



Estimaciones metabólicas en hueso utilizando secuencias especializadas de resonancia magnética funcional: un nuevo método de estudio

Juan Manuel Shiguetomi Medina,^{*,***} Hans Stødkilde-Jorgensen,^{**} Ole Rahbek,^{***}
Bjarne Møller-Madsen^{***}
Universidad de Aarhus, Dinamarca.

RESUMEN

Antecedentes: Modelo experimental para la descripción y medición del flujo sanguíneo y metabolismo del cartilago de crecimiento de la tibia en un modelo animal (porcino) utilizando secuencias especializadas de resonancia magnética adaptadas al estudio de hueso. **Método:** Cuatro tibias normales *ex vivo* y seis en especímenes en crecimiento *in vivo* fueron estudiados mediante secuencias ordinarias T1 y T2 de resonancia magnética. Posteriormente, los resultados fueron analizados mediante secuencias especializadas de imágenes de coeficiente de difusión aparente (ADC por sus siglas en inglés) y de contenido de agua. **Resultados:** Las imágenes de contenido de agua y de coeficiente de difusión aparente pueden mover la cantidad de movimiento y la libertad del mismo de las moléculas de agua en un tejido. Estas mediciones pueden ser interpretadas como flujo sanguíneo y metabolismo celular, respectivamente. Utilizando un *software* especializado se pueden cuantificar estos parámetros en una escala arbitraria que nos permite comparar el flujo sanguíneo y la actividad metabólica entre diferentes especímenes. **Conclusiones:** El análisis mediante estas secuencias de resonancia magnética puede proporcionar información adicional sobre la estructura y comportamiento del cartilago de crecimiento comparado con los métodos tradicionales de estudio. Se trata de una nueva aplicación para secuencias especializadas de resonancia magnética.

Palabras clave: Resonancia magnética, coeficiente de difusión, contenido de agua, cartilago de crecimiento.
(Rev Mex Ortop Ped 2012; 1: 35-39)

SUMMARY

Background: Experimental model to describe and measure the blood flow and cartilage metabolism from the growth plate of the tibiae in a porcine animal model using specialized Magnetic Resonance sequences adapted to bone analysis. **Method:** Four *ex vivo* normal tibiae and six *in vivo* from skeletally-immature growing animals were studied using ordinary T1 and T2 MRI. The results were compared and then analyzed using specialized sequences of Apparent Diffusion Coefficient and Water Content. **Results:** Water Content and DTI images can measure the amount and freedom of movement of the water molecules inside a tissue. This measurements, after being analyzed, can be interpreted as blood flow and cellular metabolism. Using a specialized software these parameters can be quantified using an arbitrary color scale that allows to compare the blood flow and metabolic activity between specimens. **Conclusion:** Information obtained from these MR sequences can provide additional information about the structure and growth plate behavior compared to the traditional study methods. This may be a new application for specialized MR sequences.

Key words: Magnetic resonance, diffusion tensor images, water content, growth plate.
(Rev Mex Ortop Ped 2012; 1: 35-39)

* Laboratorio de Investigación en Ortopedia, Hospital Universitario, Universidad de Aarhus, Dinamarca.

** Centro de Resonancia Magnética, Hospital Universitario Skejby, Universidad de Aarhus, Dinamarca.

*** Departamento de Ortopedia Pediátrica E, Hospital Universitario NBG, Universidad de Aarhus, Dinamarca.

INTRODUCCIÓN

Metabolismo se define como: «Conjunto de reacciones químicas que efectúan constantemente las células de los seres vivos con el fin de sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples, o degradar aquéllas para obtener éstas». ¹ Técnicas de imagenología permiten, en diferentes grados, predecir u obtener

un panorama de la función celular mediante la utilización de radioisótopos.² Actualmente, estas técnicas son utilizadas en el campo clínico, principalmente en las áreas de Oncología y Neurología. Así mismo, existe un gran interés de parte de los grupos de investigación para su desarrollo, lo cual se traduce en constantes innovaciones y mejoras.

Una de las principales ventajas de los estudios de imagen es que son no invasivos. Sin embargo, el uso de radioisótopos y de radiación ionizante representan un riesgo que, aunque es menor y controlado, muchas veces ponen en duda su implementación, principalmente en el campo de la Pediatría.

