

IL FUTURO DELLE TECNICHE ULTRASONOGRAFICHE IN NEFROLOGIA

Antonio Granata¹, Bruno Luciani², Placido Romeo², Francesco Logias³, Monica Insalaco¹, Luca Di Lullo⁴, Fulvio Floccari⁵, Michele Bertolotto⁶, Fulvio Fiorini⁷

¹U.O.C. Nefrologia e Dialisi, Ospedale "San Giovanni di Dio", Agrigento

²U.O.C. Radiodiagnostica, Ospedale "San Vincenzo", Messina

³U.O.C. Nefrologia e Dialisi, Ospedale "San Camillo", Sorgono (NU)

⁴U.O.C. Nefrologia e Dialisi Ospedale "L. Parodi Delfino", Collesano (RM)

⁵U.O.C. Nefrologia e Dialisi, Ospedale "S. Paolo", Civitavecchia (RM)

⁶U.O.C. Radiologia, Università di Trieste, Trieste

⁷U.O.C. Nefrologia e Dialisi, Ospedale "S. Maria della Misericordia", Rovigo

The future of the ultrasonography techniques in nephrology

Thanks to the wide geographical diffusion, low cost and lack of ionizing radiation, ultrasound is now the most widely used imaging technique in clinical practice, second only to chest radiography. Recent technological innovations and introduction of ultrasound contrast agents, further expanded the fields of application of ultrasound, guarantying for the future to this technique an important role in imaging of the urinary tract. The nephrologist must be able to exploit the potential offered by technological innovations in ultrasound imaging for the study of the kidney. The proper management of equipment, in fact, allows to obtain ultrasound images in gray scale of the highest quality, to optimize the diagnostic accuracy of Doppler techniques and take full advantage of the tools offered by means of ultrasound contrast agents.

Conflict of interest: None

Financial support: None

KEY WORDS:

Ultrasonography,
Fusion Imaging,
Contrast-enhanced ultrasonography,
Renal disease

PAROLE CHIAVE:

Ecografia,
Fusion Imaging,
Ecocontrastografia,
Malattia renale

Indirizzo degli Autori:

Dr. Antonio Granata
Via F. Paradiso 78/a
95024 Acireale (CT)
e-mail: antonio.granata4@tin.it

INTRODUZIONE

Grazie all'ampia diffusione sul territorio, ai costi contenuti e all'assenza di radiazioni ionizzanti, l'ecografia è oggi la tecnica di *imaging* più diffusa e utilizzata nella pratica clinica, seconda solo alla radiografia del torace. La possibilità da parte del clinico di gestire direttamente l'*imaging* ecografico senza dover ricorrere necessariamente a servizi esterni costituisce inoltre un indubbio vantaggio gestionale in molte situazioni cliniche, in particolare in condizioni di urgenza. Queste caratteristiche garantiscono di per se stesse il futuro dell'*imaging* ecografico. In ambito nefrologico l'ecografia già attualmente rappresenta la metodica di *imaging* di riferimento, fornendo un valido supporto sia in fase diagnostica, per

l'identificazione e la caratterizzazione delle lesioni, sia in fase terapeutica come guida alle procedure interventistiche. Le recenti innovazioni tecnologiche e l'introduzione dei mezzi di contrasto ecografici ampliano già da oggi i campi di applicazione dell'ecografia e garantiscono anche per il futuro a questa tecnica un ruolo di primo piano nell'*imaging* dell'apparato urinario. Altre opportunità deriveranno dallo sviluppo di nuove tecniche ecografiche (per esempio, l'elastosonografia), dall'utilizzo di nuove modalità di visualizzazione e fruizione delle immagini (per esempio, l'*imaging* ecografico tridimensionale e la *Fusion Imaging*) e dall'utilizzo di mezzi di contrasto ecografici con caratteristiche fisiche innovative (terza generazione). Pertanto, è necessario che il nefrologo sia in grado di sfruttare al massimo le potenzialità offer-

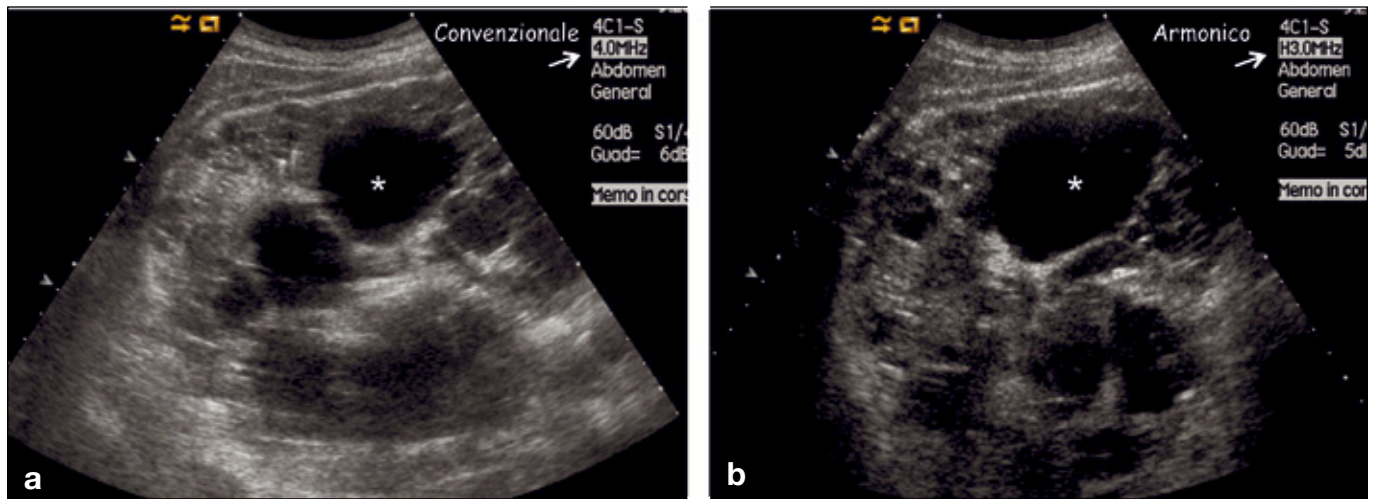


Fig. 1 - Utilizzo dell'imaging armonico tissutale nello studio del rene. a) Piccola lesione debordante dal profilo del rene (asterisco) mal caratterizzabile con l'imaging convenzionale in scala dei grigi. b) Utilizzando l'imaging armonico tissutale si ottiene una riduzione degli artefatti che permette di caratterizzare la lesione (asterisco) come una cisti semplice.

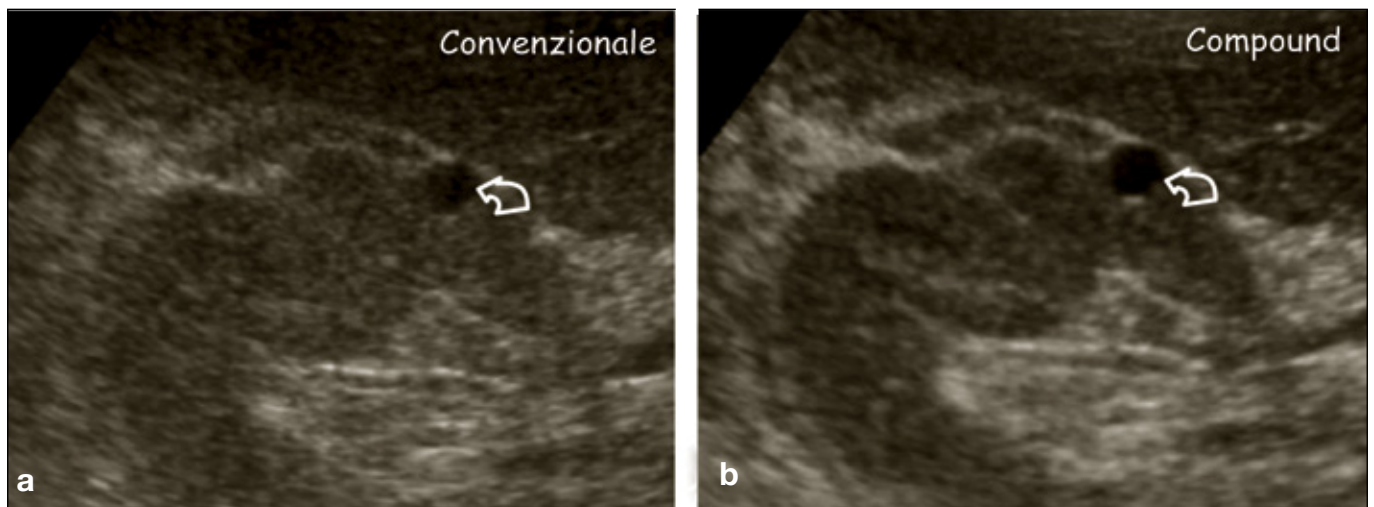


Fig. 2 - Utilità della tecnica compound per lo studio del rene. a) Immagine del rene disturbata dallo speckle, un artefatto che si manifesta come una granulosità non corrispondente ad alcuna struttura reale. Lo speckle disturba la visualizzazione dei dettagli e riduce la risoluzione di contrasto. L'artefatto dello speckle è la conseguenza del fatto che il fascio ultrasonoro è un'onda coerente, prodotta dall'interferenza dei fasci prodotti dai singoli elementi del trasduttore. La diffusione dell'onda all'interno dei tessuti ne mantiene la coerenza, ma produce delle variazioni casuali di fase che si manifestano come fenomeni di interferenza costruttiva e distruttiva. b) Utilizzando la tecnica compound si ottiene una sostanziale riduzione dello speckle con conseguente miglioramento della qualità dell'immagine e una migliore visualizzazione di una piccola cisti (freccia curva).

