

Dra. Pilar Dies Suárez,¹
 Dr. Juan José Ortíz Retana,²
 Dr. Rafael Rojas,³
 Dra. Perla Salgado,¹
 Dr. Gerardo Reynoso,¹
 Dr. Julián Sánchez Cortazar,¹
 Dr. Alfredo Rodríguez⁴
 y Dr. Fernando A. Barrios²

Espectroscopía In vivo por Resonancia Magnética de Protones en la diferenciación de esclerosis múltiple de exacerbación-remisión y esclerosis múltiple crónica progresiva secundaria

1 De la División de Imagenología del Hospital ABC, 2Centro de Neurobiología, UNAM, 3LSU Medical Sciences Building, New Orleans, USA, 4Universidad Autónoma Metropolitana. Copias. (**copies**) Dra. Pilar Dies Suárez
 Calle Sur 136 No. 116 Col. Las Américas, México, D.F.
 © Sociedad Mexicana de Radiología e Imagen, A.C.

RESUMEN: En este trabajo se presenta un estudio de la esclerosis múltiple por medio de técnicas cuantitativas de espectroscopía por resonancia de protones. Esta técnica es importante ya que permite, de forma novedosa, hacer una cuantificación de algunos de los metabolitos principales en el sistema nervioso central. Se sabe que en esclerosis múltiple hay un efecto en las concentraciones relativas de metabolitos. Para poder medir de

forma directa in vivo en este trabajo, primeramente se obtuvieron varios estudios iguales para sujetos control, para tener una base de datos contra la que posteriormente se comparan las medidas tomadas de pacientes. En la actualidad nuestro grupo cuenta con resultados promedio de 24 controles, los que se comparan con las medidas de pacientes, a esta fecha tenemos dos pacientes estudiados y se continuará con este estudio.

Introducción

Esclerosis múltiple

La esclerosis múltiple representa el desorden desmielinizante más frecuente, después de la vasculopatía relacionada con la edad. El sexo femenino se ve afectado en el 60% de los casos de esclerosis múltiple y la sintomatología de este padecimiento inicia en general entre los 20-40 años de edad, siendo poco común su presentación después de los 50 años de edad o en pacientes pediátricos. La etiología es desconocida en la actualidad, sin embargo se han sugerido teorías que involucran tanto factores genéticos, en los que se ha observado que el riesgo para el desarrollo de esta patología en personas con familiares en línea directa es 30 a 50 veces mayor que el riesgo de la población en general y factores ambientales como el estrés. La historia natural de la enfermedad se puede dividir de la siguiente manera:

1. Esclerosis múltiple clásica o enfermedad de Charcot que tiene una variación según la presentación clínica que consiste en:

- a. Exacerbación - remisión
 - b. Crónica secundaria progresiva
 - c. Enfermedad de Marburg
2. Óptica o enfermedad de Devic
 3. Esclerosis concéntrica o enfermedad de Balo
 4. Esclerosis difusa o enfermedad de Schilder

La sintomatología clásica de este cuadro de esclerosis consiste en neuritis óptica, alteraciones motoras provocadas por el involucro del tracto piramidal, ataxia cerebelar, alteraciones sensoriales, disartria, diplopia, alteraciones en la función sexual, pérdida de la audición, vértigo, y de forma mucho menos común círsis convulsivas, datos de neuropatía periférica y demencia. El diagnóstico clínico se confirma con la presencia de bandas oligoclonales, presentes en el líquido cefalorraquídeo y por un aumento en el índice de IgG que indica un incremento en la síntesis de IgG a nivel de la barrera hematoencefálica.

