



UNIVERSITA' POLITECNICA DELLE MARCHE
Facolta' di Medicina e Chirurgia

Corso di Laurea in:
TECNICHE DI RADIOLOGIA MEDICA,
PER IMMAGINI E RADIOTERAPIA

Tesi di Laurea:

**“PET/CT cerebrale con 18F-
Flutemetamol ed elaborazione delle
immagini con software dedicato per
l’analisi quantitativa dei traccianti PET per
beta- amiloide”**

Candidato:
Mariateresa Tamburro

Relatore:
Prof. Fabio Massimo Fringuelli

Anno Accademico 2019-2020

INDICE

INTRODUZIONE.....	5
1. CENNI DI ANATOMIA E FISIOPATOLOGIA DELL'ENCEFALO.....	6
1.1 Anatomia dell'encefalo.....	6
1.2 Principali regioni e limiti.....	8
1.3 Funzioni dell'encefalo.....	11
1.4 Cenni sulle caratteristiche della sostanza amiloide.....	15
2. MATERIALI E METODI.....	18
2.1 Apparecchiature ibride TC/PET.....	18
2.1.1 Principi fisici della PET.....	19
2.1.2 Tomografo TC/PET.....	19
2.1.3 Formazione e correzione delle immagini PET.....	24
2.2 Il ciclotrone.....	26
2.2.1 Composizione e funzionamento del ciclotrone.....	26
2.2.2 Sintesi e produzione del radiofarmaco.....	28
2.3 Il radiofarmaco: ^{18}F - Flutemetamol.....	30
2.3.1 Caratteristiche generali del ^{18}F - Flutemetamol.....	30
2.3.2 Principi farmacologici e farmacocinetici del radiofarmaco.....	32
2.3.3 Controindicazioni del ^{18}F - Flutemetamol.....	32
2.3.4 Precauzioni per manipolazione e smaltimento.....	33
2.3.5 Dosimetria.....	34
2.3.6 Effetti indesiderati.....	36
2.3.7 Interpretazione delle immagini ottenute.....	36

2.4 Esecuzione dell'esame.....	39
2.5 Software di elaborazione (Cortex ID®).....	44
3. RISULTATI.....	50
4. CONCLUSIONI.....	57
BIBLIOGRAFIA.....	58
RINGRAZIAMENTI.....	59

INTRODUZIONE.

La Medicina Nucleare è una branca della medicina che fa uso di radionuclidi non sigillati a scopo diagnostico e terapeutico. Pur essendo parte integrante della Diagnostica per Immagini, la Medicina Nucleare si differenzia da essa in quanto è una metodica di imaging funzionale ed emissiva: il paziente infatti, una volta iniettato, sarà fonte di radiazione che verrà rilevata dall'apparecchiatura per produrre le immagini.

In Medicina Nucleare possono essere effettuati studi in diversi ambiti, tra cui quello neurologico. A questo proposito, negli ultimi anni è stato introdotto un radiofarmaco, il ^{18}F - Flutemetamol, con cui è possibile eseguire l'indagine CT/PET per valutare l'accumulo di beta- amiloide in pazienti con disturbi cognitivi (come AD o demenza) presunti o accertati. In particolare, questo studio è stato avvalorato dalla possibilità di elaborare le scansioni ottenute con un software di elaborazione (Cortex ID[®]) e svolgere l'analisi quantitativa del deposito di sostanza amiloide. Ciò avviene mediante le immagini 3D SSP frutto del post- processing, il calcolo del rapporto di assorbimento e dello Z-score ed il tutto è confrontato con i valori di riferimento per un soggetto normale in merito alle varie regioni cerebrali.

In questo lavoro di tesi sono state rielaborate tramite software dedicato le scansioni TC/PET di 29 pazienti, distribuiti in questo modo: 12 pazienti seguiti personalmente e 17 pazienti elaborati a posteriori, in quanto il software consente ciò. Lo scopo di questa tesi è, appunto, mostrare l'efficacia delle rielaborazioni ottenute con il software in questione e da cui si ottengono dei dati semi- quantitativi molto preziosi in quadri di patologie neurodegenerative note e/o presunte.

1. CENNI DI ANATOMIA E FISIOPATOLOGIA DELL'ENCEFALO.

1.1 Anatomia dell'encefalo.

Il sistema nervoso è indubbiamente uno dei sistemi più complessi del corpo umano, infatti regola e controlla anche l'attività di altri apparati. Il sistema nervoso è distinto principalmente in due parti: sistema nervoso periferico (trasporta informazioni sensitive al SNC e i comandi motori dal SNC ai tessuti e gli organi periferici) e sistema nervoso centrale (SNC), del quale si intende parlare. Quest'ultimo è costituito da encefalo e midollo spinale ed è responsabile di integrazione, elaborazione e coordinamento delle informazioni sensitive e degli stimoli motori. Il SNC è, inoltre, la sede delle funzioni superiori ovvero intelligenza, memoria, apprendimento ed emozioni.

L'encefalo pesa circa 1,4 kg ed è anche un organo estremamente delicato, che necessita dunque di un'adeguata protezione. Questa gli viene fornita dalle ossa del cranio, le meningi encefaliche, il liquido cerebrospinale e la barriera ematoencefalica. Le strutture precedentemente enunciate provvedono, inoltre, al nutrimento e al sostegno dell'encefalo stesso.

Le meningi circondano l'encefalo e forniscono protezione in quanto fungono da “ammortizzatori” nel prevenire il contatto con le ossa. Le meningi encefaliche hanno tre diversi strati e si continuano poi con quelle che circondano il midollo.

- Dura madre: è costituita da due strati fibrosi, di cui quello esterno è chiamato strato endostiale ed è fuso al periostio, che riveste le ossa craniche, e lo strato interno, che è definito strato meningeo. I due strati sono separati grazie ad uno spazio sottile contenente fluido interstiziale e vasi sanguigni, incluse le grandi vene note come seni durali. In quattro

regioni i prolungamenti della dura madre si estendono in profondità nella cavità cranica, determinandone la suddivisione ed inoltre forniscono supporto all'encefalo limitandone i movimenti. Questi quattro setti sono: falce cerebrale, tentorio del cervelletto, falce cerebellare e diaframma della sella;

- Aracnoide: è una delicata membrana interposta tra dura madre e pia madre, la quale è a contatto con l'encefalo. Al di sotto dell'aracnoide vi è lo spazio subaracnoideo, che possiede una delicata rete di fibre elastiche e collagene, che connettono l'aracnoide alla pia madre;
- Pia madre: è strettamente adesa alla superficie dell'encefalo, di cui segue i contorni e ne riveste i solchi. Essa è una membrana altamente vascolarizzata che costituisce una sorta di pavimento su cui poggiano gli ampi vasi cerebrali.

Il liquido cerebrospinale (LCS) circonda completamente e bagna le superfici esposte del SNC. Esso ha diverse funzioni importanti, come: impedire il contatto tra le strutture nervose e le ossa circostanti, sostenere l'encefalo (il quale è sospeso nel cranio e galleggia nel LCS) e trasportare sostanze nutritive, messaggeri chimici e prodotti di rifiuto.

Il tessuto nervoso del SNC è riccamente vascolarizzato. Infatti, il sangue arterioso raggiunge l'encefalo tramite le arterie carotidi interne e quelle vertebrali. Il sangue venoso proveniente dall'encefalo, invece, lascia il cranio grazie alle vene giugulari interne che drenano nei seni durali. Nonostante la rete vascolare che irrori l'encefalo sia piuttosto estesa, è isolata dalla circolazione generale grazie alla barriera ematoencefalica. Essa si occupa di mantenere un ambiente costante, necessario sia per il controllo che per il funzionamento dei neuroni del SNC.

1.2 Principali regioni e limiti.

L'encefalo adulto può essere distinto in sei regioni principali: midollo allungato o bulbo, ponte, mesencefalo, diencefalo, cervelletto e cervello (telencefalo). Nell'insieme midollo allungato, ponte e mesencefalo assumono il nome di tronco encefalico.

L'encefalo è caratterizzato anche dai ventricoli, ovvero delle cavità contenenti LCS e tappezzate da cellule ependimali. I quattro ventricoli apprezzabili nell'encefalo adulto sono così distribuiti: uno all'interno di ciascun emisfero cerebrale, uno nel diencefalo ed uno tra ponte e cervelletto. I cosiddetti "ventricoli laterali" sono separati dal setto pellucido. Il corpo di ciascuno di questi ventricoli è posizionato nel lobo parietale, con un corno anteriore che si estende nel lobo frontale e si continua poi in un corno posteriore (che si proietta nel lobo occipitale) e in un corno inferiore, che curva inferolateralmente nel lobo temporale. I due ventricoli laterali non comunicano direttamente, ma ognuno di essi è collegato con il ventricolo diencefalico (il cosiddetto "terzo ventricolo") grazie al forame di Monro. Il mesencefalo è attraversato da un sottile canale, l'acquedotto del Silvio, che connette terzo e quarto ventricolo, il quale ha inizio tra ponte e cervelletto. I ventricoli pieni di liquor sono circondati dalla sostanza grigia che forma i nuclei, i quali sono circondati da fasci di sostanza bianca.

Il midollo allungato è in continuità con il midollo spinale. La sua porzione caudale ha una forma rotondeggiante e un sottile canale centrale, che si allarga in prossimità del tronco per poi continuare nel quarto ventricolo. Il midollo allungato connette l'encefalo al midollo spinale e molte delle sue funzioni sono correlate a questa connessione. I nuclei del bulbo possono essere stazioni intercalate lungo vie sensitive o motorie, nuclei sensitivi o motori associati ai nervi cranici o nuclei associati al controllo autonomo delle attività viscerali.

Il ponte si estende tra mesencefalo e midollo allungato e forma una sporgenza sulla superficie anteriore del tronco encefalico. Posteriormente al ponte giacciono gli emisferi cerebellari e su ciascun lato il ponte è connesso al cervelletto per mezzo di tre peduncoli cerebellari. Il ponte contiene: nuclei motori e sensitivi per V, VI, VII e VIII nervi cranici, nuclei che coadiuvano il controllo della respirazione, nuclei che elaborano e trasmettono comandi cerebellari che arrivano tramite i peduncoli ed i fasci ascendenti, discendenti e orizzontali.

Il mesencefalo contiene i nuclei che elaborano le informazioni visive e uditive e generano le risposte riflesse a tali stimoli. La superficie del mesencefalo è detta “tetto” e contiene due paia di nuclei sensitivi, cioè i tubercoli quadrigemini. Su ciascuna metà del mesencefalo si trovano due nuclei, ovvero il nucleo rosso e la sostanza nera. Il nucleo rosso contiene molti vasi e integra le informazioni provenienti da cervello e cervelletto e indirizza comandi motori involontari per il mantenimento del tono muscolare e della posizione degli arti. Lateralmente al nucleo rosso c'è la substantia nigra, che è importante nel regolare le efferenze motorie dai nuclei della base.

Il diencefalo connette gli emisferi cerebrali al tronco encefalico ed è costituito da epitalamo, i due talami (destro e sinistro), ipotalamo e subtalamo.

- Epitalamo: costituisce il tetto e la parete posteriore del terzo ventricolo. Esso contiene la ghiandola pineale o epifisi, una struttura endocrina che secreta la melatonina, importante ormone regolatore dei cicli circadiani;
- Talami: essi sono due formazioni ovoidali che costituiscono le pareti del diencefalo e circondano il terzo ventricolo. I nuclei talamici sono centri di controllo di informazioni sensitive e motorie. Ogni talamo è rigonfio lateralmente, si allontana dal terzo ventricolo (da cui sono separati) e

volge anteriormente verso il cervello. Il margine laterale del talamo è delimitato dalle fibre della capsula interna. All'interno di ciascun talamo c'è una massa rotondeggiante composta da diversi nuclei talamici interconnessi tra loro;

- Ipotalamo: forma il pavimento del terzo ventricolo e si estende dalla regione superiore al chiasma ottico fino ai margini posteriori dei corpi mammillari. L'ipotalamo contiene, oltre a delle componenti del tronco encefalico, centri coinvolti nelle emozioni e nei processi viscerali che interessano il cervello. L'ipotalamo ha diverse funzioni, quali: controllo inconscio delle contrazioni della muscolatura scheletrica, controllo delle funzioni autonome, coordinazione delle attività dei sistemi nervoso ed endocrino, secrezione di ormoni, emozioni e comportamento, coordinazione fra le funzioni volontarie e autonome, regolazione della temperatura corporea e controllo dei ritmi circadiani.

Il cervelletto è costituito da due emisferi cerebellari con superficie convoluta formata da corteccia cerebrale. Ogni emisfero consta di due lobi, anteriore e posteriore, separati tra loro da una scissura primaria. Tra l'altro gli emisferi cerebellari sono divisi dal cosiddetto verme, una sottile striscia di tessuto corticale. Questi due lobi sono coinvolti nella programmazione, nell'esecuzione o nella coordinazione di movimenti di arti e tronco. Anteriormente e inferiormente ai due lobi ci sono i più sottili lobi flocculonodulari, importanti nel mantenimento di equilibrio o nel controllo dei movimenti dell'occhio. Il cervelletto è dunque un centro di elaborazione automatica che ha due funzioni principali: correzione dei muscoli posturali del corpo e la programmazione e regolazione fine dei movimenti volontari e non.