te dalle innovazioni tecnologiche dell'imaging ecografico per lo studio del rene. La corretta gestione delle apparecchiature, infatti, permette di ottenere immagini ecografiche in scala dei grigi di qualità ottimale, di ottimizzare l'accuratezza diagnostica delle tecniche Doppler e di sfruttare pienamente gli strumenti offerti dai mezzi di contrasto ecografici.

AVANZAMENTI TECNOLOGICI NELLE APPARECCHIATURE ECOGRAFICHE

La ricerca industriale sull'architettura e sul software delle piattaforme ecografiche e lo sviluppo di nuovi trasduttori con banda sempre più larga e frequenze sempre più elevate producono costantemente miglioramenti anche significativi nella qualità delle immagini ecografiche e nella sensibilità del segnale colore. Questa ricerca ha già portato a tecniche efficaci per

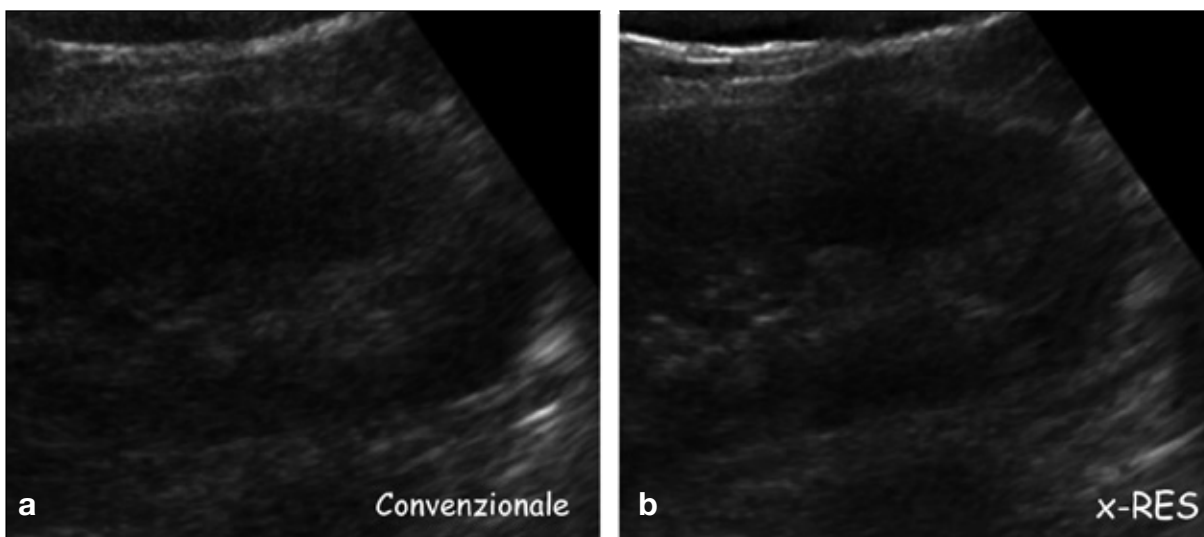


Fig. 3 - Utilizzo dei filtraggi adattativi in tempo reale per l'imaging del rene. a) Immagine convenzionale. b) Utilizzando un filtraggio adattativo (xRes, Philips, NH) l'immagine viene analizzata nelle sue componenti [segmentata] in tempo reale e vengono applicati filtri per la riduzione del rumore differenti a seconda delle caratteristiche ecostrutturali delle diverse porzioni [parenchima, seno renale]. Si ottiene in questo modo un miglioramento della qualità dell'immagine.

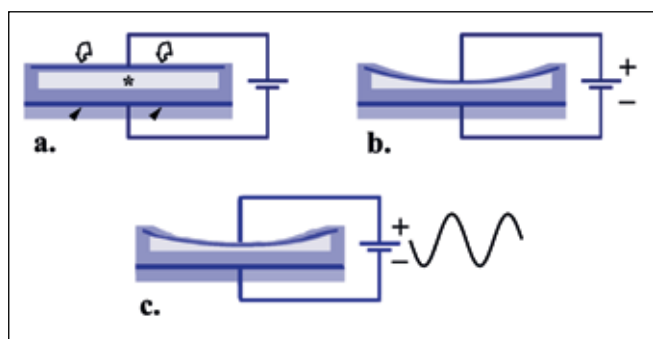


Fig. 4 - Schema di funzionamento di un elemento di un trasduttore CMUT. a) L'elemento è un condensatore a piatti piani e paralleli con capacità variabile, costituito da una membrana di materiale isolante (freccia curva), contenente l'elettrodo superiore mobile, sospesa su una cavità (*). L'elettrodo inferiore (punte della freccia) è fissato al substrato sul quale vibra la membrana. b) L'applicazione di una differenza di potenziale tra i due elettrodi provoca la deflessione della membrana mobile verso il substrato per effetto della forza elettrostatica che si esercita fra i due elettrodi del condensatore; a tale forza si oppone la forza elastica di richiamo dovuta alla tensione meccanica intrinseca della membrana. c) Se si sovrappone alla polarizzazione un'eccitazione elettrica alternata l'elettrodo mobile vibra generando un'onda acustica.

la riduzione degli artefatti e allo sviluppo di algoritmi ormai di provata utilità nell'imaging del rene, quali l'imaging armonico tissutale (Fig. 1), le tecniche compound (Fig. 2) e i filtraggi adattativi in tempo reale (Fig. 3). È ragionevole che questa linea di sviluppo continui in futuro garantendo immagini con risoluzione spaziale sempre maggiore, alto rapporto segnale-rumore e incremento della velocità di acquisizione (con incremento del frame-rate) che porteranno a performance diagnostiche sempre più elevate. Particolar-

mente importanti sono le ricerche tecnologiche volte alla produzione di nuovi trasduttori. Nuovi materiali piezoelettrici migliorano continuamente le caratteristiche di emissione ultrasonora dei trasduttori convenzionali e permettono la produzione di trasduttori a matrice con migliaia di elementi per l'imaging ecografico volumetrico in tempo reale. Sono inoltre in fase di sperimentazione avanzata trasduttori di concezione completamente nuova, noti come CMUT (Capacitive Micromachined Ultrasonic Transducer), che non utilizzano elementi piezoelettrici, ma piuttosto risonatori capacitivi implementati su un chip di silicio (1). Dal punto di vista ingegneristico, i trasduttori capacitivi sono costituiti da condensatori a piatti piani e paralleli con capacità variabile, costituiti da una membrana isolante, sospesa su una cavità sostenuta da pareti sufficientemente rigide e ricoperta da una metallizzazione costituente l'elettrodo superiore mobile (Fig. 4). L'elettrodo inferiore è fissato al substrato sul quale vibra la membrana. Quando si applica una differenza di potenziale continua tra i due elettrodi si ha una deflessione del diaframma mobile verso il substrato per effetto della forza elettrostatica che si esercita fra i due elettrodi del condensatore; a tale forza di attrazione si oppone la forza elastica di richiamo dovuta alla tensione meccanica intrinseca dello strato strutturale della membrana. Se il diaframma viene posto in vibrazione da un'onda acustica incidente si ottiene una modulazione della capacità del dispositivo rilevabile esternamente; se invece si sovrappone alla polarizzazione un'eccitazione elettrica alternata, l'elettrodo mobile vibra generando un'onda acustica. I trasduttori CMUT hanno il vantaggio di permettere l'emissione di bande di ultrasuoni

