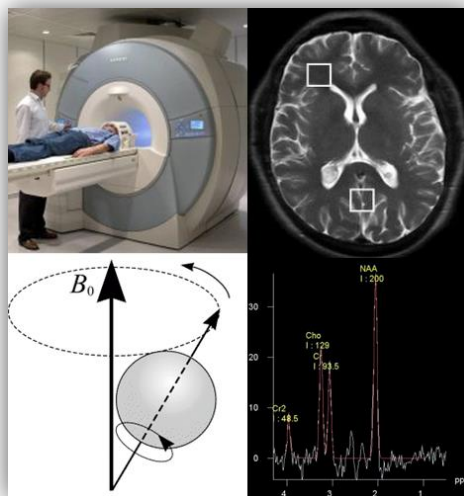




## Trabajo de Fin de Grado

# Técnicas de Neuroimagen y su utilidad en el conocimiento de la etiología de los Trastornos del Espectro del Autismo (TEA)

## Neuroimaging techniques and their usefulness in understanding the etiology of Autism Spectrum Disorders (ASD)



Daniel Hernández Hdez.

Grado en Biología, Departamento de Biología animal, Geología y Edafología

Julio, 2015

<b>SOLICITUD DE DEFENSA Y EVALUACIÓN TRABAJO FIN DE GRADO Curso Académico: 2014/2015</b>	<b>ENTRADA</b>  Fecha: Núm:
--	--------------------------------------

**Datos Personales**

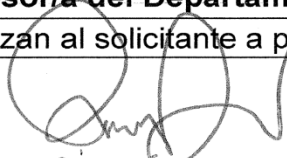
Nº DNI o pasaporte:	Nombre y Apellidos:
42237592R	Daniel Hernández Hdez.
Teléfono:	Dirección de correo electrónico:
636632278	da-dani@hotmail.com

**SOLICITA** la defensa y evaluación del Trabajo Fin de Grado

**TÍTULO**

Técnicas de Neuroimagen y su utilidad en el conocimiento de la etiología de los Trastornos del Espectro del Autismo (TEA)
---

**Autorización para su depósito, defensa y evaluación**

D./Dña. Mario Díaz González	
Profesor/a del Departamento de Biología Animal, Geología y Edafología	
y D./Dña.	
Profesor/a del Departamento de	
autorizan al solicitante a presentar la Memoria del Trabajo Fin de Grado	
 Fdo.: MARIO DÍAZ	Fdo.:

La Laguna, a 7 de Julio de 2015

Firma del interesado/a



**SR/A. PRESIDENTE DE LA COMISIÓN DE GRADO DE LA FACULTAD DE BIOLOGÍA**

---

# ÍNDICE

<b>1 INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 ANTECEDENTES HISTÓRICOS</b> .....	<b>1</b>
1.2 ESPECTROSCOPIA POR RESONANCIA MAGNÉTICA .....	4
1.2.1 Principios físicos de la técnica .....	5
1.2.2 Fenómeno de apantallamiento o protección magnética por los electrones. ....	8
1.2.3 Componentes del equipo de resonancia magnética.....	9
1.2.4 Aplicaciones.....	10
<b>2 JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVO</b> .....	<b>11</b>
2.1 JUSTIFICACIÓN .....	11
2.2 OBJETIVO.....	11
<b>3 MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	<b>11</b>
3.1 TÉCNICA Y OBTENCIÓN DE LOS ESPECTROS DE RESONANCIA MAGNÉTICA .....	12
3.2 LOCALIZACIÓN DEL MUESTREO.....	13
3.3 TRATAMIENTO DE LA SEÑAL .....	15
<b>4 RESULTADOS</b> .....	<b>22</b>
4.1 APLICACIONES CLÍNICAS EN EL ESTUDIO DEL CEREBRO .....	22
4.1.1 Alzheimer .....	22
4.1.2 Parkinson .....	25
4.1.3 Autismo .....	26
<b>5 CONCLUSIÓN</b> .....	<b>27</b>
5.1 PERSPECTIVA DE FUTURO .....	27
<b>6 BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>28</b>

## Resumen

Dentro de las técnicas de neuroimagen encontramos la espectroscopia por resonancia magnética (ERM), es una técnica no invasiva, y que permite el estudio *in vivo* basado en el fenómeno de resonancia magnética nuclear (RMN), que valora las características bioquímicas de los tejidos y es especialmente efectivo a nivel cerebral. De esta manera, proporciona información metabólica, complementaria a la información anatómica obtenida con los estudios convencionales, y ofrece a los investigadores y personal clínico la posibilidad de trabajar con un tipo de información de la que no disponía anteriormente. Esta información metabólica puede ayudar en investigaciones que tienen como objetivo generar protocolos de diagnóstico efectivos ante patologías, que aunque muy extendidas, no presentan sistemas de diagnóstico precisos en la actualidad. Como por ejemplo Alzheimer, Parkinson o TEA (Trastornos del Espectro Autista). Esta aplicación como sistema de diagnóstico, es posible, ya que la mayoría de centros clínicos cuentan con sistemas de RMN en la actualidad, sin embargo debido a la gran variación que permite esta técnica de diferentes parámetros como zona de estudio, tiempo eco, tiempo de repetición, etc. Son necesarias futuras investigaciones de cribado poblacional, que permitan establecer protocolos y valores metabólicos precisos y realizar así un diagnóstico correcto.

**Palabras clave:** Diagnóstico, Espectroscopia por Resonancia Magnética y Resonancia Magnética nuclear.

## Abstract

Within neuroimaging techniques is the magnetic resonance spectroscopy (MRS) which is a noninvasive technique that allows an *in vivo* study based on the phenomenon of nuclear magnetic resonance (NMR), which values the biochemical characteristics of tissues, being especially effective in the brain. In this manner, it provides metabolic information that is complementary to the anatomical information obtained with conventional studies and it also provides researchers and clinicians with the opportunity to work with one type of information that was not available previously. This metabolic information can help in investigations that aim to generate effective diagnostic protocols to pathologies that although widespread, have no precise diagnosis systems today, such as Alzheimer's, Parkinson's or ASD (autism spectrum disorders). This application as a diagnostic system is possible because most clinical centers have MRI systems today, however due to the large variation of different parameters that this technique allows, such as study area, echo time, time repetition, etc. future research of population screening that establish protocols and precise metabolic values to get to a correct diagnosis are necessary.

**Keywords:** Diagnosis, Magnetic resonance spectroscopy and nuclear magnetic resonance.

# 1 Introducción

## 1.1 Antecedentes históricos

Desde los comienzos del estudio del cerebro, entre los que se encuentra el reconocido médico Santiago Ramón y Cajal con su Teoría de la Neurona, hasta nuestros días, el avance en el estudio del encéfalo humano ha sufrido un incremento exponencial llegando al extremo en que se puede estudiar el cerebro en su estado vivo. Aquí es donde entran en juego las técnicas de neuroimagen <sup>12</sup>. Estas tienen dos características generales: Miden o valoran un aspecto o característica del cerebro y traducen la información recibida en una imagen o una expresión numérica para ser estudiada por el investigador.

Entre ellas podemos distinguir de forma generalizada dos tipos de técnicas;

- Estructurales: que se ocupan de medir el tamaño total del cerebro, y las regiones específicas dentro de él. Con ello se pueden relacionar las zonas del cerebro y el desempeño psicológico y detectar también anormalidades.
- Funcionales: que se ocupan de medir la activación cerebral durante alguna actividad psicológica <sup>13</sup>.

Existen diferentes subtipos como la Tomografía axial computarizada, electroencefalograma, magnetoencefalograma, tomografía por emisión de positrones<sup>13</sup>, sin embargo en este trabajo nos centraremos en resonancia magnética nuclear (**RMN**) y más concretamente en la espectroscopia por resonancia magnética (**ERM**)

La **resonancia magnética** constituye un método de exploración de alta complejidad que se fundamenta en los principios básicos del magnetismo de los elementos para su funcionamiento. Actualmente es una técnica ampliamente arraigada en hospitales y centros sanitarios con el fin de generar imágenes de los tejidos del cuerpo humano utilizando radiaciones no ionizantes. Pero esta elevada aceptación por parte del ámbito clínico de la resonancia magnética no se ha tratado de un proceso inmediato, sino que ha sido fruto de numerosas investigaciones y estudios que con el paso de los años hicieron de esta técnica algo fundamental en el estudio del cuerpo humano.

El científico al que se le atribuye la primera descripción de la resonancia magnética nuclear es al físico estadounidense de origen austriaco **Isidor Isaac Rabi** (Figura 1) (1898 –1988). A principios de los años 30 del siglo pasado inició sus investigaciones en el campo de la Física Nuclear, las cuales se centraron en los efectos que tienen los campos magnéticos externos sobre moléculas aisladas. Pero estos estudios no sólo sentaron



**Figura 1:** Isidor Isaac Rabi

las bases de esta técnica, sino que supusieron el desarrollo de otras aplicaciones sumamente importantes como el láser, el reloj atómico y el máser (amplificador de microondas por la emisión estimulada de radiación). Tan importantes fueron los estudios desarrollados por Rabi, que en 1944 recibió el Premio Nobel de Física.<sup>16</sup>

En **1946** dos grupos de investigación descubrieron de forma simultánea e independiente la resonancia magnética nuclear en materia condensada. Uno de estos grupos estaba dirigido por **Edward Purcell** (1912 – 1997) en la Universidad de Harvard y el otro estaba encabezado por **Felix Bloch** (1905 – 1983) en la Universidad de Stanford. Estos dos equipos de investigación se propusieron desarrollar un método más simple para observar la resonancia magnética en los núcleos de moléculas de sólidos y de líquidos en vez de en moléculas aisladas, tal y como hizo Rabi. Para ello se centraron en el estudio del núcleo del átomo de hidrógeno, ya que, al estar compuesto por un único protón, posee un elevado momento magnético. Concretamente, los dos equipos seleccionaron muestras con predominio de hidrógeno y procedieron a someterlas a un campo magnético con el fin de que alcanzaran un equilibrio magnético y térmico (un estado en el que los núcleos se alinean mayoritariamente en sentido paralelo que anti paralelo al campo externo). Una vez alcanzado este equilibrio, procedieron a aplicar ondas de radiofrecuencia (**RF**) con el fin de provocar una inversión de los momentos magnéticos. Lo que Purcell y Bloch esperaban detectar era resonancia magnética al interaccionar los núcleos con el campo de RF, absorbiendo o cediendo energía. Tras conseguir las condiciones necesarias, ambos equipos lograron observar el fenómeno de resonancia que perseguían. Gracias a estos estudios y a su abundancia en el cuerpo humano formando parte de la molécula de agua (H<sub>2</sub>O), el hidrógeno pasó a ser el elemento más importante en la resonancia magnética.<sup>17</sup>

Otro de los actores importantes dentro del desarrollo de la técnica de resonancia magnética es **Erwin L. Hahn** (1921 – Actualidad). Hahn es un físico estadounidense que en **1950**

descubrió un efecto muy importante del que hace uso la resonancia magnética nuclear actual: el **eco del espín**. Se trata de la reorientación del espín magnético tras aplicar una secuencia de pulsos que eliminan la pérdida de magnetización. Este fenómeno de eco es sumamente importante en espectroscopia, tal y como describiremos más adelante.

