

Discriminación de Tejidos Cerebrales mediante Espectroscopía por Resonancia Magnética de Alta y Baja Resolución: Estudio comparativo

J. Sánchez ^a, A. Santos ^a, C. SantaMarta ^{b,c}, C. Benito ^b, M. Benito ^b, A. Martín ^b, M. Desco ^b

^a ETSI Telecomunicación, Universidad Politécnica de Madrid, 28040 Madrid.

^b Hospital G. U. “Gregorio Marañón”, C/ Dr. Esquerdo 46, 28007 Madrid.

^c Dpto. Física Matemática y Fluidos. Univ. Nacional de Educación a Distancia.

desco@mce.hggm.es

Resumen

En la actualidad se han desarrollado muchos estudios sobre la capacidad discriminante de la Espectroscopía por Resonancia Magnética (ERM). En esta técnica se pueden distinguir entre dos tipos de experimentos: los realizados *in vitro* con imanes con altas prestaciones (campos magnéticos que superan los 8 Tesla y de gran homogeneidad) y los experimentos *in vivo* en los que las prestaciones de los equipos son mucho menores, produciendo señales de mucha menor calidad. Sin embargo, esta situación es la que tiene una mayor utilidad clínica. Por este motivo, en este trabajo vamos a evaluar si la pérdida de información producida al pasar de un estudio *in vitro* a un estudio *in vivo* conlleva una pérdida de información esencial para el diagnóstico clínico.

1. Introducción

La ERM [1] es una técnica que, al igual que las bien conocidas técnicas de imagen por resonancia, se basa en la precesión de los núcleos en presencia de un campo magnético externo. A diferencia de la técnica de imagen, la ERM nos proporciona información de tipo bioquímico. Esta información bioquímica permite analizar las concentraciones relativas de diferentes sustancias.

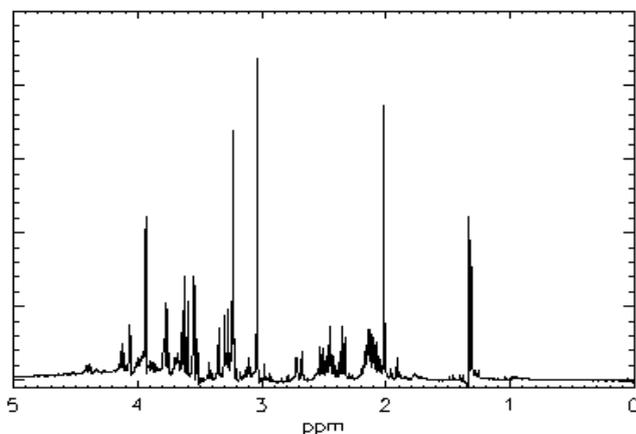


Fig. 2. Espectro de alta resolución de una muestra de tejido sano.

Dentro de la técnica de ERM se pueden distinguir entre dos modalidades. La primera de ellas es la denominada ERM *in vitro*. Ésta consiste en realizar el estudio espectroscópico, de la disolución de una muestra de tejido, con equipos con campos magnéticos de alta intensidad (8 T). Esta técnica proporciona una alta resolución de los picos de resonancia debido a la gran intensidad y homogeneidad de los campos magnéticos utilizados. La segunda de estas técnicas es la denominada ERM *in vivo*. En esta modalidad los estudios espectroscópicos se realizan en equipos de resonancia clínicos con campos de menor intensidad (1,5 T). Estos equipos tienen campos magnéticos de una homogeneidad menor que los estudios de alta resolución. Además de estos problemas técnicos, los espectros adquiridos en equipos clínicos tienen efectos debidos a las secuencias de localización necesarias para la selección del volumen de interés.