Il cervello (o telencefalo) è la porzione più voluminosa dell'intero encefalo ed è costituito da due emisferi, i quali poggiano su diencefalo e tronco encefalico. Da questi emisferi originano tutti i processi coscienti e le funzioni intellettive. Uno spesso strato di corteccia (sostanza grigia) riveste i due emisferi, formando la superficie superiore e laterale del cervello. La superficie corticale forma una serie di giri (o convoluzioni), separati da solchi poco depressi o da scissure più profonde. La corteccia cerebrale presiede alle funzioni nervose più complesse. I due emisferi sono separati dalla scissura longitudinale e ciascuno di loro può essere distinto in lobi, i quali prendono il nome delle strutture ossee sovrastanti. Il cervello è quindi costituito da diversi solchi, che vanno a separare fra loro i vari lobi di cui è composto il telencefalo.

1.3 Funzioni dell'encefalo.

Come già anticipato, il cervello è una struttura piuttosto complessa ed ognuna delle sue aree ha una funzione differente. Lesioni ai centri del cervello possono provocare danni di diversa gravità, a seconda della funzione che si va a ledere.

L'area che compete all'interpretazione generale è detta anche area gnostica. Questo centro analitico è presente in un solo emisfero, che di norma è il sinistro. Lesioni in quest'area influiscono sulla capacità di interpretare ciò che è letto o ascoltato.

Efferenze che partono dall'area gnostica raggiungono il centro di linguaggio o area di Broca. Quest'ultimo si trova lungo il margine della corteccia premotoria dell'emisfero sinistro. Il centro del linguaggio è un centro motorio che regola la respirazione e la vocalizzazione richieste per un normale linguaggio.

La corteccia prefrontale o area associativa prefrontale è complessa. Essa esegue, infatti, molte funzioni: complesse funzioni di apprendimento e

ragionamento, provvede al contesto emozionale e alla motivazione (attraverso le sue interconnessioni con il sistema limbico) ed esegue funzioni intellettive astratte.

L'area 44 di Brodmann corrisponde all'area motoria del linguaggio, mentre l'area 4 segue i contorni della corteccia motoria primaria.

Queste aree [Fig. 1] si trovano nei diversi lobi che compongono il cervello, ognuno dei quali, volendo schematizzare, ha appunto funzioni differenti:

- Lobo frontale: controllo dei movimenti volontari, memoria a lungo termine, produzione del linguaggio parlato e scritto (dipende dalla presenza dell'area di Broca), capacità di comprendere e reagire ai sentimenti altrui, programmazione di comportamenti e azioni finalizzati a un certo risultato, capacità di pianificare, gestione dell'attenzione, controllo degli impulsi, capacità di classificare gli oggetti ecc.;
- Lobo parietale: senso della posizione e dello spazio ed elaborazione delle informazioni sensitive (quali dolore, senso del caldo o del freddo, il tatto ecc.) provenienti dalla cute, contribuisce alla capacità di memoria, di calcolo e a quella di interpretare il linguaggio;
- Lobo temporale: percezione dei suoni, il loro riconoscimento e la loro interpretazione, interpretazione degli stimoli visivi e il riconoscimento degli oggetti attraverso la costruzione di una memoria visiva, comprensione del linguaggio parlato e scritto, denominazione e memoria verbale (funzioni che spettano specificatamente all'area di Wernicke,), memoria a lungo termine;
- Lobo occipitale: interpretazione degli stimoli visivi. A fornirgli tale capacità è la presenza della corteccia visiva primaria e secondaria.

In generale, si può affermare che le funzioni di ordine superiore non sono equamente distribuite su entrambi gli emisferi, ma le attività da essi svolte sono comunque complementari. Ad esempio, l'emisfero in cui solitamente si trovano il centro del linguaggio e dell'interpretazione, è definito emisfero categorico. D'altra parte, la percezione spaziale, l'aspetto emozionale del linguaggio e le abilità musicali, sono tipiche dell'emisfero rappresentativo o non dominante.

A fungere da “collante” tra le varie aree corticali o tra le aree della corteccia ed altre regioni dell'encefalo c'è la sostanza bianca, grazie a fibre mieliniche che si estendono da un'area all'altra. Più nello specifico ci sono:

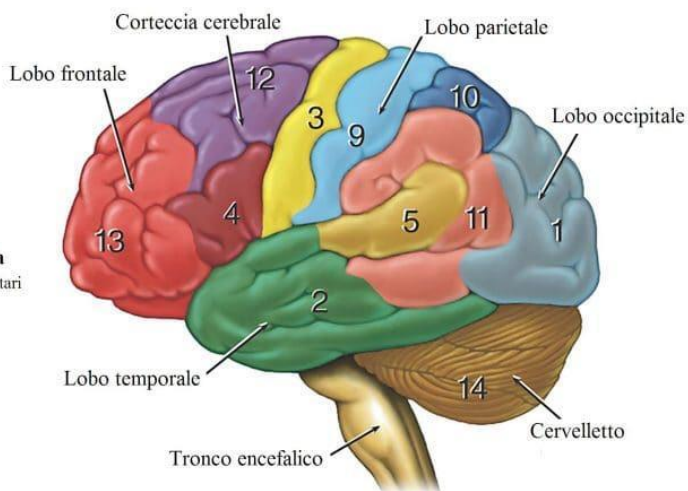
- Fibre associative: connettono aree della corteccia nervosa di un singolo emisfero cerebrale;
- Fibre commessurali: connettono i due emisferi cerebrali;
- Fibre di proiezione: collegano il cervello con altre regioni di encefalo e midollo spinale.

Aree funzionali della corteccia cerebrale

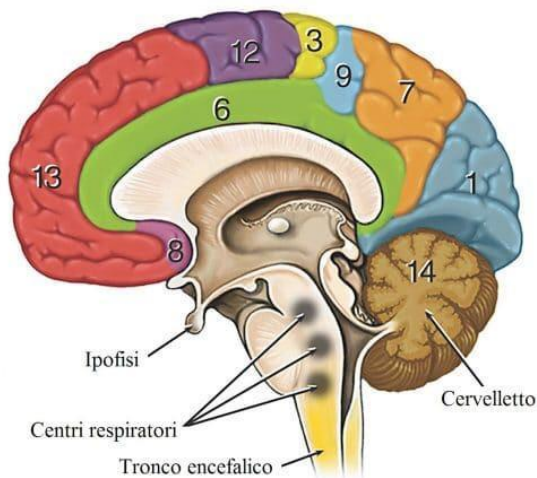
- 1 **Area visiva**
Vista
Riconoscimento e percezione dell'immagine
- 2 **Lobo temporale**
Memoria a breve termine
Equilibrio
Emozioni
- 3 **Corteccia motoria primaria**
Esecuzione dei movimenti volontari
- 4 **Area di Broca**
Produzione del linguaggio
- 5 **Corteccia uditiva**
Udito
- 6 **Corteccia cingolata**
Dolore
Reazione di "attacco-fuga"
- 7 **Area associativa sensoriale**
- 8 **Corteccia olfattiva**
Odore
- 9 **Corteccia somatosensoriale primaria**
Sensibilità dalla pelle e dai muscoli
- 10 **Corteccia associativa somatosensoriale**
Riconoscimento degli oggetti
- 11 **Area di Wernicke**
Comprensione del linguaggio
- 12 **Corteccia premotoria**
Orientamento e movimenti oculari
- 13 **Funzioni mentali superiori**
Concentrazione
Pianificazione
Giudizio e inibizione
Espressione emotiva
Creatività

Aree funzionali del cervelletto

- 14 **Funzioni motorie**
Coordinazione dei movimenti
Equilibrio
Postura



Vista laterale



Vista sagittale

[Fig. 1] Aree funzionali dell'encefalo.

1.4 Cenni sulle caratteristiche della sostanza amiloide.

Il cervello è dunque una struttura tanto affascinante quanto complessa e talvolta il suo delicato equilibrio può essere compromesso da una sostanza che costituisce del materiale d'accumulo in sede extracellulare chiamata "sostanza amiloide", che significa letteralmente "simile all'amido". L'amiloide è di natura proteica e il nome le venne dato dal patologo tedesco Rudolf Virchow, anche se successivamente venne sostituito dal termine β -fibrilloso. Questo appellativo le venne attribuito poiché all'esame autoptico gli organi con deposito di amiloide presentavano un aspetto cereo e se dapprima sembrava che questa sostanza fosse costituita da materiale amorfo, in seguito apparve evidente che si presentava con la birifrangenza tipica della struttura fibrillare. Si comprese anche che, tra l'altro, le catene polipeptidiche dell'amiloide hanno una conformazione di tipo β -fibrillare. Alla composizione dell'amiloide, dunque, partecipano:

- Fibrille in forma β : sono catene polipeptidiche filamentose e pieghettate che rappresentano il maggior costituente dell'amiloide. La conformazione β non è fisiologicamente presente in alcun tipo di proteina, ma rende resistenti le fibrille all'attacco degli enzimi proteolitici;
- Componente P dell'amiloide: deriva dalla SAP (Serum Amyloid Protein), che è una proteina globulare del siero;
- Glicosamminoglicani: presenti nella sostanza fondamentale del connettivo.

L'amiloide è molto poco solubile e ciò determina un grave danno da compressione nei tessuti in cui è presente. In particolare, l'accumulo della

beta- amiloide deriva dall'incapacità delle cellule di metabolizzarla e rimuoverla.

I depositi di amiloide possono essere diffusi e quindi possono trovarsi in fegato, reni, milza, miocardio ecc. oppure essere localizzati nel caso in cui sono limitati ad una sola sede, che è quasi sempre l'encefalo.

La beta- amiloide ha un ruolo importante nel funzionamento del cervello e si è visto che se questa superasse una certa quantità, potrebbe diventare neurotossica. È stato infatti osservato che A β (beta- amiloide) agisce come neuromodulatore influenzando sul rilascio di alcuni neurotrasmettitori, i quali hanno il compito di veicolare le informazioni fra le cellule del sistema nervoso, che sono i neuroni, con la trasmissione sinaptica. In condizioni patologiche, invece, la trasmissione sinaptica mediata dalla A β potrebbe essere correlata ad alterazioni della neurotrasmissione prima degli eventi neurodegenerativi. In seguito a questi cambiamenti potrebbero quindi insorgere i disturbi cognitivi e non cognitivi precoci, a seconda dei sistemi neurotrasmettitoriali colpiti e delle diverse aree cerebrali coinvolte.

Le placche amiloidi o placche senili sono formazioni extracellulari costituite da una parte centrale in cui si accumula proteina amiloide e una parte periferica in cui si depositano detriti neuronali (principalmente frammenti assonali). Sono riscontrabili nell'encefalo per lo più a livello di ippocampo, giro del cingolo e nelle corteccie associative delle regioni frontali e temporo-parietali. L'amiloide, in realtà, inizia la sua marcia dalle regioni cerebrali profonde come i corpi mammillari, il septum laterale e il subicolo, per poi farsi strada lungo specifici circuiti cerebrali che portano all'ippocampo (regione chiave per la memoria) e alla corteccia (area cruciale per la cognizione). Le placche di beta amiloide, quindi, insorgono prima nelle aree neocorticali e, successivamente, si espandono in ulteriori regioni cerebrali.

Le placche senili rappresentano una delle caratteristiche microscopiche principali della malattia di Alzheimer. Essa è una patologia neurodegenerativa caratterizzata dalla progressiva perdita delle funzioni mentali a causa, come già precedentemente accennato, della degenerazione del tessuto cerebrale con perdita di neuroni, accumulo di beta- amiloide e sviluppo di intrecci neurofibrillari. La malattia di Alzheimer può essere definita come un lento e progressivo declino di memoria, pensiero, giudizio e dell'apprendimento. Inoltre, sono molti i sintomi che questa patologia ha in comune con altre forme di demenza, come i seguenti: disorientamento, disturbi della personalità, problemi a svolgere attività quotidiane ecc. Vi differisce, invece, poiché nell'AD (Alzheimer disease) è colpita prevalentemente la memoria recente. Le placche senili contenenti beta- amiloide, infatti, sono osservabili in tutte le aree del cervello, ma in particolare nel lobo temporale che è coinvolto nella formazione dei nuovi ricordi.

Nel morbo di Alzheimer, dunque, la beta- amiloide ha un ruolo centrale. Si pensa che la produzione in eccesso di questa sostanza sia causata dall'alterazione del metabolismo di una proteina precursore della A β , la quale si accumula e produce un danno ai neuroni causandone la morte. Alla morte dei neuroni, i frammenti amiloidi vengono liberati nello spazio extracellulare e tendono a depositarsi in aggregati fibrillari di dimensioni crescenti andando a formare le placche amiloidi. Esse innescano un processo reattivo infiammatorio mediato da astrociti e microglia attivando una risposta immunitaria richiamando macrofagi e neutrofili, i quali producono citochine, interleuchine e TNF- α , che danneggiano irreversibilmente i neuroni. In genere i frammenti di beta- amiloide sono eliminati; nel caso dell'AD, per ragioni sconosciute, si accumulano e formano delle placche dure e insolubili.

2. MATERIALI E METODI.

2.1 Apparecchiature ibride TC/PET.

In generale, si può dire che l'encefalo è sempre stato una struttura particolarmente studiata in ambito radiologico con le diverse apparecchiature e metodiche costituenti questa branca della medicina. In particolare, negli ultimi decenni, questa struttura anatomica è stata ampiamente studiata non solo nel suo aspetto morfologico ma anche e soprattutto metabolico grazie alla PET. Essa è parte integrante della diagnostica per immagini all'incirca dagli anni '80- '90 (sebbene le prime applicazioni risalgano agli anni '50) e significa letteralmente "Positron Emission Tomography", ovvero "Tomografia ad Emissione di Positroni". La suddetta tecnica di imaging serve per ottenere immagini funzionali dell'organismo e del metabolismo dei vari organi, ragione per cui è applicabile a diversi ambiti della medicina quali oncologia, neurologia, cardiologia, malattie infettive e tanto altro.

