

II RENDICONTO DELL'ATTIVITÀ DI RICERCA DEL PROGETTO "METODICHE AVANZATE DI RISONANZA MAGNETICA NELLO STUDIO DELLA FISIOPATOLOGIA DELLA SINDROME DELLE GAMBE SENZA RIPOSO" FINANZIATO DALLA FONDAZIONE NEURECA (2 AGOSTO 2011)

Allo stato attuale risulta quasi completamente raggiunto il secondo degli obiettivi del progetto, ovvero effettuare un'analisi quantitativa dei parametri derivati dalle sequenze di phase-imaging in pazienti con RLS idiopatica, con l'intenzione di quantificare il ferro cerebrale di questi pazienti e di compararlo a quello di soggetti sani.

Il rationale dello studio deriva dalla presenza di dati forniti da alcuni gruppi che, sfruttando l'effetto del ferro sul T2, T2* e T2' (e sui parametri derivati R2, R2* e R2'), hanno ottenuto risultati compatibili con un ridotto contenuto di ferro cerebrale nei pazienti con RLS idiopatica, anche se con risultati disomogenei.¹⁻⁵ In nessuno studio precedente è stata utilizzata la phase-imaging⁶ che è una metodica molto sensibile al contenuto di ferro tissutale.

MATERIALI E METODI

Per questa parte dello studio sono stati reclutati e studiati con uno scanner da 1.5 Tesla (GE) 15 pazienti con RLS idiopatica (età 51 ± 13 , M/F: 2/13), diagnosticati secondo i criteri internazionali, e 15 controlli sani di età e sesso sovrapponibile (età 51 ± 17 , M/F: 4/11).

Le caratteristiche cliniche dei pazienti erano: età d'esordio 44 ± 14 , durata di malattia 7 ± 6 , IRLSSGRS score 21 ± 8 , tre pazienti erano in terapia dopaminergica e sei pazienti avevano una familiarità per RLS.

Il protocollo di acquisizione è stato il seguente: sono state acquisite sequenze assiali T2-FSE ($\alpha=90^\circ$; TE: 107 ms; TR: 5080 ms; FOV: 24 cm; matrice 320×256 ; spessore fette 4/0). Immagini sensibilizzate per la fase sono state acquisite utilizzando una sequenza in gradient echo, conservando sia il canale reale che immaginario (TE/TR: 40/60 ms; matrice 512×256 ; bandwidth 15.6 kHz). Sono state ottenute le mappe di fase (valori in radianti) (**Figure 1**), che sono state analizzate con ROIs (regioni di interesse) (**Figure 2**). Le regioni analizzate sono state: nucleo dentato, nucleo rosso, substantia nigra, talamo, putamen, pallido e testa del caudato. Tali regioni sono state analizzate sia singolarmente che globalmente (messe assieme come un'unica ROI). La segmentazione delle ROIs è stata eseguita in modo tale da demarcare la parte ipointensa delle strutture, ovvero quella dove è localizzato il ferro.

Analisi statistica: i dati ottenuti avevano una distribuzione normale come evidenziato dal test di Kolmogorov–Smirnov. Sono stati quindi utilizzati dei test parametrici sia per le comparazioni che per le correlazioni. Per quanto riguarda le comparazioni, siccome sia per i pazienti che per i controlli, in quasi tutte le regioni esaminate, i valori di fase correlavano con l'età dei soggetti (dato che prova l'affidabilità della metodica nel quantificare il ferro cerebrale, che come si sa dalla letteratura aumenta proporzionalmente all'età), abbiamo utilizzato un'ANCOVA in cui è stata inserita l'età come covariata. Le correlazioni con i parametri clinici sono state testate sia con metodiche univariate (test di Pearson) che con metodiche multivariate (regressione multipla). I risultati ottenuti sono stati corretti per il numero di comparazioni multiple utilizzando il metodo di Bonferroni. Sono stati considerati significativi i risultati con valori di $P < 0.05$ corretto.

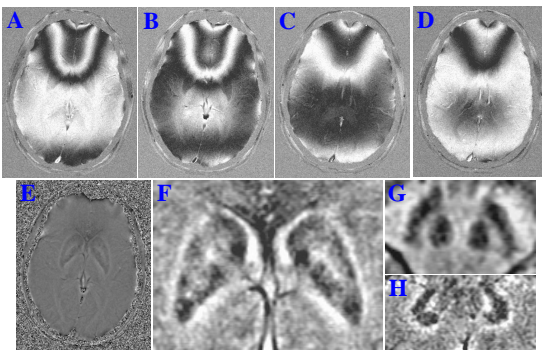


Figura 1. Illustrazione schematica del preprocessing della phase-imaging. A-B: immagini reale e immaginaria; C-D: immagini filtrate; E: mappa di fase; F-H: dettagli di strutture ricche di ferro (F: gangli della base, G: substantia nigra and nucleo rosso, H: nuclei dentati). Si noti che le zone più ipointense sono quelle a più alto contenuto di ferro, dove i valori della fase sono più bassi (valori negativi).

