

Il parametro «Diffusione» in Risonanza Magnetica: elementi di fisica, tecnica e semeiotica

The diffusion parameter in Magnetic Resonance: physics, techniques and semeiotics

Stefano COLAGRANDE - Stefania PALLOTTA* - Angelo VANZULLI** - Marcello NAPOLITANO** - Natale VILLARI

Introduzione

Uno dei più recenti ed interessanti campi di applicazione della Risonanza Magnetica (RM) è rappresentato dalla possibilità di misurare, *in vivo*, il grado di diffusione delle molecole dell'acqua nei tessuti biologici. La diffusione è uno dei tre parametri di flusso del segnale RM, insieme al flusso macroscopico ed alla perfusione, che introduce, rispetto agli altri, ulteriori elementi di conoscenza e di studio, ma anche di difficoltà.

Scopo di queste note è quello di presentare al radiologo il fenomeno della diffusione, le sequenze che permettono di valutarlo e la relativa semeiotica.

Il fenomeno della diffusione

La diffusione delle molecole d'acqua è un parametro biofisico che correla con le caratteristiche strutturali dei tessuti sia in condizioni fisiologiche che patologiche. Le molecole di acqua nei tessuti sono soggette a due tipi di movimenti: «coerenti» (per esempio il movimento del sangue all'interno di un vaso) ed «incoerenti». Questi ultimi sono quelli che riguardano il processo di diffusione e sono legati all'energia termica posseduta dal campione. Ogni particella, muovendosi, viene urtata da quelle vicine e si sposta compiendo percorsi tortuosi (fig. 1). Questo moto casuale, noto anche col nome di moto Browniano, è alla base dei fenomeni di diffusione.

Per descrivere il fenomeno della diffusione sono solitamente impiegate le leggi di Fick, adatte a descrivere il comportamento di un soluto che si muove lungo un gradiente di concentrazione. In altre parole in quei sistemi dove la concentrazione di particelle non è uniforme, la diffusione si manifesta macroscopicamente come un flusso di particelle dalla regione a più alta concentrazione verso quella a concentrazione minore. Si può, in questi casi, definire il coefficiente di diffusione: una grandezza macroscopica che caratterizza il fenomeno e che rappresenta la costante di proporzionalità che lega il flusso di particelle al gradiente di concentrazione.

Se invece la concentrazione è la stessa in tutti i punti (mezzo omogeneo), sebbene le particelle continuano a diffondere,

Introduction

One of the most recent and interesting fields of application of magnetic resonance (MR) is the possibility of measuring the degree of diffusion of water molecules in biological tissues in vivo. Diffusion is one of the three flow parameters of the MR signal, together with macroscopic flow and perfusion, which introduces new elements to the MR study, but also new difficulties.

The aim of this study is to present the phenomenon of diffusion, the sequences with which it may be assessed and the relevant semeiotics.

The phenomenon of diffusion

The diffusion of water molecules is a biophysical parameter which correlates with the structural characteristics of tissues both in physiological and pathological conditions. Water molecules in the tissues are subject to two types of motion: "orderly" (e.g. the motion of blood within a vessel) and "random". The latter regards the process of diffusion and is linked to the thermal energy possessed by the sample. During its motion each particle collides with those nearby and moves following an erratic course (fig. 1). This random motion, also known as Brownian motion, lies at the basis of diffusion phenomena.

The phenomenon of diffusion is usually described with the use of Fick's laws, which describe the behaviour of a solute which moves along a concentration gradient. In other words in those systems where the concentration of particles is not uniform, diffusion occurs macroscopically like a flow of particles from the region of high concentration towards the region of lower concentration. In these cases the diffusion coefficient can be defined: a macroscopic quantity which characterises the phenomenon and which reflects the constant of proportionality which links the flow of particles to the concentration gradient.

If on the other hand the concentration is the same at all points (homogeneous fluid), even though the particles continue to diffuse, macroscopic flow is no longer observed

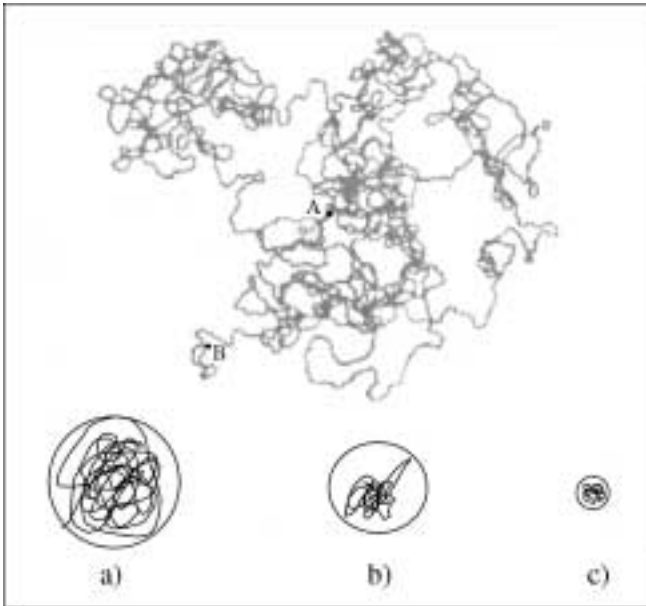


Fig. 1. — In alto è rappresentato il moto casuale di una particella che si sposta da A a B. Sotto esempi di alta A), media B) e bassa diffusione C) che mostrano come, a parità di tempo, le aree interessate al fenomeno siano rispettivamente ampia, media e piccola.

Above, the random motion of a particle which moves from A to B. Below, examples of high A), average B) and low diffusion C) which show how, given the same time, the areas involved by the phenomenon are respectively broad, intermediate and small.

non si osserva più un flusso macroscopico e non è dunque più possibile definire un coefficiente di diffusione come visto in precedenza. In questo caso non possono essere più utilizzate le leggi di Fick, ma occorre far riferimento ad un modello probabilistico per descrivere gli spostamenti delle molecole. Ciò vuol dire che, invece di conoscere con esattezza la posizione di una particella, si descrive il fenomeno mediante una funzione che indica la probabilità che una particella percorra una data distanza in un determinato tempo. La funzione di probabilità che descrive questa situazione per un mezzo isotropo, ha una distribuzione gaussiana con media 0 (perché la probabilità che una particella si muova in una direzione o in quella opposta sono uguali) ed una varianza (pari alla metà della larghezza della gaussiana) proporzionale alla durata del tempo di osservazione t ed al coefficiente di diffusione D (fig. 2). In pratica significa che, in uno stesso materiale, fissato il tempo di osservazione (ovvero di diffusione), è molto più probabile che una particella si trovi nelle vicinanze del punto iniziale piuttosto che lontano da esso. Poiché in un mezzo omogeneo ed isotropo tutte le direzioni si equivalgono, una particella ha la stessa probabilità di trovarsi in uno qualunque dei punti che giacciono sulla superficie di una sfera centrata nel punto di partenza. Le superfici a probabilità costante sono dunque delle sfere concentriche dove, al crescere del raggio, diminuisce, a parità di tempo di osservazione, la probabilità di trovare una particella. Il coefficiente di diffusione caratterizza la mobilità delle molecole di un dato fluido e dipende dalla temperatura del campione [1].

Più precisamente la larghezza della distribuzione di probabilità, deducibile dalla equazione di Einstein [2], è data da:

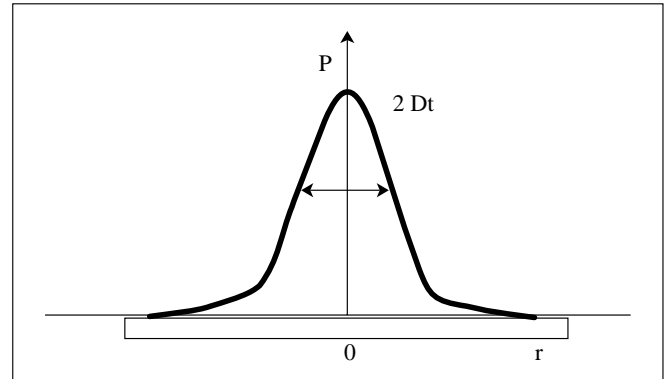


Fig. 2. — Distribuzione di probabilità che descrive gli spostamenti che una particella, che si muove in uno spazio isotropo, compie durante il tempo di osservazione t . Il coefficiente di diffusione D [mm^2/s] caratterizza la mobilità delle particelle e dipende dalla temperatura del campione.

Probability distribution describing the displacements which a particle moving in an isotropic medium undergoes during the observation time t . The diffusion coefficient D [$\text{mm}^2 \text{ s}^{-1}$] characterises the motion of the particles and is dependent on the temperature of the sample.

and it is therefore no longer possible to define a diffusion coefficient as seen above. In this case Fick's laws can no longer be used, and instead reference needs to be made to a probabilistic model to describe the motion of the molecules. This means that instead of knowing the precise position of a particle, the phenomenon is described with a function indicating the probability that a particle travels a given distance in a given time. The probability function which describes this situation of an isotropic solution has Gaussian distribution with a mean of 0 (because the probability that a particle moves in one direction or in the opposite direction is the same) and a variance (i.e. half of the width of the bell-shaped graph) proportional to the observation time t and the diffusion coefficient D (fig. 2). This means that in the same fluid, with a fixed observation time (or diffusion time), it is more likely that a particle will be near to its initial position than far from it. Since all the directions are equal in a homogeneous fluid, a particle has the same probability of being on any of the points lying on the surface of a sphere whose centre is the departure point. Under conditions of constant probability the surfaces are therefore concentric spheres where given the same observation time the probability of finding a particle decreases as the radius of the sphere increases. The diffusion coefficient characterises the motility of the molecules of a given fluid and depends on the temperature of the sample [1].

Stated more precisely the width of the probability distribution, which can be deduced from Einstein's equation [2], is given by:

$$r = (2Dt)^{1/2} \text{ in one dimension}$$

$$r = (6Dt)^{1/2} \text{ in three dimension}$$

where D is the diffusion coefficient and t the diffusion time.

The diffusion coefficient describes the distance covered by a molecule in its stochastic motion in a unit of time, and is measured in length \times length / time (usually expressed in $\text{mm}^2 \text{ s}^{-1}$). Therefore a particle with high diffusion will cover an

$$r = (2Dt)^{1/2} \text{ in una dimensione}$$

$$r = (6Dt)^{1/2} \text{ in tre dimensioni}$$

dove D è il coefficiente di diffusione e t il tempo di diffusione.

Il coefficiente di diffusione descrive lo spazio percorso da una molecola nel suo moto stocastico nell'unità di tempo, ed ha le dimensioni di lunghezza²/tempo (solitamente espressa in mm²/s); pertanto una particella dotata di ampia diffusione percorrerà una area ampia, mentre una particella con bassa diffusione un'area piccola (fig. 1).

La descrizione matematica del coefficiente di diffusione apparente

Conoscere come le molecole d'acqua si muovano all'interno dei tessuti può fornire utilissime informazioni riguardanti la struttura microscopica dei tessuti stessi ed i processi che in essa avvengono. Lo studio di questi fenomeni è possibile utilizzando le potenzialità della RM nell'evidenziare fenomeni che coinvolgono il movimento (vedi tecniche angiografiche a contrasto di fase).

Infatti, come è noto, in presenza di un gradiente di campo magnetico gli spin accumulano, a causa del moto di diffusione (e dunque della diversa posizione nello spazio), sfasamenti diversi che inducono una riduzione del segnale RM. Nella pratica però, questo effetto è estremamente piccolo e perciò misurabile solo se si aggiunge alla sequenza di impulsi un forte gradiente di campo magnetico amplificando così, in maniera considerevole, la sensibilità della RM a questo fenomeno [3]. Qui di seguito è riportata una versione semplificata dell'esperimento di diffusione di Stejskal-Tanner che mostra, per un semplice sistema di spin che diffondono, la relazione esistente tra sfasamento e gradiente di campo magnetico.