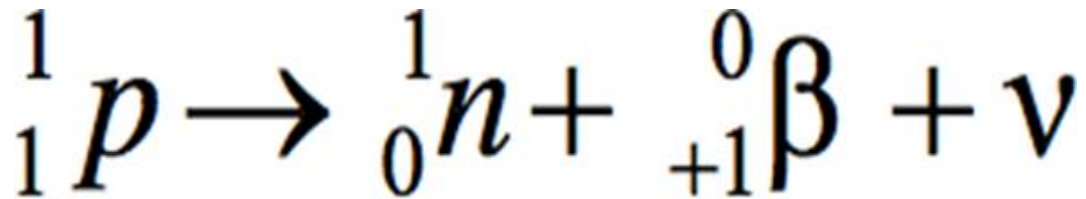
In PET viene valutata una funzione a seconda del radiofarmaco scelto. A questo proposito è fondamentale conoscere le caratteristiche del tracciante, di cui sicuramente è importante l'emivita. Ogni radiofarmaco, infatti, ha un certo "tempo di dimezzamento" che deve essere necessariamente noto per condurre correttamente l'indagine PET, poiché se non si rispettasse il $T_{1/2}$ non si avrebbe la possibilità di osservare il processo metabolico che è oggetto di studio. Per essere ideale il radiofarmaco, oltre ad avere un tempo di dimezzamento relativamente breve, deve anche essere prontamente disponibile, avere basso costo di produzione, alta purezza radionuclidica ed elevata attività specifica.

2.1.2 Principi fisici della PET.

La produzione delle immagini PET si basa sull'effetto quantistico dell'annichilazione, tipico delle particelle β^+ (positroni). Quando un positrone ed un elettrone si avvicinano, si attraggono (avendo carica opposta) ed avviene l'annichilazione: le due masse spariscono e si trasformano in energia. Il positrone non annichila esattamente nel punto in cui è stato prodotto, bensì effettua un breve percorso chiamato "range" durante il quale perde costantemente una parte della sua energia fino ad arrivare all'annichilazione. Ciò che si ottiene in seguito a questo fenomeno sono due fotoni di energia pari a 511 KeV emessi a 180° l'uno rispetto all'altro.

In sintesi, il decadimento β^+ avviene negli elementi con difetto di protoni: il protone si trasforma in un neutrone ed emette un positrone ed un neutrino.

[Fig. 2]



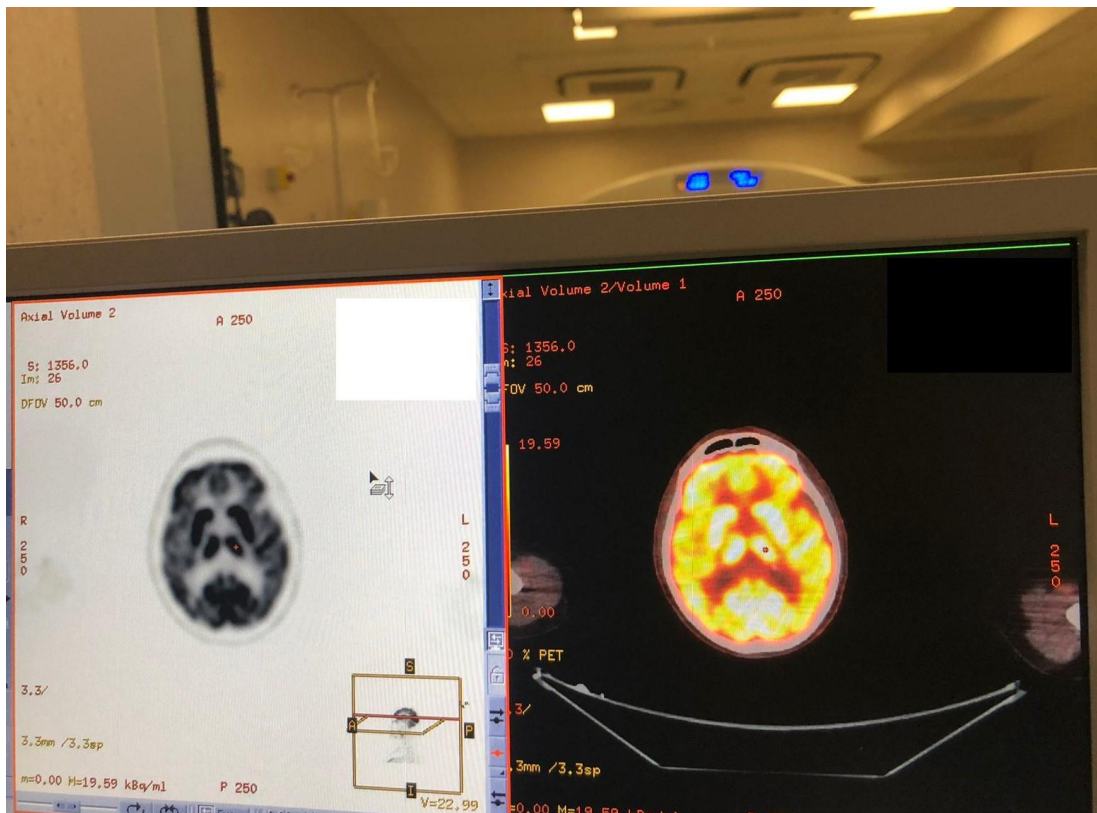
[Fig. 2] Formula del decadimento β^+ .

2.1.2 Tomografo TC/PET.

Ad oggi, in una diagnostica medico nucleare, prevale l'uso della PET/CT poiché è un'apparecchiatura ibrida che offre notevoli vantaggi rispetto all'utilizzare un tomografo CT ed uno PET separati fra loro. Fisicamente la CT è avanti alla PET, con l'asse delle due apparecchiature che giace sulla stessa linea. Quest'apparecchiatura porta con sé un enorme beneficio: si ottengono simultaneamente immagini morfologiche tramite la CT e funzionali grazie alla PET senza che il paziente venga riposizionato. Le immagini ottenute con l'uno

e l'altro tomografo devono essere perfettamente sovrapponibili, in modo che per ogni punto del corpo si abbiano informazioni morfologico- funzionali [Fig. 3]. Dall'implementazione della CT accanto alla PET sono scaturiti dei vantaggi non trascurabili, quali:

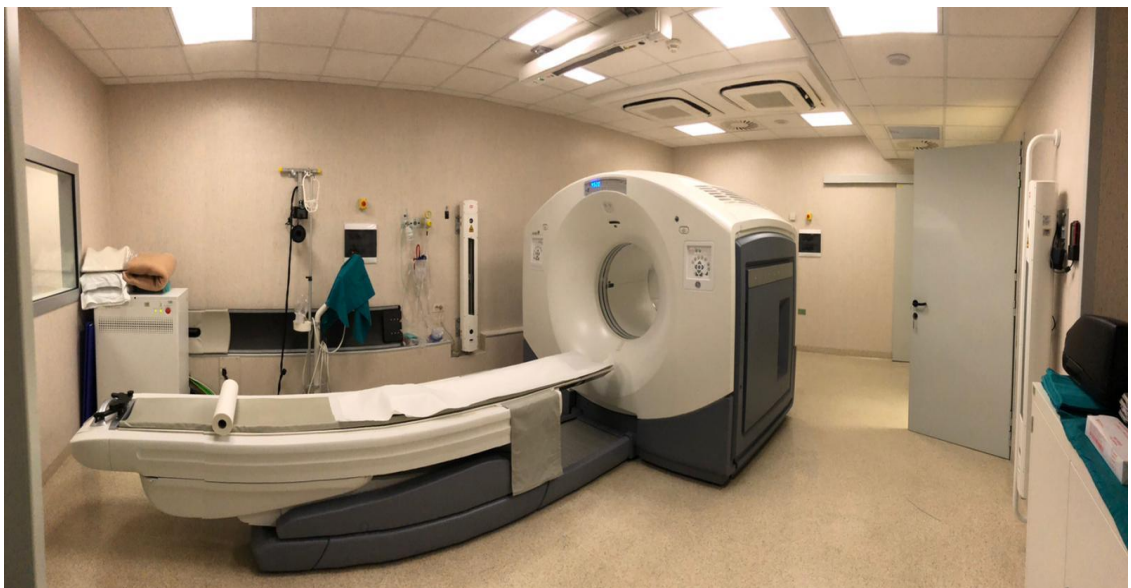
- possibilità di effettuare la correzione per l'attenuazione in modo rapido e con un basso livello di rumore per le immagini;
- fusione di immagini morfologiche prodotte con la CT e quelle PET per definire più accuratamente la localizzazione spaziale delle immagini funzionali;
- la CT può fornire informazioni aggiuntive su ciò che è oggetto di studio;
- la CT ha tempi di acquisizione molto brevi (30- 50 secondi circa contro i 20 minuti indicativi della PET).



[Fig.3] Esempio di scansione PET dell'encefalo (sinistra) e fusione delle immagini CT/PET (destra).

In linea generale, uno scanner PET/CT *[fig. 4]* può essere definito come un sistema di rivelatori montati ad anello intorno al lettino porta-paziente. Le radiazioni emesse dal paziente per mezzo del radiofarmaco precedentemente iniettato sono convertite in un segnale elettrico e poi in immagini, che descrivono la distribuzione tridimensionale della captazione del tracciante. Più nello specifico si possono individuare:

- Gantry: contiene il tubo radiogeno ed il sistema di rivelazione, ovvero i detettori per la TC ed i rivelatori della PET che rilevano la radioattività del paziente;
- Lettino porta-paziente: supporta un peso di circa 200 kg;
- Consolle e computer: essi servono rispettivamente ad impostare i parametri ed analizzare, ricostruire e visualizzare le immagini acquisite.



[Fig. 4] Esempio di apparecchiatura CT- PET.

I tomografi attualmente in commercio sono ad anelli completi di rilevazione, caratterizzati da un elevato numero di rivelatori disposti su anelli cilindrici e adiacenti che formano un cilindro di rivelazione il cui asse di rotazione coincide con l'asse del paziente. Il numero degli anelli di rivelazione e la dimensione assiale dei cristalli determinano il campo di vista assiale del tomografo. In PET i cristalli sono raggruppati in blocchi di rivelazione che posteriormente hanno quattro fotomoltiplicatori a sezione quadrata. I blocchi generalmente sono sezionati in 6 x 6 o 8 x 8 sottocristalli (le dimensioni originali sono 5 x 5 con 8 cm di profondità) e ad essi si collegano le schede elettroniche che gestiscono i segnali e la formazione delle immagini. I cristalli hanno diverse caratteristiche, tra cui: Z efficiente (probabilità che la radiazione incidente interagisca con il cristallo per effetto fotoelettrico e che si generi un segnale avente tutte le informazioni spaziali ed energetiche del fotone incidente), risoluzione energetica (capacità dei cristalli di discriminare i segnali di energia diversa) e rendimento luminoso (percentuale di fotoni incidenti che vengono convertiti in luce dalla scintillazione del cristallo).

I rivelatori sono contrapposti e collegati tra loro tramite circuiti elettronici e sono in grado di rivelare l'arrivo dei fotoni in coincidenza verificando:

- che la loro energia sia 511 KeV;
- che siano contrapposti;
- che siano rivelati in coincidenza temporale.

I rivelatori sono settati in modo da rivelare i fotoni con energia appartenente al picco di 511 KeV, con finestra energetica compresa tra 350 e 600 KeV. Dopo essere stati amplificati ed analizzati da un PHA (Pulse Height Analyzer) i segnali vengono inviati ad un circuito di coincidenza che ne verifica la

simultaneità temporale. Sono considerati segnali utili solo le coppie di fotoni aventi energia adeguata e che vengono rivelati da detettori contrapposti in una determinata finestra temporale di coincidenza.

I detettori di più vecchia generazione sono quelli a BGO (germanato di bismuto), i quali sono stati sostituiti da LSO (ortosilicato di lutezio), LYSO (ortosilicato di lutezio e ittrio) o GSO (ortosilicato di gadolinio) poiché essi hanno cristalli ad efficienza maggiore.

Per la formazione delle immagini il sistema memorizza la linea che congiunge i rivelatori contrapposti che hanno registrato i fotoni di annichilazione. Questa linea è detta LOR. Per aumentare l'efficienza del sistema, ciascun rivelatore è messo in coincidenza con un arco di rivelatori contrapposti. Quando il rivelatore registra un segnale, il sistema verifica che sull'arco di rivelatori contrapposti si sia formato un segnale, se l'energia dei fotoni rivelati è nella finestra energetica settata e se i due segnali sono in coincidenza temporale. I fotoni di annichilazione possono interagire in diverso modo con i tessuti per cui, a tal proposito, si definiscono vari tipi di coppie di coincidenza (di cui il primo evento fra quelli successivamente descritti è vero mentre gli altri sono falsi):

- Coincidenze vere: date dalle coppie di fotoni provenienti da un evento vero di annichilazione e che vengono rivelate senza subire interazioni con il corpo del paziente;
- Coincidenze di scatter: costituito da coppie di fotoni provenienti dallo stesso evento di annichilazione in cui almeno uno dei fotoni ha subito diffusione Compton con il corpo del paziente prima di essere rivelato. Queste coincidenze sono registrate ma non distinte dal sistema;

- Coincidenze random: si tratta di eventi casuali e contemporanei ma la coppia di fotoni registrati non appartiene allo stesso evento di annichilazione;
- Coincidenze multiple: in questo caso ci sono più fotomoltiplicatori accesi e il sistema registra sull'arco di rivelatori contrapposti più fotoni in coincidenza temporale con il primo. Questi poi si eliminano perché il sistema non può sceglierli entrambi.

