BIBLIOTECA CENTRAL LUIS F LELOIR BIBLIOTECA CENTRAL ELOIR FACULTAD DE CIENCTAS EXACTAS Y NATURALES UBA

Tesis de Posgrado



Espectroscopía in vivo por resonancia magnética : Capacidad de un resonador clínico de 1.5 Teslas de estimar grado de malignidad de tumores por espectroscopía

Calvar, Jorge Andrés

2000 03

Tesis presentada para obtener el grado de Magister de la Universidad de Buenos Aires en el área de Física Médica de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Calvar, Jorge Andrés. (2000 03). Espectroscopía in vivo por resonancia magnética : Capacidad de un resonador clínico de 1.5 Teslas de estimar grado de malignidad de tumores por espectroscopía. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_3267_Calvar.pdf

Cita tipo Chicago:

Calvar, Jorge Andrés. "Espectroscopía in vivo por resonancia magnética : Capacidad de un resonador clínico de 1.5 Teslas de estimar grado de malignidad de tumores por espectroscopía". Tesis de Magister. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2000 03. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_3267_Calvar.pdf

EXACTAS Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA Universidad de Buenos Aires

Dirección: Biblioteca Central Dr. Luis F. Leloir, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Intendente Güiraldes 2160 - C1428EGA - Tel. (++54 +11) 4789-9293

Espectroscopía *in vivo* por Resonancia Magnética.

Capacidad de un resonador clínico de 1.5 Teslas de estimar grado de malignidad de tumores por espectroscopía.

Licenciado en Ciencias Físicas Jorge Andrés Calvar

Tesis final de la Maestría en Física Médica.

Instituto del Cálculo. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires

Marzo 2000

3:67

Tema: Espectroscopía in vivo por Resonancia Magnética.

Capacidad de un resonador clínico de 1.5 Teslas de estimar grado de malignidad de tumores por espectroscopía.

Tesista: Licenciado Jorge Andrés Calvar

Lugar de trabajo: F.L.E.N.I. Fundación Lucha Enfermedades Neurológicas Infantiles.

Director de tesis: Dr. Dardo Tomasi. Universidad Nacional de San Martín

Fecha de inicio: Febrero 1999

Fecha de finalización: Enero 2000

Fecha de examen:

Tesis final aprobado por:

Índice

	Pagina
Resumen	
Capítulo I Propiedades magnéticas de la materia	
Introducción.	1
- Magnetismo Nuclear	1
- Descripción cuántica de la resonancia magnetica nuclear	3
- Descripción clásica de la resonancia magnetica nuclear	3
RMN de un sistema de núcleos.	4
Mecanismos de relajación	7
- Relajación longitudinal o espín-red. T ₁	7
- Relajación transversal o espín-espín. T ₂	8
Secuencias de pulsos	10
- Secuencia espín Eco	10
- Secuencia Eco Gradiente	11
Reglas básicas para imágenes	13
Capítulo II Descripción de un resonador magnético	
Introducción.	16
Componentes de un resonador.	16
Localización del corte	18
Formación de la imagen	20
Capítula III Espectroscopía por resopancia magnética puclear	
Cupitato III Espectroscopia por resoltancia magnetica nuclear	
Introducción.	25
Principios básicos de espectroscopía magnética nuclear.	25
Desplazamiento químico	27
Obtención de un espectro de resonancia magnética	27
- Homogeneización del campo magnetico	28
Secuencias de excitación.	30
Procesamiento de la señal	32
Analisis de la adquisicion	33
Estudios por espectroscopia de resonancia magnetica.	20
Espectroscopia de nidrogeno-	3/
- Espectroscopia por resonancia magnetica ae cerebro	38
<i>Canítulo IV</i> Correlación del grado de malignidad de tumores cerebrales	
v espectrometría de resonancia magnética nuclear	
	45
Resumen.	45
Método	40
Trabaio	4/
Datos	<i>32</i>
Discusión	57
Bibliografía	60

El presente trabajo analiza la posibilidad de establecer una relación entre los espectros de hidrógeno de resonancia magnética nuclear de tumores cerebrales obtenidos de un resonador clínico de 1.5 Teslas y el grado de malignidad de estos tumores.

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMS) en cerebro son espectros que permiten identificar una serie de sustancias, de un volumen particular de cerebro, que caracterizan a este tejido. Las sustancias más fáciles de detectar y cuantificar por su buena señal respecto del ruido de fondo son lípidos (Lip), lactato (Lac), N-acetilespartato (NAA), creatina/fosforocreatina (Cr), colina (Co) y mioinositol (Mio). La concentración de estas sustancias en el tejido se refleja en el área debajo de cada pico.

Cada una de estas sustancias tiene una función en el metabolismo cerebral y sus variaciones permiten estimar ciertas patologías y enfermedades.

La utilidad de la RMS se basa en ofrecer una nueva herramienta de análisis diagnóstico, complementaria a las imágenes de resonancia magnética. Esto es así ya que a partir de las variaciones (respecto de valores normales) de las áreas de los picos de estas sustancias en un espectro, se puede confirmar ciertas patologías vistas en las imágenes.

Es por esto que la RMS a tomado un papel de suma importancia en los centros de diagnóstico de imágenes del mundo que cuentan con un resonador magnético.

En particular, desde hace muy pocos años se ha visto a la RMS como un medio preciso, rápido y no invasivo de poder caracterizar ciertos tumores cerebrales por su grado de malignidad y hasta por tipo de tumor. La reproducibilidad de esta técnica también le permite hacer el seguimiento del tumor para evaluar la respuesta al tratamiento y su evolución.

En esta línea se centra este trabajo; ver si un equipo resonador de 1.5 Teslas permite, a pesar del pobre procesamiento de los datos, puede diferenciar distintos tipos de tumores. Este resonador es parte del instrumental de diagnóstico del centro de imágenes de FLENI (Fundación Lucha Enfermedades Neurológicas Infantiles), una institución médica especializada en cerebro de la Capital Federal, Argentina.

Para eso se analizaron 9 pacientes con distintos tipos de tumores cerebrales a los cuales se les había realizado espectros de los tumores previo a ser operados o biopsiados. Los cocientes de las áreas de los picos más importantes de espectros (NAA/Co, NAA/Cr, NAA/Cr+Co y NAA/Mio) se compararon con los resultados anátomo patológicos que se realizaron del tejido obtenido de la cirugía. El objetivo era ver si existía algún tipo de correlación entre estos datos.

De este modo se pudo determinar en nuestro caso, aun con la limitación dada por el equipo al no dejar procesar las señales fuera del resonador, los espectros permitieron diferenciar tumores de bajo grado (benignos) y tumores de alto grado (malignos) de un modo tal que solo existió solapamiento de valores en el cociente NAA/Cr entre tumor de bajo grado y normal. Con el resto de los cocientes se verificó que no hay solapamiento en los cocientes de los dos tipos de grados de tumores analizados y de ellos con los normales.

Y si bien la cantidad de pacientes evaluados no es buena, los resultados hallados claramente muestran que aun sin mucho análisis de señal, la RMS puede diferenciar grandes grupos (alto y bajo grado) de tumores.

Por último, dado los resultados de esta investigación, considerado de tipo preliminar, FLENI a decidió ampliar este trabajo para contrastar la información de estos espectros médicos con espectros de mayor campo a partir de preparados de tejido tumoral, junto con el seguimiento (espectros e imágenes de RM y SPECT) de los pacientes para evaluar la evolución del tumor al tratamiento.

Propiedades magnéticas de la materia

I.1- Introducción.

La propiedad magnética de los núcleos atómicos interesó a la física entrado el siglo XX, ya que su postulación permitió explicar la estructura fina que se observa en las líneas espectrales atómicas. Según este postulado, si se le asocia al núcleo un momento magnético intrínseco, este momento magnético nuclear, al interactuar con los electrones del núcleo, desdobla los niveles energéticos electrónicos que se observan en un espectro.

Un análisis clásico del momento magnético permite asociarlo a un movimiento cerrado de cargas. Si se piensa, a la vez, a las cargas como masas en movimiento, es inmediato ver que el momento magnético y el momento angular son proporcionales¹.

I.1.1- Magnetismo Nuclear

De la mecánica cuántica, es posible probar que esta relación de proporcionalidad se mantiene en los núcleos con spin y está regida por la siguiente ecuación

$$\vec{u} = \gamma \cdot \vec{s}$$

donde \vec{u} es el momento magnético, \vec{s} el momento angular o spin y γ la constante giromagnética (constante de proporcionalidad que depende del núcleo)

Si el núcleo se encuentra en una zona donde existe un campo magnético \mathbf{B}_{0} , se produce un fenómeno de interacción entre \mathbf{B}_{0} y \vec{s} (o \vec{u}) que está asociado al valor de \vec{s} . En el caso más sencillo, el átomo de hidrógeno (núcleo con un solo protón), s = 1/2, la presencia del campo magnético genera en el núcleo dos y solo dos posibles estados de distintas energías, los cuales por simplicidad se definen como:

- 1. "paralelo" (o up) al campo magnético Bo y
- 2. "antiparalelo" (o down) al campo magnético B₀.

(El paralelismo se refiere respecto al momento magnético \vec{u}).

Las "" son solo para indicar que tal paralelismo en realidad no existe. El momento magnético \vec{u} forma con **B**₀ un ángulo de 54,7° (Figura I.1).

¹ Felix Rodríguez Trelles. Temas de Electricidad y Magnetismo. EUDEBA. Pag. 190



Figura I. 1: Representación de los momentos magnéticos de los dos posibles estados generados ante la presencia de un campo magnético en un núcleo de spin ½. Cada estado tiene una energía distinta

Debido a este ángulo, se puede demostrar² que el momento magnético \vec{u} (y por la tanto \vec{s}) sigue un movimiento de precesión en torno a **B**₀ (una buena imagen del proceso es el de un trompo) (Figura I.2) según la ley de Larmor,

$$\omega_{o} = \gamma \mathbf{B}_{0}$$

Aquí la frecuencia angular de precesión ω_o , depende de **B**_o, de modo que cuando mayor es el campo magnético mayor es la frecuencia angular.



Figura 1.2: Precesión de los dos momentos magnéticos μ posibles de un átomo de spin ½ en presencia de un campo magnético B_o

Estos dos únicos posibles estados para un núcleo con momento angular $s=\frac{1}{2}$ tienen además la siguiente característica fundamental:

- 1. Los núcleos up son núcleos que tienen un nivel de energía menor.
- 2. Los núcleos down tienen un nivel de energía mayor.

Y lo que es muy importante también

² F Block "Nuclear Induction". Physics Review 70. (460-473) 1946

La diferencia de energía entre los dos estados es directamente proporcional al campo magnético B_o y esta energía esta bien definida.

$$E_{down} - E_{up} = \Delta E = \hbar \gamma \mathbf{B}_0$$

donde \hbar es la constante de Plank sobre 2π

I.1.2- Descripción cuántica de la resonancia magnetica nuclear.

Que la diferencia de energía entre los dos estados este "cuantificada" significa que, el paso de un núcleo de **up** a **down** es posible sí y solo sí el núcleo puede absorber una cantidad de energía igual a la diferencia de energía entre los dos estados.

Esta transferencia de energía se puede conseguir utilizando un campo magnético de radio frecuencia (RF), perpendicular a \mathbf{B}_0^3 para irradiar al núcleo. El requisito fundamental para que la transferencia de energía sea posible es que la *frecuencia del campo de RF sea idéntica a la frecuencia del movimiento de precesión* \vec{u} en torno a \mathbf{B}_0 , dada por la ley de Larmor.

Como se ilustra en la Figura I.3, terminada la excitación, el núcleo retorna al estado de equilibrio a través de mecanismos de relajación que están ligados íntimamente a las interacciones entre los núcleos y su entorno. A través de estos mecanismos el exceso de energía magnética es entregando al medio (muchas veces referenciado como "la red").



Figura 1.3: Representación del fenómeno de resonancia en un núcleo de spin ½. La primera figura presenta la diferencia de energía entre los estados en función de B_o y el siguiente el proceso de excitación y relajación.

I.13- Descripción clásica de la resonancia magnetica nuclear.

Del electromagnetismo clásico se sabe que un momento magnético \vec{u} en presencia de un campo magnético \vec{B} produce un torque \vec{T} dado por⁴

³ quantum mechanics. Leslie Ballentine Prentice Hall Chapter 12.

⁴ Felix Rodríguez Trelles. Temas de Electricidad y magnetismo. EUDEBA

$$\vec{\mathbf{T}} = \boldsymbol{\gamma} \ \vec{\boldsymbol{u}} \times \vec{\mathbf{B}}_{0}$$

Este torque a su vez es responsable del movimiento de precesión del momento magnético \vec{u} respecto del campo magnético, con una frecuencia angular de precesión dada por la ley de Larmor

$$\omega_{o} = \gamma \mathbf{B}_{o}$$

Es importante resaltar que esta ecuación dice:

- El vector puede \vec{u} cambiar de dirección,
- Su modulo es constante
- ω_{o} es independiente del ángulo que forma \vec{u} con **B**

Se puede demostrar por medio de las ecuaciones de Block que es posible modificar el angulo de \vec{u} por medio de un campo magnético de Radiofrecuencia (RF) perpendicular a **B**₀ Y nuevamente la condición necesaria para que se produzca el fenómeno de resonancia magnética nuclear es que la frecuencia del campo de RF debe de coincidir con $\omega_{0.1}$

I.2.- RMN de un sistema de núcleos.

Hasta aquí hemos descripto los aspectos básicos de RMN para núcleos individuales. Sin embargo en RMN las mediciones se realizan siempre a partir de un conjunto muy grande de núcleos en un elemento de volumen. Según la termodinámica todo sistema físico busca siempre el estado de mínima energía. Esto lleva a pensar que todos los núcleos de hidrógeno que se encuentren afectados por un campo magnético se encontrarán en el estado **up**. Esto no es cierto dado que todo sistema que se encuentre a una temperatura T>0°K tiene cierto grado de agitación térmica. Así, los dos estados posibles de los núcleos ¹H, **up** y **down**, coexisten en la muestra y sus concentraciones relativas están fijadas por la distribución de Boltzman.

Para valores normales de campo magnético y temperatura, la energía magnética $\hbar\gamma B_0$ de un conjunto de núcleos de hidrógeno es mucho menor que la energía térmica kT. En esas circunstancias la relación entre las poblaciones de los dos estados posibles es⁵

$$N(up)/N(down) = 1 + \left(\frac{\hbar\gamma B_0}{k T}\right)$$

donde N es la cantidad de protones en cada estado, T es la temperatura, k la constante de Boltzmann, γ la constante giromágnetica y \hbar la constante de Plank. Como se ve la anterior ecuación hay mas protones en el estado **up** que **down**, si bien la diferencia es de solo uno en 300.000 núcleos con un campo de 9 Teslas a temperatura ambiente.

El resultado de esta coexistencia de estados en un volumen lleva de definir una magnitud macroscópica (no cuántica) M_o , que es la suma vectorial de cada momento magnético nuclear individual (Figura I.4).

⁵ NMR and Chemistry J. W. Akitt Ed. Chapman and Hall, 1992



Figura I. 4: Generación del momento magnético M_o en un volumen por la presencia de un campo magnético. Este se origina por la suma vectorial de los momentos de cada núcleo. Las proyecciones en el plano X, Y, se anulan por las diferencias de fase.