El protocolo en que se basa este trabajo pretende identificar esclerosis de exacerbación - remisión y diferenciarla de la crónica progresiva por espectroscopía por resonancia,

identificando lesiones específicas o alteraciones en la sustancia blanca, no visualizadas por los métodos de resonancia convencionales y correlacionándolos con la incapacidad neurológica del paciente. Utilizaremos el método de "Expanded Disability Status Scale" (EDSS) creado por Kurtzke y que es el método más usado en la actualidad para valorar alteraciones incapacitantes relacionadas con esclerosis múltiple. En cuanto a los métodos diagnósticos por imagen, la tomografía computada actualmente no se utiliza mucho para el diagnóstico de esclerosis múltiple, debido a que sólo logra visualizar lesiones en el 35% de los pacientes. Con el advenimiento de la Resonancia magnética, este instrumento se ha ido convirtiendo en el método de imagen de elección para la confirmación de esclerosis múltiple. Las lesiones en esta patología se localizan en un 85% de los casos en la región periventricular; en general son alargadas u ovoides. El se-

gundo lugar de afección es a nivel del cuerpo calloso que está afectado en un 50-90% de los casos con placas perpendiculares a esta estructura, con menor frecuencia existe afectación en el tronco del encéfalo y el cerebelo. Generalmente las lesiones son iso o hipointensas en las secuencias ponderadas en T1 e hiperintensas en las secuencias T2 (Figura 1). Las placas pueden ser de reciente aparición y ser captadas con mayor facilidad utilizando medio de contraste (Gadolino, Gd) durante el estudio, lo que acentúa la disfunción en la barrera hematoencefálica, sin embargo el realce es variable y transitorio durante la fase de desmielinización.

A pesar de que el diagnóstico de esclerosis múltiple es clínico, la resonancia puede confirmar la sospecha diagnóstica. Además de que existen criterios para decidir si las lesiones detectadas son o no de esclerosis, Paty y colaboradores mencionan que deben existir tres lesiones mayores de 3 mm de diá-