2.1.3 Formazione e correzione delle immagini PET.

Le immagini PET si formano grazie a degli algoritmi di interpolazione. I piani immagine sono posti sul piano centrale di ciascun anello di rivelazione e tra un piano e l'altro, quindi il numero dei piani immagine è costante ed è pari al doppio del numero degli anelli meno uno. I piani diretti sono quelli corrispondenti agli anelli di rivelazione, mentre i piani incrociati sono i piani posti tra un anello e l'altro. La formazione dell'immagine avviene mediante interpolazione delle varie linee di coincidenza rivelate da diversi anelli.

Ci sono, tra l'altro, diversi fattori fisici che inficiano sulle immagini PET, di cui i più importanti sono i seguenti:

- Attenuazione dei fotoni: l'attenuazione è il fenomeno per cui i fotoni attraversano la materia e rilasciano in essa la loro energia fino al completo assorbimento. L'attenuazione dipende da diversi fattori, come l'energia dei fotoni o la densità del mezzo attraversato. Per correggere l'attenuazione i tomografi TC/PET sfruttano la componente TC per creare mappe di attenuazione. La correzione per l'attenuazione è "puntuale" e quindi è importante che ci sia corrispondenza biunivoca tra i pixel delle immagini emissive e trasmissive, che proprio per questo

motivo sono sequenziali ed il paziente mantiene la stessa posizione sul lettino;

- Correzione per lo scatter: esso provoca il tipico artefatto di “blurring” delle immagini. Lo si può correggere restringendo la finestra energetica, usando setti di separazione tra gli anelli (sistemi 2D) o algoritmi di correzione per lo scatter. Con questo fenomeno c’è una variazione del fotone diffuso ed una perdita di energia. Una prima tecnica per correggere lo scatter consiste dunque nella riduzione dei fotoni diffusi accettati dal sistema per mezzo del restringimento della finestra energetica del fotopicco. L’efficacia di questo metodo è direttamente proporzionale alla risoluzione energetica dei cristalli impiegati;
- Correzione per la risposta non omogenea dei cristalli: ciò accade a causa delle differenze intrinseche di cristalli, fotomoltiplicatori e dell’elettronica in generale. Si acquisisce dunque delle mappe di normalizzazione che rivelano le anomalie e le correggono opportunamente;
- Correzione per le coincidenze random: questa correzione può avvenire in due modi, ovvero mediante circuiti di coincidenza e sottrazione dei fotoni singoli. Il primo metodo consiste nell’aggiungere all’elettronica di coincidenza un circuito di ritardo dei segnali. I segnali così generati non saranno frutto di coincidenze vere, ma una stima delle coincidenze random che verranno sottratte dai conteggi totali. Il secondo metodo riguarda la stima del count rate delle coincidenze random a partire dal count rate dei fotoni singoli rivelati da ciascun detettore.

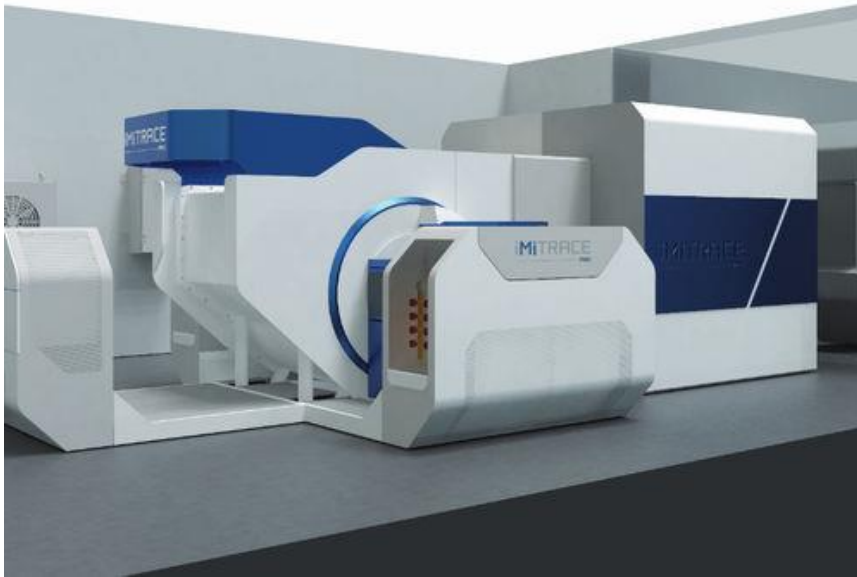
2.2 Il ciclotrone.

Il ^{18}F -Flutemetamol, come tutti i traccianti usati in TC/PET, viene prodotto tramite un ciclotrone. Esso non è altro che un acceleratore di particelle che irraggia con protoni o deuteroni un bersaglio liquido o gassoso di materiale non radioattivo. In PET si prevede, dunque, l'impiego di molecole marcate con radionuclidi che decadendo emettono positroni (β^+). In particolare, la molecola a cui legare i nuclidi β^+ emittenti è scelta in funzione del processo metabolico che si vuole indagare.

Nel caso dei radiofarmaci PET (quindi anche per quanto riguarda il ^{18}F -Flutemetamol), l'introduzione del radionuclide emettitore di positroni avviene tramite una sintesi chimica il cui risultato finale è la formazione del radiofarmaco in cui il radioisotopo è legato alla molecola mediante legame covalente.

2.2.1 Composizione e funzionamento del ciclotrone.

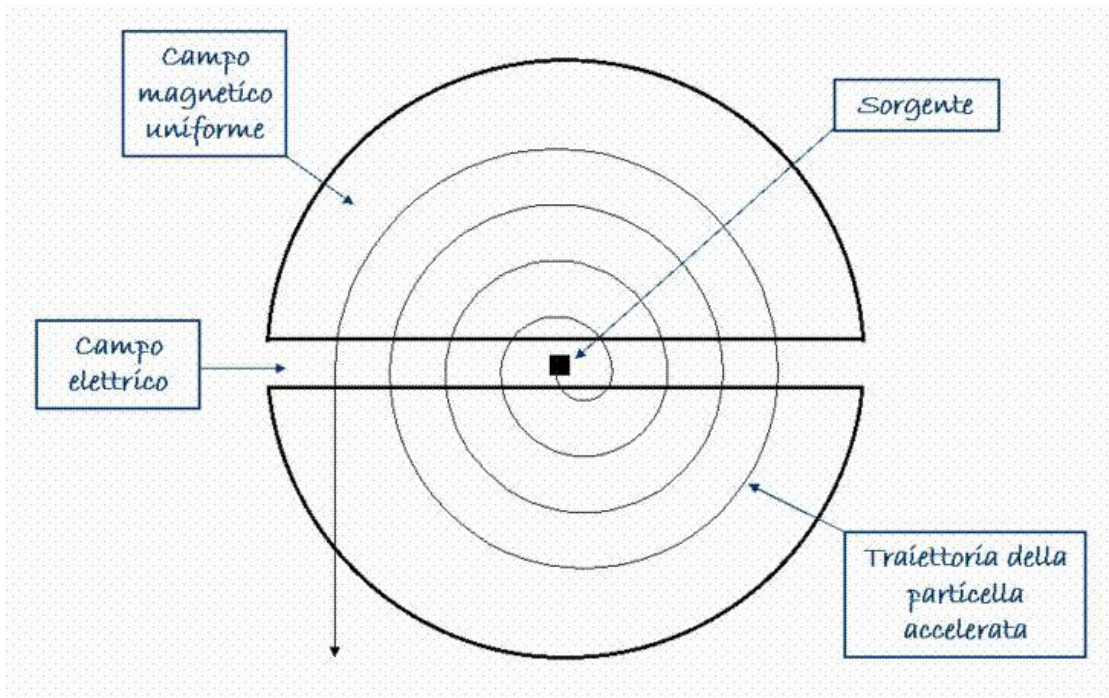
I ciclotroni [Fig. 5] destinati alla produzione di radionuclidi PET sono di facile utilizzo, compatti e caratterizzati da semplicità di manutenzione. Nonostante questi sistemi siano di dimensioni piuttosto ridotte, sono dotati di elevata capacità produttiva e garantiscono la disponibilità di attività molto alte di radionuclidi emettenti positroni.



[Fig. 5] Esempio di ciclotrone per produzione di traccianti PET.

Dal punto di vista tecnico- fisico, il ciclotrone può essere definito come un dispositivo composto da due semidischi aventi carica opposta ed in cui c'è del vuoto [Fig. 6]. I due semidischi sono posti tra i poli di un potente elettromagnete. Il campo elettrico permette di accelerare particelle cariche, mentre la contemporanea presenza di un campo magnetico deflette le particelle lungo orbite circolari. Gli ioni, la cui sorgente è collocata in prossimità del centro del dispositivo, entrano nel semidisco che si trova inizialmente ad un potenziale di carica opposta, e lo percorrono secondo una traiettoria curva. Nello specifico, la sorgente è un dispositivo riempito di un gas (originariamente neutro) che viene ionizzato tramite una scarica di corrente. Nell'istante in cui gli ioni rientrano nello spazio compreso tra i due semidischi le polarità vengono invertite e le particelle entrano nell'altro semidisco ad una velocità maggiore. Tutto ciò viene ripetuto più volte: le particelle sono indotte a muoversi secondo traiettorie di raggio sempre maggiore con sviluppo a spirale e a velocità progressivamente crescenti. Infine, esse vengono deviate dalla periferia di uno dei due semidischi e inviate sul bersaglio scelto, ovvero il

nuclide da trasformare artificialmente in un radioisotopo emettitore di positroni.



[Fig. 6] Componenti del ciclotrone.

2.2.2 Sintesi e produzione del radiofarmaco.

La sintesi dei radiofarmaci PET avviene tramite appositi apparecchi gestiti da dei computer definiti “moduli di sintesi”. Essi si trovano all’interno di celle schermate e dotate di filtri HEPA allo scopo di ridurre al massimo la contaminazione particellare e microbica, oltre che per gestire i gas e i vapori radioattivi generati durante il processo di sintesi. I moduli sono collegati al ciclotrone per mezzo di tubi metallici o in plastica. Per far sì che il radiofarmaco prodotto sia impeccabile occorre avere particolare cura nella preparazione dei reattivi e delle colonne di purificazione. Dopo la preparazione dei reattivi la cella viene chiusa e quando il radioisotopo arriva al ciclotrone inizia il processo di sintesi.

Questa fase può essere seguita sullo schermo di un computer, tramite cui si osserva in tempo reale e in modo interattivo tutta la procedura di sintesi e con la possibilità, per l'operatore, di risolvere eventuali problemi di natura tecnica. Al termine della sintesi il prodotto finale deve essere sottoposto alla sterilizzazione per filtrazione in autoclave, così come previsto dalla Farmacopea (complesso di disposizioni tecnico- scientifiche ed amministrative di cui ci si serve per controllare medicinali o sostanze attraverso i metodi clinico- qualitativi e tecnologici previsti).

Infine, i vials in cui viene introdotto il radiofarmaco possono essere destinati all'uso interno oppure distribuiti in altri centri PET. Ciò accade perché non tutti i centri di medicina nucleare sono in possesso di un ciclotrone, per cui i traccianti PET vengono prodotti in un'altra struttura. Questa è una condizione piuttosto comune, anche se c'è da considerare che i radioisotopi β^+ sono caratterizzati da un'emivita fisica molto breve e quindi nella maggior parte dei casi si rende necessaria una loro produzione in quella che sarà la sede di utilizzo. Il vantaggio dell'utilizzare il radiofarmaco nella sede di produzione è l'incremento della radioattività "on site" che, insieme ai sofisticati sistemi PET/CT, aumenta la capacità diagnostica. D'altra parte, tutto ciò comporta un maggior rischio il che, in termini di radioprotezione, non è da sottovalutare.

2.3 Il radiofarmaco: ^{18}F -Flutemetamol.

2.3.1 Caratteristiche generali del ^{18}F - Flutemetamol.

La PET/CT è un valido strumento di diagnosi che utilizza dei radionuclidi in grado di studiare un determinato processo metabolico. Negli ultimi anni, per quanto riguarda l'encefalo, sono stati sintetizzati e studiati nuovi radiofarmaci in grado di fornire informazioni sempre più dettagliate su alcune patologie a carico di quest'organo ed in particolare delle demenze. Uno di questi è il ^{18}F -Flutemetamol (derivato del ^{11}C -PIB) .

Chimicamente la molecola di Flutemetamol è 2- [4- (metilammino) fenil] - 6- benzotiazolo [Fig. 7] ed ha formula molecolare $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{OS}$.; appartiene alla classe dei composti organici noti come benzotiazoli, i quali contengono un benzene fuso su un anello tiazolico. Il peso del Flutemetamol è circa 273,32.