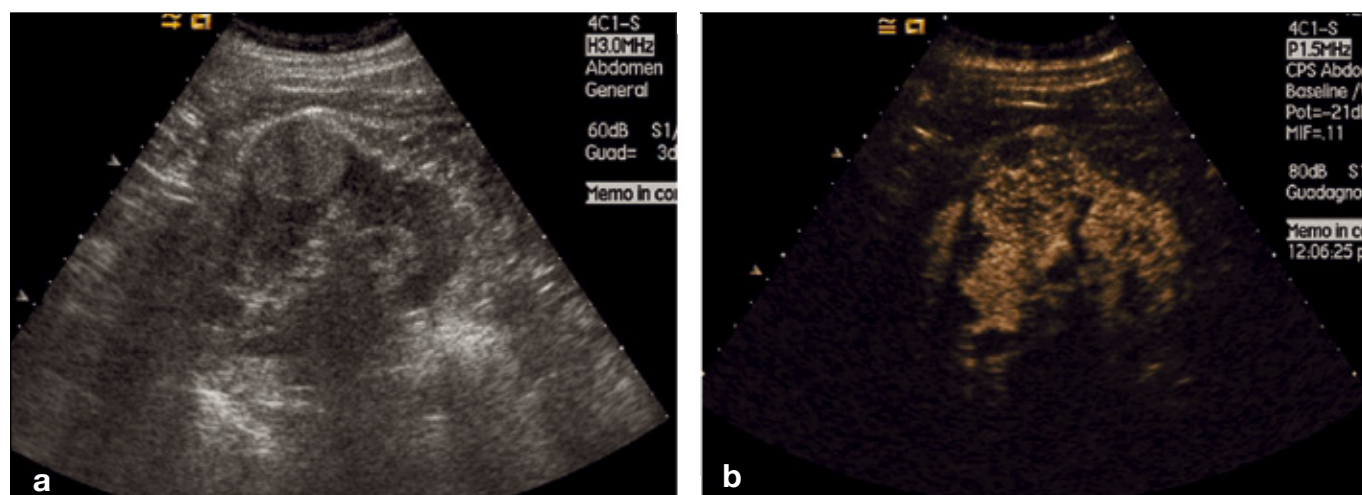


Fig. 5 - Utilizzo dei mezzi di contrasto ecografici per lo studio del rene policistico. a) Immagine convenzionale in scala dei grigi che dimostra lesione finemente iperecogena rotondeggiante. La lesione era priva di segnale colore al color-Doppler. b) Dopo contrasto la lesione era caratterizzata da un intenso enhancement, aspetto che permette la diagnosi di processo espansivo.

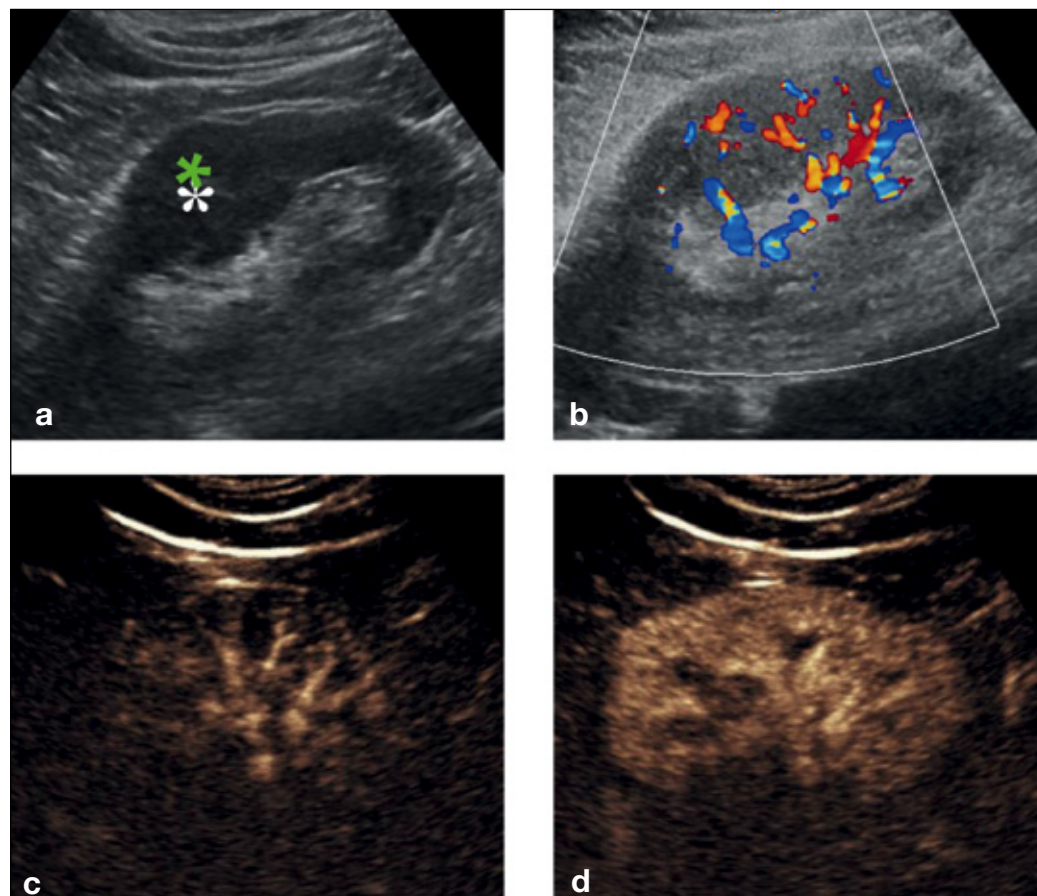
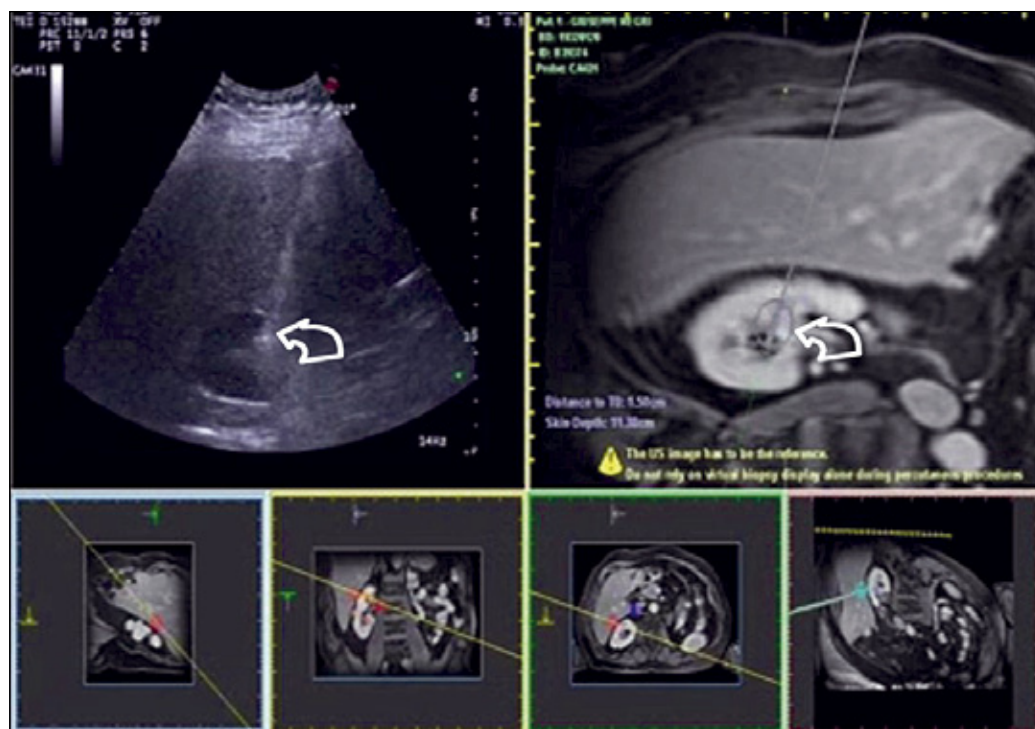


Fig. 6 - Utilizzo dei mezzi di contrasto ecografici per la diagnosi differenziale tra lesioni e pseudolesioni del rene. a) Immagine convenzionale in scala dei grigi che dimostra un ispessimento circoscritto del parenchima renale non caratterizzabile. b) Immagine ecocolor-Doppler corrispondente che non permette la diagnosi differenziale tra lesione e pseudolesione. c-d) Immagini ecocontrastografiche in fase arteriosa (c) e nefrografica (d) che dimostrano come l'ispessimento parenchimale descritto sia caratterizzato da enhancement identico al restante parenchima in tutte le fasi vascolari, aspetto che permette la diagnosi di pseudolesione.