En **1950** también, dos jóvenes pertenecientes al grupo de investigación de Bloch, **Proctor** y **Yu**, descubrieron un efecto de evidente trascendencia en la resonancia magnética: el **desplazamiento químico**. Este efecto describe la dependencia de los niveles de energía magnética del núcleo con el ambiente electrónico de la molécula. Dicho de otra manera, el desplazamiento químico es el efecto por el cual las señales de una determinada especie isotrópica presentan frecuencias que dependen de la especie química estudiada. Este desplazamiento se define con respecto a una frecuencia de referencia, que en el caso de la resonancia magnética de imagen (la que se lleva a cabo en hospitales, por ejemplo) es el agua, ya que es el compuesto más abundante en el cuerpo humano. A raíz del descubrimiento del desplazamiento químico, apareció otro concepto: el **apantallamiento electrónico**. Que se desarrollara más adelante.



Década de **1970**, momento en el cual se comenzó a aplicar la técnica de resonancia magnética en la toma de imágenes del cuerpo humano. En **1972** el doctor **Raymond Damadian** fabricó junto a su equipo el primer equipo de resonancia magnética (Figura 2), al que bautizó como “Aparato y método para detectar tejidos cancerígenos”.<sup>18</sup>

**Figura 2:** Primer equipo de resonancia

El gran avance que condujo a la resonancia magnética funcional se produjo a principios de la década de 1980, cuando George Radda y sus colegas de la Universidad de Oxford, Inglaterra, descubrieron que la resonancia magnética se podía utilizar para registrar los cambios en el nivel de oxígeno de la sangre, lo que a su vez podía servir para realizar un seguimiento de la actividad fisiológica. En 1990, **Seiji Ogawa** (1934 – Actualidad) informó que en estudios realizados con animales, la hemoglobina desoxigenada colocada en un campo magnético aumentaba la potencia de dicho campo, mientras que la hemoglobina oxigenada no, por lo que es posible crear un mapa de actividad de la zona estudiada gracias a esta técnica.

Como ya se ha indicado la resonancia magnética es ampliamente utilizada en el ámbito hospitalario, principalmente en la generación de imágenes que permiten ver las variaciones de los pacientes con respecto a personas sanas, permitiendo la detección de tumores, lesiones, deterioro macroscópico de diferentes órganos, poniendo especial atención al estudio cerebral. A pesar de que la imagen es lo más demandado en los sistemas de resonancia, cada vez, presentan un papel más relevante la resonancia magnética funcional y la espectroscopia por resonancia magnética.

## 1.2 Espectroscopia por resonancia magnética

Este trabajo está basado en la espectroscopia de resonancia magnética, por lo que resulta necesario describir en detalle esta técnica. De esta manera, en el apartado que se desarrolla a continuación se abordarán los principios físicos en los que se basa y sus aplicaciones.

- **Definición.** La espectroscopia por resonancia magnética, es una técnica para el análisis de las interacciones moleculares y para la identificación y cuantificación de compuestos químicos, los metabolitos (moléculas o compuestos que intervienen en el metabolismo). Se trata pues, de una técnica de exploración biológica.

Gracias a los conceptos que surgieron durante la segunda mitad del siglo XX, como el desplazamiento químico o el apantallamiento electrónico, esta técnica se ha convertido en un potente mecanismo para conocer la estructura de las moléculas, gracias a que algunos núcleos de átomos sometidos a un campo magnético externo absorben energía en el rango de radiofrecuencia. Aunque nos centraremos en el hidrógeno los núcleos atómicos que permiten ser estudiados por la ERM son  $^1\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$  y  $^{23}\text{Na}$ . Estos núcleos se caracterizan por tener un espín igual a  $\frac{1}{2}$ , lo que quiere decir que carecen de un momento cuadrupolar eléctrico que produce ensanchamiento de las señales. Resulta obvio apuntar que la eficacia de los resultados obtenidos por esta técnica depende del nivel de concentración de los núcleos de hidrógeno allí donde se aplica. En el caso de este trabajo, el foco central de análisis es el cerebro. En este órgano las cantidades de los núcleos de  $^1\text{H}$  son más que suficientes, por lo que la ERM funciona perfectamente y los resultados obtenidos son más que concluyentes. Si las concentraciones de los núcleos no fueran suficientes se tendrían que utilizar aparatos de medida de mayor campo magnético, lo que se traduce en una mayor inversión financiera.

El uso de la **ERM** se basa en dos avances tecnológicos fundamentales. Uno de ellos es el desarrollo de ordenadores capaces de llevar a cabo grandes cantidades de operaciones en tiempos realmente reducidos, por lo que el paso del dominio temporal al frecuencial se facilita

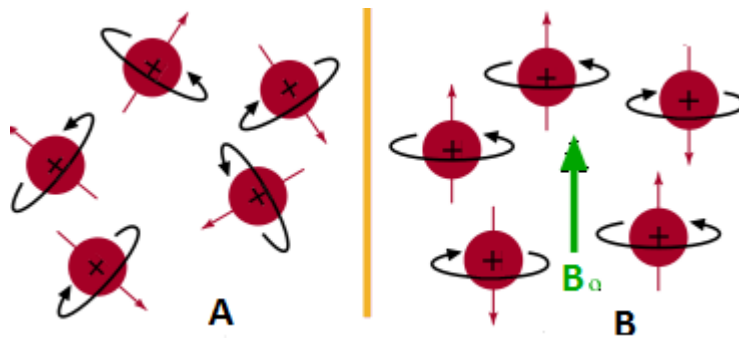


(Empleándose la herramienta de la Transformada de Fourier). El otro avance significativo es la excitación simultánea de todo un rango de frecuencias. Recordemos que en esta modalidad la excitación se realiza de manera simultánea e instantánea. En el siguiente apartado se describe detalladamente los principios físicos en los que se basa la técnica.

### 1.2.1 Principios físicos de la técnica

Para que la espectroscopia funcione adecuadamente, es necesario que en la muestra que va a ser estudiada exista una concentración suficiente de alguno de los núcleos atómicos a excitar. Como ya se ha mencionado el núcleo más utilizado en práctica clínica para el estudio del cuerpo humano por espectroscopia es el  $^1\text{H}$ , dada la elevada concentración del mismo.

Cada núcleo atómico presenta un vector momento magnético. En estado de reposo y sin haber



**Figura 3:** A) átomos en estado natural, B) átomos bajo campo magnético

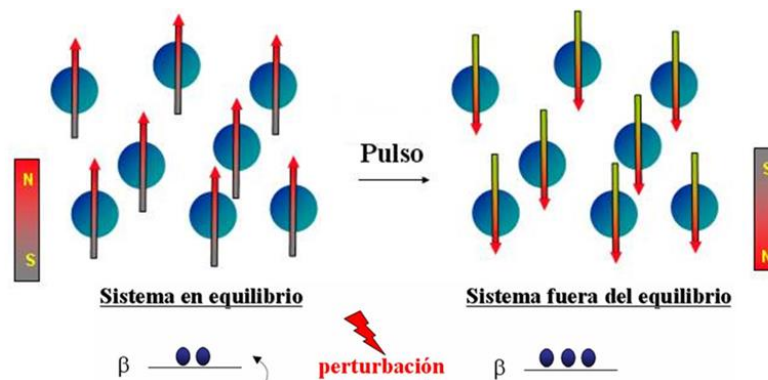
aplicado ningún campo magnético externo, el sumatorio de todos estos vectores es 0, ya que no existe orden alguno, por lo que todo momento magnético queda anulado por algún otro

(Figura 3). Cuando se aplica un campo magnético potente, la situación de reposo cambia radicalmente: los momentos magnéticos se reorientan de manera que el sumatorio de todos ellos pasa a ser un vector del mismo sentido que el campo magnético aplicado, los núcleos con espín positivo se orientan en la misma dirección del campo, en un estado de mínima energía denominado estado de espín  $\alpha$ , mientras que los núcleos con espín negativo se orientan en dirección opuesta a la del campo magnético, en un estado de mayor energía denominado estado de espín  $\beta$ .