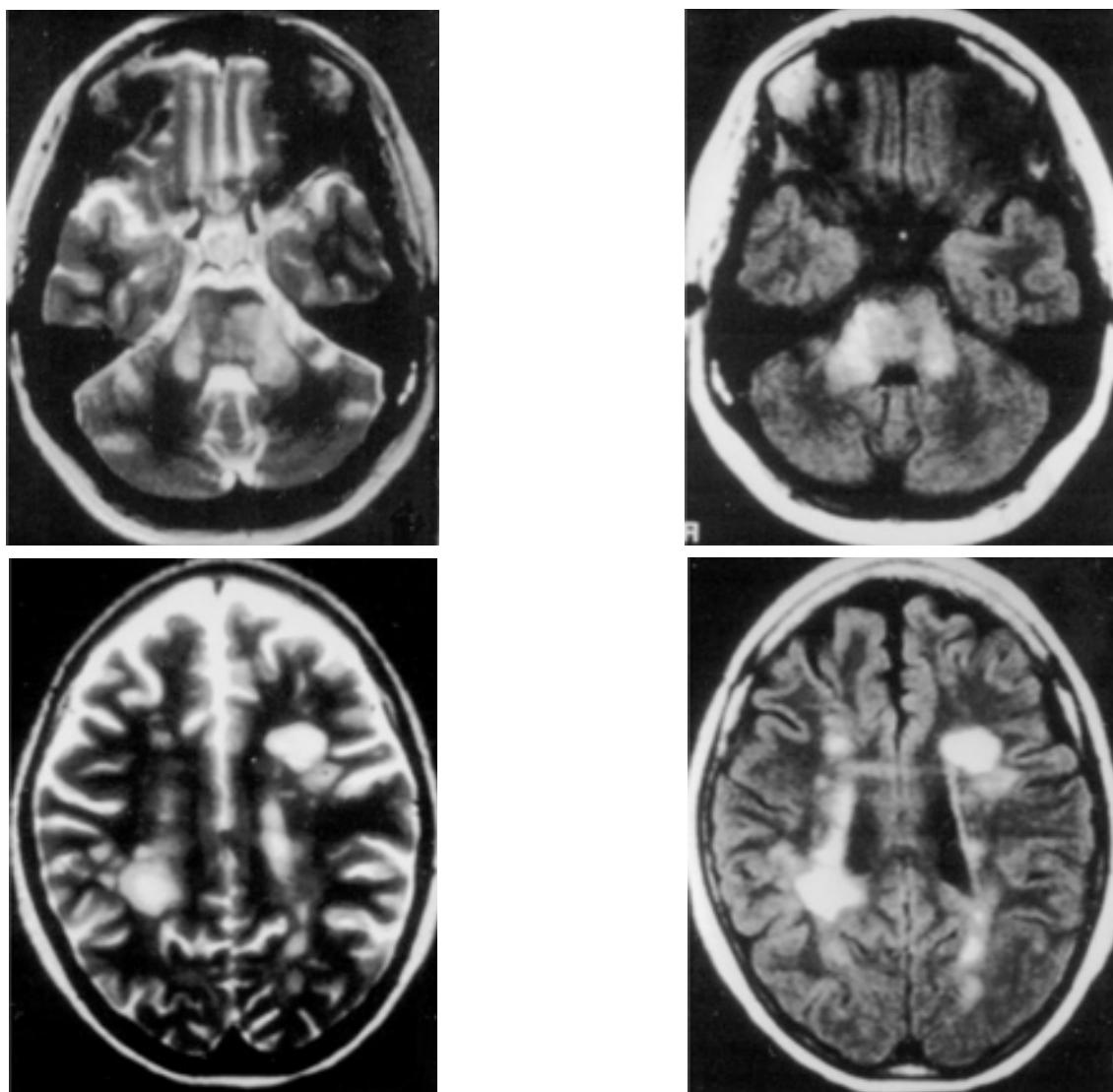


Figura 1. Imágenes por resonancia magnética de un paciente con esclerosis múltiple; en la parte superior se puede apreciar dos imágenes en corte axial adquiridas con una secuencia de pulsos en T2, en la parte inferior se muestran dos cortes axiales del mismo paciente en imagen adquirida con una técnica axial en Fast FLAIR.

metro y una periventricular o cuatro lesiones mayores de 3 mm de diámetro. Fazekas y colaboradores proponen que deben existir por lo menos dos de tres de los siguientes hallazgos; lesiones mayores de 6 mm de diámetro, lesiones en regiones laterales de los ventrículos y lesiones en fosa posterior.

Imagen por Resonancia Magnética en Esclerosis múltiple

La imagen por resonancia magnética utiliza una propiedad de los núcleos de hidrógeno (protones), su momento magnético intrínseco, estos cuando interactúan con un campo magnético externo se alinean con él y si son excitados por medio de un pulso de ondas de radio permanecerán en precesión. Las imágenes por resonancia magnética se forman utilizando la señal emitida por los protones al regresar a su estado de alineamiento con el campo magnético. Para generar una señal que pueda ser amplificada se radia al organismo con ondas de radio de una frecuencia específica que coincide con la de Larmor. La respuesta de los átomos se capta por antenas y estas señales se amplifican y transforman por medio de la transformada de Fourier para producir imágenes de alta definición del organismo en estudio.¹ La espectroscopía por resonancia magnética de protones (1H - MRS, "proton magnetic resonance spectroscopy") utiliza los mismos principios de adquisición de imágenes por resonancia magnética (IRM), sólo que en este caso la transformada de Fourier en lugar de obtener imágenes, está programada para obtener la señal de resonancia que da lugar a un espectro de la contribución en amplitud, dada por la concentración de los diferentes metabolitos en el área que se seleccionó para el estudio^{2,3} La localización espacial se logra aplicando trenes de pulsos estáticos o pulsados, y los métodos actuales para localización en espectroscopía son varios, siendo los más usados: Point resolved surface coil spectroscopy (PRESS), dado que esta secuencia de pulsos usa tiempos de eco (TE) largos, recobra por completo la señal radiada por lo que se requiere menor número de pulsos para obtener el espectro. También por usar TE largos la mayoría de la señal de los metabolitos cerebrales se ve disminuida, exceptuando la señal de la colina (Cho), creatina (Cr), N-acetyl-aspartato (NAA), myoinocitol (mI) y lactato. Utiliza volúmenes de interés ("voxels") de tejido grandes de 3-27 cm.³ Simulated Echo Method (STEAM), esta secuencia de pulsos usa TE cortos; sólo la mitad de las señales radiadas son recuperadas, por lo que se necesita un mayor número de pulsos para disminuir ruido de fondo y aumentar la señal durante la obtención del espectro. Puede utilizar volúmenes de interés de tejido relativamente pequeños de 1 - 3 cm.³

Durante la adquisición se localiza un "voxel", o elemento de volumen de interés en donde se efectúa la medición de RM. Esta medición usa la señal de todo el voxel que debe incluir la mayor cantidad de tejido en estudio en su interior. Actualmente se utilizan estudios en una dimensión por tener un tiempo de adquisición menor. Sin embargo ya existe software comercial capaz de obtener estudios de espectroscopía de adquisición múltiple o multivoxel.