molto più ampie rispetto ai trasduttori convenzionali e di avere un'architettura intrinsecamente a matrice. L'incrementata ampiezza della banda rispetto ai trasduttori piezoelettrici permette con lo stesso trasduttore un

imaging ad alta risoluzione sia dei tessuti superficiali che di quelli profondi. La catena costruttiva dei trasduttori CMUT è simile a quella dei microprocessori; il loro costo, pertanto, diminuisce proporzionalmente al

Fig. 7 - Utilità della Fusion Imaging nel trattamento con radiofrequenza delle lesioni renali. Piccola lesione (freccia curva) mal visibile in ecografia di base. Il puntamento per l'ablazione è ottenuto con la Fusion Imaging sotto la guida delle immagini RM (immagine fornita da EsaOte, ottenuta con ecografo Mylab70).



numero di dispositivi prodotti. Questi trasduttori possono consentire l'*imaging* volumetrico con costi molto inferiori e *performance* nettamente superiori rispetto ai trasduttori piezoelettrici a matrice. Per ottenere infatti un *imaging* volumetrico in tempo reale (4D), con la tecnologia dei trasduttori piezoelettrici attuali sono necessari numerosissimi elementi collegati tramite un numero di canali comunque ridotto con inevitabile perdita di informazioni a fronte di significativi costi di produzione. Inoltre, le ridotte dimensioni del singolo elemento della matrice causano elevata impedenza che limita la sensibilità di tutto il sistema. Il trasduttore CMUT consente geometrie variabili che permettono *imaging* 4D di alta qualità con un minor numero di elementi e ben inferiori costi di produzione. Prototipi funzionanti di trasduttori CMUT sono già disponibili per alcune apparecchiature di fascia alta.

ECOGRAFIA CON MEZZO DI CONTRASTO

L'ecografia con mezzo di contrasto (ceus) è una metodica emergente anche in campo nefro-urologico; un numero crescente di pubblicazioni sta dimostrando la sua utilità in campo renale nella valutazione delle lesioni ischemiche, delle terapia ablative, delle lesioni focali, dei traumi e delle flogosi sia nel rene nativo che in quello trapiantato (2). A differenza della TC e

della RM con mezzo di contrasto, la ceus non presenta controindicazioni nei pazienti con funzionalità renale compromessa nei quali, anzi, è il principale metodo di studio della microvascolarizzazione nella caratterizzazione dei processi espansivi, si pensi per esempio al suo utilizzo nel differenziare cisti emorragiche da neoplasie cistiche nei pazienti con malattia policistica (Fig. 5) o nel distinguere gli pseudotumori (Fig. 6). Mezzi di contrasto di 2^a generazione sono stati inoltre utilizzati anche per lo studio delle alterazioni dei capillari peritubulari nei pazienti con malattia renale cronica. Il rallentato flusso dei capillari peritubulari, espresso dalla riduzione dei picchi di *enhancement* e dimostrato attraverso studi di perfusione con ROI posizionate sia nella corticale che nella midollare, sembrerebbe essere correlato con il grado di insufficienza renale. In futuro è da attendersi un sempre maggiore utilizzo dei mezzi di contrasto ecografici grazie allo sviluppo di nuovi tipi di microbolle per l'*imaging* molecolare o per la terapia genica e biologica.

FUSION IMAGING

La *Fusion Imaging* è un'implementazione del software delle apparecchiature ecografiche di ultima generazione che permette di correlare tra loro i dati provenienti da TC o RM alle immagini ecografiche

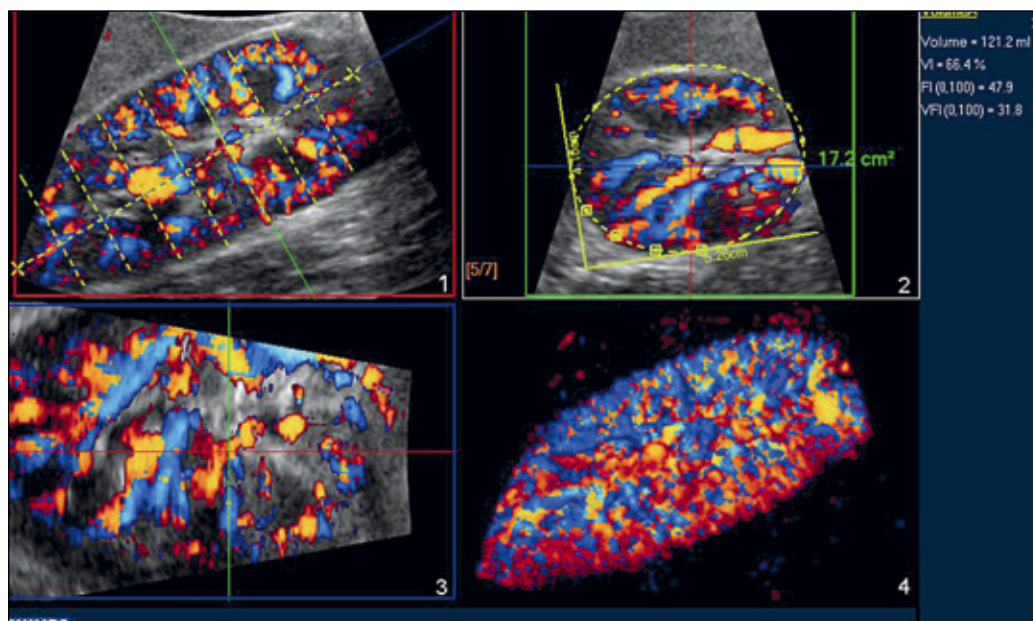


Fig. 8 - Scansione ecocolor-Doppler volumetrica per lo studio del rene. Dopo l'acquisizione i dati volumetrici possono essere riabilitati con programmi software dedicati per ottenere informazioni sulla perfusione dell'intero parenchima e per il calcolo accurato del volume (immagine fornita da Philips medical system, ottenuta con ecografo iU22).

in tempo reale. Alcune apparecchiature consentono di correlare anche dati provenienti da scansioni ecocontrastografiche; è per esempio possibile guidare un trattamento o un prelievo biotico su una lesione ben riconoscibile in TC, RM o ecocontrastografia, ma mal visibile in ecografia convenzionale, sulla base delle coordinate della tecnica di riferimento (Fig. 7). La *Fusion Imaging* lavora con sensori di posizione per mezzo dei quali è possibile registrare l'orientamento spaziale del piano di scansione. Sono in commercio sistemi di guida differenti: magnetici, elettromagnetici od ottici. I dati delle acquisizioni di riferimento (TC, RM o ceus) sono trasferiti nell'apparecchiatura ecografica e durante l'esame ecografico vengono mostrate contemporaneamente sullo schermo l'immagine acquisita in tempo reale e l'immagine corrispondente sintetizzata dai dati volumetrici della tecnica di riferimento (3, 4). Per mezzo delle tecniche di fusione è possibile guidare procedure interventistiche con sicurezza. In alcuni sistemi di fusione di immagine il sensore è posizionato vicino alla punta dell'ago, in modo da avere un controllo più preciso della posizione di quest'ultimo durante le manovre. Le *performance* delle tecniche di fusione delle immagini sono notevolmente aumentate negli ultimi anni e c'è da attendersi importanti sviluppi in futuro (5), con nuove applicazioni anche in ambito renale, grazie alla sempre maggiore potenza di calcolo delle apparecchiature ecografiche e allo sviluppo di nuovi trasduttori volumetrici.

IMAGING VOLUMETRICO (3D)

L'*imaging* ecografico volumetrico consiste nell'acquisizione in tempo reale di un volume, piuttosto che di un'immagine ecografica bidimensionale. Già utilizzato in campo ostetrico nella diagnosi prenatale, alcuni studi ne prospettano l'utilizzo anche in ambito ginecologico e nefro-urologico (6-8). L'*imaging* volumetrico ha subito una profonda evoluzione negli ultimi anni che ha portato a un miglioramento sostanziale della qualità delle immagini in termini di risoluzione spaziale e temporale. Inizialmente venivano adoperate tecniche a mano libera con e senza sensori di posizione, utili per calcolare la posizione relativa della sonda, mentre la tecnologia attuale fa uso di trasduttori a matrice che generano impulsi piramidali o conici per ottenere i dati su un volume di tessuto senza necessità di parti meccaniche e senza movimenti del trasduttore.