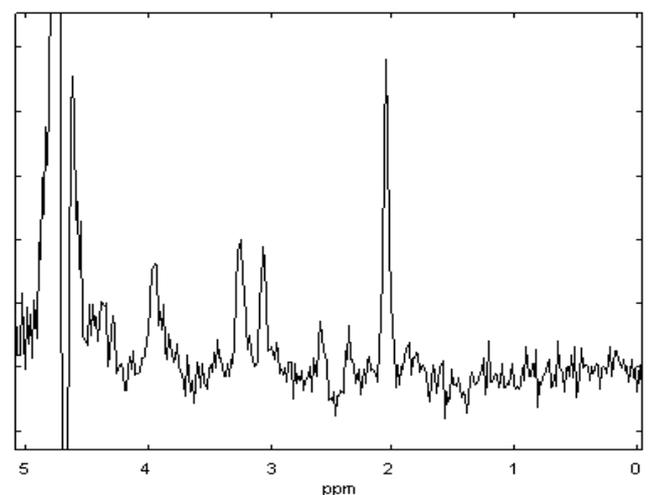


Fig. 1. Espectro de baja resolución de cerebro sano

En la actualidad se está intentando comprobar la capacidad de la ERM para distinguir entre diferentes patologías, dadas sus posibilidades para medir concentraciones de diferentes metabolitos de una forma no invasiva. La determinación de las sustancias que aparecen dentro del volumen estudiado y

de sus concentraciones se observa en forma de diferentes picos de resonancia. El área de estos picos nos da la información de la concentración de cada metabolito.

Sin embargo, los resultados obtenidos con experimentos de espectroscopía *in vivo* no muestran unas conclusiones homogéneas, no pudiéndose repetir los mismos resultados por diversos autores. Por una parte, algunos autores propusieron incrementos en la señal de colina como un indicador de malignidad en gliomas [2-4], pero este resultado es contradictorio con el aportado por otros estudios [5]. Similarmente, la señal de lípidos móviles fue propuesta como criterio de malignidad en gliomas, pero su presencia no pudo ser confirmada en todos los glioblastomas estudiados, el tumor glial de pronóstico más grave. Similares discrepancias se producen con otros metabolitos, como creatina y fosfocreatina, taurina, glicina o inositol [6]. Estas discrepancias reflejan por un lado la enorme variabilidad de los patrones espectrales de los tumores, que proporcionan muy posiblemente dentro de una misma clase un indicador más sensible que los criterios histológicos. Por otra parte, el uso de diferentes protocolos de adquisición de datos entre los diversos laboratorios hace más difícil la comparación de los resultados obtenidos por cada uno de ellos.

Por otra parte, los progresos obtenidos en el diagnóstico de tumores mediante biopsias analizadas por ERM de alta resolución han resultado más satisfactorios. Entre otras comparaciones, ha sido posible discriminar entre gliomas de alto y bajo grado con un 85% de aciertos y entre meningiomas y gliomas con un 100% de aciertos, entendiendo como acierto la coincidencia de tipo y grado entre ERM y diagnóstico histológico. El porcentaje de diagnósticos correctos se aproxima y en algunos casos supera el 90% de las biopsias procesadas [7-9].

Debido a esta diferencia en la capacidad discriminante entre ambas técnicas es bueno intentar dilucidar si los estudios *in vivo* pueden llegar a tener una capacidad discriminante parecida a los estudios *in vitro*. Para poder realizar esta comparación entre estos dos tipos de estudios se ha desarrollado un procedimiento para reducir la resolución de los espectros de alta resolución y así poder generar espectros de campo clínico a partir de espectros de alta resolución. Este hecho permitirá tener una idea de la capacidad discriminante de un mismo tejido a ambas resoluciones. Posteriormente se pasará a comparar la capacidad discriminante de los resultados obtenidos a las diferentes resoluciones.