Viene marcato con l'isotopo 18 del Fluoro e trasformato in [3- [^{18}F] fluoro- 4- (metilammino) fenil] - 6- benzotiazolo. Il termine "isotopo" indica atomi appartenenti allo stesso elemento aventi lo stesso numero di protoni ma una diversa quantità di neutroni, per cui hanno massa e proprietà fisiche differenti tra loro. Nello specifico, il ^{18}F è un radionuclide artificiale e particolarmente instabile ma che decade in O_2 stabile ed è caratterizzato da un'emivita di 110 minuti. Esso è molto utilizzato nelle indagini TC/PET in quanto, decadendo, emette positroni ed è, inoltre, in grado di marcare quasi tutte le molecole, come appunto in questo caso il Flutemetamol.

Il ^{18}F -Flutemetamol è un radiofarmaco, ovvero un farmaco chimicamente associato ad un isotopo radioattivo e destinato all'impiego clinico diagnostico; è una soluzione sterile, apirogena, atossica e limpida; viene somministrata per via endovenosa a pazienti con disturbi cognitivi per rilevare se vi siano a livello cerebrale accumuli anomali di sostanza amiloide.

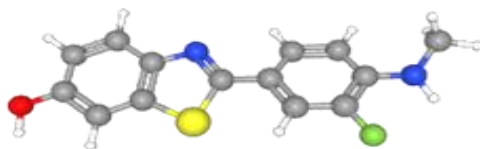
L'attività consigliata di ^{18}F -Flutemetamol è di 185 MBq, viene somministrata in endovena in bolo (<40 secondi) e deve avere un volume non inferiore a 1 ml ma non superiore a 10 ml; l'iniezione deve poi essere seguita da 5-15 ml di soluzione sterile iniettabile di cloruro di sodio per assicurare la completa somministrazione della dose.

Accortezza, durante l'iniezione del ^{18}F -Flutemetamol, è di evitare stravasi del radiofarmaco (anche modesti) che compromettono l'esecuzione dell'esame nonché la valutazione semi-quantitativa. A tal proposito, il paziente viene preparato con un ago cannula appropriata (vedere paragrafo successivo).

La scansione viene eseguita a 90 minuti dalla somministrazione.

Il ^{18}F -Flutemetamol viene fornito in flaconcini di vetro con tappi in gomma alobutilica e sigilli in alluminio oppure in flaconcini in vetro con tappi in gomma perforati.

Il TSRM che prepara il radiofarmaco (non deve essere diluito e deve essere conservato ad una temperatura compresa tra 2° e 30°) verifica che la confezione sia integra e che la soluzione sia limpida, incolore e priva di particelle visibili. Successivamente calcola la dose da somministrare e manualmente prepara la siringa opportunamente schermata.



[Fig. 7] Molecola di ¹⁸F- Flutemetamol

2.3.2 Principi farmacologici e farmacocinetici del radiofarmaco.

Il radiofarmaco si distribuisce nell'organismo entro alcuni minuti dalla sua iniezione. La massima captazione che si ha a livello cerebrale è del 7% e ciò si verifica dopo due minuti dalla somministrazione. Nei primi 90 minuti, che tra l'altro è il tempo raccomandato per effettuare la scansione, si ha una rapida clearance a livello cerebrale, che diventa poi più graduale.

In generale le strutture anatomiche che presentano un più elevato accumulo di attività sono intestino tenue, fegato, parete vescicale, parete prossimale dell'intestino crasso e la parete della cistifellea.

Il ¹⁸F-Flutemetamol viene eliminato velocemente dalla circolazione attraverso il tratto intestinale ed il sistema urinario. Più precisamente, l'eliminazione del Flutemetamol avviene per il 37% circa per via renale e per circa il 52% per via epato- biliare. Il radiofarmaco viene eliminato in circa 4, 5 ore mentre la sua emivita radioattiva è di 110 minuti.

Al termine dell'indagine occorre ricordare al paziente di idratarsi frequentemente per favorire la minzione e l'eliminazione del radiofarmaco tramite urine e feci nelle 24 ore successive alla somministrazione. Quanto appena detto assume una valenza ancor più importante nel caso in cui ci sia stato un sovradosaggio.

2.3.3 Controindicazioni del ¹⁸F-Flutemetamol.

Nelle donne in età fertile deve essere esclusa la gravidanza.

Nel caso in cui l'indagine sia necessaria in corso di allattamento, bisogna sospenderlo per le 24 ore successive all'iniezione ed eliminare il latte prodotto.

Non è indicato l'uso del ^{18}F -Flutemetamol in ambito pediatrico.

Il ^{18}F -Flutemetamol contiene, per dose, fino a 552mg di alcol (etanolo), il che potrebbe risultare dannoso per persone con problemi di alcolismo, donne in gravidanza o che allattano con latte materno, in pazienti con problemi al fegato o di epilessia.

Inoltre, il ^{18}F -Flutemetamol contiene anche al massimo 41 mg di sodio per dose, il che si potrebbe tener conto nel caso di pazienti che seguono una dieta a basso contenuto di Na.

2.3.4 Precauzioni per manipolazione e smaltimento.

Nei casi in cui nella SOD di Medicina Nucleare non si possieda un ciclotrone, il farmaco viene fornito da una ditta specializzata.

L'operatore addetto lo consegna in sede, dove vengono svolte tutte le pratiche burocratiche legate alla consegna del materiale radioattivo in un'apposita valigetta in piombo per schermare la radiazione ed il "vial" viene alloggiato nel frazionatore di dose. Quest'ultimo non è altro che un sistema in piombo e acciaio inox che consente il frazionamento in siringhe dosate per ogni paziente a partire dal "vial madre" contenente il radiofarmaco. Per rendere il più sicuro possibile questo processo ed evitare quindi un irraggiamento interno, il frazionatore è dotato di un sistema di ventilazione a flusso laminare verticale che si estende su tutta l'area di lavoro.

La preparazione del prodotto richiede una siringa monodose provvista di una schermatura in piombo.

Lo smaltimento dei rifiuti avviene nei contenitori appositi, secondo specifiche norme e leggi.

2.3.5 Dosimetria.

La seguente tabella [Tab. 1] è volta a schematizzare la dose assorbita per attività somministrata (in mGy/MBq) da ciascun organo e/o tessuto.

[Tab. 1] Dose assorbita per attività somministrata ai vari organi e tessuti corporei.

Organo/ tessuto	Dose assorbita per attività somministrata (mGy/MBq)
Ghiandole surrenali	0.013
Cervello	0.011
Mammelle	0.005
Cistifellea	0.287
Cuore	0.014
Reni	0.031
Fegato	0.057
Parete dell'intestino crasso inferiore	0.042
Polmoni	0.016
Muscoli	0.009
Cellule osteogeniche	0.011
Ovaie	0.025
Pancreas	0.015
Midollo osseo	0.013
Cute	0.005
Intestino tenue	0.102
Milza	0.015
Stomaco	0.012
Testicoli	0.008
Timo	0.006
Tiroide	0.006
Intestino crasso superiore	0.117
Vescica	0.145
Utero	0.025
Organi rimanenti	0.012
Dose efficace (mSv/MBq)	0.032

2.3.6 Effetti indesiderati.

Il ^{18}F -Flutemetamol potrebbe provocare degli effetti collaterali, distinguibili in comuni e non. Gli effetti più comuni sono sensazione di calore e aumento della pressione sanguigna e generalmente si verificano in una persona su dieci. Gli effetti non comuni sono riscontrabili in una persona su cento e ne sono molti, tra cui: cefalea, vertigini, stati d'ansia, febbre, prurito, pallore, gonfiore di occhi e viso, iperventilazione ecc.

2.3.7 Interpretazione delle immagini ottenute.

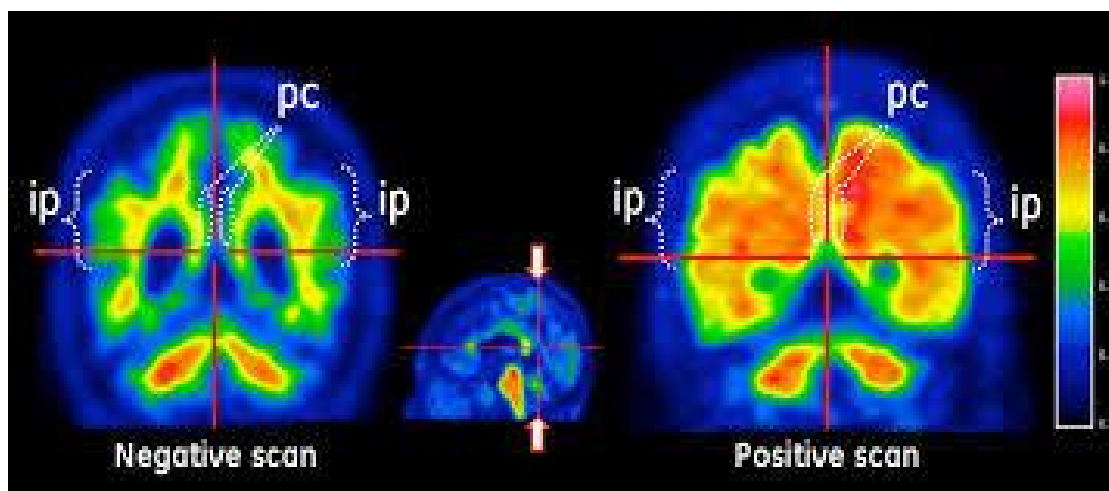
Le immagini ottenute possono essere lette utilizzando scale monocromatiche o una scala di colori (Sokoloff, Rainbow o simili).

Tramite questo valutatore, si deve confrontare l'intensità di segnale della sostanza grigia corticale con il segnale di massima intensità della sostanza bianca. Bisogna valutare le immagini dal livello del ponte e poi scorrendo verso l'alto analizzando: lobi frontali e cingolato anteriore (in assiale), cingolato posteriore e precuneo (in sagittale), aree temporo- parietali (insula compresa in assiale mentre tp in vista coronale), lobi temporali (in assiale) e regione striale (in assiale). Nell'interpretazione delle immagini si deve tener anche conto di eventuali patologie cerebrali, cambiamenti dovuti a interventi chirurgici o ad un trattamento radioterapico, impianti, ecc. Inoltre, sempre al fine di avere una corretta valutazione, sarebbe utile conoscere la storia clinica del paziente e cioè, ad esempio, esami clinici e di laboratorio, descrizione della sindrome clinica, imaging TC, RM e TC/PET precedenti, punteggio al MMSE, eventuali comorbilità o un eventuale esame del liquor (nel caso in cui sia mai stato condotto).

Le scansioni possono essere definite come positive o negative, considerando anche che potrebbero esserci dei falsi positivi o negativi.

Una scansione negativa indica assenza di placche amiloidi o la rilevazione di poche di esse, per cui è definita “normale”. Per dire che una regione è negativa ci deve essere basso segnale del tracciante nelle regioni corticali, cioè l’intensità del segnale è minore di quello della sostanza bianca adiacente e con intensità simile a quella delle regioni del cervelletto che sono ricche di sostanza grigia. [Fig. 8].

Per contro, una scansione si definisce positiva quando si rileva una densità da moderata a elevata di placche neuritiche e la scansione viene identificata come “anomala”. In queste immagini il segnale del tracciante è elevato nelle regioni corticali, quindi la sua intensità è circa pari o maggiore che nella sostanza bianca adiacente e maggiore delle regioni del cervelletto ricche di sostanza grigia. [Fig. 8].



[Fig. 8] Esempio di scansione negativa e positiva con Flutemetamol.

È utile confrontare le immagini ottenute con il Flutemetamol con scansioni TC o RM qualora fossero disponibili, il che potrebbe essere d’aiuto soprattutto nel caso di atrofia di diverse aree del cervello. In questo caso infatti, complice la perdita di sostanza grigia, si ha una ridotta captazione del radiofarmaco, che potrebbe rendere difficile l’individuazione di una scansione positiva. Nel caso

di atrofia evidente o sospetta è utile valutare il segnale del tracciante nello striato che, rispetto ad altre regioni encefaliche, è meno soggetto ad atrofia.

Inoltre, facendo un confronto tra soggetti sani e affetti da morbo di Alzheimer, in entrambi i casi si ha una elevata captazione nel ponte di Varolio e nelle varie aree di sostanza bianca. Ovviamente nei pazienti con Alzheimer ci si aspetta una notevole captazione a livello delle regioni corticali e striali, rispetto ad un soggetto sano. Come è giusto che sia, quindi, un paziente sano ha basso livello di accumulo di ^{18}F -Flutemetamol nella corteccia cerebrale.

2.4 Esecuzione dell'esame.

Il paziente giunge presso la SOD di Medicina Nucleare, dove verrà ricevuto dal personale infermieristico e successivamente dal medico per l'anamnesi e per verificare l'appropriatezza all'esame; il paziente viene informato sulle modalità di svolgimento dell'esame e si ottiene il suo consenso all'esecuzione dello stesso.

Il paziente viene accompagnato dal personale infermieristico nella sala adibita alla somministrazione dei radiofarmaci (zona controllata), verrà fatto accomodare su una poltrona reclinabile, preparato l'accesso venoso con ago cannula e saranno rilevati i suoi parametri vitali (pressione sanguigna, frequenza respiratoria e temperatura).

Il TSRM prepara il radiofarmaco (185 MBq di ^{18}F -Flutemetamol) che sarà somministrato dal medico, con l'ausilio del tecnico per via endovenosa.