Existen más núcleos en el estado de espín  $\alpha$  que en el  $\beta$  pero aunque la diferencia de población no es enorme sí que es suficiente para establecer las bases de la espectroscopia de RMN. La diferencia de energía entre los dos estados de espín  $\alpha$  y  $\beta$ , depende de la fuerza del campo magnético aplicado  $B_0$ . Cuanto mayor sea el campo magnético, mayor diferencia energética habrá entre los dos estados de espín. En la siguiente gráfica se representa el aumento de la diferencia energética entre los estados de espín con el aumento de la fuerza del campo magnético. En este instante, los momentos magnéticos se encuentran paralelos al

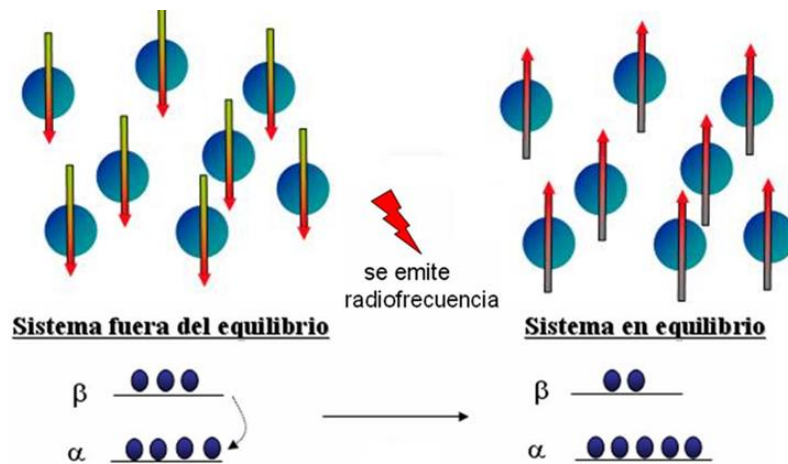
campo aplicado presentando el mismo sentido. Sin embargo no se está generando ninguna señal, simplemente se ha pasado de un estado de “reposito”. Para poder generar la señal que luego será captada por los equipos se aplica un campo en el rango de radiofrecuencias (RF) (Figura 4). Este campo debe aplicarse en zonas muy concretas y a veces muy reducidas del cuerpo humano, por lo que para excitar zonas en las que posteriormente se procederá a su estudio se hace uso de un gradiente de campo con las 3 posiciones del espacio (x, y, z) definidas, pudiéndose de esta manera localizar la zona. Esta excitación se realiza a la frecuencia de precesión del hidrógeno, es decir a la frecuencia a la que resuenan.<sup>19</sup>

Seguidamente se deja de transmitir la señal de RF y, al continuar el campo magnético inicial



**Figura 4:** Un pulso de la frecuencia adecuada induce transiciones que perturban las poblaciones de equilibrio de los espines nucleares. En la parte inferior se representa el cambio de energía de algunas partículas de  $\alpha$  a  $\beta$  tras el pulso.<sup>19</sup>

activo, los vectores vuelven a la posición de equilibrio. En otras palabras cuando una muestra que contiene un compuesto orgánico es irradiada brevemente por un pulso intenso de radiación, los núcleos en el estado de espín  $\alpha$  son promovidos al estado de espín  $\beta$ . Cuando los núcleos vuelven a su estado inicial emiten señales (Figura 5) cuya frecuencia depende de la diferencia de energía ( $\Delta E$ ) entre los estados de espín  $\alpha$  y  $\beta$ .



**Figura 5:** Cuando el sistema regresa a la situación de equilibrio se emite una onda llamada FID que da lugar al espectro de RMN la vuelta a la situación de equilibrio lleva a la situación inicial <sup>19</sup>

El espectrómetro de RMN detecta estas señales y las registra como una gráfica de frecuencias frente a intensidad, que es el llamado espectro de RMN. La diferencia de energía,  $\Delta E$ , entre los estados  $\alpha$  y  $\beta$  es:

$$\Delta E = (h \gamma B_0) / 2\pi \quad \text{donde } \gamma = \text{radio giromagnético.}$$

La situación de resonancia entre los dos estados se consigue aplicando una radiación electromagnética (generalmente en la región de las radiofrecuencias, MHz) que tenga exactamente el valor de energía  $\Delta E$ . La energía de un fotón es  $E = h\nu$ , donde  $\nu$  es su frecuencia. Por tanto, la frecuencia de la radiación electromagnética requerida para producir resonancia de un determinado núcleo en un campo magnético  $B_0$  es:

$$\nu = \gamma B_0 / 2\pi$$

Esta frecuencia de resonancia  $\nu$  es la que da lugar al espectro de RMN y se conoce como frecuencia de Larmor. <sup>19</sup>

El valor del radio giromagnético depende del tipo de núcleo que se está irradiando; en el caso del  $^1\text{H}$  es de  $2.675 \times 10^8 \text{ T}^{-1}\text{s}^{-1}$ . Si el espectrómetro de RMN posee un imán potente, éste debe trabajar a una mayor frecuencia puesto que el campo magnético es proporcional a dicha frecuencia. Hoy en día los espectrómetros de RMN trabajan a 200, 300, 400, 500 y 600 MHz.

La señal generada tras dejar de aplicar la excitación RF cae rápidamente, resultando imposible captarla. Por ello se aplica una secuencia de pulsos de excitación, generándose de esta manera una serie de ecos que sí que harán posible su apropiada recepción, esta excitación tiene un tiempo eco y de repetición determinado.

### 1.2.2 Fenómeno de apantallamiento o protección magnética por los electrones.

Hasta ahora se ha descrito el concepto de resonancia de un núcleo aislado dentro de un campo magnético, pero en realidad los núcleos, como pueden ser los protones o los carbonos que forman las moléculas orgánicas, no se encuentran aislados sino que están rodeados de electrones que los protegen parcialmente del campo magnético externo al que se ven sometidos. Los electrones se mueven generando un pequeño campo magnético inducido que se opone al campo magnético externo. En cualquier molécula la nube electrónica que existe alrededor de cada núcleo actúa como una corriente eléctrica en movimiento que, como respuesta al campo magnético externo, genera una pequeña corriente inducida que se opone a dicho campo. El resultado de este hecho es que el campo magnético que realmente llega al núcleo es más débil que el campo externo, por tanto, se dice que el núcleo está protegido o **apantallado**. Este apantallamiento es muy importante desde el punto de vista experimental ya que el campo magnético efectivo ( $B_0$ ) que siente un protón dentro de una molécula es siempre menor que el campo externo, y por lo tanto, para que el núcleo entre en resonancia dicho campo externo debe ser mayor. Si todos los protones ( $^1\text{H}$ ) de una molécula orgánica estuvieran apantallados de igual forma, todos entrarían en resonancia con la misma combinación de frecuencia y campo magnético. Sin embargo, los protones se hallan dentro de entornos electrónicos diferentes y, por tanto, se encuentran diferentemente protegidos o apantallados. El resultado es un espectro de diversas frecuencias donde cada conjunto de núcleos específicos da origen a una señal única de RMN. Así pues, un espectro de RMN es una gráfica de la intensidad de señal en función de la frecuencia de la energía electromagnética que liberan los diversos núcleos de una muestra. Las variaciones en las frecuencias de absorción de resonancia magnética nuclear, que tienen lugar debido al distinto apantallamiento de los núcleos, reciben el nombre de **desplazamientos químicos** (unidades  $\delta$  o ppm).

En este punto es importante destacar el hecho de que incluso para un mismo núcleo en dos moléculas iguales, existen diferencias de apantallamiento químico según cual sea su orientación respecto al campo magnético  $B_0$  del imán y por tanto deberían dar lugar a frecuencias de resonancia diferentes. En realidad esto es lo que sucede para muestras estáticas, por ejemplo, sólidos, sin embargo, para el caso de moléculas en disolución, el rápido movimiento de rotación molecular, hace que estas diferencias se promedien y sólo se obtenga una única frecuencia para cada tipo de núcleo no equivalente. Para moléculas en disolución, en general se puede obviar el efecto de la orientación de la molécula respecto al

campo, por ello el cerebro es un órgano óptimo para estudios de ERM debido a su alto contenido en agua.

**El desplazamiento Químico**,  $\delta$  mide la diferencia de frecuencia respecto a un compuesto de referencia. El compuesto de referencia para RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  es el Tetrametilsilano, TMS ( $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$ ) que define el cero en la escala de partes por millón (ppm).<sup>19</sup>

$$\delta = (\nu - \nu_{\text{ref}}) / \nu_{\text{ref}} \times 10^6$$

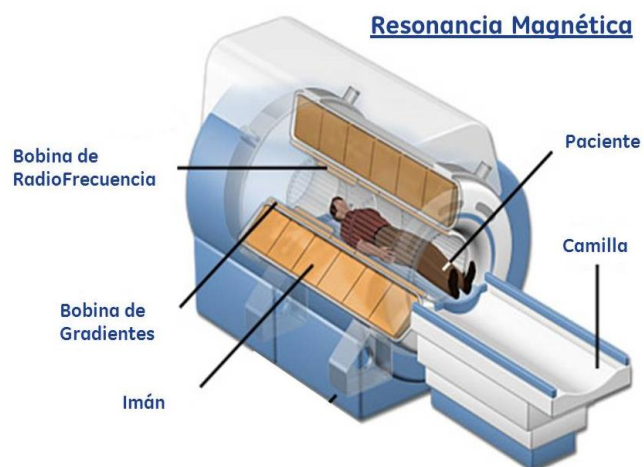
### 1.2.3 Componentes del equipo de resonancia magnética

Los equipos de resonancia magnética clínica con posibilidad de realización de espectroscopia se basan principalmente en un imán superconductor. Los elementos del sistema son (figura 6):

- **Electroimán.** Es el elemento que genera el campo magnético externo y resulta el componente más caro. Este imán es de tipo superconductor ya que consigue campos magnéticos mucho más estables que los electroimanes.

- **Antena de recepción.** Se sitúa dentro del imán. Su función es la de transmitir y recibir las señales de RF, por lo que es el elemento clave para adquirir los ecos de señal que comentamos en el apartado de principios físicos.

- **Generador de pulsos de RF.** Se trata del equipo encargado de generar las señales que se aplican una vez que el campo magnético se encuentra activo. Todas las señales generadas por este elemento proceden de un mismo oscilador por cuestiones de estabilidad. La obtención de las señales a las frecuencias deseadas se consigue con sumas, restas y otras combinaciones. Además de generar señales, este elemento es el que recibe la señal temporal procedente del cuerpo.