Para calcular los discriminantes a las diferentes resoluciones se ha utilizado el discriminante de Fisher. Para esta clase de discriminante la probabilidad de que un elemento pertenezca a la clase i o j , p_i o p_j respectivamente, se expresa como $p_i = 1/(1+\exp(-F_{ij}))$, siendo $p_j = 1-p_i$, donde F_{ij} es el valor de la función discriminante de Fisher para comparar las clases i y j . La función discriminante de Fisher se define como $F_{ij} = f_i - f_j$, donde f_i y f_j contienen la combinación lineal de las variables (áreas de los picos o relaciones entre ellas) que mejor discriminan entre todas las clases comparadas. Valores positivos de la función discriminante de Fisher muestran que el elemento estudiado pertenece a la clase i mientras que valores negativos revelan que el elemento pertenece a la clase j .

2. Material y métodos

Se han seleccionado muestras de tejido sano y de dos patologías diferentes (astrocitomas de alto grado y meningiomas). El criterio para realizar el diagnóstico patológico se ha hecho siguiendo el criterio de la Organización Mundial de la Salud. Inmediatamente después de ser extraídas las muestras han sido introducidas en nitrógeno líquido a -70 °C, para evitar interferencias de calor y de la falta de oxigenación del tejido. Para cada una de las muestras tomadas se ha preparado un extracto ácido normalizado con KOH. Posteriormente, el extracto ácido ha sido liofilizado y resuspendido en agua deuterada (99,9%, D). La cantidad de muestra que se ha utilizado es unos 100mg de tejido por ml de D₂O.

2.1 Espectros de Alta Resolución.

Las señales de alta resolución han sido adquiridas para el núcleo de hidrógeno ¹H en una máquina Bruker AM-360. La señal se ha adquirido después de un pulso de excitación de 90°, con un tiempo de repetición de 10 s. Se adquieren 16384 puntos en dominio del tiempo con una separación entre muestras de 116 microsegundos.

Más tarde, se procesa cada uno de los espectros adquiridos de las muestras de tejido, para obtener toda la información posible de los distintos picos de resonancia. La auténtica información se encuentra en el área encerrada por cada una de las resonancias que están relacionadas con las concentraciones que hay de las distintas sustancias que se encuentran en la muestra.

Posteriormente, introduciendo tanto los datos obtenidos del espectro, como las relaciones entre las áreas de las distintas resonancias en un programa estadístico calculamos los parámetros para construir el clasificador de Fisher que mejor separe entre las diferentes clases de tejidos.

2.2 Procedimiento para reducir la resolución.

Una vez hemos obtenido el discriminante para el caso de alta resolución es necesario tener los espectros de baja resolución para las mismas muestras de tejido. Para esto se ha desarrollado un procedimiento que permite pasar los espectros de alta resolución a espectros adquiridos a campo clínico. Este procedimiento se ha implementado usando el lenguaje de programación IDL (Research Systems Inc. Boulder CO). En él se tienen en cuenta los efectos más característicos y que más influyen en la adquisición de un espectro clínico.

2.2.1 Alineación y separación de las señales.

El primero de los pasos para reducir la resolución es transformar los datos de alta resolución, adquiridos en el dominio del tiempo, al dominio de la frecuencia, donde son observables cada una de las resonancias. Una vez se tiene el espectro en el dominio de la frecuencia se pueden diferenciar las resonancias de interés. De entre todas las resonancias observables se puede distinguir la resonancia del TMS (Tetrametilsilano). Esta resonancia se ha tomado por motivos históricos como referencia para construir la escala de desplazamientos químicos. En nuestro caso esta

resonancia se utiliza para alinear todos los espectros y así conseguir que un mismo pico se encuentre en el mismo intervalo de puntos en todos los espectros.

Una vez alineados todos los espectros generamos diferentes máscaras para separar las resonancias de interés. Esta máscara esta compuesta por una serie de puntos que tienen un valor 1, en la zona interés, y un valor cero para el resto del espectro. Se ha generado una máscara de este tipo para cada una de las resonancias que aparecen en un espectro de campo clínico [1], siendo supervisadas y modificadas para asegurar que en cada uno de los espectros se estaba seleccionando solamente la parte de interés. Debido a que la señal de espectro es una señal compleja aplicamos la máscara tanto a la parte real como a la parte imaginaria.