I limiti attuali dell'*imaging* ecografico volumetrico sono dati da una risoluzione spaziale e temporale ancora inferiori rispetto a quelle ottenibili con i migliori trasduttori convenzionali e dal campo di vista insufficiente per coprire interamente organi voluminosi. È tuttavia prevedibile che queste limitazioni si riducano sostanzialmente nel prossimo futuro con lo sviluppo tecnologico e con l'introduzione in commercio dei trasduttori CMUT. In ambito renale l'*imaging* volumetrico permette una stima accurata di caratteristiche del flusso e del volume dell'organo (Fig. 8) e/o della lesione oggetto di studio (9, 10). Variazioni delle dimensioni renali nei pazienti in insufficienza renale, valutate con

l'*imaging* ecografico volumetrico, sono state correlate con la funzione renale residua (10). È inoltre possibile, conoscendo il volume del rene, una stima accurata del filtrato glomerulare nei donatori di rene viventi (11). Il calcolo accurato del volume delle lesioni renali è utile per il *follow-up* delle cisti complesse per le quali il rapido incremento dimensionale rappresenta uno dei criteri che orientano per l'exeresi chirurgica (12).

Tecniche di rielaborazione dell'immagine come *surface rendering*, *volume rendering* e ricostruzioni multiplanari possono migliorare la confidenza diagnostica in diverse situazioni cliniche (11). È inoltre possibile utilizzare i dati per valutazioni semiquantitative sui flussi, con acquisizioni sia ecocolor-Doppler che ecocontrastografiche. Particolarmente interessante è la possibilità, anche in ambito renale, di associare l'*imaging* volumetrico alla *Fusion Imaging* e alla somministrazione dei mezzi di contrasto ecografici. È possibile ottenere mappe vascolari accurate, utili per la quantificazione dei difetti perfusionali e per la valutazione dell'efficacia delle terapie ablative. Un'altra possibile applicazione dell'*imaging* volumetrico con mezzo di contrasto è la stima del volume di parenchima residuo nel rene policistico. Tale applicazione richiede tuttavia trasduttori volumetrici con campo di vista maggiore rispetto a quello dei trasduttori attualmente disponibili.

Utilizzando i trasduttori volumetrici è possibile una visualizzazione multiplanare in tempo reale delle lesioni. La visualizzazione secondo piani ortogonali od obliqui è particolarmente utile durante l'esecuzione di manovre interventistiche in quanto offre la possibilità di seguire in maniera ottimale il percorso dell'ago in *real-time* lungo tutto il suo tragitto dalla cute fino al bersaglio. La *Fusion Imaging* viene principalmente utilizzata per le manovre interventistiche sul fegato nei pazienti difficili, è verosimile l'applicazione nel prossimo futuro anche in ambito urogenitale. L'integrazione dell'*imaging* multiplanare in tempo reale con la *Fusion Imaging* può aumentare ulteriormente la precisione nell'esecuzione delle manovre interventistiche con una riduzione sostanziale delle complicanze.

IMAGING ELASTOSONOGRAFICO

La velocità di propagazione delle onde meccaniche dipende dalle caratteristiche visco-elastiche dei tessuti e la presenza di patologie focali o diffuse è strettamente associata a modificazioni focali o diffuse dell'elasticità. Pertanto, la misura dell'elasticità tissutale può fornire informazioni utili all'identificazione e alla caratterizzazione di patologie e potrebbe quindi trovare in futuro largo impiego anche nel *follow-up* delle patologie sia focali che diffuse e nella valutazione della risposta ai trattamenti.

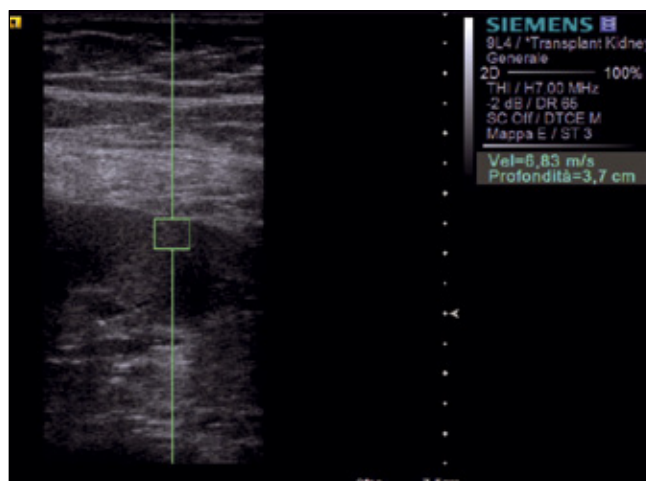


Fig. 9 - Valutazione elastosonografica quantitativa per lo studio del rene. Tecnica ARFI (Acoustic Radiation Force Impulse, ecografo S2000, Siemens, Erlanger, Germania). Viene applicato un impulso ad alta potenza che produce la deformazione dei tessuti, rilevabile come dislocazione degli echi tissutali. La macchina è in grado di misurare la velocità con cui si deforma il tessuto, correlata all'elasticità. La velocità misurata in questo paziente, 6.83 m/s, espressione di parenchima ad alta stiffness (elevata fibrosi).

L'elastosonografia consente lo studio dell'elasticità tissutale attraverso la trasmissione di onde meccaniche e la misurazione della loro velocità di propagazione. Le tecniche disponibili vanno primariamente distinte in due gruppi: 1) tecnologie che necessitano di una compressione estrinseca esercitata dall'operatore, applicabili principalmente alla valutazione dei tessuti superficiali, e 2) tecnologie che non necessitano di compressione estrinseca, ma che utilizzano impulsi di compressione acustica e impulsi di rilevazione (*"detection pulse"*), utili per la valutazione dei tessuti profondi. Queste ultime sono state introdotte recentemente in alcune apparecchiature ecografiche di fascia alta ed è prevista la loro implementazione su altre apparecchiature nel prossimo futuro. Le loro potenzialità sono ancora in gran parte da esplorare, soprattutto in ambito urogenitale. Studi sul fegato hanno dimostrato l'utilità delle tecniche elastosonografiche per la quantificazione della fibrosi epatica (13-15). In base alle interazioni con il trasduttore, le onde di rilevazione possono generare risposte qualitative o quantitative. Lo studio qualitativo fornisce un'immagine in scala dei grigi dell'elasticità del tessuto selezionato. Recentemente proposto per la valutazione delle lesioni focali (16, 17) permette, associato all'immagine ecografica convenzionale, una maggiore sensibilità nel riscontro delle lesioni legate all'esaltazione delle differenze di compattezza tra i diversi tessuti e non più solo alla diversa impedenza acustica. Lo studio quantitativo fornisce un valore numerico di velocità, correlato all'elasticità dei tessuti (Fig. 9, 10). Meno elastico è il tessuto

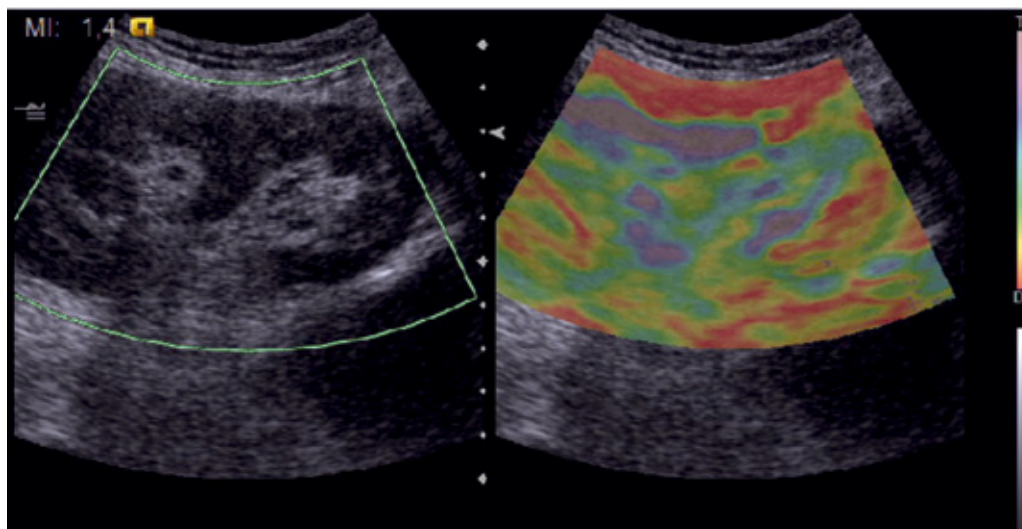


Fig. 10 - Valutazione elastosonografica qualitativa per lo studio del rene trapiantato. Viene inserita ROI (Region of Interest) nella sede di parenchima da valutare. Le variazioni di colore esprimono il grado di elasticità del parenchima studiato. La scala colore, dal viola al rosso, indica il grado di elasticità rispettivamente da soft ad hard.

esaminato, maggiore sarà il valore numerico ottenuto, perché maggiore sarà la velocità di propagazione dell'onda. Questa nuova tecnologia potrebbe costituire una valida alternativa alla biopsia convenzionale in molte situazioni cliniche, consentendo una caratterizzazione non invasiva dei tessuti per lo studio di patologie focali e diffuse. Autori (18, 19) hanno recentemente definito i valori normali di elasticità degli organi dell'addome superiore e in particolare nel rene e nel rene trapiantato.