**Figura 6:** Estructura de un sistema de Resonancia Magnética

- **Software de análisis.** Se encarga de analizar la información que se obtiene y, dependiendo del fabricante del equipo, generará archivos con datos brutos de una extensión u otra.<sup>20</sup>

#### 1.2.4 Aplicaciones

No todas las aplicaciones de la ERM tienen que ver con el ámbito clínico, sino que existen aplicaciones no biológicas para conocer la composición de determinados sistemas, por ejemplo. También existen aplicaciones en el campo biológico, como la ERM de proteínas. Gracias a esta técnica es posible obtener información sobre la estructura y dinámica de las proteínas. Es una técnica común en biología estructural y resulta fundamental en el desarrollo de la industria de la biotecnología, ya que al conocer en detalle la estructura de determinadas proteínas es posible la fabricación de nuevos compuestos con mejores propiedades y que puedan tener una aplicación directa en el ser humano.

La aplicación clínica principal de la ERM es en seres humanos *in vivo* y sirve para caracterizar entre otros el metabolismo tumoral, el metabolismo energético muscular o bien el metabolismo cerebral. Este último es el objetivo de este trabajo.

Aunque más adelante se entrará en detalle sobre las técnicas empleadas para realizar un análisis de ERM, cabe mencionar que las adquisiciones sobre la muestra se pueden realizar de diferentes formas:

- ***Single-voxel***. La adquisición se tomaría en un único volumen.
- ***Multi-voxel***. El análisis se realizaría sobre varios volúmenes y se procedería a realizar un mapa 2D o 3D con las muestras adquiridas.

Este trabajo se centra en la adquisición de muestras *single-voxel*, frecuentemente utilizadas en el diagnóstico de tumores o enfermedades neurodegenerativas.

Las características que hemos mencionado de la ERM hasta ahora, generan una nueva perspectiva de estudio y aplicación clínica, con lo que se pretende mejorar el diagnóstico no solo en el TEA, sino también de diferentes enfermedades como Alzheimer y Parkinson, donde se hacen necesarios sistemas de diagnósticos efectivos *in vivo*, y que permitan discriminar los diferentes grados de afección que presentan los pacientes.

## **2 Justificación y objetivo**

### **2.1 Justificación**

Aunque la invención de la resonancia magnética se remonta a la década de los setenta, es en la actualidad cuando su aplicación como espectroscopia presenta una gran expansión a nivel de investigación ya que permite el estudio metabólico del cerebro de manera no invasiva, *in vivo* y sin el uso de radiaciones ionizantes, muchos de estas investigaciones tienen como objetivo generar protocolos de diagnóstico efectivos ante patologías, que aunque muy extendidas, no presentan sistemas de diagnóstico precisos.

### **2.2 Objetivo**

Con este trabajo se pretende destacar las numerosas ventajas que puede aportar la técnica de espectroscopia por resonancia magnética en el diagnóstico de diversas enfermedades como Alzheimer, Parkinson o Autismo.

## **3 Material y métodos**

En este apartado del trabajo se describe en detalle la aplicación desarrollada y los procedimientos seguidos en el análisis de un espectro.

El análisis de un espectro nos proporciona información sobre los compuestos presentes, sus niveles y su entorno así:

1. La posición de la resonancia nos permite identificar el compuesto que origina la señal.
2. El área bajo cada resonancia es proporcional al número de núcleos que contribuyen a la señal con lo cual, se pueden calcular las concentraciones de los metabolitos presentes.
3. El ancho de banda de la frecuencia a mitad de la altura, es inversamente proporcional al valor del parámetro de relajación del núcleo. Cuanto más pequeño sea el valor más ancha es la resonancia.

Previo a la resonancia es necesario el consentimiento del paciente además de datos como su nombre, edad y peso, este último es necesario para ajustar la intensidad de la radio frecuencia. El sistema utilizado en el IMETISA, lugar de realización del trabajo de fin de grado, es un equipo de Resonancia Magnética 3.0 T Signa Excite HD.

### 3.1 Técnica y obtención de los espectros de resonancia magnética

Como se ha indicado anteriormente, en clínica, se utiliza como isótopo encargado de transmitir la señal, el hidrógeno por presentar una gran sensibilidad magnética en su detección y su alta concentración en el cuerpo humano.

El proceso para obtener un espectro “*in vivo*” se puede dividir en tres fases: Posicionamiento de la bobina en la región en la cual se quieren obtener los espectros, homogenización del campo magnético en la zona de interés y finalmente, obtención del espectro.

**Posicionamiento de la bobina.** Consiste en asegurar que la zona a estudiar está situada correctamente dentro del volumen de observación de la bobina mediante la obtención de una serie de imágenes rápidas, las cuales servirán posteriormente para la localización del voxel de interés.

**Homogenización del campo magnético.** Los tejidos y los órganos de diferentes personas presentan diferentes susceptibilidades magnéticas que causan cambios en la intensidad del campo magnético. Cuando estos cambios se producen dentro del volumen a estudiar, un núcleo en una determinada célula presenta gran variación en sus frecuencias de resonancia, como resultado obtenemos un espectro con unos picos muy anchos y de menor intensidad. Este problema se soluciona colocando la bobina en el centro del imán o muy cerca de él, para así obtener la mayor homogeneidad del campo magnético. Para eliminar este problema los equipos ya vienen equipados con un conjunto de bobinas que generan gradientes de campo magnético, la corriente que circula por estas bobinas se varía de manera que se compensen estas “inhomogeneidades” del campo principal.

Este proceso se realiza siempre con el núcleo de hidrógeno ya que la gran intensidad de la señal del agua permite ser observada en menor tiempo. Hay que decir que, Conseguir una buena homogeneidad del campo magnético es un paso clave para obtener un espectro del que se pueda obtener la información deseada.

**Obtención de un espectro.** Para diseñar un protocolo de ERM se debe tener en cuenta una serie de factores. Naturalmente la correcta selección del núcleo de observación es básica ya que la sensibilidad magnética y la abundancia natural entre otros factores, determinarán la posibilidad de detectar el metabolismo de interés. La selección de la bobina se hará en función a la región a estudiar, tanto para la obtención como su respectivo pos-proceso se debe tener en cuenta la uniformidad de las señales o excitaciones que generan (En la práctica



clínica generalmente se utilizan 128 señales de promedio para obtener un espectro adecuado para su interpretación).<sup>25</sup>

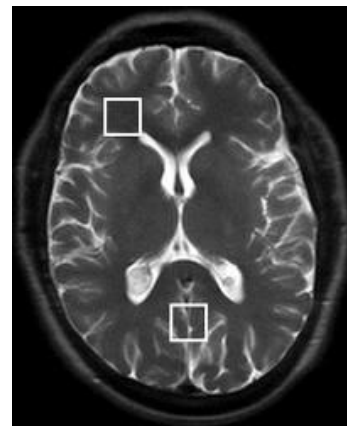
### 3.2 Localización del muestreo

Es necesario localizar la región a explorar teniendo en cuenta sus características y limitaciones técnicas. El tamaño del voxel se decidirá en función del núcleo de observación, de la concentración de los metabolitos que se deseen detectar y del tamaño de la zona patológica. Las dimensiones actuales de los voxel (volúmenes) son variables, desde 1x1x1 cm (1cm<sup>3</sup>) a 3x3x3 cm (27cm<sup>3</sup>). A medida que se utilizan volúmenes más pequeños, la relación señal / ruido disminuye y es necesario obtener un promedio de señales más grande para alcanzar un espectro de una calidad adecuada, el tiempo de adquisición también estará en función a dicho valor (señal / ruido).<sup>25</sup>

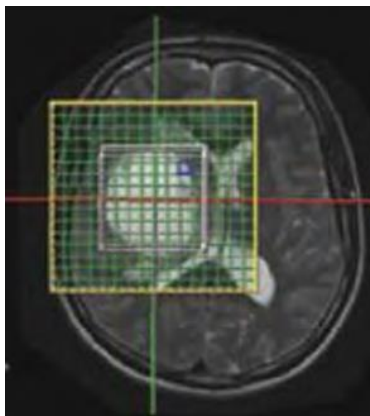
La localización entonces desempeña un importante papel en la espectroscopia y puede ser:

**Voxel único:** (figura 7)

- **PRESS**(Basada en spin-eco):  
Buena relación señal-ruido  
Mejor para tiempos eco (**TE**) largos
- **STEAM**(Eco estimulado):  
Mitad de señal que PRESS Consigue TE más cortos que PRESS



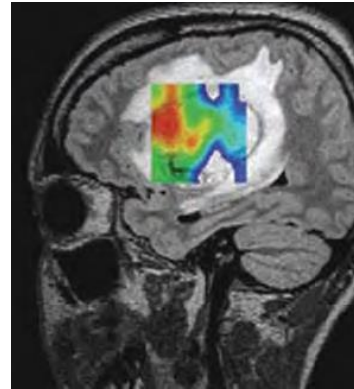
**Figura 7:** Voxel único



**Figura 8:** Multi-voxel

**Multi-voxel:** (figura 8) Corte total del cerebro, obteniendo análisis de varias regiones en forma simultánea.

**Imagen de desplazamiento químico:** (figura 9) Representa metabolitos en escala de colores sobrepuesta a imagen convencional referencial.



**Figura 9:** imagen de desplazamiento químico

Estas técnicas delimitan el pulso de la frecuencia seleccionada y la potencia del gradiente.

Como ya se ha indicado nos centraremos en el estudio un **único voxel**. El volumen analizado se selecciona por una sucesión de tres pulsos de radiofrecuencia selectivos (acompañado por gradientes) en las tres direcciones en el espacio. Estos impulsos determinan tres planos ortogonales cuya intersección corresponde al volumen estudiado. Puede ser seleccionado de una base de imágenes o mediciones hechas al paciente en el momento del examen (cortes axial, sagital y coronario), sólo se grabará la señal de esta voxel.