Así, a escala macroscópica resulta útil trabajar con M_o que representa el momento magnético **por unidad de volumen**. M_o no es mas que la suma vectorial de todos los momentos magnéticos de cada núcleo en el volumen. El módulo de la magnetización macroscópica, M_0 , esta directamente relacionado con la densidad de núcleos en el volumen.

En el estado de equilibrio estacionario la suma de las componentes transversales del momento magnético de cada núcleo se cancela debido al movimiento Browniano de los núcleos en la muestra. Esto es, momentos magnéticos se encuentren **desfasados** aleatoriamente entre sí. De este modo solo subsiste la componente paralela a B_0 . Dada la mayor cantidad de núcleos **up** originado por la presencia de B_0 , M_0 tiene la misma dirección que B_0 .

Macroscopicamente, el fenómeno de RMN esta asociado a la **posibilidad de rotar** a M_0 , para crear una magnetización transversal a B_0 . Esta rotación se consigue por medio de un campo magnético B_1 (de radiofrecuencia) perpendicular a B_0 .

Como hemos dicho la condición de resonancia establece que la frecuencia de oscilación temporal de B_1 debe coincidir con la frecuencia del movimiento de procesión de los spins. Esto se puede conseguir con un pulso de RF de un ancho de banda tal que incluya w_0 , caso contrario el momento magnético del núcleo, en *promedio*, no sentiría el efecto del campo B_1 y por lo tanto no se produciría la rotación de la magnetización macroscópica (Figura I.6). Esta descripción clásica de resonancia nuclear resulta ser la más adecuada por su sencillez, por lo cual la utilizaremos en lo que sigue.

Pero es necesario dejar claro que este es un fenómeno natamente cuántico, ya que el campo magnético B_1 perpendicular a B_0 en un volumen implica dos cosas.

- 1- La posibilidad que los spins up adquieran energía del campo B_1 y pasen a down.
- 2- La componentes transversales de los momentos magnéticos nucleares que en presencia de B₀ estaban en un estado de fase incoherente, se colocan en fase (Figura I.5), dando origen a una magnetización macroscópica transversal



Figura I. 5: Rotación de M_0 en 90° Por simplicidad se dibujaron solo los momentos magnéticos nucleares. Al iniciarse la excitación los spins se ponen en fase y comienzan pasar al estado down de mas energía. Esto produce la rotación de M_0 al plano transversal.

Es la transición $\mathbf{up} \rightarrow \mathbf{down}$ de los núcleos, inducida por \mathbf{B}_1 , la que permite que la magnetización \mathbf{M}_0 originalmente alineada con \mathbf{B}_0 , pueda ser llevada al plano transversal en su totalidad (rotación de 90°), o parcialmente (un ángulo menor o mayor de 90°) o también invertirla (rotación de 180°). Todas estas alternativas son posibles dependiendo del tiempo que se deje actuar la excitación (mas tiempo, mayor ángulo de rotación) y/o amplitud de la excitación (mayor amplitud, mayor ángulo de rotación).

Conviene en este punto dar algunos valores para tener idea de las dimensiones de los campos magnéticos con los que se trabaja en un resonador médico clínico, siempre B_0 (0.5-4 Teslas) es mucho mayor que B_1 (0.1-3 Gauss).

Resumiendo entonces, en un volumen existe un gran número de núcleos que tienen un momento magnético. En condiciones en las cuales el campo magnético sobre la muestra es chico (el campo terrestre por ejemplo), y la temperatura es "alta" (temperatura ambiente), se puede considerar a la magnetización de la muestra como nula. Si en cambio a la muestra se la coloca en un campo magnético de gran intensidad, se tendrá una magnetización macroscópica resultante, debido a la capacidad de los núcleos de orientar sus momentos magnéticos en la dirección del campo, para disminuir su energía. Si bien el porcentaje de núcleos que se orientan con el campo es muy bajo, es esta pequeña fracción la que permite trabajar con RMN.

El fenómeno de resonancia se produce cuando es posible excitar a los núcleos que se encuentran en un campo magnético, de forma tal que permita las transiciones up (mínima energía) a down (máxima energía). Macroscopicamente esto significa rotar la magnetización neta del volumen, M_0 , inicialmente alineada con B_0 .

Por último, pero muy importante, esto crea una magnetización transversal a B_0 , M_{xy} , que rota con la frecuencia de Larmor dada por: $w_0 = \gamma B_0$, y posibilita la medición de la intensidad, frecuencia y fase de M_{xy} por medio de antenas como se ilustra en la Figura I.6. Es esta la medición que utilizan los distintos equipos de RM.



Figura I. 6: Representación final del proceso resonante macroscópico. B₁, un campo magnético transversal de frecuencia $w_o = \gamma B_o$ rota a M_o. El ángulo de rotación dependerá de amplitud y tiempo de aplicación de B₁. La proyección de M_o sobre el plano X,Y al ser variable (con frecuencia w_o) es medida por antenas sintonizadas.

I.3- Mecanismos de relajación

En el análisis clásico del punto I.2 se ignoraron dos fenómenos:

- 1. Los núcleos no solo interaccionan con los campos magnéticos externos.
- 2. Estos campos externos no son uniformes en toda la muestra.

Ignorar estos dos puntos implica considerar cosas tales como que los núcleos no interactúan entre sí; que la agitación térmica no existe y que los electrones de los átomos no alteran el campo magnético sobre los núcleos.

Estos fenómenos en realidad existen y cuando se los considera permiten explicar los mecanismos a través de los cuales un volumen excitado relaja y vuelve a su estado de mínima energía. Al considerar los procesos de relajación aparecen dos nuevos paramentos de suma importancia; los tiempos de relajación (T_1, T_2) , fundamentales para la comprensión del contraste en las imágenes y espectros de RMN.

I.3.1 Relajación longitudinal o spín-red. T1

El analizar el punto 1 permite presentar el tiempo de relajación T_1 , que indica el tiempo necesario para que magnetización longitudinal de la muestra pueda recuperar su valor de equilibrio, después haber sido excitada por un pulso de RF.

El fenómeno se entiende al recordar que la excitación de un sistema en equilibrio implica la transferencia de energía de un campo externo a la muestra y que el tiempo que el sistema permanece excitado depende de la capacidad que tenga la muestra de transferir esa energía al medio para volver a su estado de menor energía. Así, el regreso al estado de equilibrio de esos núcleos depende de cuan rápido pueden estos núcleos transferir esa energía al medio que lo rodea. Esto último a su vez depende de las condiciones magnéticas y electrónicas locales de la muestra, definidas por el tipo de núcleo, su frecuencia de resonancia, la temperatura, la movilidad del núcleo (microviscosidad), la presencia de macro moléculas, la presencia de iones o moléculas paramagnéticas y otros. Un dato a considerar por su importancia es que el tiempo de relajación T_1 es muy dependiente de la temperatura⁶. Como ejemplo curioso, el vector momento magnético de un núcleo excitado y aislado tardaría mucho tiempo en regresar al estado de mínima energía.

La formula que describe el comportamiento temporal de M_z después que un pulso de RF de 90° es aplicado a la muestra es

$$\mathbf{M}_{z} = \mathbf{M}_{o} \left(\mathbf{1} - \mathbf{e}^{-t/T_{1}} \right)$$

Técnicamente se define T_1 como el tiempo que tarda la magnetización longitudinal M_z en recuperar el 63% de su valor inicial a partir del instante de aplicación de un pulso de excitación de 90°.



Figura I.7: Imagen del proceso de relajación longitudinal. Finalizada la excitación, al volver los spins a sus estados de mínima energía, M_z va aumentando, hasta que $M_z = M_o$

I.3.2 Relajación transversal o spin-spin. T2

Consideremos ahora que se ha aplicado un pulso de RF de 90° a la muestra de modo que M_z se a rotado en 90°, o sea se encuentra en el plano X-Y.

Al analizar en este marco el punto 2 se aprecian dos posibilidades bien claras de alteración de la homogeneidad de B_0 en la muestra.

La primera esta dada por el hecho que los núcleos pueden interactuar entre ellos. Esto se entiende si se considera que los momentos magnéticos no *están bajo el mismo campo* B_o debido a que cada núcleo vecino genera a su vez un campo magnético dipolar de magnitud

$$\mathbf{B}_{\mathbf{d}} \alpha \frac{\mu}{r^3}$$

en el espacio. Así, distintos núcleos sentirán distintos campos magnéticos \mathbf{B}_{o} , que los llevaran a precesionar con distinta frecuencia. Esto hace que paulatinamente los spins pierdan coherencia de fase (algunos giran más rápido y otros mas despacio), que luego de un tiempo termina haciendo desaparecer la magnetización transversal. Al tiempo que caracteriza al decaimiento de la magnetización transversal se lo llama T₂ (Figura I.8).

⁶ Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy; Robin K Harris Ed. Pitman, 1983



Figura 1.8: Imagen del proceso de relajación transversal. Finalizada la rotación de M_e, las heterogeneidades de B_o inician el desfase los spins, llegando a un $M_{yz} = 0$ si se espera un tiempo mayor que T₂. Lo que se dibuja es la proyección de los spins sobre el plano XY.

La otra posibilidad esta asociada a la falta de homogeneidad del campo B_0 en la muestra. El resultado que esto produce es similar al que se describió previamente y lleva de igual modo a una dispersión de la magnetización transversal en un tiempo característico al que lo denomina T_2^* y es siempre más corto que T_2 .

La formula que describe el comportamiento temporal de M_{XY} después que un pulso de RF de 90° es aplicado a la muestra es

$$M_{XY} = M_0 e^{-t/T_2}$$

donde $\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{\gamma \langle \Delta B_0 \rangle}{2\pi}$

donde $\langle \Delta B_0 \rangle$ es la variación promedio del B₀ en el volumen (inhomogeneidad).

Técnicamente, se define T_2^* como el tiempo que tarda la magnetización transversal en perder el 63% de su valor inicial a partir del instante de aplicación de un pulso de excitación.

Una vez concluida la rotación de M_0 (al apagar el pulso de RF) el vector magnetización comienza a retornar a su posición de mínima energía (paralelo a B_0) y simultáneamente cada núcleo individual comienza a desfasarse respecto de los demás debido a las inhomogeneidades de B_0 . Como regla es importante recordar que T_1 es siempre mayor o a lo sumo igual que T_2 y que T_2^* es menor que T_2 .

Al proceso que define a T_1 se lo conoce como relajación spin-red debido a que interviene el sistema de núcleos y el entorno que lo rodea. Del punto de vista

termodinámico se lo suele considerar como el tiempo que le lleva a la muestra recuperar el valor de equilibrio de la magnetización, luego de haber sido excitada.

Al segundo proceso que define T_2 se lo conoce como relajación spin-spin ya que solo involucra a los spins (núcleos); debido a que los spins mismos alteran el campo magnético local de otros spins de la muestra.

La presencia de sustancias paramagnéticas produce un aumento en las velocidades de relajación reduciendo substancialmente el valor de T_1 . La posibilidad de reducir el tiempo de relajación resulta importante dado que las substancias con T_1 largos son muy atenuadas en las imágenes por RMN con contraste pesado por T_1 . Explicar como las sustancias paramagnéticas disminuyen los tiempos T_1 y T_2 es complejo solo puede decirse aquí que los electrones paramagnéticos son buenos absorbentes de la energía que tienen los núcleos excitados. Una sustancia paramagnética utilizada rutinariamente en los servicios de RMI es el gadolinio.

I.4- Secuencias de pulsos.

Las secuencias de pulsos en RMN consisten en módulos básicos de pulsos de RF de ancho de banda y amplitud definidos y pulsos de gradientes de campos magnéticos, que se repiten a intervalos de tiempo (TR, Tiempo de Repetición) adecuados para la obtención de imágenes o espectros.

Las secuencias de pulsos utilizadas en los sistemas de imagen por resonancia magnética (RMI) son varias, y cada casa comercial les da nombres propios, pero todas las secuencias que se utilizan son variaciones de dos secuencias básicas. Ellas son,

- 1- Secuencia spin eco (SE)
- 2- Secuencia gradiente eco (GE).

Resaltemos nuevamente que la señal que el equipo mide y utiliza para la formación de la imagen es solo aquella que proviene de la componente transversal de la magnetización ya que las bobinas de recepción de la señal de RMN solo son capaces detectar la magnetización que se encuentra en ese plano.

I.4.1- Secuencia Spin Eco (SE)

Basicamente la secuencia SE consiste de la aplicación de un pulso de RF de 90° que rota los núcleos de un volumen. A partir de ese instante se deja relajar al sistema de spins durante un tiempo TE/2 (TE, Tiempo de Eco), durante el cual los mismos se desfasan entre sí. Este desfase está producido por el hecho de que cada núcleo percibe un campo ligeramente diferente debido a dos causas:

- 1) el movimiento Browniano de los núcleos magnéticos vecinos (interacción spinspin) y
- 2) las heterogeneidades del campo magnético principal.

Si en el instante TE/2 aplicamos un pulso de RF de 180° a la muestra, el movimiento de desfasaje originado por las inhomogeneidades espaciales de campo magnético, se invierte, de forma tal forma que en el instante TE, los núcleos estarán en fase

nuevamente (Figura I.9). Sin embargo debemos observar que la recuperación de la coherencia de fase es solo parcial, dada la irreversiblilidad de los procesos aleatorios inducidos por el movimento browniano de los núcleos magnéticos de la muestra.



Figura 1.9: Grafica de la secuencia spin eco. La curva de decaimiento de señal esta dada por T₂. Un pulso de 90° y otro de 180° a TE/2 permite obtener una señal de tiempos de decaimiento transversal T_2 y corregir las heterogeneidades de B₀.

La gran ventaja de la secuencia SE es que permite corregir la perdida de coherencia de fase de la magnetización transversal, inducida por las inhomogeneidades del campo magnético (tiempos de decaimiento transversal rejidos por T_2 , no por T_2^{\bullet}). Una vez digitalizada la señal, se deja recuperar M_z y al cabo de un tiempo TR se repite la secuencia.

I.4.2- Secuencia Eco Gradiente

El tiempo necesario para la adquisición de una imagen, a partir de la utilización de la secuencia SE, es del orden de los minutos. Uno de los objetivos permanentes en el uso clínico de la RM es el disminuir los tiempos de adquisición de una imagen. Para esto resulta fundamental la utilización de tiempos TE y TR cortos. En las secuencias SE el parámetro TE esta parcialmente limitado por la duración del pulso de RF en tanto que el mínimo TR está vinculado a la necesidad de recuperar la magnetización longitudinal. Una forma de reducir el TR es utilizar pulsos de RF de menor amplitud (que producirá

un ángulo de rotacion menor, 30° por ejemplo), permitiendo una recuperación más rápida de la magnetización longitudinal.

La reducción de TE puede alcanzarse a partir de substituir el pulso de RF de 180° por un par de pulsos de gradiente de campo magnético (de amplitudes invertidas) que permitan inicialmente una rápida perdida de coherencia de fase de los spins en la muestra y posteriormente un aumento de la coherencia de fase hasta alcanzar el eco.

Un gradiente magnético (usualmente se lo encuentra con la letra G) es una variación lineal del campo magnético en una dirección (G_x es un gradiente en el eje X) o sea el valor del campo varía proporcionalmente con la distancia. Cuando se establece un gradiente magnético durante un tiempo t_0 los núcleos en la zona de mayor campo rotan a una frecuencia mayor y por tanto sus spins se adelantan respecto a los núcleos en las zonas bajo campos magnéticos menores. En consecuencia se produce durante el tiempo t_0 un desfase en la rotacion de M_{XY} dependiendo de la posición de los núcleos en el gradiente. Este es el gradiente de desfase.