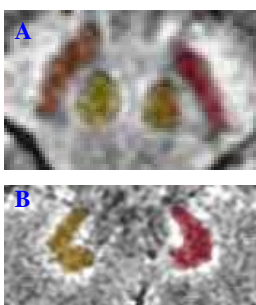


Figura 2. Esempi di segmentazione manuale delle ROIs (A: nucleo rosso e substantia nigra. B: nuclei dentati)

RISULTATI E INTERPRETAZIONE

Nei pazienti con RLS idiopatica i valori della fase sono risultati significativamente più alti rispetto a quelli dei controlli sani a livello di sostanza nera, talamo, pallido e globalmente (**Tabella 1**). Non sono state evidenziate correlazioni con i parametri clinici: dopo la correzione di Bonferroni rimangono solo dei trend, il più evidente tra età d'esordio e 25° percentile globale ($R = -0.54$; P non corretta = 0.036). I valori della fase più alti ottenuti sono compatibili con un più basso contenuto di ferro nelle strutture in esame. Tale riduzione appare diffusa a più strutture e non ad una in particolare. Tali risultati supportano un modello patogenetico della RLS caratterizzato da un ridotto contenuto globale di ferro cerebrale, che potrebbe essere alla base dell'alterazione funzionale a livello del SNC.

Tabella 1. Risultati dello studio di phase-imaging tramite ROIs.

	Fase (radianti)				<i>P</i> *
	Controlli		Pazienti RLS		
	Media	±DS	Media	±DS	
Nucleo Dentato 25°	-0,218	0,042	-0,210	0,051	n.s.
Nucleo Dentato 50°	-0,106	0,036	-0,096	0,044	n.s.
Nucleo Rosso 25°	-0,269	0,053	-0,241	0,066	n.s.
Nucleo Rosso 50°	-0,152	0,056	-0,135	0,060	n.s.
Substantia nigra 25°	-0,236	0,052	-0,173	0,050	0,026
Substantia nigra 50°	-0,103	0,037	-0,060	0,033	0,024
Talamo 25°	-0,170	0,046	-0,131	0,024	0,0018
Talamo 50°	-0,069	0,034	-0,039	0,016	0,0015
Putamen 25°	-0,274	0,089	-0,219	0,042	n.s.
Putamen 50°	-0,146	0,048	-0,114	0,034	n.s.
Pallido 25°	-0,321	0,067	-0,277	0,043	n.s.
Pallido 50°	-0,182	0,033	-0,154	0,027	0,033
Caudato 25°	-0,284	0,034	-0,273	0,063	n.s.
Caudato 50°	-0,161	0,031	-0,156	0,044	n.s.
Globale 25°[#]	-0,249	0,041	-0,213	0,033	0,009
Globale 50°[#]	-0,126	0,027	-0,096	0,021	0,001

*ANCOVA con età come covariata (un valore di $P < 0.05$ dopo la correzione per comparazioni multiple è stato considerato significativo). # = corrispondenti al 25° e 50° percentile di tutte le ROIs messe assieme.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Allen RP, Earley CJ. The role of iron in restless legs syndrome. *Mov Disord.* 2007;22 Suppl 18:S440-8.
- 2) Allen RP, Barker PB, Wehrl F, Song HK, Earley CJ. MRI measurement of brain iron in patients with restless legs syndrome. *Neurology.* 2001;56:263-5.
- 3) Earley CJ, Barker P, Horska A, Allen RP. MRI-determined regional brain iron concentrations in early- and late-onset restless legs syndrome. *Sleep Med.* 2006;7:458-61.
- 4) Godau J, Klose U, Di Santo A, Schweitzer K, Berg D. Multiregional brain iron deficiency in restless legs syndrome. *Mov Disord.* 2008;23:1184-7.
- 5) Astrakas LG, Konitsiotis S, Margariti P, Tsouli S, Tzarouhi L, Argyropoulou MI. T2 relaxometry and fMRI of the brain in late-onset restless legs syndrome. *Neurology.* 2008;71:911-6.
- 6) Ogg RJ, Langston JW, Haacke EM, Steen RG, Taylor JS. The correlation between phase shifts in gradient-echo MR images and regional brain iron concentration. *Magn Reson Imaging.* 1999;17:1141-8.

Stiamo valutando la possibilità di aumentare ancora leggermente il campione e di analizzare ulteriormente i dati (per esempio con l'analisi degli istogrammi)

È stato scritto il lavoro riguardante la prima parte dello studio (spettroscopia del talamo) che è attualmente under review.

Colgo l'occasione per porgere i miei saluti alla Commissione Scientifica della Fondazione Neureca che ringrazio per la fiducia accordatami.

Giovanni Rizzo