Per comprendere come sia possibile misurare il coefficiente di diffusione dell'acqua all'interno di un tessuto consideriamo il caso semplice di un mezzo omogeneo ed isotropo. La frequenza di precessione degli spin sottoposti a un campo magnetico è data dalla legge di Larmor:

$$f = \gamma B_0$$

dove f è la frequenza di precessione, γ è la costante giro-magnetica specifica per ciascuna specie nucleare e B_0 è l'intensità del campo magnetico statico. Se il campo magnetico fosse uniforme, tutti gli spin avrebbero la stessa frequenza di precessione. In presenza di un gradiente di campo magnetico (applicato per es. lungo l'asse x) la frequenza di precessione dipende invece dalla posizione degli spin ed è descritta da:

$$f = \gamma B_0 + \gamma (G x)$$

con: G gradiente di campo magnetico sull'asse x ed x posizione dello spin lungo lo stesso asse. Applicando un gradiente costante G per un tempo pari a d gli spin accumulano una fase:

$$\Phi = \gamma G \delta x$$

La chiave per sensibilizzare alla diffusione le sequenze di RM, così da rendere il fenomeno della diffusione evidente e misurabile, è stata storicamente l'introduzione dei gra-

extensive area, whereas a particle with low diffusion will cover a limited area (fig. 1).

The mathematical description of the apparent diffusion coefficient

Knowing how water molecules move within tissues can provide extremely useful information regarding the microscopic structure of the tissues themselves and the processes taking place within them. The study of these phenomena is made possible using the potential of MR in identifying the phenomena regarding motion (see contrast phase angiographic techniques).

In the presence of a magnetic field gradient, owing to the diffusion motion (and therefore of the different position in space), the spins accumulate different phase shifts which cause a loss in the MR signal. In practice, however, this effect is extremely small and therefore can be measured only if a strong magnetic field gradient is added to the pulse sequence, thus considerably increasing the sensitivity of MR to this phenomenon [3]. Below is a simplified version of the diffusion experiment carried out by Stejskal-Tanner which shows the relation between phase shift and magnetic field gradient.

To understand how the diffusion coefficient within tissue can be measured, consider the simple case of a homogeneous and isotropic fluid. The precession frequency of the spins in a magnetic field is given by the Larmor equation:

$$f = \gamma B_0$$

where f is the precession frequency, γ is the specific gyromagnetic constant for each nucleus and B_0 is the intensity of the static magnetic field. If the magnetic field were uniform, all of the spins would have the same precession frequency. On the other hand, in the presence of a magnetic field gradient (e.g. applied along the x axis) the precession frequency depends on the position of the spins and is described by:

$$f = \gamma B_0 + \gamma (G x)$$

where G is the magnetic field gradient along the x axis and x the position of the spin along the same axis. Applying a constant gradient G for a time δ the spins will accumulate a phase:

$$\Phi = \gamma G \delta x$$

The key to sensitising the MR sequences to diffusion, so as to render the phenomenon of diffusion evident and measurable, was historically the introduction of pulse gradients. The first to apply two short-duration gradients rather than a single gradient constant over time were Stejskal and Tanner [4]. If we apply two gradients of opposite polarities, of equal intensity and duration δ , separated by a time interval Δ (with $\delta \ll \Delta$) (fig. 3), the phase accumulated by the spins will be given by:

$$\Phi = \gamma G \delta (x_0 - x_i)$$

where x_0 is the position of the spins at the moment of the application of the first gradient, whereas x_i is the position of

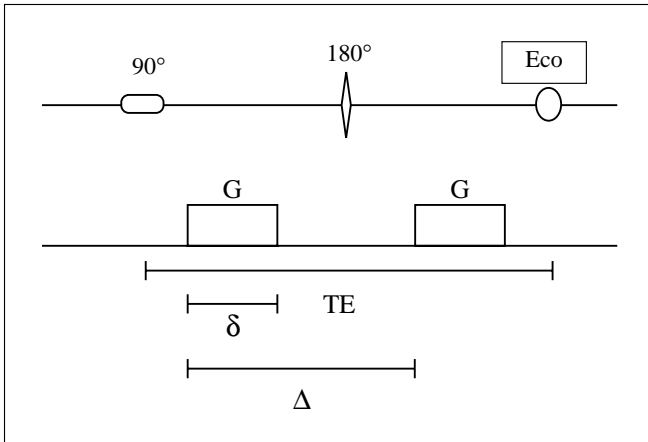


Fig. 3. — Schema della sequenza di Stejskal e Tanner. Si tratta di una sequenza SE in cui all'impulso a 180° sono fatti precedere e seguire due gradienti pulsati di durata δ e intervallati da un tempo Δ per sensibilizzare la sequenza alla diffusione. $b = \gamma^2 G^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3)$ esprime il grado di sensibilizzazione alla diffusione della sequenza e dipende dalla costante giromagnetica γ , dall'intensità dei gradienti G , da δ e Δ secondo l'equazione riportata.
Depiction of the Stejskal and Tanner sequence. This is a spin-echo sequence where the pulse at 180° is preceded and followed by two pulse gradients of duration δ with a time interval Δ to sensitise the sequence to diffusion. $b = \gamma^2 G^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3)$ expresses the degree of sensitisation to diffusion of the sequence and depends on the gyromagnetic constant γ , the gradient intensity G , δ and Δ according to the equation given.

dienti pulsati. Si deve a Stejskal e Tanner [4] l'applicazione di due gradienti di breve durata, piuttosto che uno soltanto costante nel tempo. Come schematizzato (fig. 3), se applichiamo 2 gradienti di segno opposto, di uguale intensità e durata (δ), separati da un intervallo di tempo Δ (con $\delta \ll \Delta$), la fase accumulata dagli spin sarà:

the spins at the moment of the application of the second gradient.

The phase therefore depends on the movements of the spins, which occurs in the time interval between the application of the first and second gradients. If the spins are stationary, then $x_0 - x_i = 0$ and the phase will also be 0. If the spins are moving in an orderly fashion at the same velocity, as occurs within a vessel, an identical phase variation is observable which can be measured. This is the principle underlying contrast phase MR angiography. If on the other hand the movement is random, as occurs with Brownian motion, the different spins acquire different phase variations, resulting in a loss of signal.

The loss of signal due solely to diffusion is described by the equation:

$$S = S_0 e^{-bD}$$

where S and S_0 are the signal intensities with and without diffusion sensitisation, respectively, and D is the diffusion coefficient. $b = \gamma^2 G^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3)$ expresses the level of sensitisation to diffusion of the sequence, which depends on the distance Δ , the intensity G and the duration δ of the two gradients. In other words, as b increases, so too does the "weighting" in diffusion of the sequence.

It is therefore clear how images "weighted" in diffusion can be obtained, which are influenced not only by T_1 and T_2 , but also markedly by the degree of diffusion of water: low diffusion corresponds, therefore, to minor signal loss (e.g. tissue with high cellular density and medium interstice, such as focal nodular hyperplasia (FNH) of the liver), whereas high diffusion corresponds to a major signal loss [e.g. the liquid contained in the gallbladder or the cerebrospinal fluid (CSF)] (fig. 4).

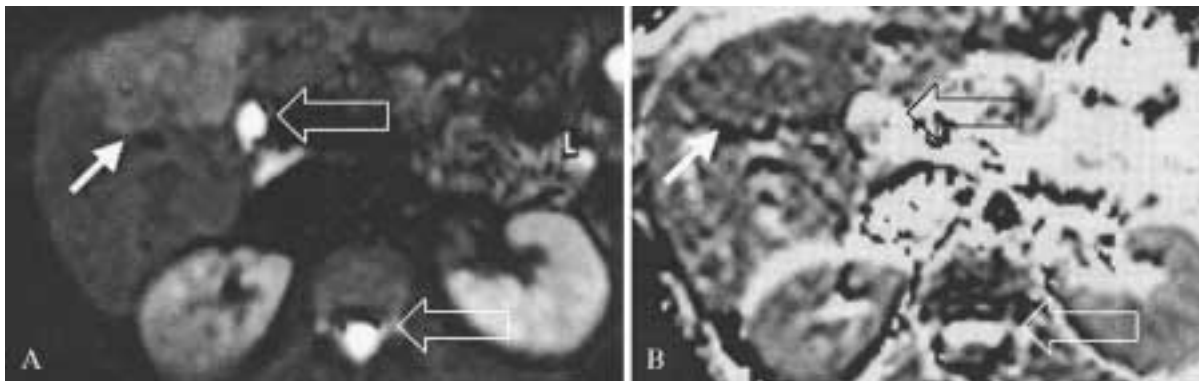


Fig. 4. — Immagine DW A) e relativo ADC B) di lesione nodulare epatica (FNH). In A), con $b=300$, si nota che l'FNH (freccia bianca) ha segnale minore dei liquidi contenuti nel duodeno e del liquor cefalo rachidiano (freccia bianca vuota); questo contrasta con il fatto che i liquidi hanno alta diffusività e quindi dovrebbero apparire a basso segnale mentre la FNH, solida, ha bassa diffusività e dovrebbe essere caratterizzata da alto segnale. Queste variazioni rispetto all'atteso sono da imputare al fenomeno dello «shine through» ovvero al T2 delle strutture che si ripercuote sulle immagini DW. Depurando l'immagine da tale fenomeno con il calcolo dell'ADC, B) si osserva che l'FNH ha basso segnale (bassa diffusione) e i liquidi alto segnale (alta diffusione).

Diffusion-weighted (DW) image A) and relative apparent diffusion coefficient (ADC) B) of a focal nodular hyperplasia (FNH) of the liver. A) With $b=300$ the FNH (white arrows) has a lower signal than both the liquid contained in the duodenum and the cerebrospinal fluid (empty white arrow); this is in contrast with the fact that the liquids have a high diffusivity and therefore should appear with a low signal, whereas the FNH, being solid, has low diffusivity and should have a high signal. These variations with respect to the expected situation are due to the "shine through" phenomenon, that is, due to the T2 of the structures which reverberates on the DW images. Clearing the image of this phenomenon with the ADC calculation, B) the FNH has a low signal (low diffusion) and the liquids a high signal (high diffusion).

TABELLA I. — Coefficienti di diffusione per alcune sostanze.

Sostanze	Coefficiente di diffusione [mm ² s ⁻¹]
Acqua temperatura ambiente	(2,30±0,02)×10 ⁻³
CSF	(2,94±0,05)×10 ⁻³
Materia grigia	(0,76±0,03)×10 ⁻³
Materia bianca (orto)*	(0,45±0,03)×10 ⁻³
Materia bianca (para)**	(0,95±0,03)×10 ⁻³
*) Direzione del gradiente ortogonale alla direzione delle fibre. **) La direzione del gradiente parallelo alla direzione delle fibre.	

$$\Phi = \gamma G \delta (x_0 - x_i)$$

dove x_0 è la posizione degli spin al momento dell'applicazione del primo gradiente, mentre x_i è la posizione degli spin al momento dell'applicazione del secondo gradiente.

La fase dipende quindi dal movimento degli spin ($x_0 - x_i$), che avviene nell'intervallo di tempo tra l'applicazione del primo e del secondo gradiente. Se gli spin sono stazionari $x_0 - x_i = 0$ pertanto anche la fase sarà 0. Se gli spin si muovono in modo coerente e si spostano alla stessa velocità, come avviene all'interno di un vaso, si osserva una identica variazione di fase, misurabile. Su tale principio si basa, come noto, l'angi-RM a contrasto di fase. Se invece lo spostamento avviene in maniera casuale, come appunto per il moto Browniano, i diversi spin acquistano differenti variazioni di fase, con risultante perdita della coerenza e conseguente diminuzione di segnale.