Si después del tiempo t_0 invertimos este gradiente para tener un gradiente de igual valor pero de signo contrario (gradiente de refase) los spins que antes tenían mayor frecuencia de rotación ahora tendrán menor y viceversa. Una vez transcurrido exactamente otro tiempo t_0 , los spins estarán en fase. Al conjunto de los dos gradientes(desfase+refase) se lo conoce como Gradiente Bipolar. (Figura I.10).

A estas secuencias con un pulso inicial de rotación de M_0 y un eco producido por un gradiente bipolar, se las denomina secuencias Gradiente Echo (GE) o Gradiente Recalled Echo (GRE). En las secuencias GE, el valor del TE continua siendo el tiempo entre el pulso inicial y el instante en el que se produce el máximo de la señal Eco.



Figura I.10: Grafica de la secuencia eco gradiente. La curva de decaimiento de señal esta dada por T₂^{*}. Al pulso de rotación le siguen dos gradientes, uno de desfase y otro de refase.

Uno de los inconvenientes que tiene esta secuencia es que la señal que se obtiene es sensible a las inhomogeneidades del campo magnético.

La obtención de la señal del eco mediante una secuencia GE permite medir la señal utilizando TE mas cortos reduciendo los tiempos de adquisición respecto de las secuencias SE. Es por este motivo que la secuencia GE es la base de las secuencias rápidas del tipo EPI (Echo-Planar Imaging)⁷. Debido a la sensibilidad que presentan las secuencias basadas en gradientes bipolares a las inhomogeneidades de campo magnético, en EPI la señal debe ser adquirida en tiempos muy cortos.

La mayor variable de contraste en las imágenes obtenidas a partir de secuencias GE es el ángulo que se gira la magnetización M_0 , llamado *ángulo de Flip*, (de pocos grados a mas de 90°). Otras variables importantes de contraste son TR y TE.

I.5 Reglas básicas para imágenes

A continuacion enunciaremos una regla simple que permite comprender la relación entre los parametros TR y TE y el contraste en imágenes obtenidas a partir de secuencias SE:

- Cuanto mayor es el TE, mayor es el peso de T₂ en el contraste
- Cuanto menor es el TR, mayor es el peso de T_1 en el contraste.

El contraste de una imagen adquirida utilizando TE y TR cortos resulta pesado por el tiempo de relajación longitudinal (T_1) de los tejidos biológicos, en tanto que para TE y TR mayores resulta pesado por el tiempo de relajación transversal (T_2) de los tejidos.



En la figura anterior se observa un tercer recuadro con la letra D. Este hace referencia a las imágenes conocidas como densidad protónica. Estas imágenes resaltan únicamente concentración de protones en los órganos estudiados.

La estrategia en MRI consiste en buscar los parametros que permitan resaltar mejor el contraste entre tejidos a estudiar. Por ejemplo, no podemos utilizar una imagen estándar pesada por T_1 para contrastar líquidos (en negro por su T_1 largo) de ligamentos (en

⁷ P. Masfield, J. Phys. C: Solid State Phys. 10, L55, (1977)

negro por su baja densidad de protones). Es normal que un estudio de MRI contenga imágenes con diferentes tipos de contraste a fin de lograr un mejor diagnóstico.

La siguiente tabla intenta dar una idea de la graduación de grises en una imagen de resonancia pesada por $T_{\rm 1}$

Blanco (Menor T1)	
	Grasa
	Hueso Medular
	Sustancia Blanca
	Sustancia Gris
	Músculo
	Liq. Cef. Raq.
	Agua
	Ligamentos, tendones
	Hueso cortical, Aire
Negro (Mayor T1)	and the second

La siguiente tabla intenta dar una idea de la graduación de grises en una imagen de resonancia pesada por T_2

Blanco (Mayor T2)	
18	Agua
	Liq. Cef. Raquídeo
	Grasa
	Hueso medular
	Sustancia Gris
	Sustancia Blanca
	Músculo
	Ligamentos, tendones
	Hueso cortical, Aire
Negro (Menor T2)	

El nivel de brillo de un voxel en las imágenes pesadas por densidad protónica esta relacionado proporcionalmente con la cantidad de átomos de hidrógeno que el voxel posee.

Como norma en secuencias GE, las imágenes con contraste pesado por T_1 se obtienen mediante ángulos de flip tendientes a 90°, largos TR y cortos TE en tanto que la utilización de ángulos de flip pequeños y TE altos resulta en imágenes pesadas por T_2 .

Es importante tener en cuenta que si el valor del T_2 de la estructura es muy inferior al valor del TE no se tendrá ningún tipo de señal de esa estructura o tejido y siempre aparecerá en negro. En efecto, si un tejido tiene un T_2 muy corto, quiere decir que en un tiempo muy corto todos los spins se han desfasado y no existe resultante en el plano transversal. Para que tengamos una señal de eco, el pulso de 180° o los gradientes bipolares deben de ser utilizados cuando aún existe una resultante en el plano transversal para que pueda recogerse una señal de eco.

Es conveniente resaltar que en general las imágenes GE son mas susceptibles a artefactos que las SE ya que son muy sensibles a los movimientos y a problemas de susceptibilidad magnética.

A modo de ejemplo orientativo se pueden comparar las siguientes tablas.

SE

	, and she IT1 assessments	T ₂	Densidad
TR (ms)	400-600	1500-3000	1500-3000
TE (ms)	10-30	60-150	10-30

GE

	T ₁	T ₂ /T ₁	T ₂	T ₂ *	Densidad
Angulo	45-90	30-50	5-15	5-15	5-30
TR (ms)	200-400	20-50	200-400	100-300	100-300
TE (ms)	5-15	5-15	30-50	10-20	5-15

De la comparación de los tiempos de los pulsos es fácil ver que la obtención de las imágenes es mas rápida con secuencias GE, con el inconveniente de tener mas artefactos.

Las secuencias de excitación de espectroscopia son en sí diferentes a las mencionadas, pero la idea principal es la misma. Por medio de pulsos de RF y gradientes excitar un volumen y formar ecos para poder medir la señal.



Capítulo II

Descripción de un resonador magnético médico

II.1 Introducción.

Un resonador magnético médico, a grandes rasgos, se lo puede dividir en 3 conjuntos de equipos:

1- El magneto principal con sus bobinas de gradientes y sus bobinas de emisión y recepción de señal.

Y la electrónica que a su vez se puede dividir

- 2- Generación de los pulsos de excitación y gradientes.
- Programas y computadoras para procesamiento de las imágenes, espectros, etc.

II.2 Componentes de un resonador

El magneto principal es por lo general un bobinado cilíndrico superconductor que fija el campo \mathbf{B}_{o} al que trabaja el resonador. Se considera el eje mayor del cilindro como el eje de coordenadas "Z", el eje "X" coincide con la orientación arriba-abajo y el eje "Y" derecha-izquierda.

Los valores de B_o que hoy pueden producir estos equipos de uso médico ya sea clínico o de investigación va desde los 0.2 Teslas a 8 Teslas (0,2-3 Tesla en la practica clínica, 4-8 Teslas en investigación). Estos bobinados deben de ser refrigerados para mantener el estado de supercondución eléctrica, por medio de la utilización de líquidos criogénicos (helio y nitrógeno).

Las bobinas de gradientes utilizadas en los sistemas superconductores van montadas sobre superficies cilíndricas coaxiales con el campo magnético. Estas bobinas son utilizadas en la etapa de selección de planos tomográficos y durante la codificación espacial de la señal de RMN.

Cada una de estas tres bobinas genera un gradiente de campo magnético perpendicular al de las otras, definiendo los ejes principales X, Y, Z, según se muestra en la Figura II.1.



Figura II. 1: Dibujo de las bobinas de gradientes X e Y y sus posiciones respecto del campo magnético B₀. Estas bobinas son concéntricas e internas al magneto principal.

La amplitud máxima de los gradientes de campo magnético, y el mínimo tiempo (*rise time*) de subida están directamente relacionados con la rapidez con la que un sistema de imágenes por RMN puede realizar imágenes.

Las **bobinas de RF** son utilizadas durante las etapas de transmisión y recepción. Estas pueden estar dentro del resonador (bobinas de cuerpo o "body") o en el exterior (removibles para cada estudio particular), como la bobinas de cabeza (emisión-recepción) o las de superfície (columna, miembros, muñeca, pecho etc.).

Algunas de las bobinas tienen la función de excitar los núcleos de ¹H con campos magnéticos de radiofrecuencia como por ejemplo la bobina de cerebro y todas están diseñadas para la recepción de la señal de RMN.



Figura II. 2: Diagrama en bloques de los distintos componentes de un resonador clínico y las conexiones entre los distintos bloques.

Como se muestra en la Figura II. 2 Salvo el campo magnético B_o producido por el imán superconductor el resto de los campos magnéticos utilizados tienen sus sistemas de

generación y amplificación asociados, que son controlados por la consola del equipo según la secuencia de excitación que se va a utilizar. Las imágenes que se obtienen se envían a una impresora especial de placas o/y se guardan en un medio magnético.

En general todos los centros de resonancia tienen además una computadora (tipo "workstation") para el procesamiento de imágenes y estudios que requieran de un trabajo de procesamiento particular, como es el caso de reconstrucciones de imágenes de 3D, angiografías, resonancia magnética funcional, espectroscopía, etc. (Figura II.2)

II.3 Localización del corte.

.

.

•

La ubicación y el tamaño del corte anatómico de una imagen se consigue a través de la combinación de pulsos de gradientes y de RF. Consideremos un gradiente de campo magnético en la dirección X. Esto hace que el campo magnético dependa de la coordenada x del voxel y por lo tanto la frecuencia de resonancia del mismo esta vinculada a su posición a través de

$$\mathbf{w}(\mathbf{x}) = \gamma \mathbf{B}(\mathbf{x}) = \gamma \mathbf{B}_{\mathbf{0}} + \gamma \mathbf{x} \mathbf{G}_{\mathbf{x}}$$

Cuando un pulso de RF monocromático es aplicado en presencia del gradiente de campo magnético, este solo excitará los núcleos ubicados dentro de un plano infinitamente fino. Para obtener cortes anatómicos se utilizan pulsos de RF no-monocromáticos, que tienen un ancho de banda $\Delta \omega$. De este modo solo aquellos que pertenezcan al intervalo de campo magnético dado por



Figura II. 3: Representación del único corte excitado en una secuencia de RM. Excitando el volumen por un campo de RF de ancho de banda Δw en presencia de un gradiente lineal (G_x representado por la línea), que modifica el campo B₀, solo aquellos núcleos que se encuentren bajo un campo $\frac{\Delta w}{\gamma} = \Delta B$ percibirán el campo de radio frecuencia (marcado con rojo). La combinación de gradiente y ancho de banda determina el ancho del corte anatómico

centrado en B_o sentirán la excitación resonante y darán señal de RMN necesaria para la generación de la imagen. El ancho de banda del pulso de RF y la amplitud del gradiente

de selección definen el ancho del corte anatómico que dará lugar a la imagen (Fig. II.3 y Fig. II.4).



Figura 11. 4: Gradiente lineal y frecuencia de resonancia asociada a cada campo magnético para el núcleo de hidrógeno.

Varios pulsos de radiofrecuencia, de distinta frecuencia ω forman la serie de imágenes de una región requerida (Fig. II.5 y Fig. II.6).



Figura II. 5: Generación de los distintos cortes anatómicos por combinación de gradiente y pulsos excitación de RF. Distintas frecuencias de RF producen excitación y rotación los núcleos dentro de ciertos valores de campo magnético, generando así imágenes las distintas regiones anatómicas.



Figura II. 6: Representación de cortes y secuencias de excitación de dos cortes con un espacio (gap) sin adquisición.

Una de las características que hacen a la RMI única es su capacidad de hacer cortes oblicuos, esto es cortes angulados respecto de los ejes X,Y y Z. Esto se consigue fácilmente dado que los gradientes que las distintas bobinas generan se pueden sumar linealmente para producir un gradiente de dirección arbitraria, o sea:

$$\mathbf{G}_{\mathbf{T}}(\mathbf{r}) = \mathbf{G}(\mathbf{x}) + \mathbf{G}(\mathbf{y}) + \mathbf{G}(\mathbf{z})$$

que produce un campo magnético

$$\mathbf{B}(\mathbf{r}) = \mathbf{r} \mathbf{G}_{\mathbf{T}}(\mathbf{r}) = \mathbf{G}(\mathbf{x}) \mathbf{x} + \mathbf{G}(\mathbf{y}) \mathbf{y} + \mathbf{G}(\mathbf{z}) \mathbf{z}$$

Es este campo el que ahora se suma a B_o y es fácil de ver que el campo de RF que excite a los núcleos del campo $B_o+B(r)$ dará un corte angulado respecto de los ejes X, Y, Z.

La ubicación de un volumen para obtener un espectro es en esencia similar a la ubicación de un corte tomográfico, pero un poco más complicado, porque es necesaria la utilización de los tres gradientes en forma no simultanea para poder determinar el volumen donde se quiere realizar el espectro. (Capítulo III, secuencias de excitación).

II.4 Formación de la imagen.

La obtención de imágenes bidimensionales por RMN se basa en la aplicación de una secuencia de pulsos de interés (por ejemplo GE, o SE) a los núcleos dentro del corte anatómico de interés. La forma de excitar selectivamente a los núcleos dentro de un corte anatómico fue delineada precedentemente en este capítulo, en tanto que la forma de obtención del eco de spins se esbozó en el Capítulo I (Secuencias Spin Eco y Eco Gradientes). En lo que sigue daremos una breve descripción de los mecanismos de

codificación espacial de la señal de RMN, los cuales posibilitan la obtención de imágenes bidimensionales por RMN.

Para la formación de una imagen bidimensional se necesita de una doble codificación para determinar la señal proveniente de un voxel situado en la posición (x,y). La forma de realizar esta codificación espacial en MRI se basa en la aplicación, en forma pulsada, de dos gradientes de campo perpendiculares (llamados de **fase** y **frecuencia**). Estos logran establecer en los distintos voxels (que definen ubicaciones en el espacio) distintas frecuencias de rotación de los spins (o momentos angulares) que luego se logran traducir en coordenadas espaciales (Figura II.7). Este el principio básico del modo que se logra en RMI codificar coordenadas espaciales a través de frecuencias.



Figura II. 7: Representación esquemática del efecto de dos gradientes perpendiculares en las frecuencias de rotación de M_0 . Dependiendo de la posición espacial en el corte anatómico, los momentos magnéticos M_0 de cada voxel rotan a diferentes frecuencias. Estos dos gradientes definen por medio de frecuencias posiciones espaciales (K_f y K_r representan a los gradientes de fase y frecuencia (o lectura), w la frecuencia de rotación de los spins nucleares Sucesivas adquisiciones variando la amplitud el gradiente de fase permite luego reconstruir la imagen del corte anatómico por medio de una doble transformada de Fourier.