Espectroscopía por RM y Metabolitos

La concentración de los diferentes metabolitos presentes en el sistema nervioso central varía dependiendo de la edad de los pacientes, siendo más notable en menores de 3 años pero clínicamente se ha demostrado que no existen diferencias significativas a partir de los 2 años de edad.⁴

El N-Acetyl aspartato (NAA), es un marcador de la densidad y viabilidad neuronal. Es el pico más grande del espectro y aparece centrado en 2.0 partes por millón (ppm). La diferencia de concentración de este metabolito entre materia gris y blanca no es significativa.

Colina (CHO). Es un neurotransmisor involucrado en la memoria y cognición. Es el segundo pico más alto y aparece en 3.2ppm.

Creatinina (Cr). Probablemente juega un papel importante en el mantenimiento de la energía cerebral como reserva de fosfatos y amortiguador en el reservorio de ATPasa. Aparece en el 3.03ppm.

Lactato. Tiene un comportamiento "doble" apareciendo en el 1.32ppm y en 4.1ppm aunque este último por estar cerca del agua casi siempre desaparece.^{5,6}

El patrón de espectroscopía descrito anteriormente es el habitual en sujetos sin alteraciones neurológicas y los diversos metabolitos se pueden aumentar o disminuir en patologías específicas como meningiomas, tumores gliales, eventos isquémicos, y patologías degenerativas. Existen otros metabolitos como el myoinositol, glutamato, glutamina, alanina y lípidos que tienen en la actualidad menos implicación clínica.⁴

Hipótesis

Con la resolución de la espectroscopía por resonancia de protones a 1.5T y análisis fuera de línea es posible hacer medidas cuantitativas en distintas áreas del cerebro en vivo, gracias a estas medidas es posible estimar distintas concentraciones de metabolitos y aplicarlas a la evaluación clínica de enfermedades degenerativas como la esclerosis múltiple. La espectroscopía en la actualidad se ha usado principalmente en la evaluación de metabolitos en alteraciones neoplásicas neurológicas y procesos no neoplásicos como lesiones por isquemia. El presente estudio pretende demostrar que, mediante el análisis espectroscópico cuantitativo de la substancia blanca, otras estructuras cerebrales y placas identificadas en pacientes con esclerosis múltiple típicos o de exacerbación / remisión de crónicos progresivos secundarios.³

Material y Métodos

Sujetos Control

Todos los estudios de espectroscopía por resonancia de protones que se han adquirido hasta el momento (y los que se adquirirán en un futuro) se han llevado a cabo en el equipo

de resonancia magnética del Hospital ABC, (GE Signa Horizon LX versión 8.3 de 1.5 Tesla). Así como los que se realizarán en un futuro. Se utilizaron secuencias de pulsos⁶ y la antena de cuadratura de cabeza del instrumento, sin modificación alguna (General Electric Medical Systems, Milwaukee, USA). Como parte inicial del proyecto y para tener una referencia en la estabilidad del instrumento se adquirió una serie de estudios de sujetos control en distintas áreas del sistema nervioso central, para poder tener una base de datos de medidas de metabolitos contra la cual se puedan comparar los casos con patología. Con este fin durante el último año se han reunido varios estudios de espectroscopía por resonancia magnética de sujetos sanos a los que se les practicó el siguiente protocolo de imagen:

- Localizador fino y de espectroscopía, típicos de GE, basados en técnicas T1.
- T2 axial, con TE = 102ms, TR = 4000ms, NEX = 2, Phase FOV de 1, en matriz de 512 X 512, con sht/sp = 7.0/2.5mm, en un FOV = 24cm.
- T1 sagital y axial, con la secuencia de pulsos de TE = 14ms, TR = 300 ms, NEX = 2, phase FOV de 1 en matriz de 256 X 192 con sht/sp = 7.0/2.5mm en un FOV = 24cm.
- FLAIR axial, con TE = 172ms, TR = 8000ms y NEX = 4, en una matriz de 256 X 256, con sht/sp = 7.0/2.5mm, en un FOV = 24cm.
- Espectroscopía, dos técnicas en voxel único con las secuencias; probe -p para PRESS de TE = 144ms TR = 1500ms y NEX = 8 y probe -s para STEAM con TE = 30ms, TR = 1535ms, con NEX = 8.

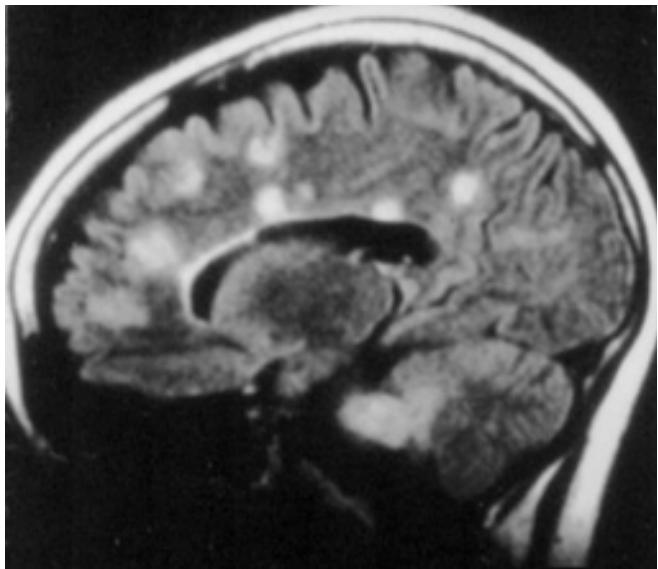
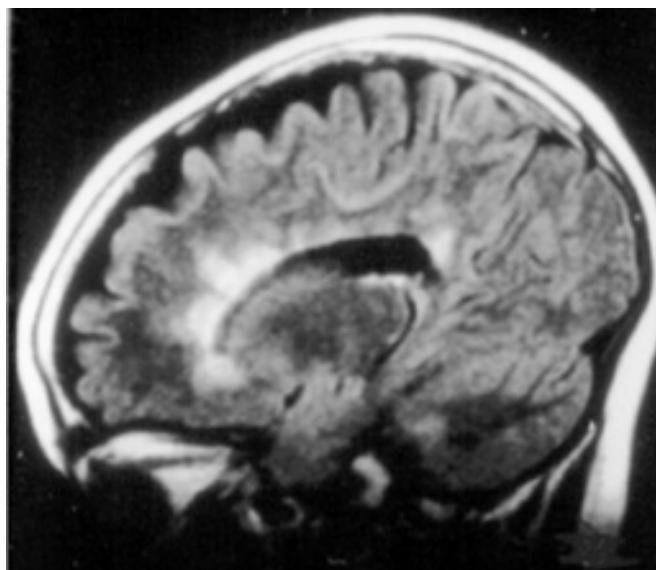
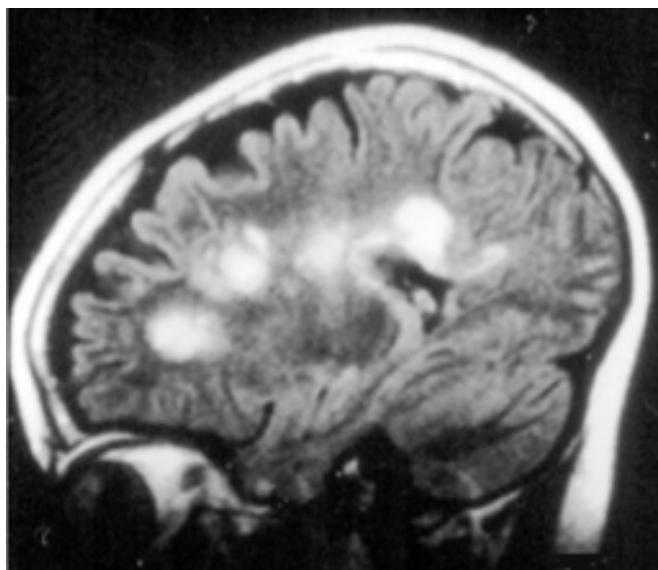