La perdita di segnale dovuta alla sola diffusione è descritta dalla equazione:

$$S = S_0 e^{-bD}$$

Dove S e S_0 sono rispettivamente le intensità di segnale con e senza la sensibilizzazione alla diffusione e D il coefficiente di diffusione. $b = \gamma^2 G^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3)$ esprime il grado di sensibilizzazione alla diffusione della sequenza, che dipende dalla distanza (Δ), dall'intensità (G) e dalla durata (δ) dei due gradienti. In altre parole al crescere di b aumenta la «pesatura» in diffusione della sequenza.

Si capisce perciò come sia possibile ottenere delle immagini «pesate» in diffusione, nelle quali il segnale, oltre che dal T1 e dal T2 sia nettamente influenzato dal grado di diffusione dell'acqua: bassa diffusione corrisponde quindi a poca perdita di segnale (es. tessuto ad alto stipamento cellulare e con interstizio di modesta entità come nel caso di lesione nodulare epatica tipo FNH), alta diffusione corrisponde a grande perdita di segnale (es. il liquido contenuto nella colecisti o quello cefalorachidiano) (fig. 4).

Nel caso di un mezzo omogeneo isotropo in cui la mobilità non mostra alcuna dipendenza dalla direzione è possibile, usando diverse immagini pesate per la diffusione (al minimo due), ottenute per diversi valori di b , calcolare la mappa del coefficiente di diffusione.

Effettuando la stessa misura sui tessuti biologici si osserverebbe un coefficiente di diffusione 2-3 volte inferiore a

TABLE I.—Diffusion coefficient for several substances.

Substance	Diffusion coefficient [mm ² s ⁻¹]
Water (ambient temperature)	(2,30±0,02)×10 ⁻³
Cerebrospinal fluid	(2,94±0,05)×10 ⁻³
Grey matter	(0,76±0,03)×10 ⁻³
White matter (ortho)*	(0,45±0,03)×10 ⁻³
White matter (para)**	(0,95±0,03)×10 ⁻³
*) Gradient direction orthogonal to the direction of the fibres. **) Gradient direction parallel to the direction of the fibres.	

In the case of an isotropic homogenous medium in which the motion shows no dependence on direction, by using different diffusion-weighted images (at least two) obtained for different b values, the diffusion coefficient map can be calculated.

Performing the same measurement on biological tissues reveals a diffusion coefficient 2-3 times lower than that of free water due to obstacles to free diffusion such as cellular membranes, intracellular organelles (mitochondria, etc.) and myelin sheaths. In this case as in other anisotropic structures, the directions along which the gradients of sensitisation to diffusion are applied need to be taken into consideration. In addition, it should be borne in mind that a quota of the water bonded to the macromolecules (mainly proteins) is characterised by reduced motion: therefore the concentration of tissue macromolecules can also influence the diffusion of water. The measurement of the diffusion coefficient therefore varies with the variation of the orientation of the gradient with respect to the direction of the white matter tracts in the central nervous system (table I). Another example of anisotropy is given by the fibres of the smooth muscles. The relationship which describes the signal decay is clearly not sufficient for describing a situation in which the diffusion coefficient varies with the variation in the orientation of the gradients. To take into account this feature, the diffusion coefficient D is substituted with an apparent diffusion coefficient (ADC) [1] and the expression which describes the signal loss becomes:

$$S = S_0 e^{-bADC}$$

The ADC takes its name precisely because the quantity measured only partially describes a more complex event. The ADC characterises the molecular movements in a single direction and therefore is not able to describe the three-dimensional movements of the molecules in non isotropic systems. It coincides with the diffusion coefficient in homogenous and isotropic media, but it is unable to fully describe diffusion in anisotropic media (Fig. 5). A scalar quantity such as ADC, therefore, cannot be used to fully describe diffusion in all situations.

However, not even is a vector quantity (characterised by three components in space) is sufficient. Indeed, even measuring the ADCs along three orthogonal directions and combining the three components would produce a result dependent

quello dall'acqua libera in relazione agli ostacoli rappresentati alla libera diffusione da strutture quali ad esempio le membrane cellulari, gli organuli intracellulari (mitocondri, ecc.) e le fibre mieliniche. In quest'ultimo caso e nelle altre strutture anisotrope è da tenere conto anche delle direzioni lungo le quali sono applicati i gradienti di sensibilizzazione alla diffusione. Occorre ricordare inoltre che esiste una quota di acqua legata alle macromolecole (principalmente proteine) che è caratterizzata da ridotta mobilità; pertanto anche la concentrazione di macromolecole tissutali è in grado di influenzare la diffusione dell'acqua. La misura del coefficiente di diffusione varia dunque al variare dell'orientamento del gradiente rispetto alla direzione delle fibre della sostanza bianca nel sistema nervoso centrale (tab. I); altro esempio di anisotropi è rappresentato dalle fibre della muscolatura striata. È evidente che la relazione che descrive il decadimento del segnale non è adeguata a descrivere una situazione in cui il coefficiente di diffusione varia al variare dell'orientamento dei gradienti. Per tenere conto debitamente di tale effetto si sostituisce al coefficiente di diffusione D un coefficiente di diffusione apparente (Apparent Diffusion Coefficient=ADC) [1] e l'espressione che descrive la perdita del segnale diventa:

$$S=S_0e^{-bADC}$$

L'ADC ha questo nome proprio per ricordare che la grandezza misurata descrive solo parzialmente un evento più complesso. L'ADC caratterizza gli spostamenti molecolari in un'unica direzione e non è per questo in grado di descrivere gli spostamenti tri-dimensionali delle molecole nei sistemi non isotropi. Coincide con il coefficiente di diffusione nei mezzi omogenei ed isotropi ma non è in grado di descrivere compiutamente il fenomeno della diffusione nei mezzi anisotropi (fig. 5). Non è quindi possibile utilizzare una grandezza scalare, come l'ADC, per descrivere in maniera completa il fenomeno della diffusione in tutte le situazioni.

Ma non basta neppure una grandezza vettoriale (caratterizzata da tre componenti nello spazio). Infatti, anche misurando gli ADC lungo tre direzioni ortogonali e combinando le tre componenti, si otterrebbe un risultato dipendente dalla scelta del sistema di assi ortogonali. Questo accade perché nei sistemi anisotropi i moti di diffusione in direzioni ortogonali sono tra loro correlati [5]. Volendo descrivere il fenomeno da un punto di vista matematico è indispensabile ricorrere al tensore: un operatore capace di tenere conto delle correlazioni esistenti tra direzioni ortogonali.

La descrizione matematica del tensore di diffusione

Nel tensore di diffusione, descritto dalla seguente matrice:

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

gli elementi diagonali D_{xx} , D_{yy} , D_{zz} rappresentano l'entità delle correlazioni tra gli spostamenti molecolari che avven-

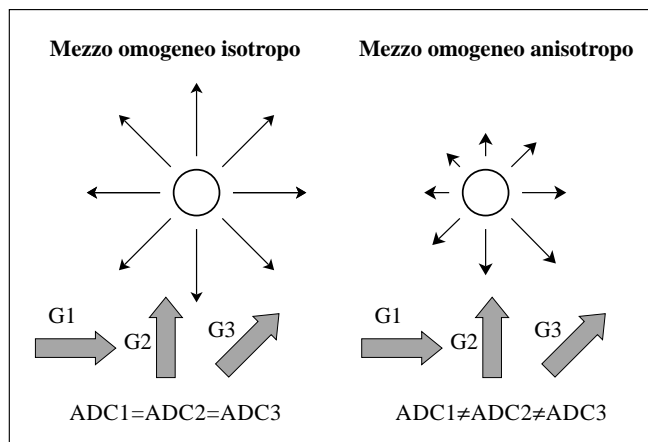


Fig. 5. — In un mezzo isotropo il coefficiente di diffusione apparente (ADC) non varia al variare della direzione del gradiente di campo applicato e la diffusione è ben descritta da questa grandezza scalare coincidente con il coefficiente di diffusione. Nel mezzo anisotropo i valori dell'ADC variano al variare dell'orientamento del campo magnetico rispetto alla direzione delle fibre. In questo caso né una grandezza scalare né una vettoriale possono descrivere il fenomeno osservato.

In an isotropic medium the ADC does not vary with the variation of the direction of the gradient of the field applied, and the diffusion is fully described by this scalar quantity coinciding with the diffusion coefficient. In an anisotropic medium the ADC values vary with the variation of the orientation of the magnetic field with respect to the direction of the fibres. In this case neither a scalar quantity nor a vector quantity is able to describe the observed phenomenon.

on the choice of the system of orthogonal axes. This occurs because in anisotropic systems the diffusion motion in orthogonal directions are correlated among themselves [5]. A crucial factor for describing the phenomenon mathematically is tensor, which is an operator capable of taking into consideration the correlations between the orthogonal directions.

The mathematical description of diffusion tensor

In diffusion tensor, which is described by the following matrix:

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

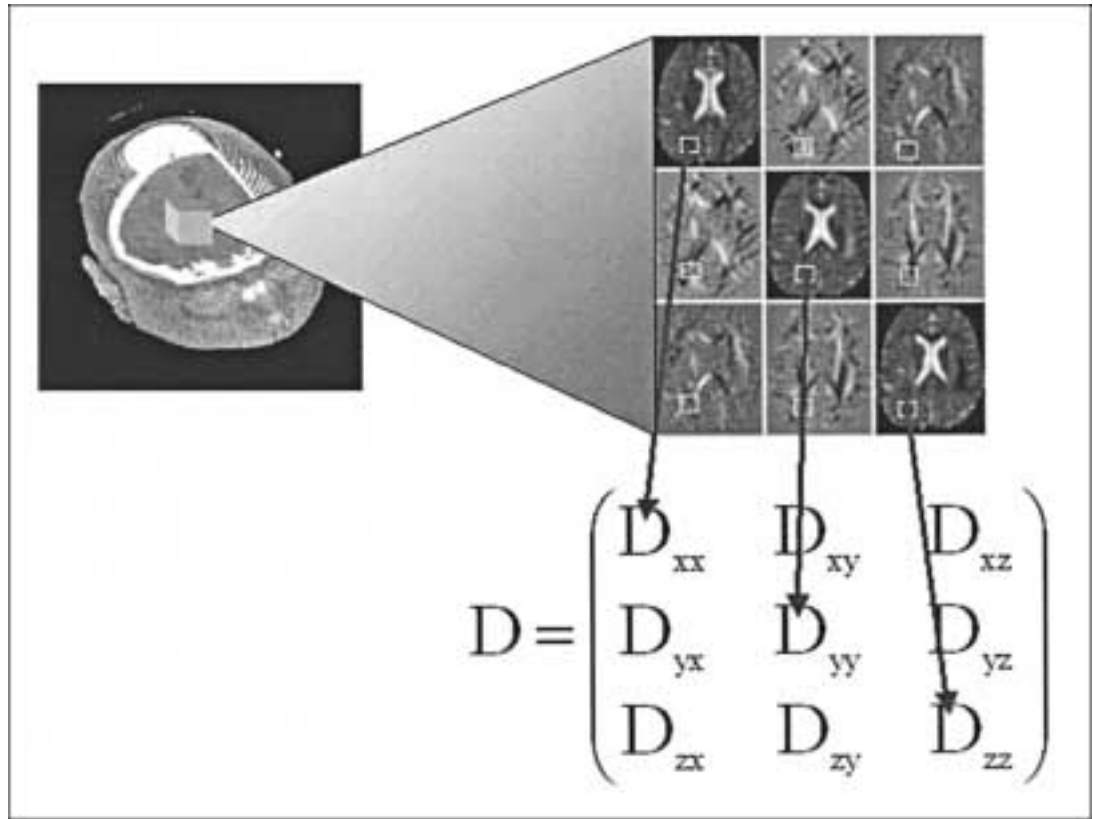
the diagonal elements D_{xx} , D_{yy} , D_{zz} represent the extent of the correlations between the molecular displacements which occur along the same directions, whereas the other elements represent the extent of the correlations in relation to the displacements in orthogonal directions. Since it can be demonstrated that the diffusion tensor is symmetrical, that is $D_{ij}=D_{ji}$ (or $D_{xy}=D_{yx}$, $D_{xz}=D_{zx}$ etc), the expression which describes the signal reduction following diffusion phenomena, rather than depending on the simple product of b for the diffusion coefficient, takes on the following form in anisotropic systems:

$$S=S_0 e^{-(b_{xx}D_{xx}+b_{yy}D_{yy}+b_{zz}D_{zz}+2b_{xy}D_{xy}+2b_{xz}D_{xz}+2b_{yz}D_{yz})}$$

This means that to describe diffusion the six indepen-

Fig. 6. — Il tensore di diffusione descrive la diffusione che avviene nella piccola regione evidenziata. Le nove immagini, raffigurano l'effetto dell'applicazione dei gradienti secondo direzioni prestabilite (es. due gradienti lungo l'asse x per la prima immagine in alto a sinistra, uno lungo x e l'altro lungo y per l'immagine adiacente). Lo stesso elemento, evidenziato nelle nove immagini, è rappresentativo di ciascuna delle nove componenti del tensore di diffusione.