La resonancia magnética (RM) es una tecnología utilizada en el campo de la Ortopedia desde 1984, cuando Li y colaboradores³ implementaron un protocolo para estudios de imagen de rodilla basados en RM. Tradicionalmente, las técnicas basadas en emisión de rayos X –principalmente radiografía y tomografía– son consideradas como el estándar de oro para los estudios de imagen en hueso. Sin embargo, es imposible visualizar directamente el cartílago mediante estas técnicas y gran parte del análisis se realiza al interpretar el «espacio» o imagen radioopaca generada por las estructuras cartilaginosas. Frecuentemente encontramos métodos que combinan técnicas de RM con tomografía, lo cual se traduce en una visualización directa de los espacios articulares y de las estructuras cartilaginosas.⁴

En la actualidad, las técnicas de RM han demostrado que si bien no son capaces de igualar la resolución de imagen obtenida mediante técnicas de tomografía, son capaces de brindar información funcional. Debemos considerar que la RM es capaz de mostrar

imágenes de tejidos blandos, incluyendo cartílago y aquéllos semejantes al cartílago como las placas de crecimiento óseas.⁵ En el campo de la Ortopedia, las técnicas no invasivas de estudio tienen como principal objetivo la arquitectura y microarquitectura.⁶ Sin embargo, poco a poco se implementan técnicas desarrolladas para otras disciplinas médicas para el estudio del sistema musculoesquelético.

Tal es el caso de las secuencias de contenido de agua⁷ y de difusión⁸ de RM, las cuales fueron diseñadas dentro del campo de la Neurología y posteriormente aplicadas también en Oncología.

El cartílago y la placa de crecimiento ósea (*Figura 1*) son estructuras homogéneas, bien organizadas, que se componen principalmente por agua en un 85%. El resto es colágena, predominando la tipo II. Al microscopio se observa una microarquitectura simple con sólo una estirpe celular (condrocito) que es constante en los tejidos cartilaginosos y, en el caso del cartílago de crecimiento, presenta una transición de condrocito a osteocito⁹ pasando por diferentes etapas que se resumen en una hipertrofia y posterior mineralización del condrocito.

Al calcular el contenido de agua del cartílago y analizarlo, así como la libertad con la que ésta se mueve dentro del tejido (secuencias de difusión de RM), podemos estudiar la integridad de las fibras de colágena y la interacción entre los condrocitos. Un aumento en el contenido de agua es sugestivo de edema, mientras un contenido disminuido sugiere degradación. El cartílago de crecimiento es probablemente la región más activa (metabólicamente hablando) del hueso y el 100% de las señales intercelulares se llevan a cabo a través de la membrana celular teniéndolo como so-

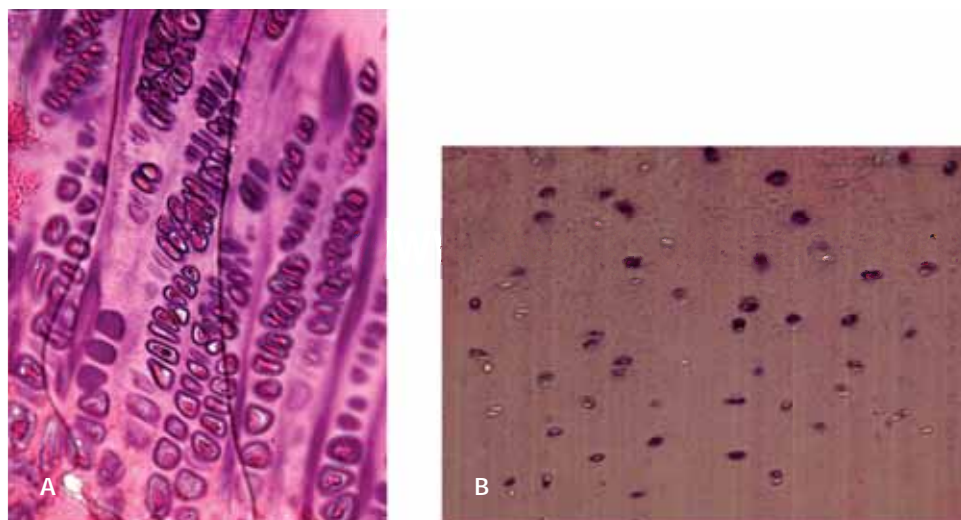


Figura 1. Cartílago de crecimiento (A) y cartílago articular (B); imagen 20x, eosina-hematoxilina. En el cartílago de crecimiento se observan detalladamente las zonas de reclutamiento, hipertrofia y calcificación (de arriba hacia abajo). El cartílago articular muestra una clara arquitectura homogénea.

porte únicamente, por lo que podemos analizarlo de la misma manera que al cartílago articular.

Así, modificamos secuencias de contenido de agua y difusión diseñadas para tejido cerebral, para aplicarlas a tejido óseo y cartílago en un modelo animal (porcino) con el objetivo de describir la arquitectura y cuantificar indirectamente el metabolismo celular de los condrocitos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio fue autorizado por el Comité de Ética de Estudios Animales del Reino de Dinamarca y avalado por la Universidad de Aarhus. Parámetros de bienestar animal, así como de su buen manejo, fueron respetados acatando a los estándares internacionales.