2.2.2 Modificación de cada pico de resonancia.

Después aplicamos a cada una de las resonancias un factor de corrección f_i (ec. 2.1) para simular el efecto que tiene el uso de las secuencias de localización sobre la amplitud de las diferentes resonancias. Este factor depende del tiempo de eco, que se usaría en la secuencia localizadora que se quiere simular, y del tiempo de relajación $T2^*$ de cada una de las resonancias seleccionadas.

$$f_i = \exp \frac{TE}{T2^*i} \quad \text{Ecuación. 2.1}$$

Otro de los efectos que se han simulado es el debido a los acoplamientos de las resonancias, para aquellos casos que sea preciso, como por ejemplo el lactato. Este es otro efecto que producen las secuencias localizadoras haciendo que las resonancias acopladas cambien de fase dependiendo del tiempo de eco utilizado. El desfase producido por la secuencia localizadora depende, como hemos dicho anteriormente, del tiempo de eco de la secuencia localizadora y de la constante de acoplo de la resonancia en cuestión.

$$\text{desfase}_i = p * (TE * J_i) \quad \text{Ecuación. 2.2}$$

2.2.3 Simulación de efectos globales.

Después de haber simulado todos los efectos que afectan a cada una de las resonancias por independiente se vuelve a generar una señal suma de todas éstas. Una vez se tiene la señal total la volvemos a pasar al dominio del tiempo por medio de la transformada de Fourier inversa. Ya en el dominio del tiempo aplicamos una función que simule la menor homogeneidad del campo magnético externo aplicado que existe en los equipos clínicos con respecto a los equipos de alta resolución. Para simular este efecto hemos convolucionado nuestra señal con una función exponencial decreciente. Esta función refleja el efecto de pérdidas de fase de las distintas resonancias debido a la falta de homogeneidad del campo. A diferencia de los casos anteriores, aplicamos este efecto a todas las resonancias por igual debido a que la falta de homogeneidad de la máquina afecta a todo el espectro.

Para finalizar el proceso sólo queda introducir mas ruido en la señal debido a que los espectros de alta resolución al ser

tomados de una disolución casi carecen de ruido. Por otra parte, los espectros adquiridos *in vivo* presentan una intensidad de ruido mucho mayor. La intensidad del ruido se ha relacionado con la altura del pico de referencia que se ha tomado para alinear todos los espectros.

Una vez se han obtenido los espectros simulados de baja resolución a partir de los espectros de alta resolución, se pasa al procesado de los mismos de la misma manera que se hizo con los espectros de alta resolución.

Con los datos obtenidos del análisis de los espectros volvemos a calcular el discriminante de Fisher, de igual manera a como se hizo con los espectros de alta resolución.

3. Resultados

Para comparar la capacidad discriminante de cada una de las técnicas (*in vitro* e *in vivo*) se han utilizado los porcentajes de acierto que proporciona el discriminante de Fisher, obtenidos mediante SPSS.

A continuación se muestran los porcentajes de aciertos obtenidos para cada resolución.

	Baja Resolución	Alta Resolución
Normal	88%	100%
Astrocitoma	79%	80%
Meningioma	78%	94%

4. Discusión

Como se observa en la tabla anterior, en baja resolución se obtienen unos valores de aciertos menores que en alta resolución. Al igual que en el caso de alta resolución se observa que el cerebro normal se sigue distinguiendo, con bastante seguridad del resto de los tumores.

Otra de las conclusiones que se pueden obtener de este estudio es que los astrocitomas de alto grado se pueden distinguir con un acierto parecido tanto en el caso de alta como en el caso de baja resolución. Esto significa que las componentes discriminantes de este tipo de tumores no se ven muy afectadas por la reducción de la resolución.