The diffusion tensor describes the diffusion which occurs in the small region highlighted. The nine images depict the effect of the application of gradients according to pre-established directions (e.g. two gradients along the x axis for the first image on the top left, one along the x and the other along the y for the image beside it). The same element, highlighted in the nine images, represents by each of the nine values of diffusion tensor.



gono lungo le stesse direzioni, mentre gli altri rappresentano quelle relative agli spostamenti che avvengono in direzioni ortogonali. Poiché si può dimostrare che il tensore di diffusione è simmetrico ovvero $D_{ij}=D_{ji}$ (cioè $D_{xy}=D_{yx}$, $D_{xz}=D_{zx}$, ecc.), l'espressione che descrive la riduzione del segnale a seguito dei fenomeni di diffusione, invece che dipendere dal semplice prodotto di b per il coefficiente di diffusione, assume, nei sistemi anisotropi, la seguente forma:

$$S=S_0 e^{-(b_{xx}D_{xx}+b_{yy}D_{yy}+b_{zz}D_{zz}+2b_{xy}D_{xy}+2b_{xz}D_{xz}+2b_{yz}D_{yz})}$$

Questo significa che per descrivere la diffusione è necessario conoscere i sei termini indipendenti del tensore. Questi possono essere estratti da una serie di misure effettuate applicando i gradienti di diffusione lungo direzioni non collineari. In pratica sono necessarie al minimo 7 misure (una per misurare S_0 più 6 con i gradienti applicati in direzioni non collineari). Il tensore di diffusione varia, come l'ADC, da regione a regione; per poterlo descrivere abbiamo quindi bisogno di associare a ciascuna regione 9 numeri (6 diversi tra di loro) (fig. 6).

Il valore associato alle componenti del tensore dipende dall'orientamento del campione in esame rispetto al sistema di riferimento del laboratorio definito dalle direzioni dei gradienti di selezione dello strato di codifica di fase e di lettura. Rotazioni del campione cambiano le componenti del tensore che non è quindi descrivibile in maniera univoca. Esiste però una grandezza che, indipendentemente dal sistema di riferimento, rimane costante: la traccia del tensore ovvero

dent terms of tensor need to be known. These can be extrapolated from a series of measurements applied to the diffusion gradients along non-collinear directions. In practice at least seven measurements are required (one to measure S_0 plus six with the gradients applied in non-collinear directions). The diffusion tensor varies, like ADC, from region to region; its description therefore requires associating nine numbers to each of the regions (six different ones between them) (fig. 6).

The values associated to the tensor components depend on the orientation of the sample with respect to the laboratory reference system defined by the slice selection, read-out and phase encoding directions of the gradients. Rotations of the sample change the tensor components, meaning that tensor cannot be described in a single manner. There is, however, a quantity that remains constant regardless of the reference system: the tensor trace, or rather the sum of the diagonal elements $Tr_d=D_{xx}+D_{yy}+D_{zz}$. This quantity, precisely because it can be defined in a single manner, is generally used to characterise the mean diffusivity of the sample ($\bar{D}=Tr_d/3$).

Among the many possible reference systems, there is one which regards the sample where the movements along the three orthogonal directions appear non correlated. In this reference system (known as the main axes reference system) the tensor takes on a particularly simple form, because it is reduced to the three diagonal elements alone. It should be noted that the "main axes" are associated with the sample (considered as a voxel or voxels), which in a macroscopic object can vary depending on the sampling site and that they there-

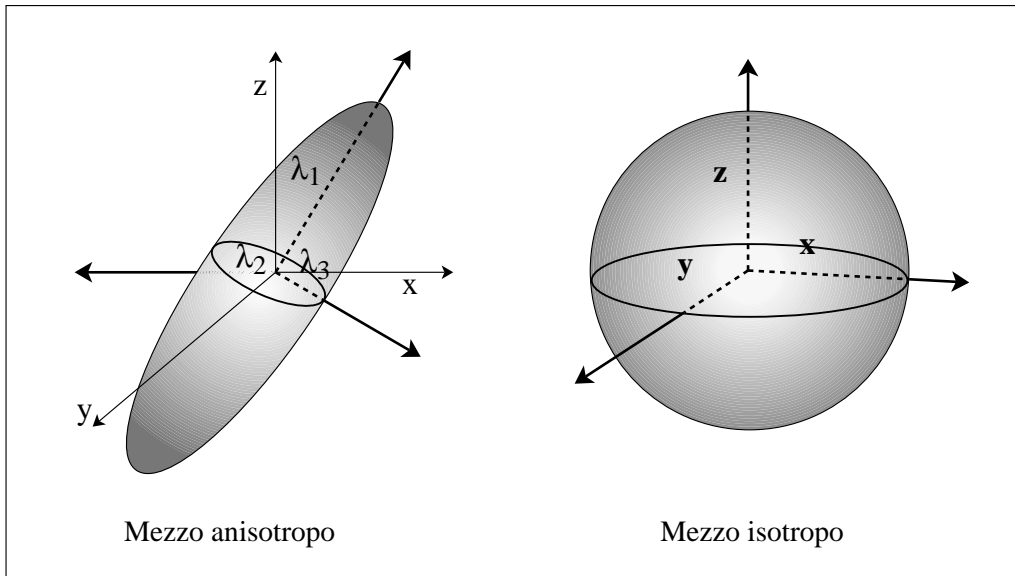


Fig. 7. — Forma delle superfici a probabilità di diffusione costante rispettivamente in un mezzo anisotropo ed isotropo. Come si può osservare se il mezzo è anisotropo il sistema di riferimento degli assi principali ADC_1 , ADC_2 , ADC_3 non è coincidente con il sistema di riferimento del laboratorio x , y , z .

Form of the surfaces with constant diffusion probability with respect to an anisotropic and an isotropic medium. If the medium is anisotropic, the reference system of the main axes ADC_1 , ADC_2 , ADC_3 does not coincide with the laboratory reference system x , y , z .

la somma degli elementi diagonali $Tr_d = D_{xx} + D_{yy} + D_{zz}$. Questa grandezza, proprio perché definibile in maniera univoca, viene in genere utilizzata per caratterizzare la diffusività media del campione ($\bar{D} = Tr_d/3$).

Tra i tanti possibili sistemi di riferimento ne esiste uno, proprio del campione, in cui gli spostamenti lungo le tre direzioni ortogonali appaiono scorrelati. In questo sistema di riferimento (chiamato degli assi principali) il tensore assume una forma particolarmente semplice perché si riduce ai tre soli elementi diagonali. Si sottolinea che gli «assi principali» sono associati al campione (inteso come voxel o insieme di voxel), che in un oggetto macroscopico possono variare in funzione della sede del campionamento e che quindi non coincidono con le direzioni dei gradienti di selezione della scansione e/o di codifica di fase/lettura.

In un mezzo isotropo, come il parenchima epatico, la diffusione è descritta, come abbiamo già visto, mediante delle superfici sferiche che rappresentano l'insieme dei punti in cui, fissato il tempo di diffusione, è ugualmente probabile trovarvi delle particelle. Se invece il mezzo è anisotropo (fasci mielinici nel sistema nervoso centrale) le superfici a probabilità costante sono degli ellissoidi (fig. 7) i cui assi principali sono gli spostamenti medi di diffusione lungo le direzioni degli assi principali.

Una semplice analogia può aiutarci a comprendere meglio il significato delle affermazioni precedenti. Consideriamo una goccia di inchiostro che diffonde in due mezzi diversi: uno isotropo e l'altro anisotropo. Nel primo caso, la forma assunta dalla goccia è sferica mentre, nel secondo, la dispersione spaziale dell'inchiostro è condizionata a seguire direzioni ben precise assumendo così la forma di un ellissoide.

Poiché la diffusione delle molecole d'acqua nella maggior parte dei tessuti biologici è anisotropa, la misura del coefficiente di diffusione apparente non aiuta a descrivere in maniera completa gli spostamenti tridimensionali che caratterizzano la diffusione nei mezzi anisotropi che sono invece interamente descritti dal tensore di diffusione.

fore do not coincide with the gradient directions of the selected scan and/or of the phase/read-out encoding.

In an isotropic medium, such as liver parenchyma, diffusion is described, as seen above, by the spherical surfaces which represent the totality of points in which it is equally likely to find the particles under conditions of fixed diffusion time. If instead the medium is anisotropic (myelin sheaths in the central nervous system) the surfaces with constant probability are ellipsoid (fig. 7) whose main axes are the mean displacements of diffusion along the directions of the main axes.

A simple analogy may be useful for better understanding the meaning of the above affirmations. Consider a drop of ink which diffuses in two different media: one isotropic and the other anisotropic. In the first case, the form assumed by the drop is spherical, whereas in the second the spatial dispersion of the ink follows precise directions taking on an ellipsoid form.

Since the diffusion of water molecules in most biological tissues is anisotropic, the measurement of the ADC does not help to completely describe the three-dimensional displacements which characterise diffusion in anisotropic media. These can, however, be fully described by the diffusion tensor.

The acquisition of MR images in diffusion-weighted mode

The first measurements of the diffusion of water molecules were performed in the 1950s by Carr and Purcell [6], who observed that the MR signal could be influenced by diffusion. The magnet they used was not equipped with coil-generated magnetic field gradients, as are modern devices dedicated to imaging, and due to technical imperfections was so inhomogeneous as to have an intrinsic constant field gradient of about 1 Gauss/cm.

Using a spin-echo (SE) sequence like the one depicted in figure 3, Carr and Purcell were the first to observe how the

Acquisire immagini RM in modo «diffusione pesato»

Le prime misurazioni della diffusione delle molecole d'acqua sono state realizzate nei primi anni '50 da Carr e Purcell [6] che osservarono che il segnale RM poteva essere influenzato dalla diffusione. Il magnete da loro utilizzato non era dotato di gradienti di campo magnetico generati da bobine, come nei moderni apparecchi dedicati all'imaging, ed era, per imperfezioni tecniche, così disomogeneo da avere un gradiente intrinseco di campo costante di circa 1 Gauss/cm.