Todas las imágenes fueron obtenidas utilizando un equipo de resonancia magnética Siemens MAGNETOM Avanto 1.5 Tesla clinical MR scanner + Sun workstations and PCs. LINUX. Posteriormente, las imágenes fueron analizadas utilizando el *software* Syngo fast View VX57H31 Copyright Siemens AG, Berlin und München 2004-2008. Para la interpretación del contenido de agua se utilizó el *software* (*freeware*) de análisis de mapas T1 y T2 Siswin versión 0.9, Copyright 2008.

En una etapa inicial, analizamos cuatro tibias porcinas (de la raza *Lance Duroc*) normales *ex vivo* poniendo énfasis en la placa de crecimiento y la metáfisis. Estas tibias fueron obtenidas de animales sanos, aún en crecimiento y preservadas en congelamiento a -15 °C. Fueron analizadas a una temperatura constante de 21 °C a fin de obtener una intensidad de señal homogénea y similar de todos los especímenes.

Habiendo optimizado las secuencias se analizaron *in vivo* tres puercos (seis tibias) de la raza *Lance Duroc* de 35 kg de peso en promedio. Todos ellos con inmadurez esquelética y aún en crecimiento. Todos los animales fueron certificados como sanos por personal veterinario y no se observaron variantes anatómicas. Todos los estudios fueron realizados bajo anestesia general con propofol (5 mg/kg/h). Los animales fueron premedicados con ketamina (5mg/kg) y midazolam (0.5 mg/kg), e intubados y conectados a un ventilador mecánico durante todo el estudio (frecuencia respiratoria: 16, volumen: 400 mL, 30% oxígeno). Como coadyuvante se utilizó una infusión de fentanil (0.025 mg/kg/h) a fin de suprimir cualquier sufrimiento al animal durante la manipulación.

En todos los casos se obtuvieron imágenes de difusión y se calculó el contenido de agua mediante la generación de mapas T1 de RM con dos ángulos (A y

B) y un método de inversión de recuperación de señal calculado de la siguiente ecuación: $1/W = A + B/T1$ (W: gramos de agua por gramo de tejido, T1: valores de intensidad en imágenes T1 de RM).

RESULTADOS

Los especímenes analizados *ex vivo* proporcionaron imágenes de baja calidad resultado de una pobre intensidad de señal. Existe una deshidratación *post mortem* de cualquier tejido, lo cual afecta la intensidad de señal registrada por los aparatos de RM, ya que el resonador mide la intensidad de señal generada por el *lattice* o *spin* (según la secuencia utilizada) de los electrones en el agua en un tejido. Así mismo, la temperatura influye en la calidad de la señal, haciéndola menor a temperaturas inferiores a 37 °C. A temperaturas bajas, la libertad de movimiento de un electrón es menor.¹⁰

Utilizando una escala de color arbitraria en las imágenes de contenido de agua (*Figura 2*), se puede comparar las diferentes regiones dentro del hueso. Esto

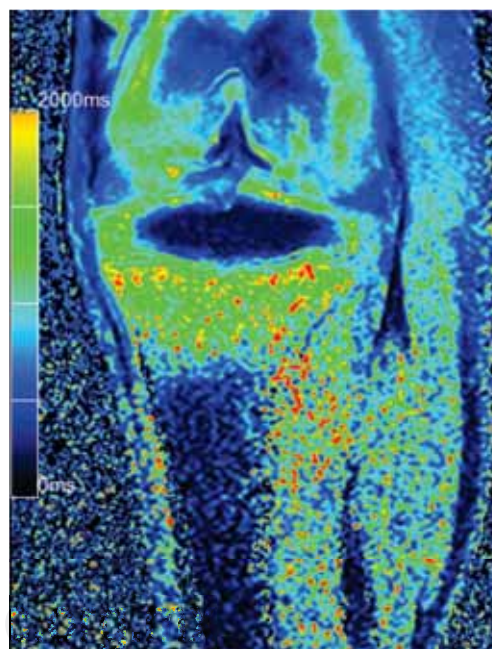


Figura 2. Contenido de agua in vivo. Se puede observar la región proximal de la tibia izquierda y en la parte superior la epífisis femoral correspondiente. Utilizando la escala de color podemos analizar el mayor o menor metabolismo en las diferentes regiones; el cartílago y la metáfisis son las zonas más activas en esta imagen. Nótese cómo la señal muscular (aunque es pobre) siempre presenta un metabolismo aumentado en comparación con el hueso.

nos permite analizar la integridad de los tejidos e indirectamente, la capacidad metabólica de los mismos.