Una imagen 2D no puede ser reconstruida a partir de un única adquisición o eco. La metodología de obtención de imágenes 2D por RM consiste en adquirir, para un mismo corte anatómico, varios ecos de spin (típicamente de 128 a 512 Ecos) los cuales constituyen la matriz de datos a partir de la cual la imagen se obtiene por transformada de Fourier bidimensional (2D Fast Fourier Transform). Cada uno de los ecos que constituyen la matriz de datos es diferente de los demás ya que durante la etapa de preparación de cada eco se utiliza una amplitud de gradiente de fase diferente. Esta señal continua es adquirida en forma digital para poder procesarla (típicamente se utiliza un numero de 256 o 512 digitalizaciones por eco). El conjunto de datos adquiridos se guarda en una matriz en memoria. (Figura II.8)



Figura II. 8: Secuencia eco-gradiente completa para formación de una imagen anatómica. El pulso de RF y el gradiente localizador G_x permiten definir el corte anatómico deseado. G_y es el gradiente de fase que varia en amplitud para cada secuencia. G_x es el gradiente de frecuencia (o lectura) y es el mismo en cada secuencia. Para cada gradiente de fase distinto se obtiene un ECO que se digitalizado y guardado como una línea del espacio de frecuencias K.

La matriz de datos formada con todas las adquisiciones adquiridas constituye el espacio K, una matriz de dos dimensiones. Cada fila de la matriz de datos es un eco de spins y constituye una línea del espacio K (Figura. II.9).



Figura II. 9: Representación de la adquisición del espacio K para la obtención de una imagen. Además del campo de RF y del gradiente de localización del corte anatómico se necesitan dos gradientes más, el de fase (de amplitud distinta en cada secuencia) y frecuencia. Estos dos gradientes permiten definir el espacio K. Este espacio se va completando, línea por línea (cada línea es un gradiente de fase distinto) de los valores digitalizados de cada eco. La doble transformada de Fourier del espacio K da como resultado la imagen.

Resumiendo entonces, para la obtención de una imagen por RMN se utiliza un gradiente de selección aplicado simultáneamente con un pulso de RF, de ancho de banda no nulo, consiguiendo así la excitación selectiva de un corte anatómico (posición y espesor del plano tomográfico) de interés. Además, para poder codificar la imagen se requieren dos gradientes más, el de fase y el de frecuencia. Estos dos gradientes permiten codificar la fase y la frecuencia de los spins. Como resultado de la adquisición de todos las adquisiciones se obtiene una matriz de datos que constituye el espacio K. Finalmente la imagen final se obtiene a través de la transformada Fourier bidimensional de la matriz de datos.

Como se vera en el próximo capítulo la obtención de espectros por RMN se basa principios similares para, a través de gradientes y campos de RF, poder definir un voxel de interés y excitar únicamente a los spins ubicados en el interior de ese voxel.

La diferencia con las metodologías de excitación selectiva en espectroscopia localizada es que en estas hay un grado de complejidad mayor y que el espacio K es unidimensional. La digitalización de las distintas adquisiciones se va acumulando sucesivamente en memoria para mejorar estadísticamente la relación señal-ruido, por lo cual en estas secuencias **no existe codificación espacial de la señal.**



Capítulo III

Espectroscopía por resonancia magnética nuclear

III.1 Introducción.

La técnica de producción de imágenes por RMN (MRI) se ha consolidado desde hace algún tiempo en el diagnóstico clínico por la gran ventaja que ha mostrado frente otras técnicas de imágenes. Pero históricamente, no fueron las imágenes la primera aplicación de RMN, ya que tras la observación del fenómeno de resonancia magnética nuclear en 1946 por los grupos de Stanford y Harvard, liderados respectivamente por F. Bloch¹ y E.M. Purcell², numerosos equipos de investigación comenzaron a realizar espectros de RMN con núcleos de hidrógeno-1, fósforo-31, carbono-13, sodio-23, etc., ya que a través de ellos se puede determinar la ubicación de estos núcleos en las moléculas donde están integrados. Estos estudios fueron el inicio de la **espectroscopía por resonancia magnética nuclear (MRS)**.

Rápidamente los químicos incorporaron esta técnica como una metodología rutinaria para el análisis estructural de los compuestos químicos.

A comienzos de la década del 80 empezaron a ser comercializados los primeros resonadores con aplicaciones tomográficas y desde entonces el mayor esfuerzo sé ha puesto en el desarrollo de técnicas de obtención de imágenes por NMR, de tal forma que el desarrollo de la espectroscopía por resonancia magnética "in vivo" quedó relegada a un segundo plano.

No obstante, establecido ya un posible tope en las posibilidades de las imágenes, el desarrollo sistemas de cuerpo entero de alto campo magnético (1.5-8 Tesla), está abriendo un nuevo e interesante campo de estudio dada la posibilidad de obtener espectros "in vivo" de distintos núcleos con suficiente resolución y sensibilidad. Esta posibilidad que ofrece la MRS de estudiar de forma directa algunos procesos metabólicos "in vivo" de modo no invasivo y sin interferir en los procesos que originan estas sustancias, es lo mas apreciado de esta técnica.

III.2 Principios básicos de espectroscopía magnética nuclear.

El origen de la espectroscopía por RMN se fundamenta en que el campo magnético efectivo B_{ef} al que se encuentra expuesto un núcleo es la suma vectorial del

- 1- Campo magnético principal producido por el imán (superconductor) y
- 2- Las pequeñas variaciones producidas por el entorno bioquímico en que se encuentra el núcleo.

Esto significa que la **frecuencia** de resonancia de un núcleo en particular depende principalmente del entorno en el que se encuentra, o sea de su ubicación en la molécula. Así, por ejemplo distintos núcleos de hidrógeno-1 (¹H), pueden estar sometidos a diferentes entornos electrónicos por estar ubicados en diferentes posiciones dentro de la estructura molecular. Estos diferentes entornos electrónicos crean pequeñas diferencias en el campo magnético principal sobre cada uno de los núcleos y, por consiguiente, cada núcleo ¹H dentro de la molécula puede tener un movimiento de precesión diferente, caracterizado por una frecuencia de resonancia diferente. Del mismo modo, si dos núcleos, por ejemplo de ¹H tienen un entorno electrónico similar, entonces tendrán similar frecuencia de resonancia.

¹ F. Bloch, W.W. Hansen y M. Packard, Phys. Rev. 70, 474 (1946)

² E.M. Purcell, H.C. Torrey, y R.V. Pound, Phys. Rev. 69, 37 (1946)

El siguiente ejemplo ayuda a entender estas ideas. El alcohol etílico se identifica con la siguiente fórmula molecular:

CH₃-CH₂-OH

Químicamente los núcleos de H forman parte de tres grupos diferentes:

- el grupo metil (-CH₃),
- el metileno (-CH₂-)
- y el hidroxilo (-OH).

Es fácil ver y entender que el entorno electrónico que tienen algunos de los ¹H no es similar al de otros, ya que un átomo de hidrógeno está unido a un oxígeno y los otros a un carbono, además el grupo metil está próximo al grupo metileno mientras que este último esta rodeado por un grupo hidroxilo y otro metilo.

Una vez colocada una muestra de alcohol etílico en un campo magnético externo, y aplicado el pulso de RF con un ancho de banda capaz de producir la excitación de todos los núcleos de hidrógeno, la señal emitida por los núcleos ¹H de la molécula estará compuesta (en principio y por sencillez) por tres frecuencias diferentes, la del hidrógeno del grupo OH que tiene un movimiento de precesión de frecuencia diferente a la de los hidrógenos del grupo CH₂, que a su vez es distinta a la de los del grupo CH. Inmediatamente despues a la aplicación del pulso de excitación de RF la señal inducida en la bobina de recepción (FID, *free induction decay*) contiene la información del movimiento de precesión de los núcleos en la muestra. La transformada de Fourier de la señal da la información espectroscópica de los núcleos en la muestra, que en el caso del alcohol etílico muestra tres picos o resonancias (Figura III.1) ubicados en frecuencias diferentes y cuyas áreas están en la relación 3-2-1 correspondiendo a los protones ubicados en los 3 grupos mencionados arriba.



Figura III.1: Espectro del alcohol etílico. Cada pico representa un grupo particular de átomos de hidrógeno. La altura de cada pico representa la cantidad de hidrógenos presentes en ese grupo.

La más pequeña situada a la izquierda corresponde a los núcleos de hidrógeno del grupo OH. La resonancia situada en medio corresponde a la respuesta de los núcleos de Hidrógeno del grupo CH_2 y tiene una área doble a la del anterior. La resonancia a la derecha tiene una área tres veces superior a la primera y corresponde a la respuesta de los tres Hidrógenos del grupo CH_3 . En resumen y como una imagen inicial, un espectro de RMN es una representación de la concentración de núcleos equivalentes que se reconocen por su frecuencia de resonancia característica en un sistema de referencia de frecuencias.

III.3 Desplazamiento químico

La escala de valores en el eje de las frecuencias depende evidentemente del valor del campo magnético, a mayor campo B_{o} , mayores son las frecuencias de resonancia de los núcleos (y las diferencias entre ellas). Esto es un inconveniente cuando hay que comparar espectros obtenidos con diferentes intensidades de campos (por ejemplo, 1 T o 3 T). Para eliminar esta dependencia y lograr que los espectros registrados con imanes de diferente campo magnético sean comparables, se definen las posiciones de las distintas resonancias mediante una escala relativa, utilizando un valor de referencia. Para ello se define un valor denominado **desplazamiento químico**

Si f_r es la frecuencia de resonancia de un núcleo que se toma como referencia, cualquier otra frecuencia (f_A) puede expresarse mediante su desplazamiento químico definido por

Despl. Químico =
$$\frac{(f_r - f_A)}{f_A} \times 10^6$$

El desplazamiento químico es un valor adimensional que se expresa en partes por millón (**ppm**). La escala de desplazamiento químico permite establecer a veces una relación biunívoca entre posición y grupo químico o sustancia, que facilita la identificación de los diferentes compuestos presentes en la muestra analizada, independientemente del campo magnético en que se ha obtenido el espectro.

Hasta el momento solo hemos representado al espectro de resonancia de un determinado núcleo dentro de una molécula que no interactua con otros núcleos de su propia molécula. Esto último es un fenómeno que en realidad ocurre. Esta interacción (o acoplamiento) en estos casos no es directo sino que se realiza a través de los electrones que enlazan los núcleos. A este fenómeno se lo llama acoplamiento spin-spin y define un tipo de interacción en el cual los spins de los núcleos vecinos, no necesariamente del mismo tipo, afectan los niveles de energía del núcleo estudiado y produce desdoblamiento de las resonancias de esos núcleos (un único pico se divide en varios picos (multiplete).

La separación entre las líneas de un multiplete se conoce con el nombre de constante de acoplamiento J, su valor es *independiente del campo magnético* y, normalmente se expresa en hertzios. La magnitud de esta constante depende principalmente del tipo de enlace químico, de los grupos químicos involucrados y puede variar entre unos pocos a decenas de hertzios.

Y si bien la mayoría de las sustancias producen estos multipletes, a veces no es posible observarlas por la imposibilidad que se tiene de "resolver" esos pocos hertzios. En particular la homogenidad del campo magnético dentro del volumen a analizar por espectroscopía en un resonador clínico resulta insuficiente para resolver muchas de estas estructuras de multipletes. Una excepción es el lactato, presente en varias patologías cerebrales.

III.4 Obtención de un espectro de resonancia magnética

El primer paso para adquirir un espectro con un resonador médico consiste en asegurar que la zona a estudiar esta situada correctamente en el interior de la bobina de recepción mediante la

obtención de una serie de imágenes. Estas imágenes servirán para determinar la posición del volumen donde se desea obtener el espectro y el tamaño del voxel si este es posible de modificar.

Actualmente, los equipos permiten realizar distintos tipos espectros, de un solo volumen (monovoxel) o de mas de un voxel (multivoxel). Esta última técnica permite obtener imágenes de la concentración de una sustancia particular.

En lo que respecta al voxel unitario, en la mayoría de los equipos este puede ser modificado. El valor estandarizado es de 2x2x2 (8 cm³), pero es posible agrandarlo o achicarlo para ajustarlo mejor a la región de interés.

En lo que sigue presentaremos los puntos a tener en cuenta en la obtención de un espectro monovoxel que es lo que se utilizo en este trabajo, pero muchos de estos puntos son extensibles a un espectro multivoxel.

III.4.1 Homogeneización del campo magnético.

Los tejidos y los órganos de las personas presentan diferencias en la susceptibilidad magnética que alteran la homogeneidad del campo magnético principal B_o (en general medido en partes por millón (ppm)). Cuando estas diferencias de susceptibilidad se producen dentro del volumen donde se quiere realizar el espectro, los núcleos de una molécula de interes presentarán diferentes frecuencias de resonancia según sea la posición en la que se encuentre cada molécula en el voxel. Como resultado de la inhomogeneidad de campo dentro del voxel el ancho de los picos en los espectros de resonancia aumenta y disminuye la relación señalruido (SNR, signal-to-noise ratio), y de este modo se degrada la resolución de los picos y se una deteriora la cuantificación de las substancias.

Para conseguir una adecuada homogeneidad de campo magnético los resonadores vienen equipados con un conjunto de bobinas, llamadas bobinas de *shimming*, que generan un conjunto de campos magnéticos armónicos. La corriente que circula por estas bobinas es ajustada para compensar las inhomogeneidades del campo magnético principal. Independientemente del núcleo de observación, este proceso de homogenización se realiza antes de la obtención de un espectro y se realiza siempre con la molécula de agua debido a la gran intensidad de la señal del agua que permite ser observada rápidamente. El procedimiento consiste en registrar sucesivos espectros de protones mientras se varia la corriente que circula por cada una de las bobinas hasta que el ancho de la resonancia es mínimo (o la intensidad máxima o altura del pico es máxima). En general los equipos lo realizan de manera automática en un tiempo breve con resultados suficientemente buenos aunque es posible de hacerlo manualmente. Conseguir una buena homogeneidad del campo magnético es un paso clave para obtener un espectro del que se pueda obtener una información útil.

Una vez determinada la ubicación, el tamaño del voxel y conseguida la homogenización del voxel se puede empezar la adquisición del espectro según la secuencia deseada.

Un factor de importancia al momento de realizar un espectro es el del agua. El agua tiene una concentración en las regiones que se trabajan varias veces mayor que las de las sustancias de interés. Si la señal que proviene de las moléculas del agua cuando se realiza un espectro con el núcleo de hidrógeno no se cancela, el espectro que se obtiene no es de buena calidad ya que el ancho de los picos de interés cercanos al agua es mayor, varios de los picos quedan enmascarados, etc. (Figura III.2).



Figura III. 2: A) y B) Espectros con una mala cancelación del agua C) espectro con una cancelación del agua adecuada. Claramente se observa como varios picos de sustancias quedan ocultos por la mala cancelación del agua

Es por eso que la mayoría de los protocolos de mediación de espectros comienza con secuencias de cancelación de agua. Estas secuencias de cancelación del agua, todas, salvo pequeñas variaciones lo que hacen es aplicar un pulso de RF que solo afecta a los núcleos de hidrógeno del agua (pulso de 90° o más), para luego aplicarles un gradiente que desfasa los spins. Mientras los núcleos de hidrógeno del agua tienen sus spins desfasados (en conjunto no dan señal), a la región de interés (voxel) se les aplica la secuencia que excitación elegida.



Figura III. 3: Secuencia de cancelación del agua. Se rota con un pulso de RF mayor de 90° solo los protones del agua y se aplica una gradiente desfasador. Como resultado, el agua no emite señal.

III.5 Secuencias de excitación.

En la actualidad hay una gran variedad de secuencias propias de resonancia para resonadores médicos en lo que a espectro se refiere, pero sin entrar en detalles hay dos que son las mas usadas y conocidas. Estas secuencias son:

- STEAM: (STimulated Echo Acquisition Method) y
- PRESS: (Point REsolved Spectroscopy).