Carr e Purcell, utilizzando una sequenza spin-eco (SE) come quella schematizzata in fig. 3, hanno per primi osservato come il segnale RM sia ridotto dal moto incoerente dovuto alla diffusione. Anche nelle sequenze SE convenzionali, comunemente utilizzate nella pratica clinica, si verifica una perdita di segnale di circa l'1%, causata dall'intrinseca non perfetta omogeneità del campo magnetico principale e dalle locali perturbazioni di campo causate dal corpo oggetto di studio. Tuttavia tale modesta perdita di segnale causata dalla diffusione non è ovviamente osservabile ad occhio nudo ed è anche di difficile misurazione.

La chiave per sensibilizzare alla diffusione le sequenze di RM, così da rendere il fenomeno della diffusione evidente e facilmente misurabile, è stata storicamente l'introduzione dei gradienti pulsati. Dalla relazione precedentemente descritta

$$S=S_0e^{-bADC} \text{ con } b=\gamma^2 G^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3)$$

appare quindi chiaro che per sensibilizzare, in modo idoneo ai fini clinici, una sequenza alla diffusione occorrono gradienti di sensibilizzazione forti. In tal senso la maggior parte dei costruttori ha oggi realizzato tomografi con gradienti sufficientemente potenti (almeno 20 mT/m).

Come è noto, le sequenze SE convenzionali hanno il grosso svantaggio di durare alcuni minuti e, ai fini della acquisizione di immagini pesate in diffusione, richiedere una immobilità assoluta da parte del paziente. È infatti chiaro che, se a produrre la perdita di segnale nelle immagini sensibilizzate alla diffusione sono i movimenti Browniani delle molecole d'acqua, i movimenti macroscopici, quali le pulsazioni cardiache o gli atti respiratori, risulteranno oscurare le variazioni microscopiche di diffusività proprie delle varie componenti tissutali. I movimenti macroscopici saranno quindi gravemente deleteri sul segnale delle immagini sensibilizzate alla diffusione, sino al quasi totale annullamento del segnale stesso.

L'utilizzo di gradienti sempre più potenti, attivamente schermati, ha permesso di passare dalle sequenze SE convenzionali a quelle basate sulla tecnica eco-planare (Echo Planar Imaging=EPI). Quest'ultima permette infatti di ottenere immagini «istantanee» con risoluzione temporale al di sotto dei 200 ms, di fatto annullando l'effetto deleterio di ogni movimento macroscopico. In pratica, con la modalità EPI si acquisiscono tutti gli echi utilizzati per ottenere una immagine dopo un singolo impulso di eccitazione (tecnica single shot) oppure dopo ogni eccitazione vengono ottenuti numerosi ma non tutti echi, (tecnica multishot). Essa è di fatto una tecnica in cui la lettura avviene ad eco di gradiente, in quanto per ottenere i diversi echi si fa oscillare il gradiente di codifica di

MR signal is reduced by the inconsistent motion due to diffusion. Even in conventional SE sequences commonly used in clinical practice there is a signal loss of about 1%, caused by the intrinsic imperfect homogeneity of the static magnetic field and by the local perturbations of the field caused by the body being studied. However, that minor signal loss caused by diffusion is not easily observable by the naked eye and is also difficult to measure.

The key to sensitising the MR sequences to diffusion, so as to render the phenomenon of diffusion evident and measurable, was historically the introduction of pulsed gradients. Given the above described relationship:

$$S=S_0e^{-bADC} \text{ con } b=\gamma^2 G^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3)$$

it appears clear that to sensitise a sequence to diffusion in the best possible way for clinical purposes, strong sensitisation gradients are required. To this end most manufacturers produce MR devices with sufficiently powerful gradients (at least 20 mT/m).

Conventional SE sequences have the major disadvantage of lasting several minutes, and when used to acquire diffusion-weighted images require that the patient remain totally immobile. Clearly, if the signal loss in diffusion-weighted images is produced by the Brownian motion of the water molecules, macroscopic motion, such as heart beat and respiration, conceal the microscopic variations of the diffusivity of the various tissual components. Macroscopic motion is therefore exceedingly deleterious to the signal of diffusion-weighted images, to the point of almost completely cancelling out the signal itself.

The use of increasingly powerful and actively shielded gradients has enabled the passage from conventional SE sequences to echo-planar imaging (EPI) sequences. This technique is capable of acquiring "instantaneous" images with a temporal resolution below 200 ms, which eliminates the deleterious effect of macroscopic motion. In practice, EPI is capable of acquiring all the echoes used to obtain an image after a single excitation pulse (single-shot technique) or after each excitation many but not all echoes are acquired (multishot technique). The latter is a technique where the reading occurs with a gradient echo, in that the frequency encoding gradient is rapidly oscillated to obtain the different echoes. The technique is highly dependent on the quality of the gradients both in terms of intensity and particularly in terms of the rise time. The use of fat suppression is useful to avoid chemical-shift artifacts which would otherwise significantly influence the images.

In order to obtain good-quality diffusion-weighted MR images, therefore, powerful gradients are required with high intensity and fast rise times (high b with short δ) which are precise (identical successive gradients) and without contaminated magnetic fields (short gradient coils, active shielding of the gradients).

Characteristics of diffusion-weighted MR images

The above described sequences can be used to obtain diffusion-weighted (DW) images, which are the starting point for obtaining ADC maps and mean diffusivity, as well as the elements for diffusion tensor.

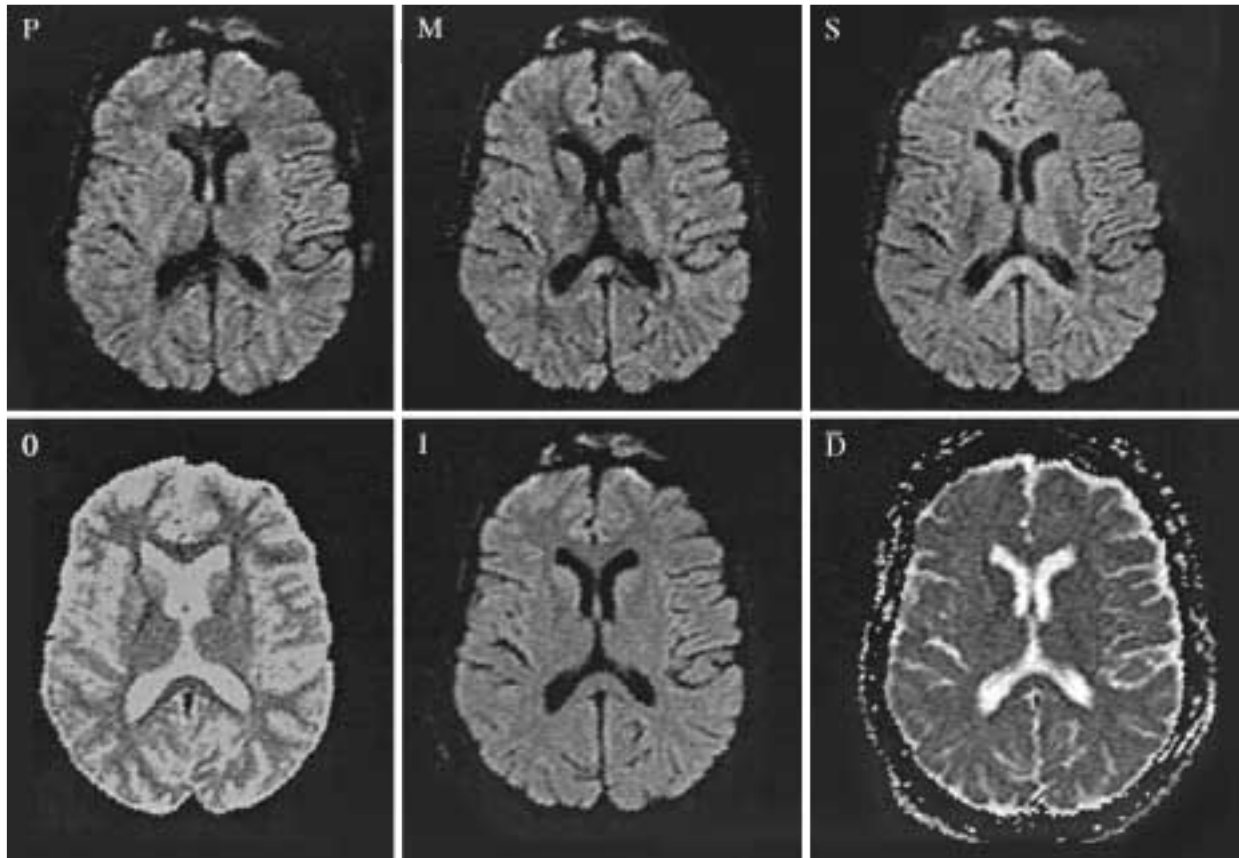


Fig. 8. — Immagini DW ottenute a livello dei ventricoli cerebrali. In alto ci sono le tre immagini ottenute applicando il gradiente lungo le direzioni della codifica di fase (p), di lettura (m) e di selezione dello strato (s); in basso a sinistra c'è l'immagine ottenuta con gradiente b uguale a 0 (0), nel centro l'immagine isotropica (I) e a destra la relativa diffusività media (\bar{D}). Si può notare come i tratti della sostanza bianca abbiano differente intensità di segnale in p, m, s in funzione del diverso orientamento del gradiente applicato.

DW images obtained at the level of the cerebral ventricles. Above, the three images obtained by applying the gradient along the directions of phase encoding (p), read-out encoding (m) and slice selection (s); below left, an image obtained with the gradient $b=0$ (0), below centre an isotropic image (I) and below right the relative mean diffusivity (\bar{D}). Noteworthy are the white matter tracts which have different signal intensities in p, m and s depending on the different orientation of the gradient applied.

frequenza in maniera rapida. Tale tecnica è fortemente dipendente dalla qualità dei gradienti sia come intensità, sia soprattutto come rapidità di salita; è utile l'uso della soppressione spettrale del grasso, per evitare gli artefatti da chemical-shift che altrimenti influenzerebbero notevolmente le immagini.

Per potere realizzare studi RM sensibilizzati alla diffusione di buona qualità occorre pertanto disporre di gradienti potenti dotati di elevata intensità e rapidità di salita (alto b con δ brevi), precisi (gradienti successivi identici) e senza campi magnetici di contaminazione (bobine di gradiente corte, schermatura attiva dei gradienti).

Caratteristiche delle immagini RM sensibilizzate alla diffusione

Utilizzando le sequenze precedentemente descritte, è possibile ottenere immagini «pesate» in diffusione (Diffusion Weighted = DW). Esse rappresentano il punto di partenza per ottenere sia le mappe di ADC e la diffusività media, che gli elementi del tensore di diffusione.

DW images provide essential qualitative information regarding the degree of diffusivity of the water molecules in a given tissue (high or low diffusivity). They are also capable of highlighting anisotropy, or the preferential direction of the water molecules in a highly geometrically organised tissue (e.g. myelin fibres which run parallel) (fig. 8). However, the DW images conserve an intrinsic component of weighting in T1, DP and above all in T2, in variable proportion to the value of TE used (generally >50 ms). The so-called "T2 shine-through" phenomenon is a typical example of T2 signal which plagues the DW image. Owing to this phenomenon a DW image with a signal which should be low, for example owing to free water in the tissue as a result of interstitial oedema (with high diffusivity), would instead appear with a high signal, precisely due to a lengthening of the T2 linked to the increase in free water.