La obtención de la señal del voxel seleccionado se puede realizar utilizando dos tipos de secuencia:

#### **STEAM** (Eco estimulado)

Los tres pulsos de selección del voxel (RF) tienen ángulos de  $90^\circ$ . El eco estimulado se graba como el efecto acumulado de los tres impulsos, correspondiendo así a la señal de un único voxel de interés. El tiempo eco (**TE**), que se entiende como el tiempo que transcurre entre un pulso de radiofrecuencia y la obtención de un eco, en este caso se dobla el intervalo de tiempo entre los dos primeros impulsos. El retraso entre los impulsos segundo y tercero de RF es el **TM** tiempo de mezcla. Esta técnica está adaptada particularmente a las adquisición de espectros a TE cortos.<sup>21</sup>

#### **PRESS** (Basada en spin-eco)

En el método PRESS, los pulsos de RF tienen ángulos de  $90^\circ$ ,  $180^\circ$ ,  $180^\circ$ . La señal emitida por el voxel de interés es por lo tanto un eco de espín. La amplitud de este eco espín es el doble que el eco estimulado obtenido por STEAM. Así, la técnica PRESS ofrece una

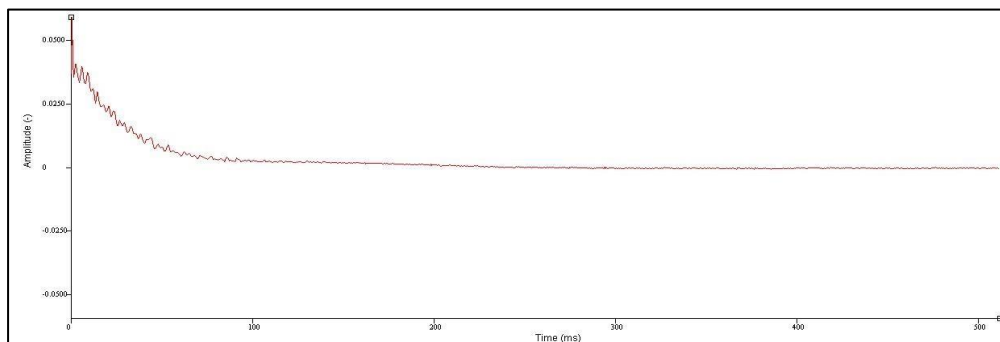
mejor relación señal-ruido que STEAM. Se puede utilizar con TE corto (15 - 20 ms) o largo TE (135 a 270 ms).<sup>21</sup>

Ante esto dos tipos surge la pregunta de cuál debe utilizarse. Para ello debe tenerse en cuenta que si tenemos el mismo voxel y los parámetros de adquisición son los mismos, la secuencia PRESS produce una relación señal/ruido doble que la secuencia STEAM ya que en este último caso solo una parte de la magnetización se utiliza para generar el eco estimulado. Por contra una secuencia STEAM permite trabajar con TE más cortos que la secuencia PRESS. Los tiempos de eco largos más utilizados corresponden a 135-144 ms y 270-288 ms, mientras que entre los tiempos de eco cortos podemos destacar 25-45 ms para la secuencia PRESS, y 10-30 ms para la secuencia STEAM. Los primeros estudios in vivo se realizaron con tiempos de eco largos ya que su implementación en los equipos de RM es más sencilla. Una regla que se puede aplicar para decidir entre secuencia PRESS o STEAM es que cuando se ha de utilizar un TE largo conviene seleccionar la secuencia que proporciona una mayor relación señal/ruido (PRESS), mientras que cuando interesa visualizar el mayor número de compuestos escoger la secuencia que permite trabajar a un TE menor (STEAM). Aunque si se dispone de un equipo que permite utilizar un TE de 30-35 ms con la secuencia PRESS puede ser más interesante realizar los dos espectros con el mismo tipo de secuencia ya que permite ahorrar el tiempo de preparación dado que será suficiente con cambiar el TE.

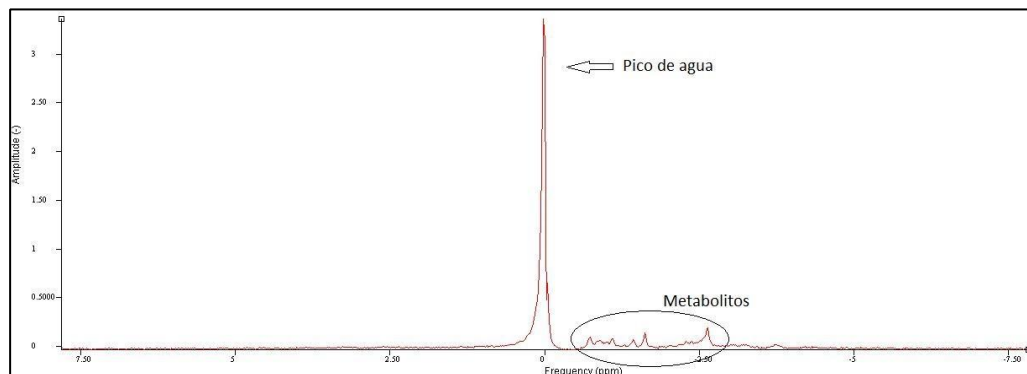
El voxel se puede localizar en diferentes regiones cerebrales como Parietal Posterior (PP) Frontal (FR), Hipocampo Derecho (HD), Hipocampo Izquierdo (HI) etc.

### 3.3 Tratamiento de la señal

La señal que se recibe en el equipo de adquisición es temporal y de tipo FID (Free Induction Decay) (figura 10). Para comenzar el estudio, se aplica la Transformada de Fourier (figura 11) sobre esta señal, obteniendo un espectro con una serie de picos (algunos de interés, otros no). En las siguientes figuras es posible observar el aspecto que presentan estas dos señales.



**Figura 10:** señal FID



**Figura 11:** Señal tras aplica la Transformada de Fourier en el dominio frecuencial. Obsérvense los distintos picos, destacando el del agua

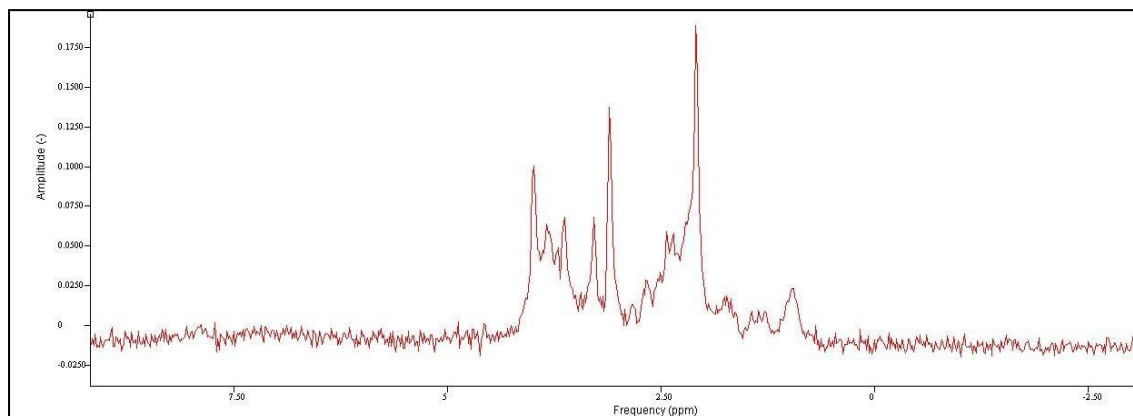
El pico más elevado que se observa es, obviamente, el agua, debido a que su concentración en el cuerpo humano es del 70% aproximadamente. Los picos más reducidos corresponden a los metabolitos, correspondiéndose cada uno de ellos con una frecuencia de resonancia. Esto se debe a que al aplicar un campo magnético externo sobre un núcleo, los electrones por los que está rodeado crean un campo opuesto mucho más débil que produce el efecto de apantallamiento electrónico. Debido a esto, según el ambiente químico en el que se encuentren estos núcleos, el compuesto del que forma parte resonará a una frecuencia distinta (desplazamiento químico).

### **Eliminación del pico de agua**

La muestra sobre la que se aplica el análisis de ERM es el cuerpo humano. Al estar compuesto en su mayoría por agua, las consecuencias en la visualización de la señal son palpables: el pico de agua enmascara la señal que se obtiene de los metabolitos (ver Figura anterior). Por tanto, se hace necesaria la eliminación de este pico.

\*El método más utilizado para suprimir el pico de agua es el de CHESS (desplazamiento químico selectivo) que consiste en aplicar tres parejas de pulsos de RF a  $90^\circ$  más gradientes de desfase en cada dirección espacial. El ancho de banda de estos pulsos de RF es estrecho y centrado en la frecuencia de resonancia del pico de agua con el fin de saturar la señal de agua y preservar la señal de los otros metabolitos.

Estableciendo el rango en el que se sitúa el pico de agua (suele ser entre 5.09 ppm y 4.31 ppm, ya que el agua resuena a 4.75 ppm). Podemos suprimir el pico de agua (figura 12), presentando la señal el siguiente aspecto:



**Figura 12:** señal con agua suprimida

Como es posible apreciar en la imagen, los picos que anteriormente resultaba complicado identificar, ahora son perfectamente visibles y están definidos.

Después del procesado de la señal original ya se inicia el análisis del espectro para extraer la información deseada. Para ello se estudia como se indicaba al principio:

1. La posición de la resonancia nos permite identificar el compuesto que origina la señal.
2. El área bajo cada resonancia se puede cuantificar mediante procedimientos manuales o semiautomáticos y es proporcional al número de núcleos que contribuyen a la señal con lo cual se puede llegar a determinar la concentración del compuesto. La RM es una técnica poco sensible y, por ello, en un espectro de protón, normalmente, sólo se observan los compuestos cuya concentración es superior a 1-2 mM. La cuantificación puede ser **relativa** bien sea mediante los cocientes de las áreas de las diversas resonancias o a través de porcentajes respecto a la suma de las áreas de todas las resonancias presentes en el espectro. Hasta ahora esta es la forma más habitual de presentar los resultados. Tiene el inconveniente que puede inducir a error, y cuantificación **absoluta** mediante la utilización de una referencia interna (agua, creatina total, etc.) o externa (agua u otro compuesto del cual se conoce con precisión la concentración). Esta metodología alarga el tiempo de exploración pero en la literatura se puede observar la tendencia a utilizar cada vez más esta información.
3. El ancho de banda de la frecuencia a mitad de la altura, es inversamente proporcional al valor del parámetro de relajación del núcleo. Cuanto más pequeño sea el valor más ancha es la resonancia.

