Rijswijk CS et al. “Magnetic resonance imaging of skeletal muscles in sporadic inclusion body myositis”. Rheumatology (Oxford) 2011;50(6):1153–1161

[43] Finanger EL, Russman B, Forbes SC et al. “Use of skeletal muscle MRI in diagnosis and monitoring disease progression in Duchenne muscular dystrophy”, Phys Med Rehabil Clin N Am. 2012 Feb;23(1):1-10, ix.

[44] Basser PJ, Jones DK, “Diffusion-tensor MRI: theory, experimental design and data analysis – a tecnical review”, NMR Biomed. 2002 Nov-Dec;15(7-8):456-67

[45] Heemskerk AM, Strijkers GJ, Vilanova A et al. “Determination of mouse skeletal muscle architecture using three-dimensional diffusion tensor imaging”, Magn Reson Med. 2005 Jun;53(6):1333-40.

[46] Outwater EK, Blasbalq R, Siegelman ES, Vala M, “Detection Of lipid in abdominal Tissues with opposed-phase gradient-echo images at 1.5 T: techniques and diagnostic importance”, Radiographics. 1998 Nov-Dec;18(6):1465-80.

[47] Dixon WT “Simple Proton Spectroscopic Imaging”, Radiology. 1984 Oct;153(1):189-94

[48] Ahmad M, Liu Y, Slavens ZW et al. “A method for automatic identification of water and fat images from a symmetrically sampled dual-echo Dixon technique”, Magn Reson Imaging. 2010 Apr;28(3):427-33.

[49] Ma J, “Dixon technique for water and fat imaging”, J Magn Reson Imaging. 2008 Sep;28(3):543-58.

[50] Glover GH, “Multipoint Dixon technique for water and fat proton and susceptibility imaging” J Magn Reson Imaging. 1991 Sep-Oct;1(5):521-30.

[51] Gaeta M, Mileto A, Mazzeo A, “MRI findings, patterns of disease distribution, and muscle fat fraction calculation in five patients with Charcot-Marie-Tooth type 2 F disease”, Skeletal Radiol. 2012 May;41(5):515-24.

[52] Kinali M, Arechavala-Gomeza V, Cirak S et al. “Muscle histology vs MRI in duchenne muscular dystrophy”, Neurology. 2011;76(4):346–353.

[53] Fischer MA, Pfirrmann CW, Espinosa N et al. “Dixon-based MRI for assessment of muscle-fat content in phantoms, healthy volunteers and patients with achillodynia: comparison to visual assessment of calf muscle quality”, Eur Radiol. 2014; 24:1366 – 75.

[54] Bloch F, Hansen WW, Packard M, “Nuclear induction”, Phys Rev 1946; 70:460-474.

[55] Kim HK, Laor T, Horn PS et al. “T2 mapping in Duchenne muscular dystrophy: distribution of disease activity and correlation with clinical assessments”, Radiology. 2010 Jun;255(3):899-908.

[56] Dardzinski BJ, Laor T, Schmithorst VJ, et al. “Mapping T2 relaxation time in the pediatric knee: feasibility with a clinical 1.5-T MR imaging system”, Radiology. 2002; 225:233–239.

[57] Gold GE, Han E, Stainsby J et al. “Musculoskeletal MRI at 3.0T: relaxation times and image contrast”, AJR Am J Roentgenol. 2004 Aug;183(2):343-51.

[58] Maillard SM, Jones R, Owens C et al. “Quantitative assessment of MRI T2 relaxation time of thigh muscles in juvenile dermatomyositis”, Rheumatology (Oxford). 2004 May;43(5):603-8.

[59] Huang Y, Majumdar S, Genant HK et al. “Quantitative MR relaxometry study of muscle composition and function in duchenne muscular dystrophy”, Journal of Magnetic Resonance Imaging: JMRI. 1994;4(1):59–64.

[60] Johnston JH, Kim HK, Merrow AC et al. “MR imaging of the skeletal muscles in boys with Duchenne muscular dystrophy (DMD): part 2. T2 Relaxation time mapping (T2 map) as a noninvasive biomarker to determine pathologic fatty infiltration: comparison between boys with Duchenne muscular dystrophy (DMD) and healthy boys” Society for Pediatric Radiology Meeting; San Francisco (CA): 2012.

[61] Fleckenstein JL, Canby RC, Parkey RW et al. “Acute effects of exercise on MR imaging of skeletal muscle in normal volunteers”, AJR Am J Roentgenol. 1988; 151(2):231–7.

[62] Patten C, Meyer RA, Fleckenstein JL, “T2 mapping of muscle”, Semin Musculoskelet Radiol. 2003; 7(4):297–305.

[63] Beaulier C, “The basis of anistropic water diffusion in the nervous system – a technical review”, NMR Biomed. 2002 Nov-Dec;15(7-8):435-55.

[64] Kingsley PB, “Introduction to diffusion tensor imaging mathematics: Part I. Tensor, Rotation and eigenvectors”, 2006

[65] Basser PJ, Pierpaoli C, “Microstructural and physiological features of tissues elucidated by quantitative-diffusion-tensor MRI”, J Magn Reson B. 1996;111:209–219.

[66] Heemskerk AM, Damon BM, “Diffusion Tensor MRI assessment of skeletal muscle architecture”, Curr Med Imaging Rev. 2007; 3(3): 152–160.

[67] Zhang J, Zhang G, Morrison B, et al. “Magnetic resonance imaging of mouse skeletal muscle to measure denervation atrophy”, Exp Neurol. 2008; 212(2):448–57.

[68] Kim KH, Lindquist DM, Serai SD et al. “Magnetic Resonance Imaging of Pediatric Muscular Disorders Recent Advances and Clinical Applications”, Radiol Clin North Am. 2013 July; 51(4): 721–742.

[69] Marden FA, Connolly AM, Siegel MJ, Rubin DA et al. “Compositional Analysis of muscle in boys with Duchenne muscular dystrophy using MR imaging”, Skeletal Radiol. 2005 Mar;34(3):140-8.

[70] Rose MR. 188th ENMC International Workshop: “Inclusion Body Myositis”, 2–4 December, 2011, Naarden, The Netherlands. Neuromuscul Disord 2013;23:1044–1055

[71] Jackson CE, Barohn RJ, Gronseth G, Pandya S, Herbelin L. “Inclusion body myositis functional rating scale: a reliable and valid measure of disease severity.” Muscle Nerve 2008; 37: 473–76.

[72] Mazzone E, Martinelli D, Berardinelli A, Messina S, D'Amico A, Vasco G et al. “North Star Ambulatory Assessment, 6-minute walk test and timed items in ambulant boys with Duchenne muscular dystrophy”. Neuromuscul disord 2010; 20:712–716.

[73] American Thoracic Society statement: guidelines for the six-minute walk test. ATS Committee on Proficiency Standards for Clinical Pulmonary Function Laboratories. Am J Respir Crit Care Med 2002;166 (1): 111-117

[74] Leemans A, Jeurissen B, Sijbers J, and Jones DK. “ExploreDTI: a graphical toolbox for processing, analyzing, and visualizing diffusion MR data”. In: 17th Annual Meeting of Intl Soc Mag Reson Med, p. 3537, Hawaii, USA, 2009"

[75] http://www.nordicneurolab.com