Estas dos secuencias se basan principalmente en definir el volumen donde se quiere realizar el espectro por medio de gradientes. Al mismos tiempo que se aplican las gradientes, se aplican pulsos de RF específicos que permiten que solo se afecte a los núcleos dentro de una región particular del gradiente. De ese modo se selecciona el voxel.

La secuencia STEAM (Figura III.4) consiste de

 3 pulsos de RF de 90° que combinados con los gradientes permiten definir el voxel que se esta excitando y otros para romper la coherencia de ciertos spins que no son del volumen de interés.

Esta secuencia tiene un tiempo TM, en el cual un grupo de los spins es desfasado (anulados) después del segundo pulso de RF de 90° y se mantiene lo mas corto posible. La secuencia tiene, en relación a la secuencia PRESS una peor relación señal ruido del orden de 2, aunque por sus características es la recomendada para tiempos TE cortos, ya que define mejor los metabolitos de T_2 cortos (20-60 ms). Esta secuencia también define mejor los bordes del voxel y para un voxel grande requiere menos energía de RF que la secuencia PRESS.



Figura III. 4: Representación de la secuencia básica STEAM. Esta consta de 3 pulsos de excitación de 90° combinados con gradientes (trapezoides) que definen el voxel. Los gradientes sinusoidales son de desfase de spins.

La secuencia PRESS (Figura III.5) consiste de

- un pulso inical de 90°
- seguido de dos de 180° y
- pulsos de gradientes para definir el volumen del voxel y otros para romper la coherencia de ciertos spins que no son del volumen de interés.

Esta secuencia tiene una peor definición de bordes que la secuencia STEAM y es la secuencia preferida para adquirir espectros con tiempos TE largos (mayores de 60 ms).



Figura III. 5: Representación básica de la secuencia PRESS. Esta consta de 1 pulso de excitación de 90° seguido con dos pulsos de 180° que combinados con gradientes que definen el voxel. Los gradientes sinusoidales son de desfase.

De estas dos secuencias se desprenden otras secuencias, en las cuales agregando mas fases de codificación (gradientes) se logra adquirir mas de un voxel en una medición. De ese modo se consigue tener mas de un espectro en localizaciones de interés distintas, lo que permite la comparación de un modo rápido de los espectros. (Imagen-III.1)



Imagen III. 1: Espectroscopía de dos voxels, una sobre una región patológica y otra sobre tejido sano. En esta imagen se pueden ver los dos espectros de cada voxel, uno en una región patológica y el otro en tejido normal.

La situación extrema se consigue en la que se conoce como **RMS-CSI** (Chemical Shift Image) donde a un corte anatómico, se le asocia por la obtención de un conjunto de espectros que abarcan todo el corte anatómico, una imagen que refleja la distribución de los distintos metabolitos que se registran en un espectro (Imagen III.2).



Imagen III. 2: Imágenes RMS-CSI integradas a un corte anatómico que permite ver la distribución en esa región de los distintos metabolitos que se obtiene de un espectro.

III.6 Procesamiento de la señal

La idea entonces de adquirir un espectro es básicamente la de excitar la región de interés con una secuencia y recibir la señal por una antena para analizarla.

La señal (FID) de las sustancias que están decayendo es una señal continua que se digitaliza para poder trabajarla. Estos valores que van obteniendo de la digitalización van a una memoria donde se van guardando. Este procedimiento se repite varias veces (número múltiplo de 2), y la señal se va acumulando (sumando) en la memoria para poder diferenciar mejor la señal de ruido.

Después de esto comienza el procesamiento de la FID que consiste en

- aplicarle algún tipo de filtro para eliminar la última parte de la FID que en general es solo ruido ya que la señal de las sustancias decayó totalmente en la última parte de la FID. Estos filtros son o un filtro exponencial para disminuir el ruido final o un filtro de Lorentz-Gauss que anula el ruido final y resalta los valores medios de la FID donde si se encuentra la señal de las sustancias.
- se aumenta el número datos de la FID (se agranda el número de datos de la FID), con datos de valor nulo. Este es un proceso inverso al anterior donde se quería eliminar ruido eliminando datos. Aquí se agregan datos de valor cero (no incorpora ruido), que mejora la resolución (Figura III.6) del espectro que se obtiene por



Figura III.6: Mejora en la resolución de un espectro (a), luego de completar datos con ceros (b). Este permite ver multipletes que antes no eran posibles de ver

- la aplicación de transformada de Fourier (o transformada rápida de Fourier (FFT)) que convierte la señal temporal (FID) en un registro de las frecuencias presentes en la FID. Estas frecuencias como vimos se correlacionan con las sustancias presentes en el voxel.
- Por último, se realiza una corrección de fase sobre la curva obtenida, para tener una mejor idea gráfica de la altura de picos, anchos de picos, etc. al normalizar las curvas en la línea de base. El área que se obtiene fácilmente por integración numérica de cada pico da una estimación de la concentración de la sustancia en el voxel (Figura. III.7)



Figura III. 7: Corrección de fase de un espectro normalizando la línea de base. Este proceso permite ver mas claramente el espectro.

Todos los pasos descriptos de procesamiento de la señal, terminada una adquisición se pueden hacer directamente, sin la necesidad de un operador. Esta falta de interactividad, si bien es útil por lo simple del proceso, lleva a veces a ciertos errores en el cálculo de las áreas. Por ejemplo cuando la línea de base no es buena o cuando no se logró una buena separación de los picos (creatina y colina) o cuando hay solapamiento de picos (lípidos, lactato).

III.7 Análisis de la adquisición

En lo que sigue, presentaremos un análisis sencillo de las variables que un operador de un equipo clínico común puede modificar en la obtención de un espectro de hidrógeno. La idea es presentar las posible modificaciones que aparecerán en el espectro al variar estos parámetros.

En un espectro monovoxel, los cuatro parámetros más importantes son:

1- Secuencia de adquisición

Como se describió antes existen dos secuencias STEAM y PRESS distintas, en general se utiliza la secuencia STEAM para tiempos TE cortos (30 a 60 ms) y voxels grandes por la energía que se deposita en el voxel. La secuencia PRESS es para voxel estándar (2x2x2 cm - 8 cm³ o quizás de 1,5x1,5x1,5 cm) y tiempos TE largos (130 o 270 ms por ejemplo). Por el tipo de secuencia, la relación señal ruido es mejor en el PRESS que en STEAM en un orden de 2, pero la definición de bordes es mejor en STEAM.

2- Cantidad de adquisiciones

En todo proceso de digitalización, la acumulación de adquisiciones resalta la señal sobre el ruido. La idea es simple, la señal de los metabolitos de interés en cada adquisición es en principio la misma, misma intensidad (mismo signo), el ruido es aleatorio, en una adquisición es positivo y en otra negativo. Al promediarlo la señal siempre suma, el ruido se va cancelando. Con esta idea se prueba que la relación señal ruido se incrementa como la raíz cuadrada del número de adquisiciones.

$$S/R \propto \sqrt{N}$$

Es por eso que al aumentar en numero de adquisiciones se mejora la capacidad de diferenciar los picos del ruido de base que tiene toda señal (Figura. III.8).



Figura III. 8: Definiciones de ruido de base y altura de pico. El aumentar el numero de adquisiciones en un espectro mejora la relación señal/ruido como N^{1/2}.

3- Tamaño de voxel

La señal que se obtiene del voxel donde se aplicó la secuencia de activación depende de la concentración de las sustancias que se encuentre dentro del voxel. Es claro que a mayor tamaño mayor señal (Figura. III.9). A esto se le contrapone que muchas veces la ubicación del voxel no puede aumentar el tamaño por:

- Cercanía a regiones que no dan señal por falta de los núcleos de interés que a su vez in homogenizan el campo del voxel, desmejorando el espectro o
- Se adquiere señal de tejido no patológico que va a ocultar la concentración del patológico (volumen parcial). En estos casos en general, el voxel mas que agrandar se debe achicar.

La siguiente tabla compara los tiempos de adquisición (proporcionales a la cantidad de adquisición) necesarios para tener relaciones de señal ruido similar con tamaños de voxel diferentes (TR 1500 ms)

Tamaño de voxel	Señal	Adquisiciones	Tiempo
1 x 1 x 1 cm ³ (1 mL)	1/8 = 0.125	4096	1 h 42 m 24 5
2 x 2 x 2 cm ³ (8 mL)	1	64	1 m 36 5



Figura III. 9: Variación de un espectro al modificar el tamaño del voxel (8 veces menor), manteniendo el numero de adquisiciones.

El valor de 4096 adquisiciones se obtiene de juntar que relación señal ruido es proporcional al volumen del voxel y a la raíz cuadrada del número de adquisiciones.

De la tabla se ve claramente que para poder adquirir igual cantidad de señal con un voxel mas chico (8 veces) se necesita de un tiempo que hace impractica la espectroscopía.

4- Tiempo de eco (TE)

El tiempo de eco es una variable importante al momento de realizar e interpretar un espectro. Todos las sustancias presentes en el voxel decaen con tiempos de relajación distintos y esto se refleja en el espectro. Como regla, con tiempos de eco (TE) cortos (30-60 ms) en el espectro se observan mas sustancias aunque no muy bien definidas. A tiempos de eco mas largos (130-270 ms) se ven menos sustancias pero mejor definidas. A tiempos de eco largo, muchas de las sustancias con T_2 cortos decaen totalmente y en no presentan señal (Figura III.10).



Figura III. 10: Espectros de cerebro con distintos tiempos de adquisición. A) TE=30, se ven mas picos que con B) TE= 130.

La elección del tiempo de eco también permite obtener a veces información extra de un espectro gracias al acoplamiento espín-espín entre núcleos. Así por ejemplo, el lactato, una sustancia común en tumores y ciertas patologías cerebrales, pero no en tejido cerebral sano, aparece como un pico doble (acoplamiento espín-espín) invertido en a TE 135 ms, pero a 270 ms no aparece no invertido.

Junto con el lactato, a una misma frecuencia existe señal de los lípidos y moléculas livianas que solapan con el lactato a 135 ms, pero a 270 la señal de los lípidos casi no esta por ser su T_2 menor.

III.8 Estudios por espectroscopía de resonancia magnética.

Los primeros estudios por MRS "in vivo" en humanos, se realizaron utilizando bobinas de superficie aplicadas directamente sobre la piel y registrando espectros de ³¹P en los grupos musculares de las extremidades.

Los primeros estudios con el núcleo de ¹H sobre el cerebro se realizaron en recién nacidos, ya que por razones de tamaño eran los únicos que se podían introducir en el interior de imán. Con el desarrollo de imanes con suficientemente ancho se fue extendiendo estos estudios a los demás órganos y a personas adultas. La aplicación de la espectroscopía de ¹H fue lenta ya que presentó una serie de problemas debido a la gran señal que se obtenía del radical OH⁻ del agua, que enmascaraba a los demás radicales.

Otros núcleos que presentan interés clínico, como C-1 3, el F-1 9 y el Na-23, están aún en una etapa de desarrollo. El ¹³C permite detectar un gran número de compuestos bioquímicamente importantes que aparecen esparcidos en un amplio intervalo de desplazamiento químico. La utilización de este núcleo permite realizar estudios sobre el metabolismo del glucógeno, de ácidos grasos, así como seguir las rutas metabólicas de compuestos enriquecidos que se introducen en el organismo gracias a su baja abundancia natural.

El ¹⁹F es un núcleo de elevada abundancia natural y una buena sensibilidad muy útil para seguir las rutas metabólicas de muchos compuestos de interés farmacológico que tienen fluor en su composición.

Finalmente el ²³Na existe en una única forma que puede estar compartimientos intra y extracelular y, por lo tanto, puede permitir abordar problemas relacionados con el transporte de sodio y las membranas.

Núcleo	espín	Frecueno	cia de res	onancia 4 7T	Abundancia	Sensibilidad
L	-	_1,51	2,01	4,/1	<u>naturai</u>	absoluta
'H	1/2	63,83	85,10	200,00	99,98	1,00
¹⁴ N	1	4,61	6,14	14,45	99,63	0,001
¹³ N	1/2	6,47	8,62	20,27	0,37	0,0039
170	5/2	8,65	11,53	27,11	0,04	0,00001
¹⁵ F	1/2	60,05	80,07	188,15	100,00	0,83
²⁷ Na	3/2	16,88	22,51	52,90	100,00	0,093
³¹ P	1/2	25,84	34,45	80,96	100,00	0,066

Tabla III. 1: Tabla de núcleos, espines, frecuencia de resonancia a distintos campos B₀, su abundancia natural y la sensibilidad absoluta respecto al hidrógeno.

III.8.1 Espectroscopía de hidrógeno

A pesar que, como se observa en la Tabla III.1 el protón es el núcleo más sensible, con una abundancia natural de casi el 100% y, además, es el más ampliamente distribuido en todas las moléculas de interés biológico, la aplicación de la ¹H-MRS a estudios "in vivo" tuvo un desarrollo lento debido a una serie de problemas y limitaciones técnicas que se han superando.

Cuando se empezaron a registrar espectros de ¹H "in vivo" el principal problema con el que se encontraron los investigadores fue la elevada concentración del agua intracelular. El agua intracelular puede estar en una concentración que, dependiendo del tejido, puede oscilar entre 40-55M mientras que la concentración de los metabolitos de interés biológico es de 1-3 mM, es decir, hay una diferencia de unos 5 órdenes de magnitud. Un segundo problema es la presencia en ciertos tejidos de concentraciones elevadas de lípidos que originan señales intensas en diferentes regiones del espectro. En la práctica estas enmascaran la de los metabolitos de interés. Finalmente la ¹H-MRS se caracteriza porque todas las resonancias aparecen en un estrecho intervalo de desplazamiento químico, unos 10 ppm, que se traduce en la existencia de solapamientos entre resonancias de diferentes compuestos y, además, normalmente un compuesto tiene más de un pico de resonancia.

Desplazamiento químico (ppm)	<u>Metabolito</u>
0,5 2,5	Acidos grasos (Lip)
1,3	Acido láctico (Lac)
1,45	Alanina (Ala)
1,85	Acido acático (Ací)
2,0	N-acetilespartato (NAA)
	N-acetilaspartilglutamato (NAAG)
2.1	Acido glutámico Glu- glutamina (Glí)
2.25	GABA
2,6	N-acetilaspartato, Citrato (Cit)
2,8	Acido aspántico
3.0	Creatina (Crí). fosfocreatina (PCr)
3.2	Colina, etanolamina, fosforilcolina.
	fosforiletanolamina. Glicsrofosfonietanolamina
	Glicerofosforilcolina (Cho), Carnitina (Car)
3,3	Taurina (Tau) scyllo-inositol la-Inol
3,4	Glucosa (Gíc)
3,6	myo-Inositol línsí, glicina lGlyl
3.75	Acido glutámico, glutamina
3.8	Glucosa
3,9	Creatina, Fosfocreatina
5,3 - 5,7	Acidos grasos
7,0	Carnosina
7,3	Fenilalanina (Phe)
8.0	Carnosina

Tabla III. 2: Desplazamiento químico de los principales compuestos que se pueden detectar en diferentes tejidos mediante ¹H-MRS in vivo.

Para solventar los problemas anteriormente descritos se han desarrollado técnicas para atenuar selectivamente la señal del agua, mientras que para eliminar las señales de los ácidos grasos se aprovecha el hecho que tienen unos valores de T_2 muy cortos con lo cual utilizando secuencias espín-eco apropiadas, es decir tiempos de eco largos, se puede obtener un espectro sin señales lipídicas. Así mismo, la asignación de las resonancias a los compuestos que las originan y su correcta cuantificación no es sencillo y, normalmente, se han necesitado resultados "in vitro" y con disoluciones modelo para analizar espectros in vivo. Aun así, la correcta interpretación de los cambios metabólicos que se observan en el espectro por una dada patología no siempre es sencilla.