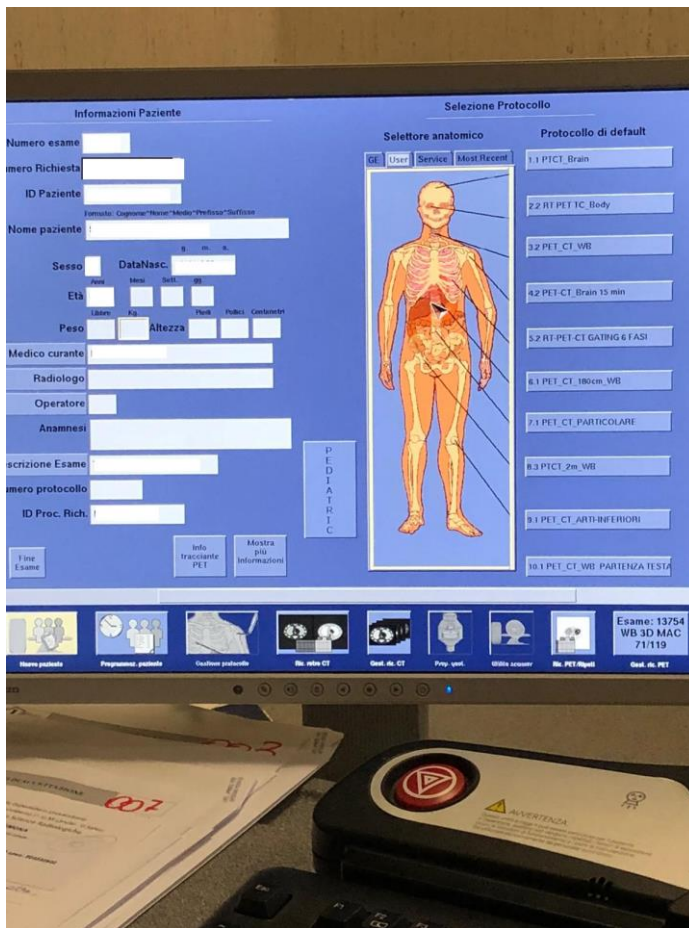
Successivamente il paziente attenderà sulla poltrona per circa 70-75 minuti dopo cui sarà condotto dal personale infermieristico ad urinare nella toilette dedicata e poi accompagnato nella stanza della PET, dove è invitato a rimuovere gli eventuali oggetti metallici che potrebbero interferire con l'indagine.

Il TSRM posiziona il paziente sul lettino tomografico, in posizione supina e modalità "head first" in modo che la testa venga alloggiata in un apposito caschetto montato sul lettino PET e, per agevolare la corretta centratura, il TSRM posiziona il paziente in modo che il piano orbito-meatale e quello sagittale siano perpendicolari al lettino (con l'ausilio dei laser). A questo punto si verifica che cervello e cervelletto siano compresi in un unico campo di vista.

Al corretto posizionamento del paziente è strettamente legata la sua compliance: egli dovrà mantenere la posizione per tutta la durata dell'esame per cui più sarà comodo, meno sarà probabile che il paziente si muova e che si generino artefatti da movimento (frequente causa di ripetizione dell'esame). Una volta trovata la posizione ideale per il paziente e per l'indagine da svolgere si andranno ad utilizzare degli appositi sistemi di contenzione al fine di limitare movimenti, volontari e non, dell'individuo.

Tutte le procedure sopra citate (periodo di riposo, utilizzo della toilette, preparazione e posizionamento del paziente) devono essere eseguite entro 90 ± 5 minuti dal momento dell'iniezione del ^{18}F -Flutemetamol affinché la radioattività dell'encefalo sia ottimale durante la scansione.

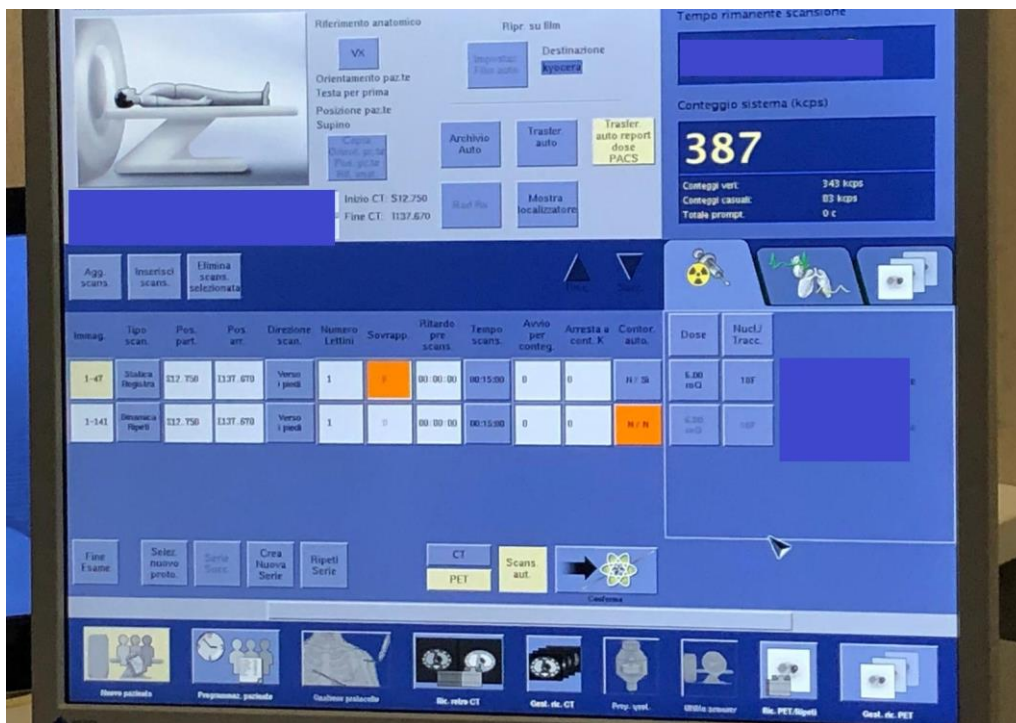
Dopo aver posizionato il paziente, il TSRM entra nella sala comandi ed esegue un "refresh" al computer per trovare il paziente desiderato e caricarlo. A questo punto si inseriscono peso, altezza del soggetto e attività somministrata e si sceglie il protocollo da eseguire [Fig. 9], che in questo caso è stato identificato come "1.12 BRAIN AMILOIDE FLUTEMETAMOL". Una volta che sono stati caricati tutti i dati necessari allo svolgimento dell'esame, si acquisisce una scansione TC con gli appositi parametri per lo studio da effettuare (generalmente si impostano 140 kV e 60- 100 mA) [Fig. 10a], in modo tale che poi si proceda all'impostazione dei parametri PET [Fig. 10b] e all'avvio della stessa. Oltre che per i motivi già citati nel capitolo 2.1.2, le immagini TC sono importanti anche perché tramite la scout si va ad impostare il pacchetto per la successiva scansione PET. Viene eseguita la scansione in 3D di 20' con modalità "list mode".



[Fig. 9] Interfaccia per la selezione del corretto protocollo d'esame.



[Fig. 10a] Interfaccia per la scelta dei corretti TC.



[Fig. 10b] Interfaccia per la selezione dei corretti parametri PET.

Al termine dell'indagine il TSRM verifica che le immagini siano corrette (assenza di movimento, interamente compresi cervello e cervelletto) nell'eventualità di ripetere l'acquisizione con il paziente ancora sul lettino.

Nel caso in cui tutto sia stato svolto correttamente, il paziente viene fatto scendere ed è condotto nello spogliatoio, previa misurazione dei parametri vitali.

Utile sottolineare che è buona norma ricordare nuovamente al paziente che, a causa della radioattività residua, dovrà evitare contatti ravvicinati con donne in gravidanza e bambini nelle 24 ore successive all'esame, nonché l'importanza di idratarsi per eliminare più velocemente il radiofarmaco.

Il TSRM al termine dello studio esegue la correzione delle immagini e la elaborazione delle "raw-images" alla consolle della PET: retroproiezione filtrata

o iterativa con spessore tra 2 e 4 mm, matrice di 128x128 e pixel di circa 2 mm.; se applicato il filtro smoothing si usa FWHM al massimo di 5mm (nello specifico questo filtro è usato per ottimizzare il rapporto segnale-rumore mantenendo una buona definizione dell'immagine ricostruita). Le immagini ottenute sono poi successivamente rielaborate con il programma Cortex ID[®] per la valutazione semi-quantitativa della distribuzione del ¹⁸F-Flutemetamol.

I dati ottenuti saranno archiviati dal TSRM nello specifico sistema aziendale (PACS) e le immagini verranno memorizzate su CD per essere fornite al paziente, unitamente al referto.

2.5 Software di elaborazione (Cortex ID®).

In questo lavoro il software che è stato utilizzato per l'elaborazione e l'analisi quantitativa dei traccianti PET per beta- amiloide è chiamato Cortex ID® ed è allocato nell'AW Server.

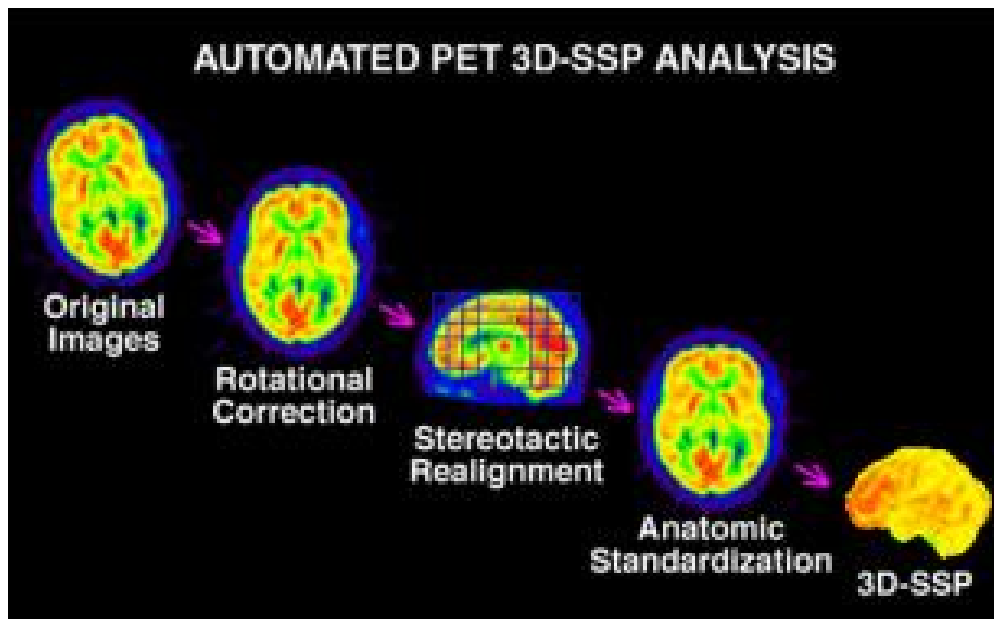
Questo software è un programma medico dedicato esclusivamente alle analisi delle immagini PET dell'encefalo.

Il software consiste in una applicazione di post-processing sviluppata come un ausilio nella valutazione di pazienti con patologie neurodegenerative (es. morbo di Alzheimer o demenza fronto-temporale) tramite analisi e quantificazione delle scansioni PET dell'encefalo. Oltre che ad essere un valido strumento per una prima diagnosi, il software consente inoltre di impostare uno standard per il follow-up longitudinale dato che i risultati sono sempre riproducibili.

Il software contiene un database di immagini RM dell'encefalo di soggetti sani (privi di patologie psichiatriche o traumi, che non abbiano subito interventi chirurgici, non aventi device nel cervello ecc..) al fine di normalizzare rispetto ad esse le scansioni ottenute durante l'indagine PET. Questo campione include soggetti di età generalmente compresa fra 42 e 89 anni, anche se nello studio con ¹⁸F-Flutemetamol non è richiesta la normalizzazione in base all'età. La normalizzazione è un processo che, seppur automatico, è fondamentale per l'analisi quantitativa, in quanto minimizza e/o rimuove gli errori sistematici inerenti alle misure quantitative. La coregistrazione delle immagini del paziente con il template di riferimento deve essere precisa, soprattutto a livello delle regioni di riferimento, che per l'amiloide sono il ponte e la sostanza grigia. Inoltre, il valore aggiunto è che avendo delle immagini PET che si confrontano con il template di immagini RM ("fused analysis") di soggetti

sani, si possono ottenere informazioni su eventuali variazioni della quantificazione dell'amiloide in funzione dell'anatomia dell'encefalo.