As stated above, the acquisition of at least two images with different degrees of diffusion weighting, that is with different b values (e.g. 0 and 1000 s/mm^2), ADC maps and mean diffusivity can be obtained. These are no longer qual-

Le immagini DW forniscono informazioni essenzialmente qualitative sul grado di diffusività delle molecole d'acqua in un dato tessuto (alta o bassa diffusività). Esse sono in grado di evidenziare anche l'anisotropia, cioè la direzione preferenziale delle molecole d'acqua in un tessuto altamente organizzato dal punto di vista geometrico (es. fascio di fibre mieliniche che decorrono parallele) (fig. 8). Tuttavia le immagini DW conservano una intrinseca componente di pesatura in T1, DP e soprattutto T2, in proporzione variabile a seconda del valore di TE usato (in genere maggiore di 50 ms). Il cosiddetto fenomeno del «T2 shine-through» rappresenta appunto un tipico esempio di segnale T2 che parassita l'immagine DW. A causa di tale fenomeno una immagine DW con segnale che dovrebbe essere basso, ad esempio per aumento di acqua libera nel tessuto, per edema interstiziale (con alta diffusività), apparirebbe viceversa con alto segnale, proprio in seguito all'allungamento del T2 legato all'aumento dell'acqua libera.

Come già introdotto nel secondo paragrafo, acquisendo almeno una coppia di immagini con diverso grado di sensibilizzazione alla diffusione, cioè con valori diversi di fattore b (ad esempio 0 e 1000 s/mm²), è possibile ottenere le mappe di ADC e di diffusività media. Si tratta non più di immagini qualitative, ma di mappe quantitative, dove l'intensità di segnale di ogni voxel rappresenta il valore medio della diffusività (lungo la direzione selezionata dal gradiente) nel voxel stesso. Tracciando regioni di interesse su tali mappe è perciò possibile misurare il valore di ADC lungo vari assi, nei diversi tessuti e comparare le eventuali variazioni nel tempo dei processi patologici. Le mappe permettono cioè un approccio quantitativo sia intra che intersoggetto, non possibile con alcun altro tipo di immagine RM. In pratica vi è una differenza simile a quella esistente tra mappe calcolate del T2 ed immagini ponderate in T2. L'ADC può essere ottenuto fittando la curva che esprime il decadimento dell'intensità di segnale (Signal Intensity=SI) per differenti valori di b cioè ricercando quel valore che meglio consente di adattare la curva teorica ai dati sperimentali (fig. 9).

L'ADC calcolato sarà tanto più preciso quanto maggiore sarà il numero di immagini con diversa «pesatura» in diffusione utilizzate. Utilizzando una sola coppia di valori di b (per es. 0 e 1000) se l'ADC non viene calcolato automaticamente dal software la formula utilizzabile è la seguente:

$$ADC = (\ln S_0 - \ln S) / b$$

ovvero la differenza tra i logaritmi in base e dell'intensità del segnale ottenuto per $b=0$ e $b=1000$ diviso il valore di b , cioè, nell'esempio, 1000. Occorre ricordare che i gradienti per sensibilizzare la sequenza alla diffusione sono applicati in direzioni definite (solitamente almeno 3, cioè gli assi x , y , z). Si ottengono cioè almeno tre distinte immagini «ponderate», ognuna per ciascun asse. Mentre per strutture a diffusione isotropica, in cui le molecole d'acqua non hanno una direzione preferenziale (per es. la sostanza grigia encefalica o il liquido contenuto all'interno di una struttura cistica) l'intensità di segnale non si modifica nelle diverse immagini, per strutture dotate di anisotropia, in cui le molecole d'acqua diffondono secondo una direzione nettamente preferenziale (per es. fasci di fibre della sostanza bianca encefalica e fasci del muscolo striato), l'intensità di segnale delle differenti

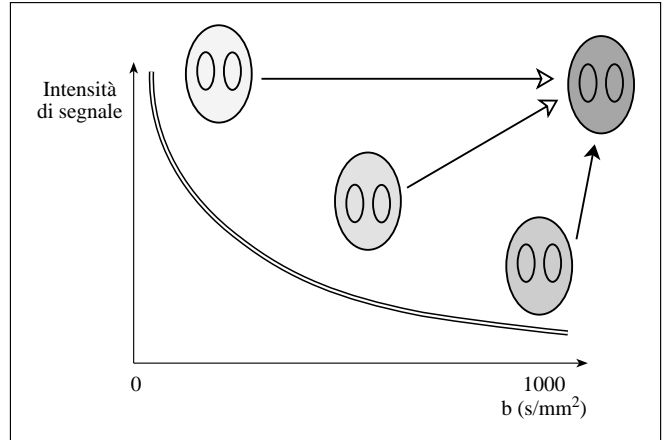


Fig. 9. — Curva che esprime il decadimento dell'intensità di segnale per differenti valori di b factor. Fittando (vedi testo) i dati sperimentali di b ed S sull'espressione $S = S_0 e^{-bADC}$ è possibile ricavare il coefficiente ADC. Lo schema è relativo ad un modello di sezione assiale di encefalo (parenchima e ventricoli).

Curve which expresses the signal decay for different b values. Fitting (see text) the experimental data of b and S in the expression $S = S_0 e^{-bADC}$ the ADC coefficient can be determined. The figure regards an axial section model of the brain (parenchyma and ventricles).

itative images, but rather quantitative maps, where the signal intensity of each voxel represents the mean diffusivity (along the direction selected by the gradient) in the voxel itself. Tracing regions of interest on these maps enables the measurement of the ADC along various axes, in different tissues and the comparison of possible variations over time of pathological processes. The maps therefore enable both an intra- and inter-subject quantitative approach not possible with any other type of MR imaging. In practice there is a difference similar to that between maps calculated from T2 and images weighted in T2. The ADC can be obtained by fitting the curve which expresses the signal decay for different b values, that is searching for the value which best allows the theoretical curve to be adapted to the experimental data (fig. 9).

The calculated ADC will be all the more precise the greater the number of diffusion-weighted images used. Using a single couple of b values (e.g. 0 and 1000), if the ADC is not automatically calculated by the software, then the formula to use is the following:

$$ADC = (\ln S_0 - \ln S) / b$$

which states that the ADC is equivalent to the difference between the base logarithms and the signal intensity obtained for $b=0$ and $b=1000$ divided by the value of b , or 1000 in our example. It should be borne in mind that the gradients for sensitising the sequence to diffusion are applied in definite directions (usually at least 3, that is the x , y and z axes). At least three distinct weighted images are therefore obtained, one for each axis. Whereas for structures with isotropic diffusion, in which the water molecules have no preferential direction (e.g. grey matter or liquid contained within a cystic structure) the signal intensity does not change in the different images, structures with anisotropy, in which the water molecules dif-

immagini si modifica dipendentemente dall'orientamento delle fibre rispetto a quello dei gradienti applicati. Per ognuna di queste acquisizioni si può ottenere il relativo ADC (ovvero l'ADC di ciascuna anisotropia).

Oltre alle immagini «pesate» in diffusione ottenute lungo i tre assi (ovvero relative a p , m , s : phase, measurement, selection), è poi ottenibile un'ulteriore immagine chiamata isotropa o immagine isotropica, che dal punto di vista matematico è la radice cubica del prodotto delle altre tre immagini di diffusione relative a p , m , s . La mappa calcolata su tale isotropa ha un valore che risulta indipendente dal fenomeno dell'anisotropismo ed è usato in prima approssimazione per stimare la diffusività media del campione (\bar{D}).

Si ricorda che la reale misura di quest'ultima è ottenibile solamente tramite il calcolo della traccia del tensore ($\bar{D} = \text{Tr}_d/3$). Infatti, per studiare in modo più corretto e completo il fenomeno della diffusività è necessario acquisire informazioni lungo un numero molto maggiore di direzioni dello spazio, in genere 6 più una per misurare S_0 (vedi descrizione matematica del tensore di diffusione). Attraverso tali applicazioni multidirezionali dei gradienti di sensibilizzazione è possibile ottenere immagini che contengono la misura della reale diffusività media delle molecole d'acqua nel tessuto. Si possono inoltre calcolare indicatori molto più precisi dell'effettiva direzione preferenziale di diffusività per ogni singolo voxel, quali l'ellissoide di diffusione [5, 8, 9] (fig. 7).

Analisi del segnale e sua semeiotica

Abbiamo dunque visto che la diffusione è il moto microscopico incoerente e casuale delle molecole d'acqua provocato dall'energia termica, noto come Browniano, e influenzato dalle componenti strutturali dei tessuti [10].

La diffusione può essere studiata tramite una sequenza opportunamente strutturata imponendo un gradiente supplementare di defasamento: così gli spin accumulano un cambiamento di fase in funzione della loro posizione rispetto a tale gradiente. Successivamente si impone un secondo gradiente uguale e contrario al primo che induce un rifasamento completo negli spin stazionari e incompleto in quelli mobili. Ne consegue che gli spin mobili indurranno una perdita di segnale proporzionale al loro moto: dal punto di vista del segnale tanto maggiore è il loro spostamento, tanto più grande la perdita di segnale rispetto a quello prodotto dai medesimi spin stazionari. Si può pertanto affermare che la diffusione, quando presente, produce sempre una perdita di segnale e quindi nel caso di una riduzione di tale diffusione si otterrà un relativo incremento del segnale (figg. 4, 10).

Considerando due tessuti con un contenuto di acqua libera simile e con tempi di rilassamento T_1 e T_2 quasi uguali, il segnale ottenuto con una sequenza DW varia in funzione di come tali molecole di acqua possono diffondere più o meno liberamente in relazione agli ostacoli determinati dalle componenti strutturali dei tessuti. Sebbene i fenomeni diffusivi sottesi all'imaging RM riflettano caratteristiche microscopiche ed ultrastrutturali dei tessuti viventi, può essere un'utile esemplificazione macroscopica del fenomeno l'osservazione di un «fantoccio» costituito da una mela ed un limone (fig. 11).

Come si può notare le intensità di segnale in T_1 e in T_2

fuse according to a clear preferential direction (e.g. bundles of fibres of white matter and bundles of fibres of smooth muscles), present a different signal intensity in the different images depending on the orientation of the fibres with respect to the orientation of the gradient applied. The relative ADC can be obtained for each of these acquisitions (that is the ADC of each anisotropy).

As well as DW images obtained along the three axes (that is relative to p , m and s : phase, measurement and selection), a further image known as isotropic may be obtained, which from the mathematical point of view is the cube root of the product of the other three diffusion images relative to p , m and s . The map calculated on this isotrope has a value which is independent of the phenomenon of anisotropism and is used as a first approximation for estimating the mean diffusivity of the sample (\bar{D}).

We stated above that the real measurement of the latter can only be obtained with the calculation of the tensor trace ($\bar{D} = \text{Tr}_d/3$). Indeed, to correctly and completely study the phenomenon of diffusivity information needs to be acquired along a much higher number of directions in space, generally six plus one to measure S_0 (see the mathematical description of diffusion tensor). With these, multidirectional applications of sensitising gradients images can be obtained which measure the real mean diffusivity of molecules of water in the tissue. Much more precise indicators can also be calculated regarding the effective preferential direction of diffusivity for each individual voxel, such as the diffusion ellipsoid [5, 8, 9] (fig. 7).

Analysis of the signal and its semeiotics

We have seen that diffusion is the inconsistent and random microscopic motion of water molecules caused by thermal energy, known as Brownian motion, and influenced by the structural components of tissue [10].

Diffusion can be studied using an appropriately structured sequence with a supplementary dephasing gradient: in this way the spins accumulate a phase change dependent on their position with respect to the gradient. A second gradient equal and opposite to the first is then imposed which induces a complete rephasing in the stationary spins and an incomplete rephasing in the mobile spins. As a consequence the mobile spins induce a signal loss proportional to their motion. With regard to the signal, the greater their displacement is then the greater is the loss of signal with respect to that produced by the same stationary spins. Diffusion, therefore, when present always produces a signal loss such that in the case of a reduction in diffusion there will be a relative increase in signal intensity (figs. 4, 10).