Figura 2. Imágenes en corte sagital por resonancia magnética del mismo paciente de la Figura 1, en secuencias de pulso Fast FLAIR. En este tipo de corte se puede apreciar la extensión del daño causado por la enfermedad en la materia blanca, hacia la unión calloso-septal.

Pacientes con Esclerosis Múltiple

A los pacientes con diagnóstico de esclerosis múltiple clínico o de imagen y candidatos que sean referidos al servicio, se les efectuará el mismo protocolo de imagen que se practicó a los sujetos control, pero adicionalmente se extenderá el estudio para incluir una secuencia T1 axial y coronal con Gadolinio; en caso de ser necesario para estudios del nervio óptico, se incluirá una técnica con supresión grasa y Gadolinio.

En estos casos la atención será enfocada al estudio de la substancia blanca aparentemente normal en pacientes con esclerosis múltiple. Las secuencias de espectroscopía se localizarán para estudiar las placas de esclerosis, en pacientes con los dos tipos de esclerosis que nos interesan. Se elegirá el volumen de interés en el momento del estudio y en las secuencias que sean más convenientes; en los pacientes a los que se les estudiará sólo substancia blanca, se intentará, dentro de las limitaciones técnicas del localizador, de no tomar muestras con áreas de substancia gris ni evidencia de lesiones en esta zona. Si no presentan alteración a este nivel se tomará la muestra de espectroscopía, a nivel del centro semioval frontoparietal. Los pacientes a los que se les aplique espectroscopía en las placas se deberá primero realizar cortes finos de 1 x 1 x 1 mm en los tres planos (coronal, sagital y axial) para asegurar que la placa tenga el volumen necesario para que el voxel del espectro no tome muestras inadecuadas, y los resultados por volumen parcial se minimicen.

Una vez obtenidos los espectros de controles y pacientes, los datos originales sin transformación alguna (crudos), se transfieren a través de la red a una estación SUN sparcstation

5 (SUN Microsystems Inc. Mountain View, CA, USA) para ser analizados utilizando el programa SAGE (General Electric Medical Systems, Milwaukee, USA); en particular se aplicará el proceso de ajuste de picos para sustraer el fondo de señal de agua, para integrar el espectro y obtener las amplitudes. Los resultados de los pacientes serán comparados con los promedios de los resultados para los sujetos control, que son nuestro patrón, para medir si existen o no alteraciones en la concentración de los diferentes metabolitos. Una gráfica del promedio de cinco espectros PRESS, tomados en el área del núcleo caudado de sujetos control se puede observar en la Figura 3. Se puede apreciar el proceso de ajuste de picos con el que es posible calcular el área correcta bajo la curva, de donde posteriormente se puede relacionar la concentración. El pico alto del NAA siempre se localiza en estos estudios en las dos partes por millón (2ppm). Finalmente los resultados se compararán con otros estudios y con correcciones relacionadas a la edad^{3,4}.

Resultados

Actualmente este trabajo está en proceso y cuenta con estudios en más de 26 sujetos control que tienen que ser agrupados de forma correcta. Se ha iniciado el estudio en pacientes, que en este momento son dos, el estudio se considerará terminado cuando contemos con diez o más pacientes. En este momento se han analizado espectros de diez sujetos controles en forma cuidadosa y los resultados preliminares de las medidas de área bajo la curva para los cuatro meta-