Las secuencias de coeficiente de difusión nos dan imágenes que muestran la dirección de movimiento del agua (*Figura 3*). Nuevamente al colorear arbitrariamente estas imágenes, podemos observar un patrón que sugiere la dirección de movimiento, lo cual se puede interpretar inespecíficamente como flujo sanguíneo. Es importante mencionar que la difusión dentro del cartílago también arroja imágenes coloreadas, aunque en este caso encontraremos un patrón más homogéneo y sugerente de movimiento de agua solamente.

DISCUSIÓN

La resonancia magnética es una tecnología que si bien se utiliza desde hace más de 20 años dentro de los diferentes campos clínicos de la medicina, es objeto de investigación e innovación por parte de muchos grupos en todo el mundo. Sus alcances y aplicaciones en la evaluación de funciones de los diferentes tejidos como método diagnóstico no invasivo, la hace competir con otras tecnologías como



Figura 3. Coeficiente de difusión en la tibia proximal derecha. Se puede observar (en azul) cómo en la metáfisis existe un flujo sanguíneo, lo cual se ve cada vez menos al aproximarse a la diáfisis. En la epífisis (color rojo) la difusión dentro del cartílago articular provee imágenes de movimiento de agua.

la tomografía con emisión de positrones, la gammagrafía o los estudios tradicionales de imagen con el uso de medios de contraste.

Así, la aplicación de secuencias de RM existentes en otros campos de la medicina (específicamente la Ortopedia), provee de nuevas herramientas diagnósticas.

CONCLUSIONES

Secuencias especializadas de RM como contenido de agua y coeficiente de difusión son potencialmente una herramienta diagnóstica que complementa el estudio funcional del sistema musculoesquelético, en particular, son útiles para describir y evaluar el metabolismo de las estructuras cartilaginosas, de la placa de crecimiento y de la metáfisis ósea.

Referencias

1. *Diccionario de la Real Academia Española*. URL: www.rae.es (2012)
2. González JE, Lee M, Barniquinero JF, Valente M, Roch-Lefèvre S, García O. Quantitative image analysis of gamma-H2AX foci induced by ionizing radiation applying open source programs. *Anal Quant Cytol Histol* 2012; 34(2): 66-71.
3. Li KC, Henkelman RM, Poon PY, Rubenstein J. MR imaging of the normal knee. *J Comput Assist Tomogr* 1984; 8(6): 1147-1154.
4. Bézière N, Decroos C, Mkhitarian K, Kish E, Richard F, Bigot-Marchand S, Durand S, Cloppet F, Chauvet C, Corvol MT, Rannou F, Xu-Li Y, Mansuy D, Peyrot F, Frapart YM. First combined *in vivo* X-ray tomography and high-resolution molecular electron paramagnetic resonance (EPR) imaging of the mouse knee joint taking into account the disappearance kinetics of the EPR probe. *Mol Imaging* 2012; 11(3): 220-228.
5. Peterfy CG, Dicarlo JC, Olech E, Bagnard MA, Gabriele A, Gaylis N. Evaluating joint-space narrowing and cartilage loss in rheumatoid arthritis by using MRI. *Arthritis Res Ther* 2012; 14(3): R131.
6. Patsch JM, Burghardt AJ, Kazakia G, Majumdar S. Noninvasive imaging of bone microarchitecture. *Ann N Y Acad Sci* 2011; 1240: 77-87. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2011.06282.x
7. Gerriets T, Walberer M, Ritschel N, Tschernatsch M, Mueller C, Bachmann G, Schoenburg M, Kaps M, Nedelmann M. Edema formation in the hyperacute phase of ischemic stroke. Laboratory investigation. *J Neurosurg* 2009; 111(5): 1036-1042.
8. Hannoun S, Durand-Dubief F, Confavreux C, Ibarrola D, Streichenberger N, Cotton F, Guttmann CR, Sappey-Marinié D. Diffusion tensor-MRI evidence for extra-axonal neuronal degeneration in caudate and thalamic nuclei of patients with multiple sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol* 2012.
9. Accadbled F, Foster BK. Management of growth plate injuries. In: Benson M, Fixsen J, Macnicol M, Pasch K. *Children's orthopaedics and fractures*. 3rd ed. Springer; 2010. Chapter 41; p. 687-699.

10. Lu A, Daniel BL, Kaye E, Pauly KB. MRI of frozen tissue demonstrates a phase shift. *Mag Res Med* 2011; 66(6): 1582-1589. DOI: 10.1002/mrm.22953

Correspondencia:
Juan Manuel Shiguetomi Medina, MD,
PhD-stud

Aarhus University Hospital NBG
Noerrebrogade 44, building 1-A
8000 Aarhus C
Denmark
Tel: +45 7846 4122
Fax: +45 7846 4150
E-mail: jmshigue@gmail.com