In two tissues with a similar free-water content and with almost equal T_1 and T_2 relaxation times, the signal obtained with a DW sequence varies depending on how those water molecules are able to diffuse more or less freely in relation to the obstacles created by the structural components of the tissues. Although the diffusive phenomenon studied with MR imaging reflect microscopic and ultrastructural characteristics of living tissues, a macroscopic simplification of the phenomenon may be useful: the observation of a "phantom" made up of an apple and a lemon (fig. 11). As can be seen the

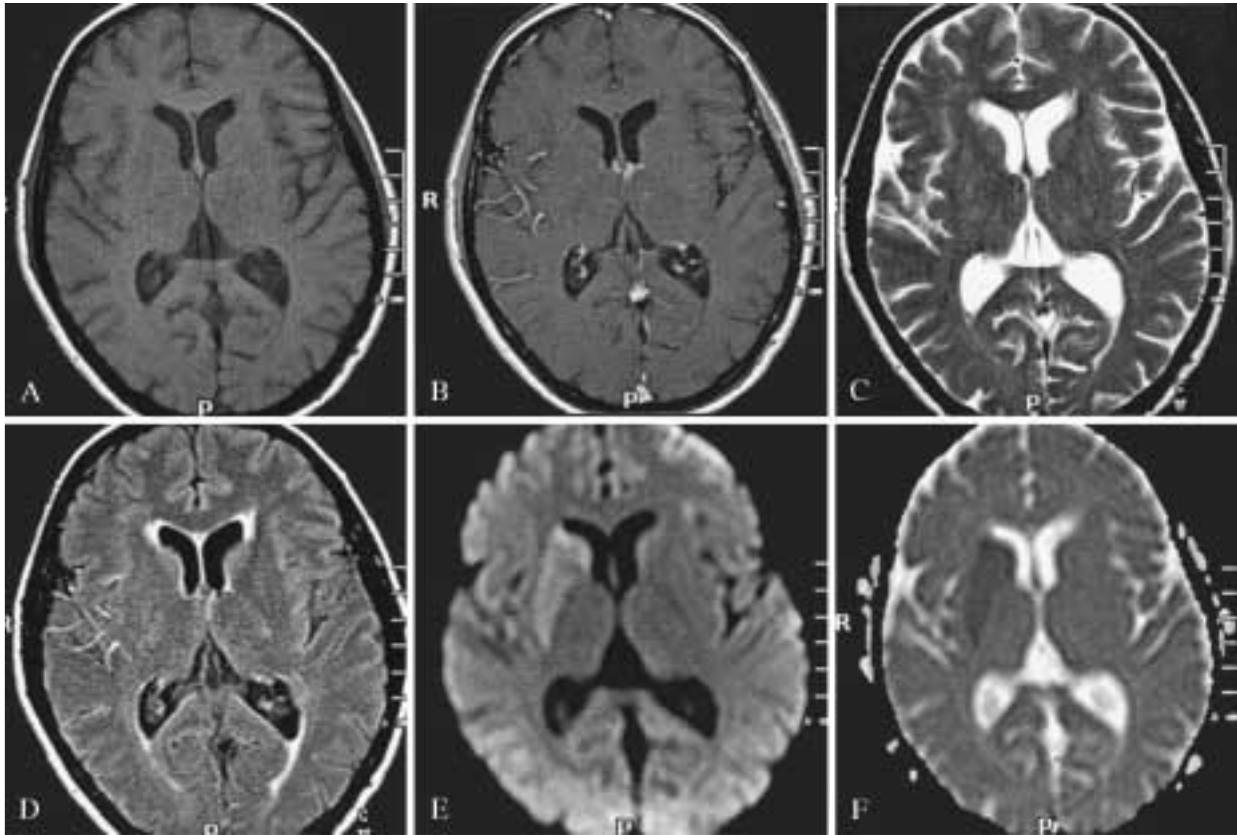


Fig. 10. — Imaging RM di evento ischemico a carico del nucleo lenticolare e della testa del nucleo caudato di destra. A) SE T1W, B) SE T1W post mdc, C) TSE T2W, D) FLAIR, E) DW, F) ADC. Tutte le acquisizioni sono pressoché contemporanee a circa 60 minuti dall'esordio clinico. Mentre tutte le immagini pesate sul T1 e sul T2 non mostrano alcuna alterazione, anche dopo mdc, l'immagine DW evidenzia segnale relativamente iperintenso a carico dei nuclei interessati, compatibile con la ridotta diffusione (basso segnale in ADC) secondaria all'ischemia.

MR images of an ischaemic event of the lenticular nucleus and head of the right caudate nucleus. A) T1-weighted spin echo, B) T1-weighted spin echo with contrast material, C) T2-weighted turbo spin echo, D) fluid-attenuated inversion recovery, E) DW, F) ADC. All the images were acquired more or less simultaneously about 60 minutes after clinical onset. Whereas all the T1- and T2-weighted images show no alterations, even after the administration of contrast material, the DW image shows a relatively hyperintense signal at the nuclei involved, compatible with reduced diffusion (low signal in ADC) secondary to ischaemia.

sono sostanzialmente uguali, ma il segnale nelle immagini DW della mela è minore di quello del limone. Quest'ultimo presenta infatti nel suo parenchima molti setpimenti interni che la mela non ha e quindi all'interno del parenchima della mela, l'acqua diffonde più liberamente di quanto non faccia all'interno del limone, con conseguente minore intensità di segnale.

Passando dalla teoria alla pratica, per comprendere il segnale delle immagini pesate in diffusione bisogna tener conto di tutti gli effetti che concorrono alla sua formazione e quindi tornare a valutare l'effetto «T2 shine through» ed introdurre la pseudo diffusione D^* , intendendo con questo termine l'insieme dei moti incoerenti intravoxel (IVIM= Intra Voxel Incoherent Motion) non diffusionali, ovvero quelli derivanti da perfusione, moti circolatori, respiratori e peristaltici.

Per quanto riguarda il «T2 shine through», bisogna ricordare che i lunghi TR/TE che consentono l'attivazione del gradiente supplementare di defasamento/rifasamento rendono le immagini in diffusione fortemente pesate anche in T2. Quindi, a

signal intensities in T1 and T2 are substantially the same, but the signal in the DW images of the apple is lower than that of the lemon. The latter in fact presents numerous septa which the apple does not have, so within the parenchyma of the apple water diffuses more freely than it does in the lemon, with a consequent lower signal intensity.

Passing from theory to practice, to better understand the signal of DW images, we need to bear in mind all of the effects which contribute to its formation and therefore reassess the T2 shine through phenomenon and introduce a pseudodiffusion D^ , with which we mean the totality of non diffusional intra voxel incoherent motion (IVIM), or that derived from perfusion and circulatory, respiratory and peristaltic motion.*

With regard to T2 shine through, it should be borne in mind that the long TR/TE times which enable the activation of the supplementary dephasing/rephasing gradient render the DW image heavily weighted in T2. Therefore, when faced with a high signal we need to ask ourselves if the signal is derived from reduced diffusion or from high T2 (shine through

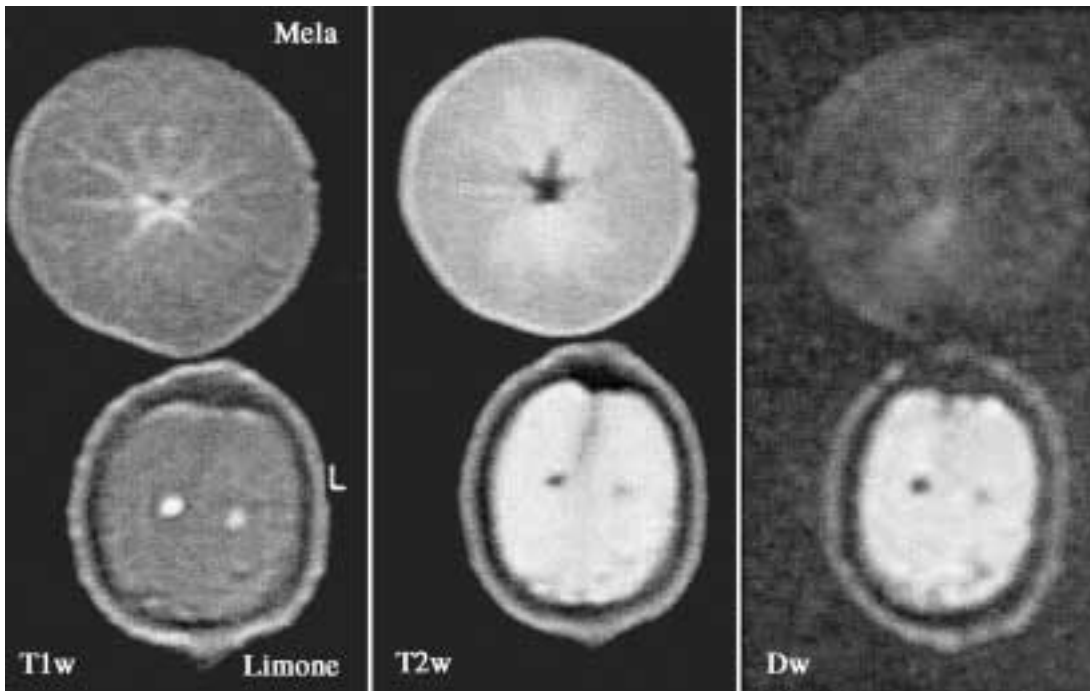


Fig. 11. — Esempificazione macroscopica in fantoccio del fenomeno della diffusione. Spiegazioni nel testo.
Macroscopic “phantom” example of the diffusion phenomenon. See text for explanation.

fronte di un elevato segnale dovremo domandarci se tale segnale deriva da ridotta diffusione o da alto T2 (effetto shine through) [11]; viceversa, al rilievo di segnale basso, se questo consegue a elevata diffusione o a ridotta intensità di segnale T2.

A differenza delle immagini DW le mappe di ADC, anche se rimangono dipendenti dalle alterazioni derivanti dalla pseudodiffusione, non sono «contaminate» dagli effetti del T2. Infatti osservando l'equazione $ADC = (\ln S_0 / S) / b$ si può notare che la dipendenza dal T2 viene meno, perché il termine in T2 è contenuto sia in S_0 che in S . L'ADC misura tutti gli IVIM, incorpora quindi sia la diffusione che la pseudo diffusione (ovvero IVIM dipendenti dalla diffusione e non) ed è uguale alla diffusione vera solamente quando quest'ultima è l'unico movimento presente, come ad esempio in una provetta contenente soluzione fisiologica. Nei tessuti viventi l'ADC ha un valore più alto di quanto atteso in funzione della perfusione e degli altri IVIM non diffusionali.

Nell'equazione che descrive la perdita di segnale $S = S_0 e^{-bADC}$ il termine b , che esprime l'intensità del gradiente supplementare, rende anche conto della sensibilizzazione alla diffusione: al crescere del valore di b , l'intensità di segnale in DW si riduce (a parità di ADC). Questo appare atteso dal momento che il crescere di b induce un più intenso defasamento/rifasamento, esaltando le differenze di mobilità delle molecole di acqua. Inoltre, per una stessa struttura, fissata l'entità di sensibilizzazione alla diffusione (b), strutture che presentano alti valori di ADC mostrano basso segnale nelle immagini DW. Nella mappa di ADC un'immagine iperintensa indica alti IVIM, ipointensa bassi IVIM e quindi il contrario di quanto avviene nelle immagini DW dove l'iperintensità corrisponde a bassi IVIM e l'ipointensità ad alti IVIM.