Previo a la cuantificación debemos definir la situación de los picos a los que se le va a aplicar el algoritmo, para ello los diferentes programas como el LC model 6.3 (Provencher,

2001) utilizado por los grupos de investigación del IMETISA localizado en el Hospital Universitario de Canarias, estos sistemas atribuyen a los picos diferentes metabolitos de interés en función de la posición de estos picos (ppm) la cuantificación no proporcionaría los resultados esperados. En la siguiente tabla (tabla 1) se encuentran los principales metabolitos que suelen ser analizados y estudiados como biomarcadores cerebrales.

<b>Metabolito</b>	<b>Abreviación</b>	<b>Frecuencia (ppm)</b>	<b>Función principal</b>
N-Acetil-Aspartato	NAA	2.02	Marcador de viabilidad neuronal
Colina	Co	3.21	Proliferación celular y síntesis membranosa
Creatina	Cr	3.03	Almacenamiento de energía y metabolismo
Glutamato	Glx	2.1-2.5 3.1-3.8	Mediación de señales excitadoras
Lactato	Lac	1.3	Hipoxia celular
Myo-Inositol	mI	3.55	Actividad glial y neurodegeneración
Lípidos	Lip	1.3	Necrosis celular, agresividad

**Tabla 1:** Metabolitos destacables en el cerebro y posición (ppm)

De esta manera el proceso de análisis de los datos se daría por finalizado. La siguiente fase consistiría en buscar las relaciones entre metabolitos con el fin de obtener los ratios de interés. Una vez se han cuantificado los metabolitos, la frecuencia a la que resuenan y, lo más importante, las amplitudes de dichos metabolitos, resulta trivial efectuar el cálculo de los ratios de interés.

Según el tipo de tiempo de eco se calculan las siguientes relaciones metabólicas:

- Tiempo de eco corto:  $NAA/Cr$ ,  $Co/Cr$ ,  $mI/Cr$ ,  $NAA/mI$ ,  $NAA/Co$ ,  $Lip/Cr$ ,  $Lac/Cr$ ,  $Glx-NAA/Cr$ ,  $Glx/Cr$  y Coeficiente metabólico ( $NAA/(Co+Cr)$ ).

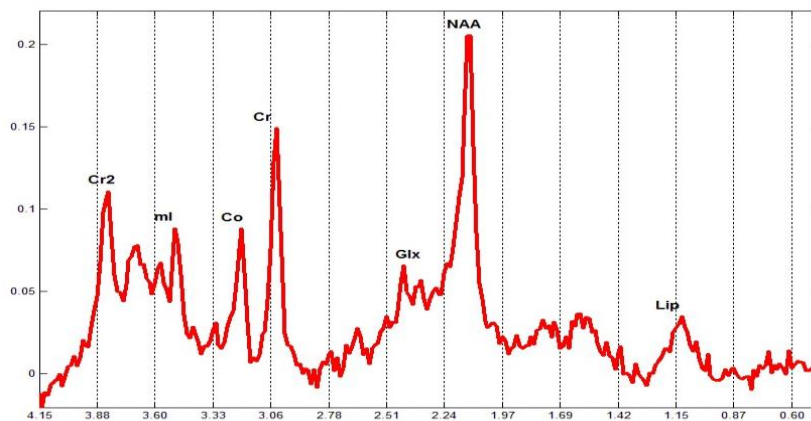
- Tiempo de eco largo: NAA/Cr, Co/Cr, NAA/Co y Coeficiente metabólico.

En la mayoría de las relaciones metabólicas anteriores se observa que se emplea como referencia la Creatina. Esto se debe a que sus concentraciones son relativamente constantes y a que es resistente a los cambios. A continuación se presenta un **ejemplo** general:

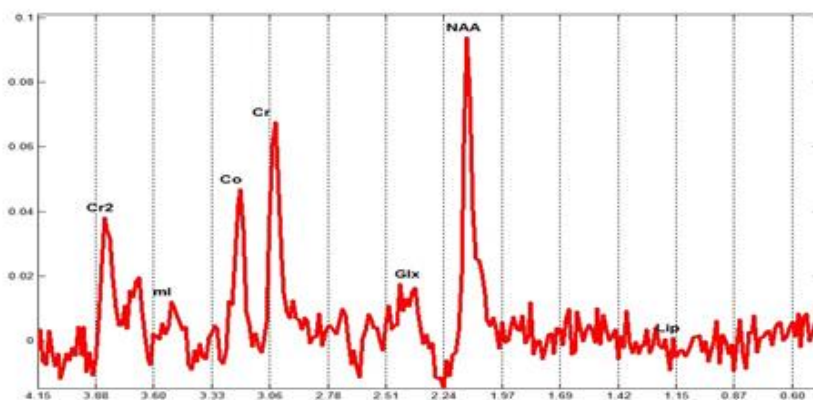
Estudio localizado en la sustancia gris parietal posterior (PP) (figura 13) con volúmenes únicos de 15x25x20 mm, con tiempo de eco (TE), 32 y 136 ms (figura 14 y 15). El tiempo de repetición empleado en los dos espectros fue de 2000 ms. Adquisición en RM de 3Teslas.



**Figura 13:** Imagen por resonancia magnética, voxel en las tres posiciones espaciales A) corte sagital, B) corte axial y C) corte coronario



**Figura 14:** Tiempo eco corto



**Figura 15:** Tiempo eco largo

		NAA/Cr	Co/Cr	ml/Cr	NAA/Co	NAA/ml
<b>Sustancia gris PP</b>	TE 32	1.27	0.63	1.06	2.03	1.21
	TE 136	1.21	0.72	-	1.68	-

**Tabla 2:** valores de las relaciones moleculares más relevantes

El espectro a TE corto y TE largo (tabla 2) de la sustancia gris parietal posterior presenta valores del cociente NAA/Cr reflejando viabilidad disminuida. El cociente Co/Cr (mecanismos de síntesis de membranas) presenta valores conservados. El cociente ml/Cr (actividad glial) se encuentra aumentado.

A continuación se describe la información que aportan los metabolitos más relevantes que se pueden observar en un espectro de protón:

- Residuos N-acetilados: Compuestos principalmente por el N-acetil aspartato (NAA) que es el metabolito más abundante en el espectro normal y, en menor proporción, por N-acetil aspartato glutamato (NAAG), glutamato y ácido siálico. Se desplazan químicamente a 2.0 ppm. El NAA es un marcador neuronal, que disminuye en casos de daño o pérdida de neuronas. La enfermedad de Canavan es la única patología en la que el NAA está aumentado.
- Colina (Cho): Compuesto por acetilcolina, glicerolfosfocolina, fosfocolina y fosfatidilcolina. El alza ocurre a 3.2 ppm. Están involucrados en la síntesis o destrucción de la membrana celular, y el incremento de Cho probablemente refleja la proliferación celular.
- Creatina (Cr): Compuesto por creatina, fosfocreatina y, en menor grado, por ácido  $\gamma$ -aminobutírico, lisina y glutatión. El alza ocurre a 3.03 ppm., un alza adicional se puede registrar a 3.94 ppm. Las concentraciones de Cr son relativamente constantes y tienden a ser resistentes a los cambios por lo que se utilizan de referencia para cocientes metabólicos (NAA/Cr, Cho/Cr etc.). La Cr se relaciona con la homeostasis de la bioenergética celular como elemento de reserva de fosfatos de alta energía en el citosol de músculos y neuronas, aumenta en los estados de hipometabolismo y disminuye en el hipermetabolismo.



- Lactato (LA): Presenta dos alzas características a 1.32 y a 4.1 ppm., la primera es muy cercana a la línea basal y la segunda al estar cercana al agua generalmente es suprimida. Normalmente los niveles de LA en el cerebro son bajos, pero pequeñas cantidades pueden ser detectadas en el cerebro de los recién nacidos. El LA aumenta en los estados hipóxicos o anóxicos que alteran el metabolismo aeróbico.
- Mioinositol (mI): El alza ocurre a 3.56 ppm, es un metabolito que al parecer está relacionado con la transducción de señales celulares y es un posible precursor del ácido glucurónico. Su elevación se asocia a gliosis y a astrocitosis reactiva.
- Glutamato-Glutamina-GABA-Aspartato (Glx): Estos metabolitos resuenan juntos y su alza se localiza entre 2.2 y 2.6 ppm. con un componente adicional a 3.6 y 3.7 ppm. El glutamato es el aminoácido más abundante en el encéfalo humano. La glutamina se encuentra principalmente en los astrocitos. A nivel encefálico actúan como neurotransmisores y pueden alterarse en patologías metabólicas.
- Alanina (Ala): Su alza se produce a 1.3 y 1.4 ppm por lo que puede ser encubierta por la presencia de LA. En secuencias de tiempo de eco (TE) largo aparece como una onda invertida en relación a la línea de base. Se asocia de manera característica con los meningiomas.
- Lípidos (LipX): Compuestos por ácidos grasos no saturados, su alza se produce a 0.8, 1.2, 1.5 y 6.0 ppm y se observan sólo si se emplean TE cortos. Su presencia es anormal, pero pueden aparecer como artefactos por contaminación del tejido adiposo subcutáneo.
- Otros: Metabolitos como acetato o succinato se relacionan con lesiones infecciosas o parasitarias.<sup>14</sup>