La mayoría de estudios por ¹H-MRS se han realizado sobre el cerebro, aunque también se pueden encontrar estudios sobre otros órganos como son el hígado, el riñón, el músculo y la próstata. El aspecto del espectro y los compuestos que se pueden detectar dependen de los parámetros utilizados para registrar el espectro y del tejido sobre el cual se ha realizado la exploración.

Los metabolitos de mayor interés que se pueden detectar en un espectro de protón "in vivo" se presentan en la Tabla III.2. Acidos grasos dan lugar a dos resonancias principales que se pueden acompañar de otras de menor intensidad más o menos anchas. Acido láctico es un compuesto generado en la última parte de la glucólisis anaerobia y, por lo tanto, constituye un índice del estado energético de la célula y de estados de isquemia, hipoxia. Derivados de colina aparecen solapados y participan en el metabolismo de fosfolípidos presentes en la membrana; su presencia en estado libre está asociada a variaciones en el metabolismo de degradación de esas macromoléculas. Creatina y fosfocreatina tienen un importante papel en el metabolismo energético de la célula. Acido glutámico, glutamina y GABA que son importantes neurotransmisores y, probablemente, son vitales para la función cerebral. Nacetilaspartato es un compuesto que se encuentra en las neuronas en gran concentración. La taurina se haya en elevada concentración en tejidos de gran actividad como son el cerebro de ciertos mamíferos y los tumores; no hay acuerdo sobre el papel de este compuesto en el organismo. También se ha observado N-acetilaspartilglutamato, *royo*inositol, scyllo-inosirol, glucosa, glicina, citrato, espermina, carnitina, carnosina, fenilalanina, etc.

III.8.2 Espectroscopía por resonancia magnética de cerebro



Figura III. 11: Representación de los procesos metabólicos en cerebro. Las sustancias resaltadas en negro son sustancias posibles de ver en un espectro de un resonador médico.

En lo que sigue se presentarán las sustancias que son posibles de detectar en un espectro de ¹H en un resonador clínico y en que proceso metabólico se encuentra esa sustancia. Esto da un marco para entender porque este medio no invasivo, fue rápidamente aprovechado para estudiar distintas patologías cerebrales y procesos normales. Se los presentara por orden de aparición en un espectro (de derecha a izquierda).



Figura III. 12: Metabolitos y su ubicación presentes en un espectro de hidrógeno de cerebro de un resonador médico clínico.

Lípidos: Originan dos resonancias principales a 0,9 y 1,3 ppm relativamente anchas que son debidas a los grupos metil y metileno de la cadena de ácidos grasos que son visibles en casos patológicos. Además, entre 2-2,5 y 5-6 ppm pueden originar otras señales menores. Si bien se intenta poder eliminar la señal de los lípidos originada de exterior de la zona de interés, en ciertas patologías como isquemias y tumores la presencia de lípidos da una idea del proceso daño celular.

Lactato (Lac): Se detecta a 1,3 ppm por su grupo metil. Este pico es un doblete y ajustando el tiempo de eco es posible modificar apreciablemente el pico doble de resonancia. Esta sustancia da la posibilidad de conocer si una región esta teniendo un metabolismo aerobio o

anaerobio, ya que la ausencia de oxigeno en las células lleva a un aumento instantáneo de esta sustancia (<< 10 mM). En condiciones normales esta resonancia esta en el límite de detección de la técnica (<< 1 mM). Situaciones de hipoxia originan, rápidamente aumento de lactato que se pueden mantener durante días. Una isquemia puede dar lugar a un incremento de lactato que se puede mantener de manera crónica, en tumores se observa aumento de este pico. También se puede observar en regiones necróticas o quisticas.



Grupo N-acetil: Contribuyen a este pico en un espectro clínico, el N-acetilaspartato (NAA) y el N-acetilaspartilglutamato(NAAG). Este último mayoritariamente en la sustancia blanca y su señal es de 15 y el 25 % de la resonancia. El pico que se observa a las 2,02 ppm es un pico único originado del grupo metil de la molécula. Este pico es muy independiente de TE, por lo cual mantiene su altura a pesar de las variaciones de TE. En condiciones normales y en personas adultas es el pico de mayor altura y se lo considera un marcador neuronal ya que se cree que estos compuestos están presentes de manera específica en las neuronas del cerebro de personas adultas. Es esto justamente lo que afirma el interés clínico de su variación. Y aunque mucho se ha escrito sobre el NAA y NAAG no se les conoce bien su función.

En general, se observa disminución del pico del NAA en un espectro en patologías que presentan una pérdida o daño de neuronas o axones (esclerosis, tumores, etc). También, es posible ver recuperación de este pico ante la evolución de ciertas patologías que se asocian a una recuperación neuronal y axonal con el paso del tiempo debido a la re-síntesis de esta sustancia en la neurona.

Su concentración es mayor en la sustancia gris que en la blanca.



Figura III. 13: Proceso de generación NAA y NAAG en las neuronas.

Creatina y fosfocreatina (Cr o TCr o PCr/Cr): Son dos picos que aparecen a 3,02 y 3,9 ppm de manera conjunta y se originan en el grupo metil y metileno de estas dos moléculas. Estos compuestos juegan un rol fundamental en el metabolismo energético del cerebro. Por el proceso metabólico que se genera entre Cr y PCr la concentración de la suma de cada una se mantiene constante en condiciones normales. Es por eso que muchos trabajos la toman como sustancia de referencia para el cálculo de variaciones del resto de los picos de resonancia. Sin embargo se ha observado que la Cr es sensible a cambios externos probablemente debido a su síntesis a través del hígado y el riñón y a cambios osmóticos.

Diversos trabajos sugieren que su concentración es mayor en la sustancia gris que en la sustancia blanca por lo cual se cree que está más relacionada con la neurona que con los astrocitos.



Figura III. 14: Proceso metabólico de la creatina y fosforocreatina. En el metabolismo energético de las células.



Figura III. 15: Circuito de la creatina en el cuerpo.

Colina (Cho): La resonancia que aparece a 3,2 ppm denominado pico de colína (Cho) y esta compuesta principalmente en cerebro y músculo por tres diferentes metabolitos *colina libre*, *fosforocolina glicerofosforilcolina*. La concentración de estos compuestos es baja, pero dado que a este pico contribuyen los tres grupos metil unidos al nitrógeno, estas moléculas dan un pico de gran intensidad. Y si bien existen otros compuesto con estructura de colina, su contribución al pico es descartada debido a que su concentración está por debajo del límite detección de la metodología (<< 1mM). Se ha observado que esta señal varia tanto en procesos locales como sistémicos (incluidos los procesos osmóticos).

Los compuestos de colina se asocian con el proceso metabólico de síntesis y degradación de fosfolípidos, por lo cual reflejan la síntesis y degradación de membranas celulares. En general, en tumores este pico es mayor que en tejido normal, mientras que el pico de creatina y NAA son menores.



Myo-inositol (Mio): Produce una señal a 3,54 ppm (lns) es un azúcar que se encuentra en cierto tipo de lípidos como son los inositol polifosfatos. Es un compuesto que en los niños es mayor que en adultos y decrece hasta llegar a los valores que se encuentra en los adultos. El significado de los niveles elevados de myo-inositol no esta bien determinado, pero existe interés en conocer sobre este compuesto por el rol de los inositol polifosfatos en los procesos intracelulares. Otro compuesto, el scyllo-inositol es posible encontrar a 3.35 ppm..



Glutamina y glutamato (Glx, Glul): originan una serie de señales en las regiones 2,2-2,4 y 3,6-3,8, que debido a las interacciones que se dan entre los núcleos, a intensidades bajas de campo, son difícil de separar. Por su nivel de acoplamiento, es también muy variante de los tiempos de eco (TE) utilizados. Esto hace que, aunque su concentración en cerebro sea mayor que la del NAA, su resolución no sea buena. A campos mayores, se puede determinar la

contribución de cada H magnéticamente equivalente.

Glutamato es un de los neurotransmisores excitatorios mas conocidos en el sistema nervioso central presente tanto en neuronas como en glia, aunque es mayor en neuronas.



Glucosa: Es un pico que aparece en una zona donde aparecen otros picos resonantes (3.0 a 4.0 ppm). Su detección no es fácil y se encuentra en el cerebro al limite de detección (1-2 mM) cuando en plasma se encuentra a 5-10 mM. En general para poder ver el pico de esta sustancia se utilizan TE cortos (< 30). Lactato y glucosa están muy relacionados, ya que el consumo de uno lleva al aumento del otro en una gliosis anaeróbica. El fundamento de la espectroscopía funcional con resonancia magnética nuclear para estudiar las zonas de activación cerebral se basa en estos conceptos.

Entre las anteriores sustancias, fácilmente detectables en un espectro clínico, se encuentran otras que por su concentración no son fáciles de ver ya que están en el limite de resolución. Estas sustancias son:

Alanina: Aminoácido que participa en el ciclo TCA.

Glicina (Gly): Neurotrasmisor que origina una señal a 3,5 ppm la misma frecuencia de resonancia que el pico del inositol y es probable que sea su señal el 15 % de la señal que se le otorga al inositol. Esta sustancia decae mucho a TE largos, por lo cual una manera de separarlo de inositol es utilizar tiempos de eco más largo.

GABA: Este neurotransmisor aparece con su pico principal (2,31 ppm) en la misma región que la glutamina y el glutamato y solapa con el NAA. La baja concentración de este metabolito en condiciones normales hace que su contribución sea prácticamente despreciable frente a los picos de las sustancias vecinas.

Aspartato: Neurotransmisor, tiene una estructura muy similar al NAA y similar corrimiento de fase (ppm) que el NAA, por lo que su detección es muy difícil.

Taurina: Este aminoácido aparece en la región 3,3-3,45 ppm en muy baja concentración en un cerebro adulto (aprox. 2 mM, en los niños es de 6 mM) normal. Este aminoácido se cree esta implicado en la osmoregulación, antioxidante y regulador de calcio.

Existen otras sustancias en el cerebro que por la sensibilidad del equipo clínico que se utiliza no permiten ser detectadas por su baja concentración (0,5-1 mM). Estas sustancias son por ejemplo neurotransmisores como acetilcolina, norepinefrina, serotonina, dopamina, etc. Tampoco son visibles otros compuestos que pueden estar en concentraciones más elevadas como los fosfolípidos, la mielina, proteínas, RNA y DNA ya que movilidad está limitada. Solo en aquellas situaciones muy particulares cuando alguna de estas sustancias se acumuló por algún motivo es cuando son detectables.

Por último, la siguiente tabla presenta las patologías posibles a los aumentos y disminuciones de las sustancias mas comunes en un espectro de ¹H de cerebro.

Metabolito	Aumentado	Disminuido
lípidos-Lactato	Hipoxia, anoxia, accidente vascular cerebral, casi ahogado, hemorragia intracerebral, hipoventilación, alteraciones del metabolismo energético, Canavan, Alexander, hidrocefalia, esclerosis múltiple	
N-acetilespartato	Canavan	Retraso en el desarrollo, hipoxia, anoxia, encefalitis hepática, casi ahogado isquemia, hemorragia intracerebral, neoplasma, esclerosis múltiple. accidente vascular cerebral, Alzheimer. hidrocefalia, diabetes mellitus, traumatismo craneal, enfermedades asociadas al VIH
Glatamato	Encefalopatía hepática crónica y aguda, hipoxia, casi ahogado	Alzheimer
Glutamina		
Myo-inositol	Neonatos, Alzheimer, diabetes mellitus, y recuperación de hipoxia, estados hiperosmolares. esclerosis múltiple	Encefalopatía hepática crónica subclínica, accidente vascular cerebral. encefalopatía hipóxica
Creatina Fosfocreatina	Trauma, estado hiperosmolar. aumenta con la edad	Hipoxia. accidente vascular cerebral enfermedades asociadas al VIH
Glucosa	Diabetes mellitus, alimentación encefalopatía hipóxica	
Colina	Trauma, diabetes. post-trasplante hepático, leukoaraiosis, hipoxia crónica, estados hiperosmolares. Personas. mayores, Enfermedades asociadas al VIH, Esclerosis múltiple, Alzheimer?	Enfermedades del hígado encefalopatía hepática crónica, accidente vascular cerebral demencias no especificas
Acetoacetato,	En casos específicos	
acetona, etanol,		
GABA, lípidos, aminoácidos		

Tabla III. 3: Patologías asociadas a aumento y disminución de los metabolitos mas frecuentes encontrados en un espectro clínico de cerebro.

Capítulo IV

Correlación del grado de malignidad de tumores cerebrales y espectrometría de resonancia magnética.

IV.1 Resumen.

Varias publicaciones se están presentando actualmente que relacionan los distintos metabolitos que se obtienen de un espectro clínico con distintos grados de malignidad y tipos de los tumores cerebrales (ver Bibliografía). La totalidad de estos trabajos concluyen que de la cuantificación absoluta y/o relativa (cociente) de estos metabolitos (aunque a veces no los mismos metabolitos) es posible establecer un nuevo parámetro que permite especificar ciertos grupos de tumores cerebrales.

El objetivo del trabajo fue verificar si estos hallazgos se verificaban en los estudios de tumores cerebrales que se realizan en FLEN1, un centro médico especializado en cerebro, con espectros in vivo **monovoxel** de un resonador clínico de 1.5 Teslas y distintos tipos de tumores de cerebro.

El trabajo consistió entonces en:

- Realizar a pacientes con tumores cerebrales que llegaban al servicio de RMI de FLENI, junto con la secuencias de imágenes clásicas, un espectro sobre la región del tumor. De ser posible, se les realizaba un espectro en una región cerebral no afectada por el tumor.
- 2. Se enviaba luego los datos de los pacientes, a los que se les había realizado un espectro, a anatomía patológica, así, si se había operado al paciente, conocer el tipo de tumor que había desarrollado.

Del cruce de los valores cuantificados de las sustancias por el espectrómetro y de la anatomía patológica se pudo verificar una clara diferenciación en los espectros de tumores de bajo grado y alto grado. Es importante resaltar que solo existo, en este estudio, superposición entre dos valores (NAA/Cr uno de bajo grado y otro normal). En el resto de los cocientes los rangos de valores de cada gran grupo tumoral no mostraron solapamiento de valores.

Es esto último lo que permite entender porque la **RMS** se presenta como un buen medio no invasivo de ayuda en la determinación de distintos tipos de tumores y su seguimiento ante los tratamientos.

Otra característica que hace original a este trabajo es que en el común de las publicaciones que se realizan de espectrometría con resonadores clínicos, los valores de cuantificación de concentración de los metabolitos se realiza con programas dedicados desarrollados para el procesamiento de señales. El resonador con el que se hizo este trabajo no tenía la posibilidad de procesar la señal temporal (FID) fuera del equipo resonador. Se trabajó con los valores que el mismo equipo, a través de un programa propio del resonador, calcula automáticamente.

De esta última situación podemos decir que:

• Se puede argumentar que esta imposibilidad quita exactitud al trabajo realizado lo que en gran medida es cierto

 Pero tiene la ventaja de poder pre-establecer un posible parámetro de simplicidad en al análisis e informe de los espectros. Esto es, ya que un programa de cálculo básico y limitado muestra la capacidad de diferenciar grados de tumores de cerebro, un programa mas desarrollado, permitiría tener análisis y cuantificaciones más seguras, sin perdida de información (otros metabolitos no cuantificados).