Non esistono attualmente in letteratura studi sistematici sulle applicazioni dell'elastosonografia nelle patologie renali. Nelle glomerulonefriti croniche l'elastosonografia potrebbe avere un ruolo nella quantificazione del grado di fibrosi glomerulare e tubulo-interstiziale. Nelle patologie tubulo-interstiziali l'*imaging* elastosonografico potrebbe avere un ruolo nella stima dell'entità del danno, con possibili risvolti sia prognostici (stima dei tempi di recupero della funzionalità renale) che terapeutici. Nella nefroangiosclerosi ipertensiva esiste un progressivo aumento della fibrosi parenchimale che potrebbe essere quantificabile con tecniche di *imaging* elastosonografico. È inoltre possibile che le diverse caratteristiche istologiche delle patologie focali del rene comportino delle differenze nelle loro caratteristiche elastosonografiche e forniscano uno strumento diagnostico per la diagnosi differenziale legata alla caratterizzazione tissutale.

HIGH-INTENSITY FOCUSED ULTRASOUND (HIFU)

High-intensity focused ultrasound (HIFU) è una tecnica emergente e non invasiva per il trattamento delle

neoplasie basata sull'utilizzo a scopo terapeutico degli ultrasuoni. Già negli anni '40 e '50 venne intuito l'utilizzo terapeutico del calore emanato dagli ultrasuoni ma la metodica venne presto abbandonata per lo scarso controllo del fascio ultrasonoro che la tecnologia di quell'epoca permetteva. Nel 1984 la FDA approvava l'utilizzo terapeutico degli US per la litotripsia dei calcoli renali e nel 1994 fu pubblicato il primo lavoro sull'utilità dell'HIFU nel trattamento del carcinoma della prostata (20). Da allora numerosi studi sperimentali si sono susseguiti per testarne l'efficacia e ampliarne le applicazioni cliniche (21, 22). Attualmente l'HIFU è autorizzata dalla FDA per il trattamento dei fibromi uterini e alcuni Autori ne prospettano l'utilizzo in ambito renale per il trattamento di tumori di piccole dimensioni o nei pazienti non operabili (22, 23). In base agli studi clinici finora condotti le applicazioni cliniche dell'HIFU si estenderanno sempre di più; è infatti citata la possibilità di favorire l'emostasi grazie agli effetti termici ottenuti ad alta intensità acustica (500-3000 W/cm²) e il potenziamento dell'azione dei farmaci trombolitici (24) o l'assorbimento di farmaci negli organi bersaglio (25), grazie agli effetti meccanici ottenuti a bassa intensità acustica (0.5-1 W/cm²). Il meccanismo fisico dell'HIFU si basa sul concetto che gli ultrasuoni depositano energia nei tessuti attraversati. Quando utilizzati a scopo diagnostico, questo effetto è trascurabile, ma aumentando l'intensità degli ultrasuoni, abbassando la frequenza di emissione di questi ultimi (0.5-1.5 MHz), incrementando il tempo di esposizione e soprattutto focalizzando il fascio in un'area estremamente ristretta di un bersaglio specifico, in modo da cedere una grande energia in una superficie molto piccola, e ripetendo lo stesso tratta-

mento negli altri punti del tessuto bersaglio, si ottiene la necrosi coagulativa di tutta la lesione (20, 26) per effetto dell'incremento della temperatura (che supera i 60 °C) (25). Per avere idea dell'ordine di grandezza dei parametri usati si pensi come a fronte di intensità acustiche di 0.1-100 mW/cm² e di pressioni dell'ordine di 0.001-0.003 MPa normalmente utilizzate in diagnostica, l'HIFU lavora con intensità acustiche mediamente di 100-10.000 W/cm² e con pressioni di circa 30-10 MPa (27). Gli effetti biologici degli ultrasuoni sono la conseguenza di fenomeni termici e meccanici. Le alterazioni meccaniche constano di tre fenomeni: la cavitazione, le microcorrenti (*microstreaming*) e le forze di radiazione. La cavitazione si realizza in quanto le forze di compressione e rarefazione del mezzo tendono a estrarre dal mezzo il gas disperso che confluisce in microbolle. A loro volta le microbolle endogene, interagendo con il fascio acustico, possono modificare il volume in modo omogeneo (cavitazione stabile) oppure in modo brusco (cavitazione inerziale) con un rapido sviluppo che le può portare alla rottura. Il collasso delle microbolle può a sua volta generare una corrente fluida ad alta energia che, colpendo violentemente le membrane cellulari, le può rompere causando un danno cellulare a genesi meccanica che anticipa quello a genesi termica (25). Le microcorrenti (*microstreaming*) sui tessuti vicini si realizzano, nella cavitazione stabile, per effetto del rapido movimento del fluido vicino alle microbolle a causa della loro oscillazione. Le microcorrenti, quando transitorie, possono giocare un ruolo di primo piano nei meccanismi di assorbimento di farmaci e geni, come vedremo successivamente. Infine, se l'assorbimento o la riflessione coinvolgono esclusivamente un mezzo solido, l'energia si traduce in un effetto pressorio radiante ("forze di radiazione"). Come detto precedentemente, la necrosi coagulativa rappresenta l'effetto immediato dell'incremento di temperatura, ma oltre a questi effetti immediati vi sono effetti biologici tardivi di apoptosi causati dalla cavitazione anche a energie inferiori e che possono coinvolgere zone interposte tra il trasduttore e il tessuto bersaglio o periferiche al tessuto bersaglio (28). Inoltre, gli effetti degli ultrasuoni ad alte energie nel tessuto bersaglio risentono di un fascio acustico centrato sulla frequenza fondamentale, ma che presenta anche le seconde armoniche, le terze armoniche e così via (proprietà non lineari) che vengono pertanto assorbite in modo diverso dai tessuti interposti con dissipazione di energia e riscaldamento fuori dal tessuto bersaglio. Questi fattori rendono ancora oggi problematico il perfetto controllo degli effetti biologici della metodica nelle applicazioni terapeutiche. Una maggiore comprensione di questi meccanismi, con lo sviluppo delle conseguenti soluzioni tecnologiche, aprirà prospettive future sicuramente molto allettanti. Attualmente il trattamento percutaneo

con HIFU è limitato in ambito nefro-urologico da alcuni fattori come la mobilità del rene, l'attenuazione dell'energia e i conseguenti fenomeni di assorbimento, rifrazione e/o riflessione da parte di strutture immobili vicine (costole, intestino, ecc.), nonché dalla notevole perfusione del rene che tende a dissipare l'energia depositata. Tali problematiche sono solo in parte risolte (con sistemi di respiro compensato, ecc.) e costituiranno la sfida del futuro. Migliori risultati per entità di necrosi sembra avere l'applicazione laparoscopica, ma anche per questa tecnica i risultati conseguiti nei *trials* in fase 2 non forniscono ancora sicure garanzie di affidabilità, anche se sono sicuramente promettenti per il futuro (27, 28). L'approccio laparoscopico se da un lato permetterebbe di necrotizzare lesioni comunque non superiori a 2.5 cm superando le limitazioni della tecnica percutanea e senza necessità di clampare vasi o resecare parenchima, come per le tecniche di chirurgia tradizionale, dall'altro, dovendosi avvalere di anestesia totale ed essendo sicuramente più invasivo degli approcci percutanei, risulta essere una tecnica meno maneggevole. Il differente grado di assorbimento dei diversi tessuti (per esempio, adipe, fibrosi o tessuti molto vascolarizzati) non permette, allo stato attuale, di predire con certezza quale sarà la quota di necrosi coagulativa, pertanto le apparecchiature sono state implementate da sistemi di *imaging* che non solo devono guidare il fascio ultrasonoro sul tessuto bersaglio ma devono fare anche, per quanto possibile, una mappa tissutale della necrosi o della distribuzione del calore. Attualmente sono prodotti sistemi che associano l'HIFU non solo alla guida ecografica in *real-time* durante la procedura ma anche al controllo RM mediante termometria volumetrica del tessuto bersaglio e dei tessuti vicini. Il sistema di guida RM presenta lo svantaggio di maggiori costi, allungamento dei tempi della procedura e minore risoluzione spaziale rispetto alla guida ecografica, mentre appare più performante nei pazienti obesi e soprattutto permette in pochi secondi una termometria del campo in esame. Recenti studi hanno dimostrato che la somministrazione delle microbolle durante la procedura amplifica i fenomeni della cavitazione riducendo i tempi del trattamento e aumentandone l'efficacia (26, 27).