## **4 Resultados**

### **4.1 Aplicaciones clínicas en el estudio del cerebro**

La espectroscopia por RM proporciona información sobre la composición metabólica de las diferentes áreas del cerebro, que resulta muy útil como método diagnóstico complementario en un número cada vez mayor de situaciones clínicas. Tanto en estudios de espectroscopia *in vitro* como *in vivo*, se ha demostrado la utilidad de esta técnica para diferenciar entre tejido normal y tejido aberrante (Roda, 2004) <sup>4</sup>. Aunque no se utiliza de manera rutinaria, sirve como complemento a la exploración de imagen o de manera independiente, algunos centros han iniciado su uso en ciertos casos como: encefalopatía hepática subclínica y evaluación pretrasplante, demencia (descartar enfermedad de Alzheimer), evaluación de la terapia en cáncer, hipoxia neonatal, desarrollo de errores metabólicos congénitos, enfermedades de la sustancia blanca (esclerosis múltiple, VIH, etc.), accidente vascular cerebral, planificación quirúrgica en la epilepsia de lóbulo temporal, etc. En este apartado no se pretende realizar una revisión exhaustiva sobre el estado de la aplicación de la espectroscopia en numerosas patologías, sino que nos centraremos en tres Alzheimer, Parkinson y Autismo ya que no se conoce del todo las causas que las inducen, y en donde la ERM podría aportar nuevos datos en su investigación. A continuación se presentan las diferencias que existen entre cerebros con alguna de las patologías y controles, estos datos son de gran relevancia ya que pueden permitir un seguimiento en la evolución del paciente o incluso un diagnóstico precoz. Aunque en la actualidad la ERM no es muy utilizada en este sentido, abre un campo a la investigación en el estudio *in vivo* del cerebro y su uso en el diagnóstico. (Gili, 2002) <sup>5</sup>

#### **4.1.1 Alzheimer**

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un trastorno neurológico que provoca la muerte de las células nerviosas del cerebro. Por lo general, la EA comienza paulatinamente y sus primeros síntomas pueden atribuirse a la vejez o al olvido común. A medida en que avanza la enfermedad, se van deteriorando las capacidades cognitivas, entre ellas la capacidad para tomar decisiones y llevar a cabo las tareas cotidianas, y pueden surgir modificaciones de la personalidad, así como conductas problemáticas. En sus etapas avanzadas, la EA conduce a la demencia y finalmente a la muerte. Existe una estrecha correlación entre el grado de demencia y la densidad de placas seniles y de neuronas con degeneración neurofibrilar. Aunque la enfermedad de Alzheimer es la demencia más frecuente en la población anciana, su etiología aún se desconoce. Son característicos los cambios degenerativos en el cerebro demostrables

tanto por anatomía patológica como por tomografía computarizada. Se sabe que esta enfermedad de curso progresivo no tiene cura conocida hasta el día de hoy, de manera que su tratamiento se basa sobre todo en mejorar la calidad de vida del enfermo y retrasar el progreso de la enfermedad mediante fármacos anticolinesterásicos. Por ello se justifica la aplicación de la ERM en buscas de marcadores metabólicos que permita un diagnóstico precoz de la enfermedad. (Romano et al., 2007)<sup>6</sup>

De forma general la ERM se ha empleado, como técnica complementaria, para diferenciar el envejecimiento normal y las alteraciones relacionadas con la edad de la EA. Los hallazgos bioquímicos en la EA son secuenciales y se caracterizan por el aumento precoz de aproximadamente un 20% del mioinositol (mI) en la sustancia gris y la disminución más tardía del N-Acetil Aspartato (NAA) en regiones como la circunvolución cingular posterior y el lóbulo temporal ya que son las regiones que se afectan más precozmente en la EA<sup>7</sup>. La disminución de la Colina (Cho) se ha descrito en algunos estudios pero de forma no concluyente. Un estudio reciente describe alteraciones espectroscópicas en otras áreas del encéfalo como la región lateral del lóbulo temporal y parietal. La disminución del NAA indica pérdida neuronal o funcional, mientras que el aumento del mI en pacientes con EA refleja gliosis astrocítica e interrupción de la conversión de mI a inositol trifosfato presente en la membrana lipídica.<sup>23</sup>

Unas de las características de la ERM es la variación que permite de diferentes parámetros de la técnica, como por ejemplo la potencia del campo magnético, localización del voxel en el cerebro, los tiempos de repetición y los tiempos ecos, esto supone el desarrollo de multitud de protocolos, que unido a la investigación nos permite generar procedimientos cada vez más precisos orientados al diagnóstico de la enfermedad. Como ejemplo de esta variedad a continuación se presenta los datos obtenidos por diferentes grupos de investigación (tabla 3) en el uso de la ERM en la enfermedad de Alzheimer.

Reference	Method	Field (T)	Region	Finding (AD versus NC)
Watanabe et al	PRESS	1.5	Hippocampus, PCG, occipital lobe	NAA ↓ ml ↑ TMA ↓ tCr ↓ ★
Kantarci et al	PRESS	1.5	PCG	NAA ↓ ml ↑ TMA →
Block et al	2D-MRSI	1.5	Hippocampus, temporal lobe, occipital lobe	NAA ↓ TMA →
Kantarci et al	PRESS	1.5, 3.0	PCG	NAA ↓ ml ↑ TMA ↑ Glx →
Chantal et al	PRESS	1.5	MTL, prefrontal cortex, and parietotemporal	NAA ↓ TMA ↓ ml ↑ ★
Hattori et al	PRESS	3.0	PCG, parieto-occipital white matter	NAA ↓ Glx ↓
Jessen et al	PRESS	1.5	MTL	NAA ↓ TMA → tCr → ★
Garcia Santos et al	PRESS	1.5	PCG	NAA ↓ TMA → ml →
Hancu et al	J-PRESS	3.0	PCG	NAA ↓ Glu →
Dixon et al	STEAM	2.0	Hippocampus	NAA ↓ ★
Schott et al	PRESS	1.5	PCG	NAA ↓ ml ↑ TMA →
Antuono et al	PRESS	0.5	PCG	NAA ↓ ml ↑ TMA → Glx ↓
Godbolt et al	PRESS	1.5	PCG	NAA ↓ ml ↑
Jessen et al	PRESS	1.5	MTL	NAA ↓ TMA ↓ tCr ↓ ★
Siger et al	2D-MRSI	1.5	Frontal WM, parietal WM	NAA ↓ ml ↑
Ackl et al	PRESS	1.5	Parietal WM, parietal GM, hippocampus	NAA ↓ ml ↑
Falini et al	WBNA	1.5	Whole brain	NAA ↓ ★
Frederick et al	PRESS	1.5	Temporal lobe	NAA ↓ ml → TMA →
Christiansen et al	STEAM	1.5	Hippocampus	T2 values ↓
Chantal et al	PRESS	1.5	MTL, prefrontal cortex, and parietotemporal	NAA ↓ TMA ↓ ml ↑ ★
Huang et al	STEAM	1.5	Parietal lobe, occipital lobe	NAA ↓ ml ↑ TMA → tCr ↑ ★
Schuff et al	2D-MRSI	1.5	Frontoparietal region	NAA ↓ TMA → tCr → ★
Parnetti et al	STEAM	1.5	Temporal GM, frontal WM	NAA ↓ TMA → ml ↑ tCr → ★
Frederick et al	STEAM	1.5	Parietal lobe, temporal lobe	NAA ↓ TMA →
Jessen et al	PRESS	1.5	Parietal GM, MTL	NAA ↓ TMA ↓
Rose et al	STEAM	2.0	Parietal midline	NAA ↓ ml ↑ TMA → tCr →
Kantarci et al	PRESS	1.5	PCG, temporal lobe, occipital lobe	NAA ↓ ml ↑ TMA ↑
Haley et al	STEAM	1.5	Frontal WM	NAA ↓ TMA →
MacKay et al	2D-MRSI	2.0	GM, WM	NAA ↓ TMA ↑
Schuff et al	2D-MRSI	1.5	Hippocampus	NAA ↓ ml ↑ TMA ↑

**Tabla 3:** Datos obtenidos de la ERM en el diagnóstico de la EA. Tabla modificada (Gao y Barker, 2014) <sup>8</sup>

Nota: -NC indica control sano y AD enfermedad de Alzheimer, MTL: lóbulo temporal medial; PCG, circunvolución cingular posterior, ↑ aumentó significativo, ↓ disminución significativa, → no hay diferencias significativas, las concentraciones de metabolitos son relaciones a la creatina, a menos aquellos indicados con una estrella donde el nivel de metabolitos se ha calculado en función de la señal de agua.

La tabla muestra los detalles metodológicos y los resultados de los estudios que comparan pacientes con EA y controles sanos. Se muestra el método usado, la potencia magnética de los equipos (Teslas), localización de los voxel y los resultados más significativos. Por lo general se observa una reducción de los niveles de NAA en pacientes con EA en comparación con los controles sanos en las distintas regiones. Estos resultados son consistentes con estudios *in vitro*. Los estudios realizados en cerebros con EA *postmortem*, mostraron que los niveles de NAA disminuyen en relación con la severidad de los hallazgos neuropatológico, tales como placas de amiloide y ovillos neurofibrilares. Por lo tanto, la reducción de los niveles de NAA podrían reflejar una pérdida de las células neuronales o la función neuronal. El aumento de ml

en paciente con EA también se han observado en varias investigaciones, indicativo de mayor contenido de células gliales.

El pico Glx sólo se ha investigado en unos pocos estudios; estas han informado sobre la reducción de los niveles de Glx en pacientes con EA en comparación con controles en la circunvolución cingular posterior y parietooccipital, sin embargo un estudio no encontró diferencias significativas entre en los pacientes con EA y controles. (Gao y Barker, 2014)<sup>8</sup>

#### **4.1.2 Parkinson**

La enfermedad de Parkinson (EP) es un trastorno crónico y progresivo que se manifiesta por un conjunto de signos y síntomas específicos, que se presentan de manera idiopática sin que existan datos que sugieran otra afectación neurológica más diseminada, se caracteriza por cambios degenerativos en la parte compacta de la sustancia negra y otras estructuras, que conduce a una reducción de la dopamina estriatal. El parkinsonismo, sin embargo se define como un síndrome formado por una combinación variable de temblor, rigidez, bradicinesia y una alteración característica de la marcha y de la postura. Diferenciar mediante diagnóstico clínico entre estos síndromes parkinsoniano es a menudo muy difícil, en particular en la etapa temprana. Además el diagnóstico clínico de la enfermedad idiopática de Parkinson (IPD) suelen incorporar numerosos falsos positivos.