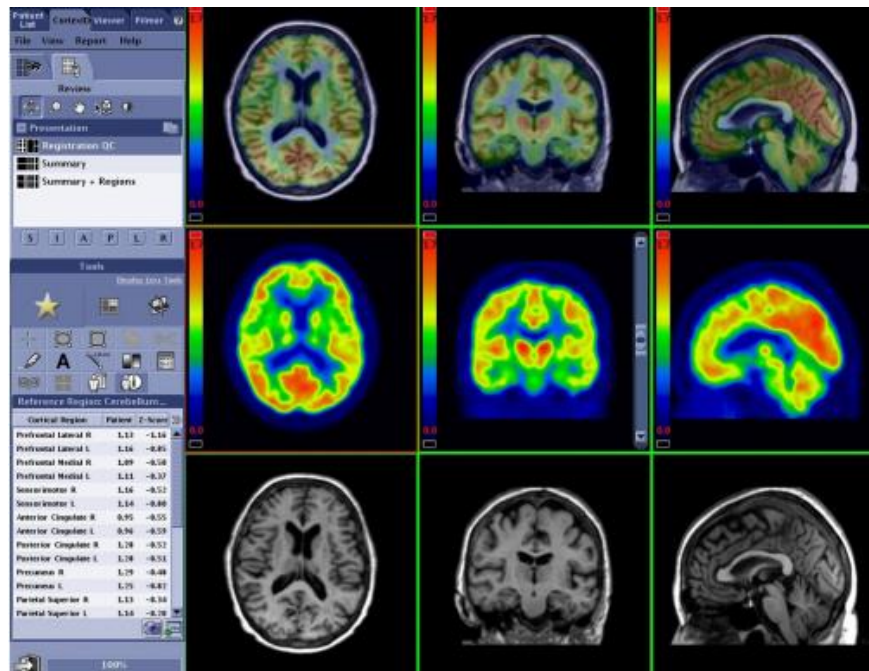
La quantificazione viene eseguita attraverso delle immagini definite 3D SSP [Fig. 11], ovvero "Stereotactic Surface Projection", tramite le quali si va a valutare l'uptake dell'intero encefalo o anche di un solo emisfero (con possibilità di ruotare ed "aggiustare" le mappe del cervello che sono state generate). Affinché le 3D SSP siano corrette occorre, innanzitutto, controllare la rotazione dell'encefalo ed eventualmente modificare l'allineamento destra-sinistra utilizzando l'algoritmo SSC, "Stochastic Sign Change". A questo punto le immagini PET vengono allineate con le coordinate stereotassiche secondo la linea passante tra commessura anteriore e posteriore. Si procede, successivamente, alla "standardizzazione anatomica" con una correzione lineare delle dimensioni dell'encefalo del paziente rispetto al template predefinito, in modo tale che si ottengano delle immagini standard con voxel di 2.25 mm e matrice di 128 x 128 mm. È importante praticare anche una deformazione non lineare delle immagini TC- PET secondo la direzione dei maggiori fasci di fibre neuronali per ridurre eventuali disallineamenti a carico della sostanza grigia. Una volta eseguiti questi "passaggi" si può procedere all'estrazione delle informazioni quantitative sul carico di beta- amiloide grazie alle immagini 3D SSP che vengono automaticamente generate.



[Fig. 11] Processo da attuare per ottenere le immagini 3D SSP.

Dal punto di vista pratico, le immagini utili all'analisi quantitativa sono state ottenute mettendo in atto i seguenti passaggi su una workstation dedicata e provvista di software AW Server 3.2 Ext 1.0:

- Richiamare il paziente, mediante cognome e nome, nella sezione “browser elenco di lavoro” di AW Server. Nel caso in cui il soggetto non comparisse nell'elenco, sarà ricercato ed esportato da un'altra workstation;
- Dopo aver cliccato sul nome del paziente si aprirà una finestra con l'elenco delle serie che compongono l'indagine TC- PET eseguita. La serie da selezionare è “dynamic brain”. Quest'ultima, una volta che si è cliccato il tasto “altro” in fondo alla pagina, verrà aperta con Cortex ID[®] suite;
- Il software, a questo punto, elabora automaticamente le immagini [Fig. 12];



[Fig. 12] Match tra immagini del paziente e template predefinito.

- Facendo click sulla sezione “revisione e analisi” si apre un menu con diverse scelte da poter selezionare. La voce che si è scelto di prendere è “summary + region” [Fig. 13], tramite cui si visualizzano le immagini SSP PET e SSP Z- score accompagnate dalla tabella delle regioni di riferimento;



[Fig. 13] Menu per scegliere come visualizzare i dati quantitativi ottenuti in seguito all'elaborazione.

- A questo punto si clicca su “rapporto” > “salva rapporto” >” salva in sistema locale/ USB” per poter salvare [Fig. 14] sulla workstation in uso le informazioni ottenute ed eventualmente stamparle per fornirne una copia al paziente.

Preview Report	
Print Report	
Save Report	Save To Local System/USB
Edit Report Template	Save As Encapsulated PDF
Add Selected Viewport F12	Save As Secondary Capture Image

[Fig. 14] Salvataggio delle elaborazioni.

Attraverso questi passaggi piuttosto semplici si possono ottenere delle informazioni quantitative sicure, complete e dettagliate circa il carico di amiloide in pazienti con patologie neurodegenerative sospette o confermate. Infatti, grazie allo Z- score e alle tabelle di riferimento, si può discriminare pazienti positivi o meno per beta- amiloide e quindi per AD o altri disturbi cognitivi.

3. RISULTATI.

Lo studio oggetto di questa tesi è stato condotto su 12 pazienti [Tab. 2] seguiti personalmente nel periodo settembre 2019- settembre 2020 aventi età e sesso differenti. In eseguito all'esecuzione dell'esame, le immagini sono state processate con apposito algoritmo di elaborazione al fine di avere delle informazioni semi- quantitative circa la captazione del radiofarmaco e quindi sulla presenza di sostanza amiloide nelle varie aree dell'encefalo.

PAZIENTE	SESSO	ETA'	DATA ESAME
SEPA53- FLUT	M	65	04-09-19
FAMO62- FLUT	F	56	04-09-19
AMZA42- FLUT	F	77	18-11-19
EDCA37- FLUT	F	82	27-11-19
FEME53- FLUT	M	66	11-12-19
CRGA63- FLUT	F	56	11-12-19
ROAR49- FLUT	M	70	12-02-20
PASE58- FLUT	M	61	18-03-20
MESA59- FLUT	M	60	22-04-20
LIRO48- FLUT	F	71	24-06-20
FIGH58- FLUT	F	62	19-06-20
MGBA64-FLUT	F	55	28-02-20

[Tab. 2] Pazienti del periodo settembre 19- settembre 20 le cui scansioni sono state sottoposte a rielaborazione.

Un notevole vantaggio del software di elaborazione è la possibilità di svolgere l'attività di post- processing anche a posteriori e, dunque, su indagini svolte prima del suo impiego nella SOD di Medicina Nucleare. Per avvalorare questo aspetto del Cortex ID[®], dunque, è stato applicato l'algoritmo di rielaborazione anche alle scansioni TC/PET con ¹⁸F- Flutemetamol di 17 soggetti *[Tab. 3]* condotte nel periodo marzo 2016- agosto 2019.

PAZIENTE	SESSO	ETA'	DATA ESAME
SIZE42- FLUT	F	74	14-03-16
ADFE44- FLUT	F	71	22-06-16
FAFA36- FLUT	M	79	22-06-16
MIPO40- FLUT	F	76	9-11-16
INMA45- FLUT	F	71	9-11-16
LUCA44- FLUT	M	65	7-12-16
FIPI46- FLUT	F	70	15-03-17
AECA55- FLUT	M	61	21-06-17
LUDI54- FLUT	F	63	19-07-17
WABE45- FLUT	M	72	13-12-17
CEST42- FLUT	F	75	06-06-18
PIPR60- FLUT	M	58	25-07-18

FIMA65- FLUT	M	53	14-11-18
FRBA40- FLUT	M	78	05-12-18
CDSP61- FLUT	M	57	28-01-19
DEPA49- FLUT	M	70	27-03-19
MAFA55- FLUT	F	64	21-08-19

[Tab. 3] Pazienti del periodo marzo 16- agosto 19 le cui scansioni sono state sottoposte all'elaborazione con software dedicato.

Di seguito sono riportati degli esempi di rielaborazioni ottenute tramite algoritmo dedicato.

In entrambi i casi si ottengono tabelle indicanti il “rapporto di assorbimento” e lo “Z- score” per le diverse regioni di riferimento encefaliche, oltre che le “immagini Z- score” che mostrano le sedi di captazione del radiofarmaco in rapporto a “immagini Z- score” di un encefalo normale. Nel primo caso *[Fig. 15a- 15b]* si rilevano elevati valori di Z- score, per cui si è dinanzi ad un paziente positivo per accumulo di sostanza amiloide. Per contro, nel secondo esempio *[Fig. 16a- 16b]* c'è ridotta (o meglio quasi nulla) ipercaptazione del ^{18}F - Flutemetamol e come suggeriscono i valori semi- quantitativi e le immagini ottenuti in seguito a post- processing, si ha negatività per depositi di amiloide.

Risultati test PET Flutemetamol

Paziente : FAMO62- FLUT

Età : 56

Data test : 04 set 2019

Medico ordinante : ESTERNO

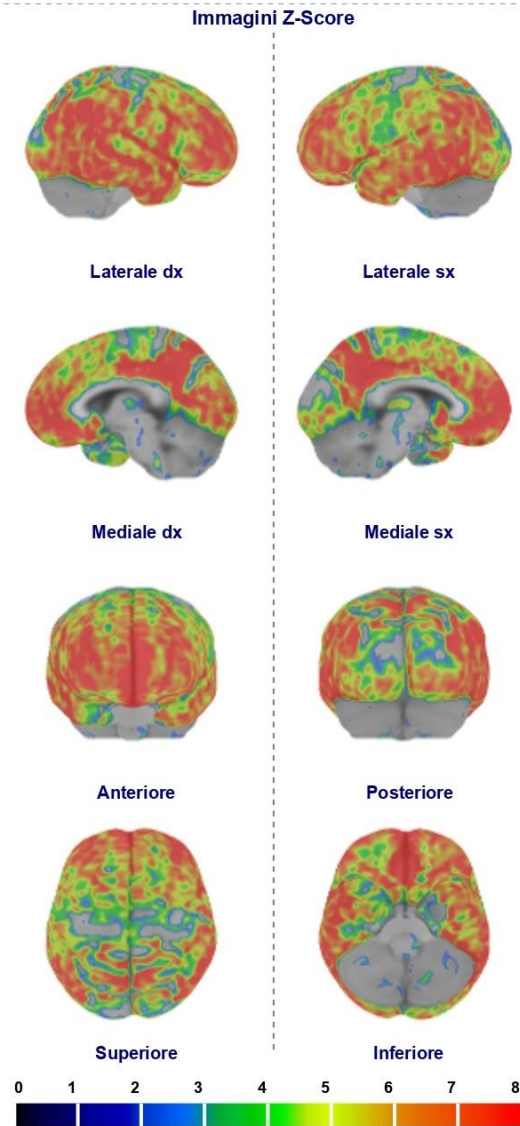
Medico di lettura : Non disponibile

Esame : Tomoscintigrafia cereb

Dose inie. : 183,84 MBq/ml Flutemetamol

Scanner : GE MEDICAL SYSTEMS Discovery

Regione	Rapporto di assorbimento	Z-Score
Composite	1,08	12,95
Prefrontal R	1,11	12,16
Prefrontal L	1,11	11,75
Anterior Cingulate R	1,08	9,68
Anterior Cingulate L	1,15	9,67
Precuneus PostCing R	1,07	10,98
Precuneus PostCing L	1,14	11,97
Parietal R	1,05	11,45
Parietal L	0,97	9,71
Temporal Lateral R	1,05	12,65
Temporal Lateral L	1,04	12,58
Occipital R	1,02	11,42
Occipital L	0,94	9,44
Sensorimotor R	0,92	7,78
Sensorimotor L	0,90	7,27
Temporal Mesial R	0,69	4,84
Temporal Mesial L	0,72	5,37
Cerebellum Grey	0,40	-0,15
Cerebellum Whole	0,48	0,14
Pons	1,00	0,00
Regione di riferimento: Pons		



Alle immagini mostrate è applicata una soglia 2 SD

Pagina di riepilogo medico ordinante

[Fig. 15a] Elaborazione ottenuta con software dedicato.