IMAGING MOLECOLARE

I continui sviluppi della biologia molecolare e la comprensione dei meccanismi cellulari alla base dei processi patologici aprono nuove frontiere diagnostiche e terapeutiche. L'ecografia con mezzo di contrasto si inserisce in questo ambito di ricerca con nuove e promettenti applicazioni. Studi sperimentali sui ratti con microbolle marcate inserendo nel guscio molecole di

[¹⁸F] fluorodipalmitina ([¹⁸F] FDP) e studiandone la biodistribuzione mediante una microPET hanno portato a una migliore comprensione della farmacocinetica prima dell'insonazione e dopo (28, 29). Le maggiori problematiche dell'*imaging* molecolare riguardano da un lato le proprietà del guscio delle microbolle, che devono avere ligandi specifici per i recettori dei tessuti che si vogliono studiare, e dall'altro la necessità di separare il segnale proveniente dalle microbolle legate da quello dei tessuti stazionari e da quelle provenienti dalle microbolle libere, che causano una riduzione del rapporto segnale-rumore (30). Studi recenti hanno dimostrato la possibilità di coniugare le microbolle, dei mezzi di contrasto ecografici, con ligandi molecolari quali ICAM-1, VCAM-1, integrine, selectine o recettori GIIb/IIIa, che ne consentono l'adesione stabile a specifici bersagli molecolari, permettendone una rapida ed efficace individuazione (31). Altri Autori (32) hanno confermato in particolare la possibilità di inserire nel guscio lipidico delle microbolle con core di perfluorobutano i recettori per un tirosino-chinasi endotelio-specifica umana chiamata KDR (*kinasi insert domain receptor*). Lo studio nei topi affetti da carcinoma del colon della KDR, marcatore molecolare dell'angiogenesi neoplastica, e dei suoi recettori ha permesso di dimostrare l'efficacia delle microbolle nel monitoraggio della terapia antiangiogenetica suggerendone l'utilizzo per la veicolazione di chemioterapici (32). Sembra inoltre che il legame tra antigeni e recettori sia notevolmente favorito dalle oscillazioni delle microbolle quando queste, opportunamente insonate dal fascio ultrasonoro, entrano in risonanza. Importanti applicazioni cliniche future dei mezzi di contrasto ecografici, attualmente in fase di sperimentazione, possono derivare oltre che dal riconoscimento selettivo dell'endotelio neoformato anche dalle piastrine attivate (32, 33). In atto, il principale problema consiste nel separare in fase di ricezione il segnale proveniente dalle microbolle legate ai recettori dal segnale proveniente dai tessuti stazionari e dalle microbolle libere. In base a recenti studi sperimentali quanto sopra riportato potrebbe essere superato da appositi trasduttori multifrequenza colineari (32). Tali trasduttori assemblano nella stessa sonda tre file in parallelo di materiale piezoceramico di cui quella centrale a banda larga presenta una frequenza di 5.4 MHz e le due file esterne presentano una frequenza di 1.54 MHz. Attraverso questo tipo di trasduttore è possibile eseguire tecniche di trasmissione a bassa frequenza e ricezione ad alta frequenza, al di sopra delle terze armoniche (TLRH). Con questo tipo di tecnica si esalta la differente risposta delle microbolle legate rispetto a quelle non legate, incrementando il picco di pressione negativa (PNP) dell'impulso in trasmissione. Le microbolle legate infatti tollerano meglio l'incremento

del PNP rispetto a quelle libere che si rompono più facilmente, così a frequenze in trasmissione di 1 MHz, PNP con valori compresi tra 228 e 423 kPa risultano significativamente utili nell'*imaging* molecolare. Inoltre, con una frequenza in trasmissione molto bassa, l'impulso può raggiungere profondità maggiori e si riescono a separare meglio in fase di ricezione le armoniche dei tessuti (estese fino alle terze armoniche), che vengono quindi filtrate, dalle armoniche delle microbolle estese oltre le quarte armoniche. In pratica, con un impulso in trasmissione variabile tra 1 e 2.25 MHz, le terze armoniche tissutali (che verranno filtrate) varieranno tra 3 e 6.75 MHz, mentre le risposte armoniche delle microbolle arriveranno rispettivamente a 15 e a 20 MHz. Altro vantaggio di questa tecnica riguarda l'elevata risoluzione spaziale del fascio ultrasonoro in fase di ricezione, in quanto caratterizzato da frequenze molto elevate. Questa tecnica, inoltre, a differenza delle altre (*pulse inversion*, ecc.), per cancellare il segnale proveniente dai tessuti stazionari e dalle microbolle libere, utilizza un solo impulso con conseguente riduzione del *frame-rate* che potrebbe essere molto utile per un futuro *imaging* molecolare a 3D o a 4D (33-35).

TERAPIA GENICA E BIOLOGICA

Uno dei principali limiti della terapia genica e biologica è la tossicità dei farmaci utilizzati che hanno una biodistribuzione sistemica. In studi sperimentali, la *ceus* si è dimostrata una metodica promettente per rendere tali terapie selettive e altamente efficaci (34, 35). La somministrazione del farmaco biologico può essere effettuata subito dopo la somministrazione delle microbolle o contestualmente ad essa. Nel primo caso è possibile sfruttare gli effetti della cavitazione delle microbolle indotti focalizzando il fascio ultrasonoro nell'organo bersaglio per aumentare la permeabilità delle membrane cellulari e favorire la penetrazione intracellulare della terapia. La rottura delle microbolle indotta dagli ultrasuoni in prossimità delle membrane cellulari provoca intense microcorrenti che determinano sonoporaione, cioè un'aumentata permeabilità delle membrane biologiche tramite formazioni di pori. Tale effetto, se transitorio, dà luogo a un aumento della permeabilità cellulare, mentre, se permanente, dà luogo ad apoptosi e alla produzione di radicali liberi dell'ossigeno per effetto termico. A ciò si aggiunge l'effetto derivante dall'aumentata permeabilità capillare con stravasamento negli spazi interstiziali, effetto che dipende dalla concentrazione e dalle dimensioni delle microbolle nonché dalla pressione acustica e dalla frequenza del fascio acustico (34). Nel secondo caso,

il farmaco è legato alle microbolle ed esso viene rilasciato attraverso la loro distruzione che si ottiene insonando l'organo bersaglio con un fascio di ultrasuoni avente opportune caratteristiche. Tuttavia, per potenziare gli effetti terapeutici è necessario inserire dei ligandi nel guscio della microbolla al fine di ottenere adeguate concentrazioni di farmaco nei tessuti bersaglio. Il principale vantaggio derivante dall'utilizzo delle microbolle come *carrier* di farmaci o di geni è determinato dalle loro oscillazioni che favoriscono sia l'interazione tra i ligandi presenti nel guscio e il tessuto bersaglio sia la permeabilità transmembrana e vascolare. Il principale svantaggio legato all'utilizzo delle microbolle come *carrier* microbolla con la conseguente necessità di aumentare la concentrazione totale di microbolle in circolo (35). A tal proposito quelle a guscio polimerico sono più resistenti e quindi hanno emivita più lunga rispetto a quelle a guscio lipidico che pertanto sarebbero preferibili ai fini terapeutici (36). Altre sostanze adiuvanti possono venire attivate dagli effetti termici e meccanici degli ultrasuoni; tra queste quelle più studiate sono i liposomi, le micelle e le nano particelle di per fluorocarbonio con dei risultati che nell'animale da laboratorio sembrano promettenti.