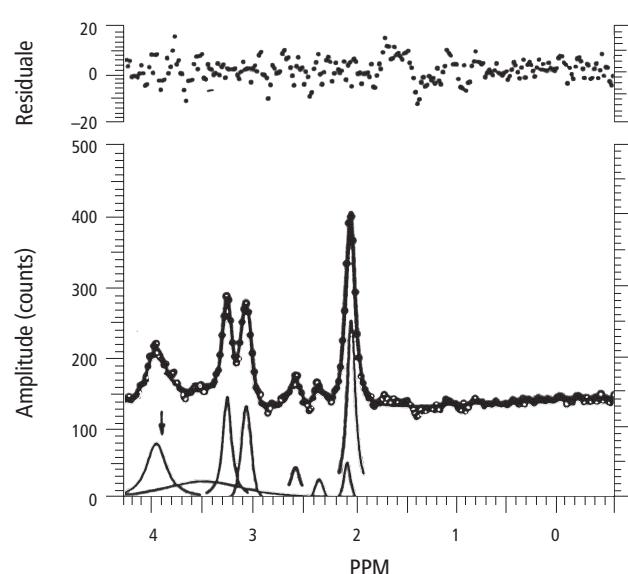


Figura 3. Gráfica del promedio de seis espectros por resonancia de protones de sujetos control, obtenidas con la técnica PRESS, en el área del núcleo caudado izquierdo. Se puede apreciar la descomposición del espectro promedio, en cada uno de sus picos principales para la evaluación de cada metabolito a través del área bajo la curva con corrección de ruido de fondo.

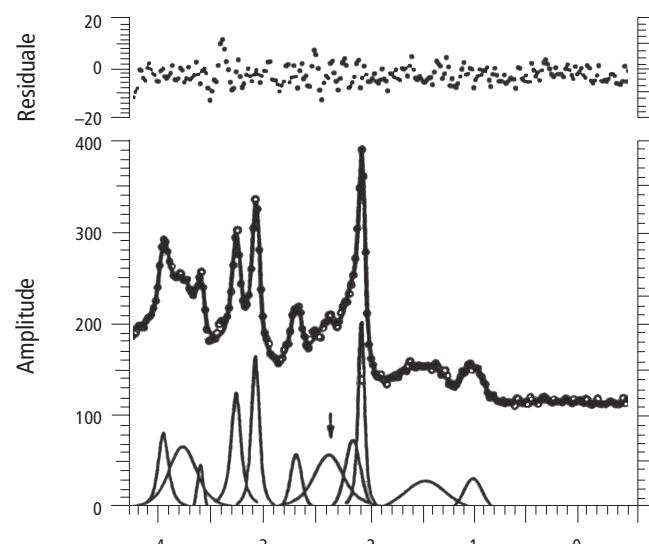


Figura 4. Gráfica del promedio de seis espectros por resonancia de protones (1H - MRS) se sujetos control, utilizando el programa "probe-s", técnica STEAM, en el área del núcleo caudado izquierdo. Se puede apreciar la descomposición del espectro promedio, en cada uno de sus picos principales para la evaluación de las amplitudes en área de cada metabolito con el fondo sustraído. Este caso debe contrastarse con aquel por técnica PRESS, en particular con el número de picos utilizados para su descomposición.

bolitos principales tomadas de el espectro promedio (Figuras 3 y 4) de controles se listan a continuación: Para los estudios de 10 controles en el núcleo caudado izquierdo, tenemos las proporciones en el área de los picos de metabolitos, con técnica PRESS; N AA/Cr = 2.24, Cho/Cr = 1.33 y mI/Cr = 1.67, con una variabilidad máxima entre sujetos del 42%. Este error es alto por que hace falta hacer un estudio estadístico de varianza y no tomar la variación máxima. En temporal izquierda ($n=7$) con técnica PRESS; N AA/Cr = 1.52, Cho / Cr = 1.349, mI/Cr = 0.2141 con una variabilidad máxima similar a la anterior. En materia blanca ($n=2$) con la misma técnica; N AA /Cr = 1.2264, Cho / Cr = 0.9927, mI/Cr = 0.9291.

Los resultados preliminares para los dos pacientes comparados con los promedios en materia blanca de los controles, nos muestran un decremento promedio muy acentuado en el NAA del 29%. Es importante mencionar que el NAA es un marcador del "bienestar" neuronal, un decremento en el myoinositol del 82%, en la creatina del 9% y en la colina del 31%. En el caso del lactato se detecta un aumento en los picos que lo relacionan. El error estadístico de estos resultados es elevado ya que contamos con sólo dos sujetos y hace falta incrementar el número de pacientes, para que el análisis tenga significancia estadística.