Proviamo ora a comprendere il significato del peso della pseudodiffusione sulle immagini, con un semplice esperi-

effect) [11]; and similarly, in the presence of a low signal whether it is due to high diffusion or a reduced T2 signal intensity.

In contrast to the DW images, the ADC maps are not “contaminated” by the effects of T2, even though they remain dependent on the alterations deriving from the pseudodiffusion. Observing the equation $ADC = (\ln S_0 - \ln S) / b$ it can be seen that the dependence on T2 is reduced, because the term in T2 is contained both in S_0 and in S . The ADC measures all the IVIM, incorporating both the diffusion and the pseudodiffusion (that is the IVIM dependent on diffusion and not) and is equal to the real diffusion only when the latter is the only motion present, as in a test-tube containing saline solution. In living tissue the ADC has a higher value than would otherwise be expected owing to perfusion and other non diffusional IVIM.

In the equation which describes the loss of signal $S = S_0 e^{-bADC}$ the term b , which expresses the intensity of the probing gradient, also reflects the sensitivity to diffusion: with an increase in the value of b , the intensity of the signal in DW is reduced (with the same ADC). This is to be expected since the increase in b induces a more intense dephasing/rephasing, underscoring the motion differences of the water molecules. In addition, for the same structure, with the level of diffusion sensitivity (b) fixed, structures which present high ADC values display low signal in the DW images. In the ADC map a hyperintense image indicates high IVIM, a hypointense image low IVIM and therefore the opposite to that which occurs in DW images where hyperintensity corresponds to low IVIM and hypointensity to high IVIM.

Let us now examine the meaning of the weight of the pseudodiffusion on the images with a simple experiment. Let

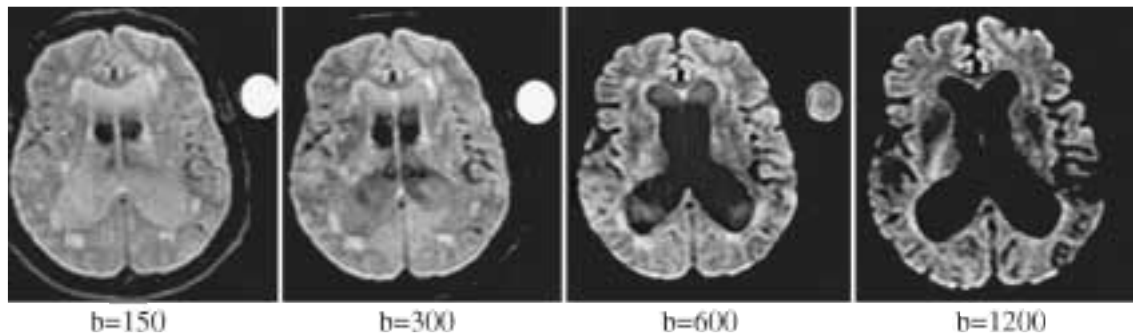


Fig. 12. — Effetti della pseudodiffusione sul segnale per b crescenti. L'immagine circolare in alto a sinistra dell'encefalo è data da una provetta riempita di soluzione fisiologica posta a lato della testa del paziente. Spiegazione nel testo.

Effects of pseudodiffusion on the signal with increasing b . The circular image above and to the left of the brain is given by a test-tube filled with saline solution placed beside the patient's head. See text for explanation.

TABELLA II. — Variazione del segnale al variare dei principali parametri correlati alla diffusione.

Segnale	Stato	Parametro	Stato	Segnale
↓	+	Diffusione	-	↑
	+	Pseudodiffusione	-	
	-	Substrato/T2	+	
	+	b	-	

TABLE II.—Signal variation with the variation of the main parameters correlated with diffusion.

Signal	State	Parameter	State	Signal
↓	+	Diffusion	-	↑
	+	Pseudodiffusion	-	
	-	Substrate/T2	+	
	+	b	-	

mento. Poniamo quindi accanto al capo di un paziente una provetta contenente soluzione fisiologica. Notiamo che il segnale del liquido (fig. 12) è differente nei ventricoli e nella provetta e che, al crescere di b da 150 a 1200, il segnale si riduce arrivando ad una sostanziale parità soluzione fisiologica/liquor per valori di $b=1200$. Per verificare la nostra osservazione abbiamo calcolato i valori di ADC, notando che acqua e liquor hanno valori sovrapponibili solo per $b=1200$, mentre per valori di b da 150 a 600 il liquor ha valori di ADC sempre maggiori di quelli misurati nella provetta. Bisogna ricordare che mentre nella provetta la diffusione è l'unico movimento presente, all'interno dei ventricoli esiste il flusso liquorale che corrisponde quindi agli IVIM non diffusionali, i quali all'interno dei parenchimi ad esempio addominali, sono rappresentati da perfusione e moti conseguenti all'attività respiratoria e peristaltica. In questo caso, l'ADC è quindi pari alla diffusione del liquor (praticamente uguale a quella della soluzione fisiologica) più la D^* coincidente con il flusso liquorale. A $b=1200$ i due valori sono quasi uguali in quanto all'aumentare di b diminuisce la «pesatura» in T2 e aumenta quella in «D» con venir meno degli effetti della pseudodiffusione, qualsiasi causa essa riconosca. Yamada [12] ha notato quanto riferito in uno studio sulla diffusione dei parenchimi dell'addome superiore ed in particolare del fegato e delle lesioni epatiche. Dall'esempio riportato è possibile notare che, per bassi valori di b , gli alti valori di ADC ottenuti sono influenzati marcatamente da D^* e quindi, nel nostro modello, dal flusso liquorale. Inoltre, alti valori di b (superiori a 1000) cancellano in modo pressochè totale gli effetti indotti dagli IVIM non diffusionali e per tali valori di b si può affer-

us place a test-tube containing saline solution next the head of a patient. We notice that the signal of the liquid (fig. 12) is different in the ventricles and in the test-tube, and that increasing b from 150 to 1200 the signal reduces, arriving at substantial parity between the saline solution and CSF at about $b=1200$. To verify our observation we calculated the values of ADC, noting that water and CSF have overlapping values only for $b=1200$, whereas for values of b from 150 to 600 the CSF has ADC values higher than those measured in the test-tube. It should be borne in mind that while the diffusion in the test-tube is the only motion present, within the ventricles there is the CSF flow which corresponds therefore to the non diffusional IVIM, which within parenchyma, the abdominal parenchyma for example, are due to perfusion and motion resulting from respiratory and peristaltic activity. In this case, the ADC is therefore equal to the diffusion of the CSF (practically equal to that of the saline solution) plus the D^ coinciding with the CSF flow. At $b=1200$ the two values are almost equal in that as b increases the weighting in T2 decreases and that in D increases, with a reduction in the effects of pseudodiffusion, regardless of the cause. Yamada [12] noted the same in a diffusion study of the upper abdominal parenchymas and in particular the liver and hepatic lesions. The example given shows that for low values of b , the values of ADC obtained are markedly influenced by D^* and therefore, in our model, by the CSF flow. In addition, high b values (>1000) almost completely eliminate the effects induced by non diffusional IVIM and therefore for those values the weight of D^* is equal to zero. According to the*

mare che il peso di D^* è uguale a zero. Per quanto sopra riferito, si può concludere che per ottenere un'immagine che risulti veramente espressiva della diffusione è necessario acquisire con $b=1200$ e calcolare l'ADC: gli alti valori di b aumentano la pesatura in D e rendono ininfluenti gli effetti del D^* e la pesatura in $T2$, mentre l'ADC annulla gli effetti dello shine through. Se il valore di ADC così calcolato sarà elevato (bassa intensità di segnale in diffusione) la diffusione sarà alta e viceversa. Infine bisogna ricordare (tab. II) che l'intensità del segnale è influenzata contemporaneamente dalle condizioni di diffusività, pseudodiffusione, entità del substrato diffusibile e valore di b .

Conclusioni

L'imaging pesato in diffusione rappresenta una finestra su ciò che accade nei tessuti a livello molecolare e pertanto, almeno teoricamente, in grado di anticipare la diagnosi del processo patologico prima della sua evidenza strutturale macroscopica. Per potersi avvalere al meglio di tale potente strumento, occorre che il radiologo conosca i principi fisici, le sequenze alla base della formazione del segnale in diffusione, nonché il significato del «fenomeno diffusione» per poter ottimizzare l'acquisizione in relazione alle caratteristiche delle apparecchiature di cui dispone ed al distretto in esame, per ottenere informazioni sempre più utili clinicamente.

above, we can conclude that to obtain a truly expressive image of diffusion the b values should be 1200 and ADC should be calculated: the high b values increase the weighting in D and cancel the effects of D^ and weighting in $T2$, while the ADC eliminates the shine through effects. If the calculated value of ADC is high (low signal intensity in diffusion) the diffusion will be high and vice-versa. Finally, it should be borne in mind (table 2) that the signal intensity is influenced simultaneously by the conditions of diffusivity, pseudodiffusion, extent of the diffusible substrate and the b value.*

Conclusions

DW imaging is a window onto what occurs in the tissues at the molecular level, and is therefore, at least theoretically, capable of anticipating the diagnosis of a pathological process before it becomes evident at the macroscopic structural level. In order to fully exploit this powerful instrument, the radiologist should be grounded in the physical principles, the sequences at the base of the formation of the diffusion signal, as well as the significance of the "diffusion phenomenon" to be able to optimise the acquisition regarding the characteristics of the device available and of the body region under examination to obtain increasingly useful clinical data.

Bibliografia/References

- 1) Thomas DL, Lythgoe MF, Pell GS *et al*: The measurement of diffusion and perfusion in biological systems using magnetic resonance imaging. *Phys Med Biol* 45: 97-138, 2000.
- 2) Einstein A: Investigations on the theory of the Brownian movement. Dover Publications Inc, New York, 1926.
- 3) Cercignani M, Horsfield MA: The physical basis of diffusion-weighted MR. *J Neurol Sci* 186: 11-14, 2001.
- 4) Stejskal EO, Tanner JE: Spin diffusion measurements: spin echoes in the presence of time-dependent field gradient. *J Chem Phys* 42: 288-292, 1965.
- 5) Basser PJ: New histological and physiological stains derived from diffusion-tensor MR images. *Annals of the New York Academy of Science* 820: 123-138, 1997.
- 6) Carr HY, Purcell EM: Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments. *Phys Rev* 94:630-638, 1954.
- 7) Merboldt KD, Hancic W, Frahm J: Diffusion imaging using stimulated echoes. *Magn Reson Med* 19: 233-239, 1991.
- 8) Pierpaoli C, Basser PJ: Toward a quantitative assessment of diffusion anisotropy. *Magnetic Resonance in Medicine* 6: 893-906, 1996.
- 9) Pierpaoli C, Jezzard P, Basser PJ *et al*: Diffusion tensor MR imaging of the human brain. *Radiology* 3: 637-648, 1996.
- 10) Namimoto T, Yamashita Y, Sumi S *et al*: Focal liver masses: characterization with diffusion-weighted echo-planar MR imaging. *Radiology* 204: 739-44, 1997.
- 11) Schaefer PW, Grant PE, Gonzalez RG: Diffusion-weighted MR imaging of the brain. *Radiology* 217: 331-345, 2000.
- 12) Yamada I, Aung W, Himeno Y *et al*: Diffusion coefficients in abdominal organs and hepatic lesions: evaluation with intravoxel incoherent motion echo-planar MR imaging. *Radiology* 210: 617-623, 1999.

*Prof. S. Colagrande
Sezione di Radiodiagnostica
Dipartimento di Fisiopatologia Clinica
Università degli Studi di Firenze
Azienda Ospedaliera-
Universitaria Careggi
Viale Morgagni, 85
50134 Firenze FI
Tel. 055/4377673
Fax 055/431970
E-mail: s.colagrande@dfc.unifi.it*