IV.2 Método

El método de trabajo consistió en realizar a los pacientes a los que se les efectuaba un examen de rutina para tumores (cortes sagitales T_1 , Axiales T_1 , T_2 y FLAIR y secuencias volumétricas con reconstrucciones multiplanares diferidas luego de la administración de gadolinio endovenoso) y una secuencia de espectro. Los parámetros de adquisición de los espectros siempre fueron los mismos y estos se realizaron antes de la inyección de gadolinio.

Todos los espectros fueron realizados en un resonador General Electric Signa Echo Speed de 1,5 Teslas, que corre bajo la plataforma Genesis, el cual está provisto con el programa de adquisición de espectros monovoxel PROVE/SV. Este programa posee solo dos secuencias de excitación, **STEAM** y **PRESS**, ambas solo adquieren un único voxel por secuencia. El programa tiene además una secuencia de cancelación de agua y de homogenización del campo dentro del voxel que se ejecutan automáticamente al iniciar la secuencia de espectroscopía. Si bien el programa permite la opción de poder realizar el ajuste de homogenización de modo manual (a cargo del que opera el equipo), esta opción nunca se utilizó en este trabajo.

Todos los estudios se realizaron con una bobina de cabeza estándar GE. Esta bobina es una típica bobina de cabeza, (emisora y receptora de cuadratura). No se obtuvieron espectros de bobinas de superficie. La secuencia utilizada fue STEAM con los siguientes parámetros de adquisición

Secuencia	STEAM (Stimulated Echo Adquisition Mode)
TR	1500 (ms)
TE	130 (ms)
TM	13.7 (ms)
Tamaño voxel	2x2x2 mm
Número de NEX	2
Cantidad de adquisiciones	128

Un punto crítico en la obtención de un espectro fiable es la ubicación del voxel de modo que no existan problemas tanto con la homogeneidad del campo magnético dentro del voxel, como en la cancelación de la señal de agua. Con esta premisa, cada voxel se posicionó intentando cubrir el máximo posible de tumor y lo mínimo posible de tejido sano vecino. De ese modo se busco tener el máximo posible de señal de tumor y la

46

mínima señal de tejido no patológico. A su vez se evito que dentro del voxel quedasen elementos que afectasen la homogeneidad de campo como hueso, aire o líquidos.

En algunos caso se realizó sobre los pacientes un espectro sobre tejido sano; de ser posible en la región contralateral del espectro patológico. Se realizaron además espectros sobre personas normales como control.

Las operaciones y biopsias de los pacientes y los estudios de anatomía patológica se realizaron en la misma institución donde se realizaron los espectros. En el caso de la anatomía patológica, las realizó siempre el mismo profesional. No se consideraron en este trabajo los espectros que **no** tuvieron un estudio de anatomía patológica. De ese modo, si bien se achico marcadamente el número de casos a analizar, nos permitió asegurarnos la certeza de los datos.

Los valores de las concentraciones de las sustancias identificadas en los espectros fueron los que proveía el programa PROVE/SV. Este programa realiza sobre la señal adquirida los filtros, apodización, transformada de Fourier, corrección de fase y cálculo de concentraciones automaticamente. Dado las habilitaciones que el centro tiene con el equipo resonador fue imposible obtener la FID directamente de la memoria del equipo para poder procesarla en otros programas de análisis de señales. Esto es una gran limitación para este tipo de trabajo ya que de muchos de los picos de sustancias que se "ven" en el espectro (lactato, lípidos, un pico de creatina, un pico de NAA), no se puede conocer su área (y por la tanto su concentración) ya que el programa PROBE/SV no los calcula. Esto fue una gran restricción en este trabajo porque en muchos otros trabajos se comparan los valores que tienen los picos de estas sustancias (especialmente el lactato) en ciertas patologías, obteniéndose información de relevancia.

Otro de los defectos de este programa es que debido por no tener ninguna interactividad con el usuario, aun aquellos picos claramente definidos y de los cuales se **podrían** calcular sus áreas, no se hace el cálculo ya que la altura del pico no es por lo menos 5 veces mayor que el ruido de base que tiene el espectro. Nuevamente, esta es otra gran limitación, porque picos que se distinguen claramente en el espectro no son calculados.

Otra limitación es que el programa PROVE/SV no permite en su habilitación (si es una posibilidad que tiene el técnico del servicio de mantenimiento) el realizar un espectro sin cancelación de agua, elemento utilizado muchas veces en el análisis comparativo y como un método de cálculo de concentraciones absolutas de los metabolitos del espectro.

Debido a todas estas limitaciones, con las únicas sustancias que se pudo trabajar cuantificando fueron el N-acetilaspartato (NAA), Creatina-fosforocreatina (Cr), Colina (Cho), Mioinositol (Mio) y Agua (esta calculada de la secuencia previa de cancelación de agua) (Espectro IV.0).

IV.3 Trabajo

El análisis de espectros de RMS *in vivo* en una primera aproximación se puede considerar de dos tipos.

Uno de ellos busca el estimar de un modo feasible y preciso la concentración **absoluta** de la/s sustancia/s. Varios métodos han sido propuestos, pero como regla se puede decir que todos ellos llevan alguna dificultad inherente que los hace complicados y por eso son poco usados en busca de un método rápido, repetitivo y de posible uso clínico

El otro método de análisis más simple y rápido es el de analizar las concentraciones **relativas** entre las sustancias. Esto es mas mucho mas fáciles de calcular y lleva a buenos resultados; y por lo que se esta comprobando día a día, repetitivos. La idea es simple, dado un espectro y calculadas las concentraciones (áreas) de cada pico se realiza el cociente de ellas.

En mucha literatura es común encontrar que la Creatina es valida de considerar como una sustancia constante en el cerebro ante distintas patologías y por eso se la presenta como adecuada de tomarla como referencia (dividendo de las otras sustancias). Eso hoy no se considera cierto y actualmente en la búsqueda de un patrón que identifique patologías, los trabajos que se publican buscan utilizar todos los cocientes posibles de combinar.



Espectro IV. 0 Representación común de un espectro normal por el resonador clínico. El espectro de la derecha presenta también los valores calculados de las áreas de los picos mas definidos (NAA, Cho, Cr, Mio) y los cocientes respecto a la creatina.

Los sucesivos espectros con sus imágenes anatómicas y la ubicación del voxel en el tumor representan parte de los pacientes con los cuales se confeccionó este trabajo. Se presentan 4 casos, dos con diagnóstico de tumor de bajo grado y dos con diagnóstico de tumor de lato grado.

Seguido a estos 4 casos se presentan las tablas de datos de las sustancias posibles de cuantificar y los cocientes que permiten diferenciar estos dos grandes grupos de tumores. Se presenta luego las mismas tablas para espectros de tejido no patológico.



Imagen IV 1: Imágenes de la paciente 1 con un oligodendroglioma en el tálamo derecho. La imagen superior muestra la lesión y las dos inferiores las localizaciones de los voxels donde se le realizo los espectros. La imagen de la izquierda corresponde a una localización que toma tejido no patológico, la de la derecha la localización para tejido patológico. Se puede ver también que el voxel de la izquierda tiene parte del volumen en tejido aparentemente no tumoral.



•

Espectro IV. 1: Espectros de tejido talámico no patológico (izq.) y patológico (der.) del paciente 2. Se observa en estos espectros la diferencia que tienen. El tejido patológico aumenta el pico de colina y disminuye el NAA.

Bajo Grado



Imagen IV 1: Imagen anatómica de la paciente 2, con un astrocitoma difuso en el tronco y ubicación del voxel de donde se obtuvo el espectro.



••••••

ò

........

Espectro IV. 1: Espectro del paciente 2. Se observa claramente un aumento significativo del pico de colina y disminución del NAA.

Bajo grado



Imagen IV. 4: Imagen del paciente 9 con un oligodendroglioma difuso infiltrante en el pedúnculo cerebeloso superior derecho. El corte coronal de la derecha permite ver bien el tumor. La imagen de la derecha permite ver la ubicación de voxel.



Espectro IV. 4: Espectro del paciente 9. Se puede observar la fuerte caída del NAA y la creatina y el gran aumento de la colina y el mioinositol. También se puede apreciar la presencia de un pico de lactato y/o lípidos.

Alto Grado



Imagen IV 3: Imagen de la paciente 7 con un glioma de alto grado en el pedúnculo cerebeloso superior derecho con el voxel donde se realizo el espectro.



Espectro IV. 3: Espectros de la paciente 7. Se puede observar nuevamente el marcado aumento del pico de colina y mioinositol, y la disminución del pico de NAA. En este caso no se observa presencia de lactato o lípidos.

Alto Grado

IV.4 Datos

Este trabajo se realizo con 5 tumores distintos de bajo grado (3 oligodendrolioma, 1 astrocitoma difuso y 1 glioma mixto) y 4 tumores de alto grado (1 neuroectodermico primitivo, 1 glioma de alto grado, 1 meduloblastoma desmoplastico, 1 oligodendroglioma difuso infíltrate). El grupo de estudio incluyó 6 mujeres de entre 6 y 57 años (31.2 ± 21.1 años), y 3 varones de entre 22 y 53 años (36.3 ± 15.6 años).

La siguiente tabla muestra los datos de relevantes de los pacientes con tumores. En especial se detalla patología (grado de malignidad), ubicación de tumor y las concentraciones obtenidas para cada sustancia cuantificada.

f 53 Oligodendroglioma tálamo derecho m 22 Astrocitoma difuso Tronco m 57 Glioma mixto Calloso m 53 Oligodendroglioma Frontal izq. Sus m 53 Oligodendroglioma Frontal izq. Sus f 32 Oligodendroglioma Frontal izq. Sus f 32 Oligodendroglioma Frontal izq. Sus f 29 Neuroectodermico Reg frontoinsular f 10 Glioma de alto grado der. f 6 Meduloblastoma Crebelo sup. der.	Edad Pat	tología	Ubicación	Grado	Myoinositol	Colina	Creatina	NAA	Lactato	lípidos
m22Astrocitoma difusoTroncof57Glioma mixtoCallosom53OligodendrogliomaFrontal izq. Susm53OligodendrogliomaFrontal izq. Susf32OligodendrogliomaTroncof32OligodendrogliomaFrontal izq. Susf29NeuroectodermicoReg frontoinsularf10Glioma de alto gradocerebelo sup. der.f6MeduloblastomaLinea media fosaf6MeduloblastomaLinea media fosa	53 Oligode	endroglioma	tálamo derecho	BG	10	33	20	28	No	ou
f57Glioma mixtoCallosom53OligodendrogliomaFrontal izq. Susf32OligodendrogliomaTroncof32OligodendrogliomaTroncof29NeuroectodermicoReg frontoinsularf10Glioma de alto gradoPedúnculof6MeduloblastomaLínea media fosa	22 Astroci	itoma difuso	Tronco	80	8	33	16	18	ou	оц
m53OligodendrogliomaFrontal izq. Susf32OligodendrogliomaTroncof32OligodendrogliomaTroncof29NeuroectodermicoReg frontoinsularf10Glioma de alto gradoPedúnculof6MeduloblastomaLínea media fosaf6desmoplasticoposterior	57 Glio	ma mixto	Calloso	BG	24	52	27	27	ou	ои
f 32 Oligodendroglioma Tronco f 29 Tumor Reg frontoinsular f 29 Neuroectodermico Reg frontoinsular f 10 Glioma de alto grado Pedúnculo f 6 Meduloblastoma Línea media fosa f 6 desmoplastico posterior	53 Oligode	endroglioma	Frontal izq. Sus Blanca	BG	14	29	17	18		
f 29 Tumor Neuroectodermico Reg frontoinsular der. f 10 Glioma de alto grado Pedúnculo f 6 Meduloblastoma Línea media fosa	32 Oligode	endroglioma	Tronco	BG	23	23	18	20		
f 10 Glioma de alto grado Pedúnculo f 6 Meduloblastoma Línea media fosa desmoplastico posterior	29 Neuroe	Lumor ectodermico rimitivo	Reg frontoinsular der.	AG	2	45	З	۲	SI	SI
f 6 Meduloblastoma Línea media fosa posterior	10 Glioma	de alto grado	Pedúnculo cerebelo sup. der.	AG	25	46	24	20	NO	NO
	6 Medul desm	loblastoma noplastico	Línea media fosa posterior	AG	27	50	28	۲		Si.
m 34 Oligodendroglioma Pedúnculo difuso infiltrate cerebeloso sup. der.	34 Oligode difus	endroglioma o infiltrate	Pedúnculo cerebeloso sup. der.	AG	16	37	13	12	.	si mucho

Tabla IV 1: Información de los nueve pacientes patológicos y valores de los distintos metabolitos posibles de cuantificar. Valores numéricos de lípidos y lactato no son posibles porque el programa no lo realiza, aun cuando el pico es evidente (f: femenino, m: masculino, BC: bajo grado, AG Alto grado)

53

a su vez divida, en aquellos espectros que son de los mismos pacientes con tumores pero de tejido sano (3 primeras filas), de aquellos La siguiente tabla presenta los valores de los espectros considerados normales para su comparación con los patológicos. Esta tabla esta que sí son pacientes sanos.

1-1-27-22	Sexo	Edad	Patología	Ubicación	Tumor	Myoinositol	Colina	Creatina	NAA
	f	29		Contralateral lesión	AG	21	29	39	60
	E	53		Contralateral lesión		0		28	47
	f	53		Contralateral lesión		0	17	15	33
1	•	42	Normal	Frontal	No	6	24	24	35
	•	48	Normal	Occipital derecha	Q	0	21	22	37
	÷	48	Normal	Occipital izquierdo	Q	ø	15	22	30
	÷	41	Normal	Occipital derecha	No	0	20	15	27
	4	41	Normal	Occipital izquierdo	٩ N	0	24	16	30

Tabla IV 2: Información de los 8 pacientes control y valores de los distintos metabolitos posibles de cuantificar. El valor de colina del paciente 4, el programa de resonador no lo cuantifico, aun cuando el pico era evidente (f: femenino, m: masculino, 166: bajo grado, AG Alto grado) 54

Paciente	NAA/Co	NAA/Cr	NAA/Cr+Co	NAA/ M io	Grado Tumor
1	0,85	1,40	0,53	2,80	
2	0,55	1,13	0,37	2,25	
3	0,52	1,00	0,34	1,13	
4	0,62	1,06	0,39	1,29	
5	0,87	1,11	0,49	0,87	
6	0,02	0,33	0,02	0,50	AG
7	0,43	0,83	0,29	0,80	AG
8	0,02	0,04	0,01	0,04	AG
9	0,32	0,92	0,24	0,75	AG

Las dos tablas siguientes muestran los cocientes de las sustancias que indica el encabezado de la columna, así como el grado de malignidad de tumor por paciente y la estadística de esto valores (promedio y desviación estándar).

Tabla 1V.3: Cocientes de los metabolitos que representan mas claramente la diferencia de tumores de alto y bajo grado. Es importante resaltar que en los 4 cocientes los valores de cada grupo tumoral están claramente diferenciados. Así, para tumores de alto grado el NAA/Co esta por debajo de 0.5 y para los tumores de bajo grado por encima de 0.5. El mismo comportamiento se observa (con otros valores) en los otros cocientes.