Discusión

La esclerosis múltiple es una entidad clínica neuropatológica heterogénea. Se han identificado patrones de enfermedad distintos, siendo los más característicos la enfermedad de recidivas y remisiones y la crónica progresiva. A pesar de que las imágenes por resonancia magnética muestran diferencias entre ambas entidades, la correlación entre el volumen de las lesiones y la incapacidad neurológica de los pacientes permanece aún sin poder explicarse.

Las diferencias pueden estar en relación a la existencia de alteraciones en la substancia blanca que aparenta ser normal. Lo que si sabemos es que la alteración a nivel axonal juega un papel importante en el desarrollo de las placas de esclerosis.

Podemos tener pacientes con datos de enfermedad clínicamente inicial, y que por resonancia magnética correspondan a etapas avanzadas de la misma, por lo que es difícil predecir el curso clínico en fases iniciales de la enfermedad.

La espectroscopía por resonancia magnética es una técnica que puede detectar potencialmente disfunción axonal, pérdida axonal o desmielinización y puede ser más sensible, para la detección de lesiones en materia blanca aparentemente normal que las imágenes por resonancia magnética. Scale (EDSS) creado por Kurtzke es el método mas usado en la actualidad para valorar alteraciones de incapacitantes relacionadas con esclerosis múltiple.

Agradecimientos

Los autores agradecen al T.R. G. Reynoso y S. Estrada por su asistencia técnica durante la captura de las imágenes y a la Lic. M.L. Lara Ayala por la lectura crítica del documento durante su preparación. Así como a G.E. Sistemas Médicos de México y a Schering Mexicana por su decidido apoyo a nuestro grupo, dedicado a la investigación en resonancia magnética. Este trabajo cuenta con apoyo del CONACYT, donativo R31162-A, una parte de los datos utilizados en este trabajo forma parte del "Banco Digital de Cerebros en Red" iniciado por dicho donativo.

Abstract

In this paper we study multiple sclerosis (MS) by means of spectroscopic quantitative techniques with proton magnetic resonance. This technique is important because it allows quantification of some of the principal metabolites in the central nervous system. It is known that in MS exist a specific concentration of metabolites directly related to the disease. In the study we first measured the metabolites in a control group of healthy individuals, and then compared them with measures taken from a group of patients with MS. To this day we have a control group of 24 individuals, and 2 patients of MS, and the objective is to continue studying more patients with the disease.

Referencias

1. S.W. Atlas. Magnetic Resonance Imaging of the Brain and Spine. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, U.S.A., second edition, 1997.
2. Govindaraju V, Young K, Maudsley A. Proton nmr chemical shifts and coupling constants for brain metabolites. *NMR in Biomedicine*, 13:129-153, 2000.
3. Cucurella MG, Rovira A, Río J, Pedraza S, Tintoré MM, Montalbán X, Alonso J. Proton magnetic resonance spectroscopy in primary and secondary progressive multiple sclerosis. *NMR in Biomedicine*, 13:57-63, 2000.
4. Pfefferbaum A, Adalsteinsson E, Spielman D, Sullivan E, Lim K. In vivo spectroscopic quantification of the acetate moiety, creatine and choline from large volumes of brain gray and white matter: Effects of normal aging. *Magnetic Resonance in Medicine*, 41:276-284, 1999.
5. Schirmer T, Auer DP. On the reliability of quantitative clinical magnetic resonance spectroscopy of the human brain. *NMR in Biomedicine*, 13:28-36, 2000.
6. Brooks WM, Friedman SD, Stridley CH. Reproducibility of 1H-mrs in vivo. *Magnetic Resonance in Medicine*, 41:193-197, 1999.
7. Prorok RJ, Sawyer AM. Fast Imaging Techniques, Signa Advantage Applications Guide, volume IV E8804DC. G.E. Medical Systems, Milwaukee, U.S.A., 1992.