En este punto también hay que destacar la aparición de lactato (1.3 ppm) tanto en los tejidos sanos como en los tejidos patológicos dentro de los espectros de alta resolución. Este efecto se debe al proceso de extracción de las muestras de tejido y a la falta de oxigenación del tejido durante la misma. Este hecho puede hacer que empeore la capacidad para discriminar entre los diferentes tumores y el tejido sano.

Otras de las ventajas de los estudios *in vivo* respecto a los estudios *in vitro* es la aparición de la señal de lípidos que puede ayudar a separar entre diferentes tumores y de la que se carece en estudios *in vitro*.

Uno de los aspectos que pueden empeorar los datos de baja resolución, y por lo tanto el resultado que se obtiene de ellos, es la influencia de las colas de la señal del agua. Este efecto afecta a las medidas de las señales de interés debido a que éstas se superponen a la señal del agua teniendo que usar procedimientos para eliminar éstos de la línea base.

Estos procedimientos son dependientes del operador y dan lugar a medidas de las áreas de los picos más imprecisas.

Por último, se puede concluir que, a partir de los resultados obtenidos en este trabajo, los espectros de baja resolución parecen tener suficiente información como para poder discriminar entre las patologías. Por otra parte conviene destacar la necesidad de hacer un estudio parecido para un mayor número de patologías. Además sería interesante realizar el mismo estudio con espectros de alta resolución y espectros de baja resolución adquiridos del mismo tejido sin necesidad de realizar un estudio simulado como el realizado en este trabajo.

5. Agradecimientos

Agradecemos al Servicio de Neuroradiología del Hospital Universitario La Paz que nos hayan prestado la base de datos de espectros de alta resolución. También queremos agradecer la ayuda prestada por el Instituto de Investigaciones Biomédicas del C.S.I.C. y en particular por el doctor Sebastián Cerdán.

Referencias

- [1] Nouha Salibi, Mark A. Brown *Clinical MR spectroscopy*. Wiley-Liss 1998.
- [2] Hagberg, G., Burlina, A., Mader, I., Roser, W., Radue, E.W. and Seelig, J. In vivo proton MR spectroscopy of human gliomas: definition of metabolic coordinates for multidimensional classification. *Mag. Res. Med.* 1995; 34: 242-252.
- [3] Preul, M.C., Caramanos, Z., Collins L.D., Villemure, J.-G., Leblanc, R., Olivier, A., Pokrupa, R. and Arnold, D.L. Accurate, non invasive diagnosis of human brain tumors by using proton magnetic resonance spectroscopy. *Nature Medicine* 1996; 2: 323-325.
- [4] Tedeschi G., Lundbom N., Raman R., Bonavita, S., Duyn, J.H., Alger, J.R. and Di Chiro, G.. Increased choline signal coinciding with malignant degeneration of cerebral gliomas: a serial proton magnetic resonance spectroscopy-imaging study. *J. Neurosurg.* 1997; 87: 516-524.
- [5] Usenius, J.P., Vainio, P., Hernesniemi, J. and Kauppinen, R. Choline containing compounds in human astrocytomas studied by ¹H NMR spectroscopy in vivo and in vitro. *J Neurochem* 1994; 63: 1538-1543.
- [6] Leach, M.O. Introduction to in vivo MRS of cancer: new perspectives and open problem. *Anticancer Res* 1996; 16: 1503-1514.
- [7] Hagberg, G. From magnetic resonance spectroscopy to classification of tumors. A review of pattern recognition methods. *NMR Biomed.* 1998; 11: 148-156.
- [8] Kinoshita, Y., Kajiwara, H., Yokota, A. and Koga, Y. Proton magnetic resonance spectroscopy of brain tumors" an in vitro study. *Neurosurgery* 1994; 35: 606-614.
- [9] Kinoshita, Y. and Yokota, A. Absolute concentrations of metabolites in human brain tumors using in vitro proton magnetic resonance spectroscopy. *NMR in Biomed.* 1997; 10: 2-12.