	NAA/Co	NAA/Cr	NAA/Cr+Co	NAA/Mio
Promedio BG-	0,68	1,14	0,42	1,67
Promedio AG-	0,17	0,63	0,13	0,62
Desviación estándar BG-	0,17	0,15	0,08	0,82
Desviación estándar AG-	0,21	0,42	0,14	0,35

Tabla IV. 4: Promedios y desviación estándar de los distintos cocientes para tumores de alto y bajo grado. La gran dispersión que se observa en los tumores de alto grado se debe principalmente a los bajos valores de NAA que tienen estos tipos de tumores.

Paciente	NAA/Co	NAA/Cr	NAA/Cr+Co	NAA/Mio
6	2,07	1,54	0,88	2,86
4		1,68	1,68	
1	1,94	2,20	1,03	
10	1,46	1,46	0,73	3,89
11	1,76	1,68	0,86	
11	2,00	1,36	0,81	3,75
12	1,35	1,80	0,77	
12	1,25	1,87	0,75	

•

••••

.

Tabla IV. 5: Cocientes similares a los de la Tabla IV.4 de espectros de tejido no patológico de pacientes (color) y de controles normales sin patología. Las celdas en gris representan no cuantificación de Co (paciente 4) y ausencia o no cuantificación de mioinositol.

	NAA/Co	NAA/Cr	NAA/Cr+Co	NAA/Mio
Promedio Normal-	1,69	1,70	0,94	3,50
Desviación estándar Normal-	0,33	0,26	0,31	0,56

Tabla IV. 6: Promedios y desviación estándar de los cocientes para tejido no patológico.

IV.5 Conclusión

Los gráficos a continuación representan por cada "caja", el conjunto de valores de cada grupo (alto grado, bajo grado y normales) para un cociente. Los puntos extremos mínimos y máximos representan los valores mínimos y máximos respectivamente de cada grupo. El punto central es la media, y las dos barras horizontales extremas son los percentiles.



Gráfico IV. 1: Valores de los cocientes NAA/Co para cada tipo de tumor y tejido no patológico

Gráfico IV. 2: Valores de los cocientes NAA/Co+Cr para cada tipo de tumor y tejido no patológico



Gráfico IV. 3: Valores de los cocientes NAA/Cr para cada tipo de tumor y tejido no patológico



Del análisis de los gráficos claramente se ve que los cocientes elegidos de las sustancias muestran un patrón bien definido de diferenciación entre dos grandes grupos de tumores,

los de alto grado y los bajo grado. Esta diferenciación es tan definida que solo existe solapamiento de valores en un solo caso (NAA/Cr entre bajo grado y normal). Esto no es además preocupante, ya que lo que se busca de una imagen tumoral es poder inferir que tipo de tumor es y no de tejido con una imagen normal inferir un tumor. El resto de los cocientes no muestra solapamiento entre los distintos grados tumorales y el tejido normal.

Actualmente es aceptado en la mayoría de las publicaciones que el cociente de NAA/Co es un claro indicador del grado de malignidad de los tumores cerebrales. El concepto que se maneja es que la colina, un referente del proceso de regeneración de membrana, es mayor en tumores de mayor grado dada la velocidad de generación de las células cancerosas. Del mismo modo, la presencia de neuronas (y la presencia de NAA) en zonas tumorales es menor en tumores de alto grado que en los de bajo grado. Estos dos hechos, aumento de Co y disminución de NAA llevan a la disminución de este cociente.

Este cociente, con algunas variaciones según el método empleado para la obtener el espectro (monovoxel, multivoxel) se está imponiendo como revelador de malignidad de tumores cerebrales, de real importancia en el caso de tumores en niños por las secuelas de los tratamientos. Un tumor de bajo grado se puede dejar evolucionar sin tratamiento en la infancia, por el daño que ocasiona en esa etapa de la formación los rayos, quimioterapia o la cirugía.

El resto de los cocientes que se presentan en este trabajo si abren una expectativa, ya que a la información del cociente NAA/Co, aquí se muestra que otros cocientes tienen la posibilidad de reafirmar el diagnóstico. En general se considera a la creatina como no variante (de allí que se la tome como referencia). La disminución del cociente NAA/Cr nuevamente indica disminución de NAA o/y aumento de Cr. No es posible decir de este trabajo si se produce una disminución mayor de Cr en tumores de alto grado que en los de bajo por estar el trabajo basado en cocientes de concentraciones y por no conocerse el modo que el programa de análisis de datos del resonador trabaja.

El cociente NAA/Co+Cr es una consecuencia lógica de los dos cocientes anteriores, resaltando más la diferencia entre los 3 grupos.

El cociente NAA/Mio es también una interesante porque no se lo encuentra en la literatura como un elemento diferenciador de tumores. Si es clara la diferencia en los valores de mioinositol entre espectros de tumores y espectros normales.

Como ejemplo significativo de la potencialidad de esta técnica como método de complemento en el diagnóstico es el caso de uno de los pacientes de este estudio. Como se describió, el nivel de grado tumoral se la definió por su análisis anátomo patológico, que en principio se estableció como Bajo Grado. Al analizar los valores de los cocientes se vio que estos no se correspondían con los otros tumores de bajo grado. Se busco confirmar este diagnostico con el anátomo patólogo. Con él se pudo establecer que actualmente con este tipo de tumor el grado de malignidad se define por la imagen de RMI con gadolinio. Si este refuerza (la imagen es más brillante, esto es, el tumor capto gadolinio) se considera al tumor de alto grado, sino, se lo considera de bajo grado. La imagen del tumor con gadolinio de esa paciente mostró refuerzo, por lo cual se lo considero de alto grado. Fue un claro caso que permitió establecer por medio de la imagen de RMI (y del un cociente de metabolitos de un espectro), el grado de malignidad de un tumor y no al revés; estos es, asignarle por la anatomía patológica al grado de malignidad.

Los pasos a seguir a partir de este trabajo son varios:

- Continuar con la recolección de casos para tener mayor cantidad de datos. Si bien los valores obtenidos marcan una tendencia clara de diferenciación, 9 casos son pocos y se necesitaría más para dar mas fuerza a estos resultados. No debería de sorprender algún solapamiento en los valores al aumentar los pacientes, lo único que esto ocasionaría es la necesidad de un análisis estadístico de los datos,
- 2. Realizar el mismo tipo de análisis con la secuencia PRESS con los mismos parámetros de adquisición (TR y TE), en vez de STEAM y ver si estas relaciones se siguen manteniendo. En teoría deberían y la precisión debería de ser mayor dada la mejor relación señal ruido de la secuencia PRESS. Al día de la fecha solo se tienen dos espectros de bajo grado con secuencia de excitación PRESS y los valores de no coinciden con los de STEAM para bajo grado. Esto podría estar definiendo una diferencia de cocientes según la secuencia utilizada para obtener el espectro.
- 3. Poder procesar los espectros por programas dedicados a ese fin a partir de la FID. De ese modo se podrían cuantificar mejor los metabolitos, además de aquellos que en estos momentos no es posible.
- 4. A partir de este trabajo FLENI decidió ampliar este trabajo para contrastar la información de estos espectros médicos con espectros de mayor campo a partir de preparados de tejido tumoral, junto con el seguimiento (espectros e imágenes de RM y SPECT) de los pacientes para evaluar la evolución del tumor al tratamiento.

Artículos de interés donde se ve el uso actual de la espectroscopía de resonancia magnética nuclear.

¹H-MMRS evidence of neurodegeneration and excess glutamate +glutamine in ALS medulla

E. P. Pioro et al. Neurology 53 July 1999 71-79

Encuentran aumento de glutamato-glutamina en médula asociado el proceso degenerativo en pacientes con ALS (Amyotrophic lateral sclerosis) sin poder determinar que es lo que se presenta primero, sí los síntomas o el aumento de Glu. Además relacionan en los pacientes el nivel de ALS con el aumento de Glu.

Quantification of brain metabolites in amyotrophic lateral sclerosis by localized proton magnetic spectroscopy.

Neurology 48 April (4) 878-81 1997

Identifican una disminución de NAA (absoluta, no relativa) del 9% en la corteza motora de pacientes con ALS. Poca utilidad clínica de diagnosis dado el solapamiento entre controles y patológicos.

Classification of biopsy-confirmed brain tumors using single voxel MR Spectroscopy.

M.E. Meyerand et. al. AJNR 20: 117-123 January 1999.

Establecen trabajando con un único voxel sobre distintos astrocitomas una relación entre el grado del astrocitoma (alto grado, bajo grado, glioblastoma multiforme) y la relación de algunos metabolitos obtenidos por MRS ¹H.

Increased choline signal coinciding whit malignant degeneration of cerebral gliomas: a serial proton magnetic spectroscopy imaging study.

G. Tedeschi et al J Neurosurg. Volumen 87 October 1997.

En un estudio de 3.5 años, lograron establecer por medio de la concentración de Cho de RMSI la diferencia entre tumores de bajo grado que evolucionan a alto grado (aumento de Cho) y los que perecen estables (menor aumento, igual o disminución de Cho).

Lateralization of temporal lobe epilepsy based on regional metabolic abnormalities in proton magnetic resonance spectroscopy images

F. Cendes et al Annals of Neurology Amyotrophic Vol 32 N 2 February 1994.

Identifican con RMSI disminución de NAA/Cr en las zonas epilépticas, correlaciona con electroencefalograma y atrofia de amígdala y hipotálamo.

Characterization of choline compounds whit in vitro ¹H MRS for the discrimination of primary brain tumors.

S. J. Gilard et al. Invest Radiol 1999, Mar 34 (3) 230-5

Analizan muestras tumorales (in vitro) con un resonador de 9,4 T encontrando diferencias en las concentraciones de (GCP) glicerofosfocoline, fosfocolina (PC) y colina (Cho) en tumores de alto grado y bajo grado. En los tumores de alto grado las proporciones de los tres son similares, en los de bajo grado el pico es principalmente debido a GCP, siendo PC y Cho menores.

High field proton magnetic resonance spectroscopy of human cerebrum obtained during surgery for epilepsy

O. A.C. Petroff Neurology 1989, 39 1197-1202

Analiza las concentraciones de los metabolitos presentes en un espectro de alto campo y encuentra diferencia significativas entre sustancia blanca y gris en ciertas sustancias del espectro.

Magnetic resonance spectroscopy in temporal lobe epilepsy.

A. Connelly et al. Neurology August 1994 44 1411-17.

Presentan un análisis de los las concentraciones de los metabolitos ipsi y contralateral en pacientes con epilepsia. Encuentran una diferencia apreciable entre ipsi y los normales.

Total creatine in muscle: Imaging and quantification with proton MRS.

P. A. Bottomley Radiology 1997, 204 403-10

Establecen un método de cuantificar de modo absoluto la concentración de creatina en músculo por medio de RMS de H, proponiendo un modo no invasivo de medir este metabolito.

Discrimination of metabolite from lipid and macromolecule resonance in cerebral infarction in humans using short echo proton spectroscopy.

D.E. Saunders JRMI 1997 7 1116-21

Describe por un método de resta de espectros, la evolución de los metabolitos lactato y lípidos en el tiempo después de un infarto cerebral encontrando que las fuentes de cada uno de ellos son posiblemente diferentes.

Proton magnetic resonance spectroscopy in patients with sporadic cerebellar degeneration.

Haruhiko Terakawa et al. Journal of Nueroimaging Vol 9 N 2 April 1999 72-77.

Encuentran en pacientes con degeneración cerebelar que en ciertas regiones del cerebro la relación NAA/Cr es significativamente distinta con los normales. Encuentran que el valor de NAA/Cr se correlaciona con el nivel de severidad de la degeneración.

Initial observations on effect of vigabatirn on in vivo H spectroscopy measurements of Gaba, glutamato and glutamine in human brain.

O. A. Petroff Epilepsia 36 (5) 457-64 1995

Por medio de secuencias especiales de excitación, se logro medir GABA en cerebro y ver cual es su variación en pacientes epilépticos tratados con dorgas antiepilépticas. Se ve un aumento promedio de GABA en los pacientes tratados, así como aumento en Gln y una disminución en Glu.

Low Brian GABA level is associated with poor seizure control

O. A. Petroff Annals of Neurology Vol 40 N 6 December 1996.

Correlaciona la concentración de GABA medida por técnicas especiales de RMS ¹H en cerebro con la capacidad de propagación de un ataque epiléptico mas allá de su foco de origen.

Serial proton magnetic resonance spectroscopy imaging of glioblastoma multiforme after brachytherapy.

Describen la utilidad de la técnica de RMS multivoxel para detectar en pacientes sometidos a braquiterapia diferentes zonas (necróticas, tumor residual). Encontraron niveles altos de Cho (consistente con posible tumor) mas allá de regiones de aumento de contraste. Verificaron además evolución del nivel de Cho tanto para regiones que necrotizaron (disminución) como para las que empeoraron (aumento).

Proton magnetic resonance spectroscopy imaging in neurosurgery. Applications for brain tumors.

M. Preul Advance Neurosurgical Navigation Time Medical Publishers New York 1999.

Variation of post-treatment H-RMS choline signal intensity in pediatric gliomas.

Jorge Lazaret, et al Journal of Neuro Oncology 41 291-298

Correlaciona la respuesta a tratamientos (quimioterapia-radioterapia) en tumores de pediátricos con la concentración de colina de un espectro clínico. Llega a la conclusión de que es un método valido para conocer la evolución del tumor al tratamiento.

Inverse correlation between choline magnetic resonance spectroscopy signal intensity an the apparent diffusion coefficient in human gliomas.

Correlaciona inversamente el aumento de la colina y el coeficiente aparente de difusión en gliomas.

Clinical impact of RMS when imaging is indeterminate for pediatric brain tumors. Norfray JF et al. AJR Am J Roentgenol 1999 Jul 173(1) 119-125

Presenta varios estudios donde la RMS sirvió en casos donde el diagnostico es indeterminado por RMI, como elemento diagnostico como de seguimiento de tratamiento.

Prognostic value of proton MRS of cerebral hemisphere tumors in children.

N. Girad et al. Nueroradiology 1998 40 121-125. Se correlaciona los niveles de NAA/Co y Cr/Co con el fallecimiento entre los pacientes.

Proton MRS in neoplasic and non-neoplasic brain disorders.

Castillo M. et al. Mag Reson Imaging Cli N Am 1998 Feb 6 (1) 1-20

Un articulo donde enfatiza la utilidad de la RMS en el diagnostico de tumores, respuesta a tratamientos, infecciones. Desordenes degenerativos del cerebro. Isquemia y desmielinización.

Magnetic resonance spectroscopy guided brain tumor resection: differentiation between recurrent gliomas and radiation change in two diagnostically difficult cases.

Preul LC et al Can J Neurol Sci 1998 Feb 25 (1)13 -22.

Diferencia en dos casos regiones de tumor activo de tejido irradiado, cuando ningún otro método radiológico lo pudo conseguir. Lo presenta como un método para determinar región de operación cuando se integra imágenes y espectro.

MR spectroscopy of bilateral thalamic gliomas.

Esteve F. AJNR Am J Neuroradiology 20 :876-881 May 1999.

Presenta el espectro de dos tumores (tumores bilaterales de tálamo), donde se verifica un aumento del pico creatina y fósforo creatina.

Proton MRS In patients with complex partial seizures: Single voxel versus chemical shift imaging.

Yuan-Yu Hsu el al. AJNR Am J Neuroradiology 20 : 643-651 April 1999.

Comparan en pacientes con epilepsia dos técnicas : Voxel único y CSI para determinar alteraciones de hipocampo en pacientes con ataques epilépticos.