Risultati test PET Flutemetamol

Paziente : FAMO62- FLUT

Età : 56

Data test : 04 set 2019

Medico ordinante : ESTERNO

Medico di lettura : Non disponibile

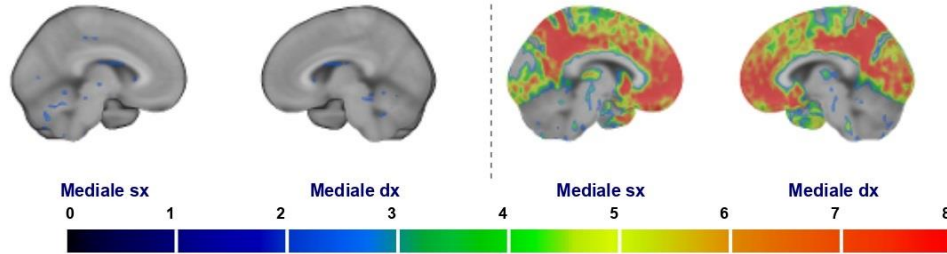
Dose inie. : 183,84 MBq/ml Flutemetamol

Esame : Tomoscintigrafia cereb

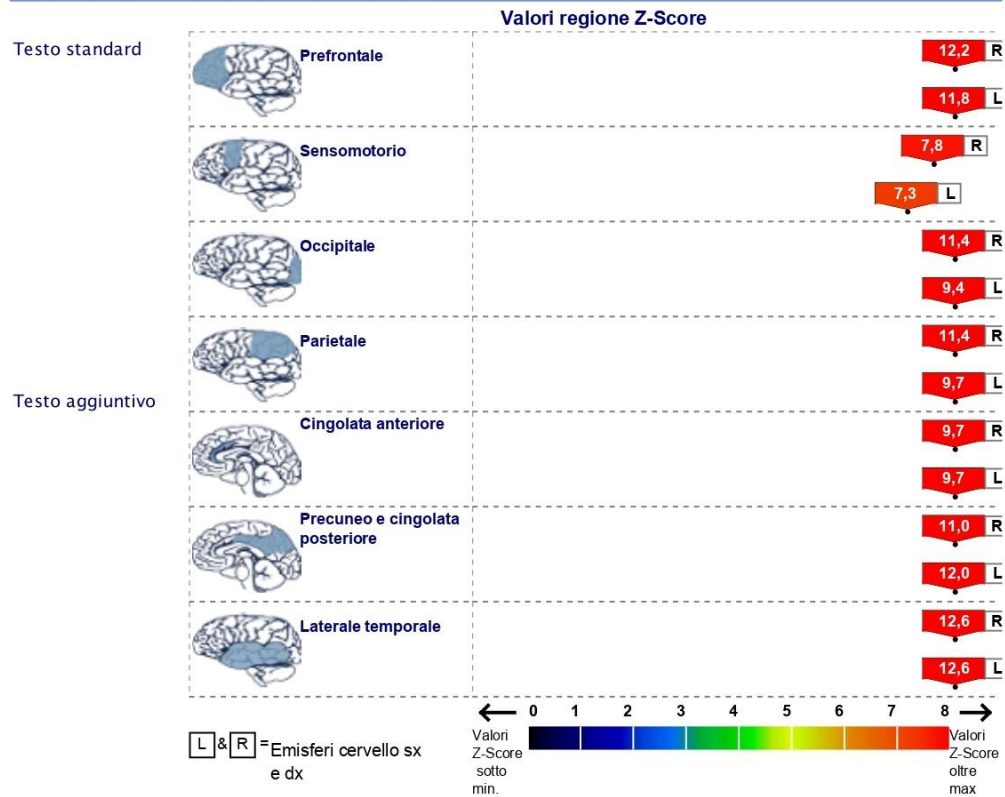
Scanner : GE MEDICAL SYSTEMS Discovery

Immagini Z-Score cervello normali*

FAMO62- FLUT Immagini Z-Score cervello



* Le immagini di esempio normali hanno Z-Score per la maggior parte delle aree del cervello inferiori a 2 SD.
Alle immagini mostrate è applicata una soglia 2 SD



Pagina di riepilogo paziente

[Fig. 15b] Elaborazione ottenuta con software dedicato.

Risultati test PET Flutemetamol

Paziente : LIRO48- FLUT

Età : 71

Data test : 24 giu 2020

Medico ordinante : ESTERNO

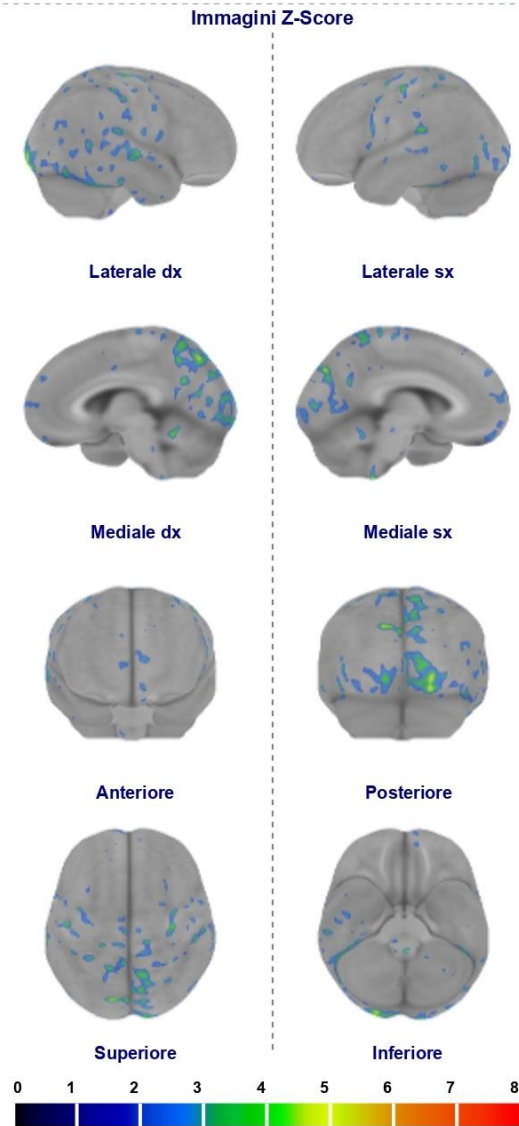
Medico di lettura : Non disponibile

Esame : Tomoscintigrafia cereb

Dose inie. : 246,7 MBq/ml Flutemetamol

Scanner : GE MEDICAL SYSTEMS Discovery

Regione	Rapporto di assorbimento	Z-Score
Composite	0,48	-0,40
Prefrontal R	0,42	-1,22
Prefrontal L	0,41	-1,37
Anterior Cingulate R	0,47	-0,44
Anterior Cingulate L	0,46	-1,03
Precuneus PostCing R	0,57	1,32
Precuneus PostCing L	0,52	-0,14
Parietal R	0,55	0,93
Parietal L	0,47	-0,29
Temporal Lateral R	0,58	1,23
Temporal Lateral L	0,51	-0,21
Occipital R	0,62	1,83
Occipital L	0,60	1,42
Sensorimotor R	0,52	0,33
Sensorimotor L	0,51	0,11
Temporal Mesial R	0,48	-1,02
Temporal Mesial L	0,45	-1,86
Cerebellum Grey	0,35	-1,62
Cerebellum Whole	0,44	-1,41
Pons	1,00	0,00
Regione di riferimento: Pons		



Alle immagini mostrate è applicata una soglia 2 SD

Pagina di riepilogo medico ordinante

[Fig. 16a] Elaborazione ottenuta con software dedicato.

Risultati test PET Flutemetamol

Paziente : LIRO48- FLUT

Età : 71

Data test : 24 giu 2020

Medico ordinante : ESTERNO

Medico di lettura : Non disponibile

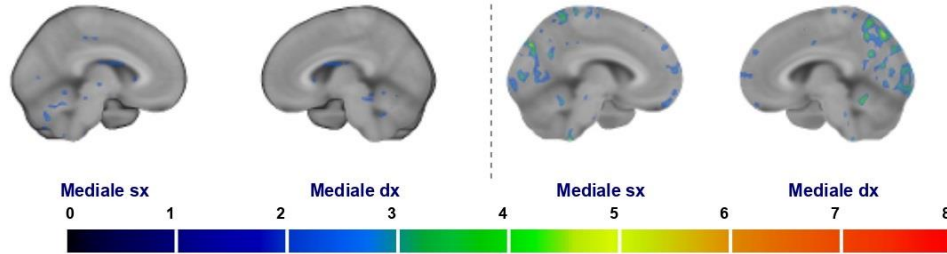
Dose inie. : 246,7 MBq/ml Flutemetamol

Esame : Tomoscintigrafia cereb

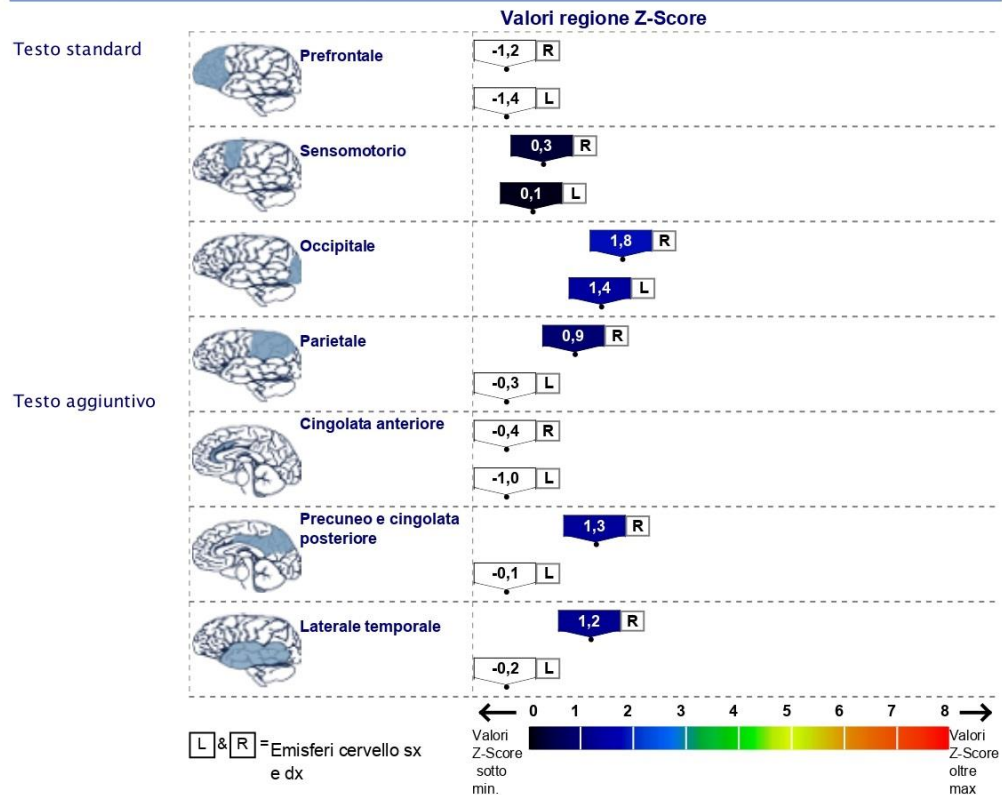
Scanner : GE MEDICAL SYSTEMS Discovery

Immagini Z-Score cervello normali*

LIRO48- FLUT Immagini Z-Score cervello



* Le immagini di esempio normali hanno Z-Score per la maggior parte delle aree del cervello inferiori a 2 SD.
Alle immagini mostrate è applicata una soglia 2 SD



Pagina di riepilogo paziente

[Fig. 16b] Elaborazione ottenuta con software dedicato.

4. CONCLUSIONI.

In conclusione, il software di elaborazione esposto e valutato permette una migliore analisi della distribuzione della sostanza amiloide a livello encefalico, fornendo:

- un dato semi- quantitativo della distribuzione, sia globale sia regionale, del radiofarmaco (che generalmente è solo qualitativo);
- dati corretti in funzione dell'età e del genere;
- la possibilità di ottenere dei dati ripetibili nel tempo.

Inoltre, è importante sottolineare che l'impiego di tale software di elaborazione svincola l'operatore dalla analisi "soggettiva" delle immagini (ovvero l'analisi delle immagini non è "operatore-dipendente").

BIBLIOGRAFIA.

- “AW server 3.2: guida per l’utente”, Revisione 7, 2015- 2019, General Electric Company;
- “Cortex ID- Behind the Technology”, 2014, General Electric Company;
- “Cortex ID- guida per l’utente di Cortex ID suite per AW e AW Server”, Revisione 2, 2016, General Electric Company;
- “Cortex ID: technical description”, General Electric Company;
- Fanti S., Lopei E., Monetti N., “Compendio di Diagnostica Medico Nucleare”, seconda edizione 2013, Esculapio Editore, Italia;
- Godsell D. S. “Protein Data Bank”, 2006, RCSB;
- Linee guida procedurali AIMN, 14.02.15;
- Martini F.H., Timmons M. J., Tallitsch R. B. “Anatomia Umana”, 2016, Edises, Italia;
- Pontieri G.M “patologia generale e fisiopatologia generale”, 2012, Piccin, Italia;
- Volterrani D., Erba P. A., Mariani G. “Fondamenti di Medicina Nucleare”, 2010, Springer- Verlag, Italia;
- www.gehealthcare.com;
- www.treccani.it;
- www.wikipedia.org.

RINGRAZIAMENTI.

Con questa tesi si conclude un primo importante capitolo della mia carriera universitaria, tanto bello quanto impegnativo.

Il primo grazie va alla mia famiglia, in particolare ai miei genitori e ai miei nonni: grazie per avermi sempre motivata e sostenuta nelle mie scelte e per avermi permesso di intraprendere gli studi. È grazie a voi se sono qui oggi.

Vorrei ringraziare Benito, che mi è sempre stato vicino durante il periodo universitario ed ha pazientemente sopportato le ore (o meglio giornate) trascorse a lamentarmi e a studiare, ma è stato anche protagonista dei miei momenti di maggiore soddisfazione, come questo.

Ringrazio gli amici, vicini e lontani, che mi hanno sempre incoraggiata e accompagnata in questo mio percorso. Grazie per aver “alleggerito” le mie faticose giornate di studio con cene, pizze, serate a piazza del Papa, cinema, cioccolate calde e interminabili partite a “Monopoly”. Grazie soprattutto a Daniela, Federica, Paolo, Gianpaolo e Rosamaria.

Un grazie ai miei compagni di corso, con cui ho condiviso esperienze che porterò sempre con me.

Un ringraziamento più che doveroso va al Dottor Fringuelli, relatore di questa tesi, per l’impegno profuso e la disponibilità dedicata alla realizzazione di questo lavoro. Un grazie anche al personale della SOD di Medicina Nucleare per la gentilezza e l’affabilità sempre dimostrate.

Un doveroso grazie va anche al personale della Radiologia degli Ospedali Riuniti di Ancona per essere stati un’importante guida durante questi tre anni di tirocinio. Grazie per avermi trasmesso il vostro sapere ed avermi fatto sentir

parte della vostra grande famiglia rendendo più serena questa mia prima “esperienza lavorativa”.

Un ultimo, ma non per questo meno importante, ringraziamento va a me stessa: è soprattutto grazie alla tenacia e alla determinazione che mi contraddistinguono se sono arrivata fin qui. Per aspera ad astra!

Con affetto,

Mariateresa.