RIASSUNTO

Grazie all'ampia diffusione sul territorio, ai costi contenuti e all'assenza di radiazioni ionizzanti, l'ecografia è oggi la tecnica di imaging più diffusa e utilizzata nella pratica clinica, seconda solo alla radiografia del torace. Le recenti innovazioni tecnologiche e l'introduzione dei mezzi di contrasto ecografici ampliano già da oggi i campi di applicazione dell'ecografia e garantiscono anche per il futuro a questa tecnica un ruolo di primo piano nell'imaging dell'apparato urinario. È necessario che il nefrologo sia in grado di sfruttare al massimo le potenzialità offerte dalle innovazioni tecnologiche dell'imaging ecografico per lo studio del rene. La corretta gestione delle apparecchiature, infatti, permette di ottenere immagini ecografiche in scala dei grigi di qualità ottimale, di ottimizzare l'accuratezza diagnostica delle tecniche Doppler e di sfruttare pienamente gli strumenti offerti dai mezzi di contrasto ecografici.

DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

CONTRIBUTI ECONOMICI AGLI AUTORI

Gli Autori dichiarano di non aver ricevuto sponsorizzazioni economiche per la preparazione dell'articolo.

BIBLIOGRAFIA

- Oralkan O, Ergun AS, Johnson JA, et al. Capacitive Micro-machined Ultrasonic Transducers: Next-Generation Arrays for Acoustic Imaging? IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control 2002; 49: 1596-610.
- Granata A, Andrulli S, Basile A, et al. Diagnosis of acute pyelonephritis by contrast enhanced ultrasonography in kidney transplant patients. Nephrol Dial Transplant 2011; 26 (2): 715-20.
- Ewertsen C, Grossjohann HS, Nielsen KR, Torp-Pedersen S, Nielsen MB. Biopsy guided by real-time sonography fused with MRI: a phantom study. AJR Am J Roentgenol 2008; 190: 1671-4.
- Wein W, Brunke S, Khamene A, Callstrom MR, Navab N. Automatic CT-ultrasound registration for diagnostic imaging and image-guided intervention. Med Image Anal 2008; 12: 577-85.
- Ewertsen C, Grossjohann HS, Nielsen MB. Image fusion involving ultrasound. Ultraschall Med 2006; 27: 128-9.
- Bernardes LS, Francisco RP, Saada J, et al. Quantitative analysis of renal vascularization in fetuses with urinary tract obstruction by three-dimensional power-Doppler. Am J Obstet Gynecol 2011; 205 (6): 572.e1-7.
- Kang SK, Kim D, Chandarana H. Contemporary imaging of renal mass. Curr Urol Rep 2011; 12 (1): 11-7.
- Kim HC, Yang DM, Jin W, Lee SH. Relation between total renal volume and renal function: Usefulness of 3D sonographic measurements with a matrix array transducer. AJR Am J Roentgenol 2010; 194 (2): W186-92.
- Kim HC, Yang DM, Lee SH, Cho YD. Usefulness of renal volume measurements obtained by a 3-dimensional sonographic transducer with matrix electronic arrays. J Ultrasound Med 2008; 27: 1673-81.
- Bertolotto M, Cavallaro M, Rosenberg I. Il futuro dell'imaging ecografico. Cap. 20, pp. 273-285. In: L'ecocolorDoppler nella pratica clinica nefrologica. Ed. Accademia Nazionale di Medicina Granata A, Fiorini F, D'Amelio A, Logias F, Andrulli S, vol. 2, 2009.
- Herts BR, Sharma N, Lieber M, Freire M, Goldfarb DA, Poggio ED. Estimating glomerular filtration rate in kidney donors: a model constructed with renal volume measurements from donor CT scans. Radiology 2009; 252: 109-16.
- Gabr AH, Gdor Y, Roberts WW, Wolf JS Jr. Radiographic surveillance of minimally and moderately complex renal cysts. BJU Int 2009; 103: 1116-9.
- Kircheis G, Sagir A, Vogt C, Vom Dahl S, Kubitz R, Haussinger D. Evaluation of acoustic radiation force impulse imaging for determination of liver stiffness using transient elastography as a reference. World J Gastroenterol 2012; 18 (10): 1077-85.
- Arena U, Vizzutti F, Abraldes JG, et al. Reliability of transient elastography for the diagnosis of advanced fibrosis in chronic hepatitis C. Gut 2008; 57: 1288-93.
- Lupsor M, Badea R, Stefanescu H, et al. Analysis of histopathological changes that influence liver stiffness in chronic hepatitis C. Results from a cohort of 324 patients. J Gastroin-

- testin Liver Dis 2008; 17: 155-63.
16. Castera L. Transient elastography and other noninvasive tests to assess hepatic fibrosis in patients with viral hepatitis. *J Viral Hepat* 2009; 16: 300-14.
 17. Fahey BJ, Nelson RC, Bradway DP, Hsu SJ, Dumont DM, Trahey GE. In vivo visualization of abdominal malignancies with acoustic radiation force elastography. *Phys Med Biol* 2008; 53: 279-93.
 18. Gallotti A, D'Onofrio M, Pozzi Mucelli R. Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) technique in ultrasound with Virtual Touch tissue quantification of the upper abdomen. *Radiol Med* 2010; 115 (6): 889-97.
 19. Granata A, Floccari F, Andrulli S, et al. La virtual touch tissue quantification nel rene trapiantato. Abstract SIUMB 2011; p5.
 20. Kim YS, Rhim H, Choi MJ, Lim HK, Choi D. High-intensity focused ultrasound therapy: an overview for radiologists. *Korean J Radiol* 2008; 9: 291-302.
 21. Ahmed HU, Zacharakis E, Dudderidge T, et al. High-intensity-focused ultrasound in the treatment of primary prostate cancer: the first UK series. *Br J Cancer* 2009; 101: 19-26.
 22. Rubio Briones J, Collado Serra A, Gomez-Ferrer Lozano A, Casanova Ramon-Borja J, Iborra Juan I, Solsona Narbon E. High-intensity focused ultrasound in small renal masses. *Adv Urol* 2008; 809845.
 23. Illing RO, Kennedy JE, Wu F, et al. The safety and feasibility of extracorporeal high-intensity focused ultrasound (HIFU) for the treatment of liver and kidney tumours in a Western population. *Br J Cancer* 2005; 93: 890-5.
 24. Stone MJ, Frenkel V, Dromi S, et al. Pulsed-high intensity focused ultrasound enhanced tPA mediated thrombolysis in a novel in vivo clot model, a pilot study. *Thromb Res* 2007; 121 (2): 193-202.
 25. Finley DS, Pouliot F, Shuch B, et al. Ultrasound-based combination therapy: potential in urologic cancer. *Expert Rev Anticancer Ther* 2011; 11 (1): 107-13.
 26. Kaneko Y, Maruyama T, Takegami K, et al. Use of a micro-bubble agent to increase the effects of high intensity focused ultrasound on liver tissue. *Eur Radiol* 2005; 15: 1415-20.
 27. Hanajiri K, Maruyama T, Kaneko Y, et al. Microbubble-induced increase in ablation of liver tumors by high-intensity focused ultrasound. *Hepatol Res* 2006; 36: 308-14.
 28. Jensen CR, Ritchie RW, Gyongy M, Collin JR, Leslie T, Cousins CC. Spatiotemporal monitoring of high-intensity focused ultrasound therapy with passive acoustic mapping. *Radiology* 2012; 262 (1): 252-62.
 29. Deshpande N, Needles A, Willmann JK. Molecular ultrasound imaging: current status and future directions. *Clin Radiol* 2010; 65 (7): 567-81.
 30. Kiessling F, Fokong S, Koczera P, Lederle W, Lammers T. Ultrasound microbubbles for molecular diagnosis, therapy, and theranostics. *J Nucl Med* 2012; 53(3): 345-8.
 31. Kiessling F, Bzyl J, Fokong S, Siepmann M, Schmitz G, Palmowski M. Targeted ultrasound imaging of cancer: an emerging technology on its way to clinics. *Curr Pharm Des* 2012; 18(15): 2184-99.
 32. Hernot S, Klibanov AL. Microbubbles in ultrasound-triggered drug and gene delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 2008; 60: 1153-66.
 33. Azmin M, Harfield C, Ahmad Z, Edirisinghe M, Stride E. 2012; 18 (15): 2118-34.
 34. Wallez Y, Huber P. Endothelial adherens and tight junctions in vascular homeostasis, inflammation and angiogenesis. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1778: 794-809.
 35. Lan HY, Mu W, Tomita N, et al. Inhibition of renal fibrosis by gene transfer of inducible Smad7 using ultrasound-microbubble system in rat UUO model. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1535-48.
 36. Bohmer MR, Klibanov AL, Tiemann K, Hall CS, Gruell H, Steinbach OC. Ultrasound triggered image-guided drug delivery. *Eur J Radiol* 2009; 70: 242-53.