En este síndrome parkinsonismo se incluye a enfermedad de Parkinson (EP), la parálisis supranuclear progresiva (PSP), la degeneración corticobasal (CDB), atrofia sistémica múltiple (MSA) y parkinsonismo vascular (VP). En comparación con los controles normales, los pacientes con PSP, CBD, MSA y VP, pero no PD, tuvieron una reducción significativa de la relación NAA / CRE en la corteza frontal, mientras que los pacientes con PSP, CBD, MSA y PD, pero no VP, tenía reducción significativa de la relación NAA / CRE en el putamen. Los pacientes con CDB tuvieron una reducción significativa de la relación NAA / CRE en la corteza frontal y el putamen en comparación con los pacientes con PD, MSA y VP. Los pacientes con PSP mostraron una reducción significativa de la relación NAA / CRE en el putamen en comparación con los pacientes con PD y MSA. La reducción de la relación NAA / CRE en el putamen se correlaciona bien con la gravedad de parkinsonismo (Abe et al., 2000)<sup>9</sup>. De esta manera la ERM puede ser útil en el seguimiento de pacientes con diversos tipos de parkinsonismo. Sin embargo, Se requieren la realización de grandes ensayos multicéntricos utilizando cuantificación absoluta de las concentraciones de metabólicas y una técnica estandarizada. Los pacientes que entran en tales estudios deben ser evaluados

rigurosamente para establecer el diagnóstico del tipo de parkinsonismo con la mayor precisión posible. Cualquier anomalía discriminatoria debe ser probado en un gran estudio prospectivo de recién presentando pacientes parkinsonianos con largo plazo seguimiento clínico y la confirmación patológica definitiva del diagnóstico lo más lejos posible. En conclusión, son necesarios más estudios con la ERM antes de poder llegar a una conclusión definitiva en el diagnóstico diferencial de los síndromes parkinsonianos.

#### **4.1.3 Autismo**

Es un trastorno físico ligado a una biología y una química anormales en el cerebro. Las causas exactas de estas anomalías se desconocen. Probablemente, haya una combinación de factores que llevan a que se presente el TEA (Trastorno del Espectro Autista). Esta afección puede ser hereditaria en algunas familias y las investigaciones muestran que muchos genes pueden estar involucrados. Es un trastorno neurológico complejo que generalmente dura toda la vida. Actualmente se diagnostica con autismo a 1 de cada 68 individuos y a 1 de cada 42 niños varones, haciéndolo más común que los casos de cáncer, diabetes y SIDA pediátricos combinados. Se presenta en cualquier grupo racial, étnico y social, y es cuatro veces más frecuente en los niños que en las niñas. El autismo daña la capacidad de una persona para comunicarse y relacionarse con otros. También, está asociado con rutinas y comportamientos repetitivos, tales como arreglar objetos obsesivamente o seguir rutinas muy específicas. Los síntomas pueden oscilar desde leves hasta muy severos.

Estudios previos con ERM han implicado un nivel NAA disminuido en algunas partes del cerebro en el autismo como la materia blanca de la corteza frontal y la frontal-parietal. Esta disminución del nivel de NAA se suele interpretar como una reducción en el funcionamiento neuronal. También suelen presentar disminución de los niveles de Cho en la giro cingulado anterior izquierdo y un aumento de la concentración de Cr en el núcleo caudado. También se ha determinado una disminución de la concentración NAA en la región temporal en individuos que presentan TEA con respecto a los controles (Zeegers et al., 2007)<sup>10</sup>. Algunos estudios han mostrado concentraciones de Glx significativamente inferiores en la corteza cingulada anterior derecha (CCA) de grupos con TEA en comparación con un grupo control, estos cambios en la concentración, proporcionan evidencias de anomalías en la neurotransmisión de las redes que inervan esta zona. (Bernardi et al., 2011)<sup>11</sup>

En estudios de este tipo de trastornos, donde se pretende diagnosticar y hacer un seguimiento de los pacientes desde edades muy tempranas debemos tener en cuenta la existencia de

cambios con el desarrollo del cerebro, que incluyen un aumento en la concentración de NAA, Cr, y Glx, y una disminución de Cho y mI. En cuanto a las proporciones, se observa un aumento con la edad en NAA / Cho y NAA / Cr mientras que la relación Cho / Cr disminuye. Se cree que estos cambios están asociados con la mielinización del cerebro en desarrollo, donde los cambios más rápidos se observaron en los primeros 3 años de vida. (Zeegers et al., 2007)<sup>10</sup>

## **5 Conclusión**

La aplicación de la espectroscopia por resonancia magnética en estudios clínicos está en fase de constante desarrollo tecnológico que abre nuevas perspectivas de estudio. Los trabajos existentes la muestran como una técnica muy útil para la investigación "in situ" y no invasiva del metabolismo a nivel cerebral.

### **Conclusion**

The application of magnetic resonance spectroscopy in clinical studies is under constant technological development that opens new perspectives of study. Existing works show it as a useful tool for research "in situ" and noninvasive technique metabolism in the brain.

### **5.1 perspectiva de futuro**

A pesar de las ventajas que muestra esta técnica en la actualidad, la ERM presenta un mayor potencial tanto a nivel clínico como de investigación, para ello se fabrican equipos capaces de generar campos magnéticos cada vez más potentes, y se pretende mejorar en los tiempos de adquisición largos, elevados niveles de ruido, aumentar versatilidad tanto del equipo como de sus accesorios antenas, etc.

Una de las causas de que esta técnica no se haya extendido anteriormente es el elevado coste económico que implica su instalación y mantenimiento, debido principalmente a las medidas de seguridad que requieren campos magnéticos de tal magnitud. Sin embargo, actualmente la mayor parte de centros clínicos poseen sistemas de resonancia magnética orientados a la obtención de imágenes, pero que pueden utilizarse como ERM.

Por ello se justifica la aplicación de la ERM en buscas de marcadores metabólicos que permita un diagnóstico preciso. Además la realización de exploraciones futuras combinadas con imágenes por RM, técnicas histológicas, estudios genéticos, etc. permitirán acercarnos

cada vez más a los procesos implicados y causas de muchas enfermedades cerebrales, de origen incierto en la actualidad.

Podríamos decir, como conclusión, que si bien la ERM presenta un gran futuro en el campo de la investigación médica dadas sus numerosísimas aplicaciones, muchas aún por descubrir, su aplicación rutinaria en clínica aún debe superar grandes limitaciones, por lo que solamente el tiempo nos dirá lo que el futuro le depara. <sup>24</sup>

## 6 Bibliografía

- 1) Onofre Castillo, J., Martínez, H. R., & Londoño Toro, O. (2002). La Espectroscopia por Resonancia Magnética en el Cerebro Humano. Principios Básicos. *Rev Mex Neuroci [Internet]*, 3(4), 207-10.
- 2) de Química Orgánica, F. Tema 10 Espectroscopia de resonancia magnética nuclear.
- 3) Caralt Robira, M. (2006). *Aplicabilidad de la resonancia magnética en la hipertensión pulmonar*. Universitat de Barcelona.
- 4) Roda, J. M. (2004). Comentario al trabajo: Aplicaciones clínicas de la espectroscopia de protón por resonancia magnética in vivo en el estudio de los astrocitomas: estado actual de JC Méndez Cendón. *Neurocirugía*, 15(3), 268-269.
- 5) Gili, J. (2002). Introducción Biofísica a la Resonancia Magnética en Neuroimagen. *Barcelona, España*.
- 6) Romano, M., Nissen, M. D., Del Huerto, N., & Parquet, C. (2007). Enfermedad de Alzheimer. *Revista de Posgrado de la Vía Cátedra de Medicina*, 75, 9-12.
- 7) UBCORTICAL, S. (1996). Regional Gray and White Matter Metabolite Differences in Subjects With AD, With Subcortical Ischemic Vascular Dementia, and Elderly Controls With<sup>1</sup>H Magnetic Resonance Spectroscopic Imaging. *Arch Neurol*, 53, 167-174.
- 8) Gao, F., & Barker, P. B. (2014). Various MRS application tools for Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *American Journal of Neuroradiology*, 35(6 suppl), S4-S11.
- 9) Abe, K., Terakawa, H., Takanashi, M., Watanabe, Y., Tanaka, H., Fujita, N., ... & Yanagihara, T. (2000). Proton magnetic resonance spectroscopy of patients with parkinsonism. *Brain research bulletin*, 52(6), 589-595.
- 10) Zeegers, M., van der Grond, J., van Daalen, E., Buitelaar, J., & van Engeland, H. (2007). Proton magnetic resonance spectroscopy in developmentally delayed young boys with or without autism. *Journal of neural transmission*, 114(2), 289-295.



- 11) Bernardi, S., Anagnostou, E., Shen, J., Kolevzon, A., Buxbaum, J. D., Hollander, E., & Fan, J. (2011). In vivo <sup>1</sup>H-magnetic resonance spectroscopy study of the attentional networks in autism. *Brain research*, 1380, 198-205.

### **Páginas web**

- 12) <http://www.fragmentoscoetaneos.com/2014/05/tecnicas-neuroimagen-cerebro-vivo.html> (16/04/2015)
- 13) <http://es.slideshare.net/dcow/neuroimagen-unidad2-isaijimenez> (16/04/2015)
- 14) <http://escuela.med.puc.cl/publ/cuadernos/2002/espectroscopia.html> (14/04/2015)
- 15) <http://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articulos/1842/2/Espectroscopia-cerebral-por-Resonancia-Magnetica> (15/04/2015)
- 16) <http://www7.nationalacademies.org/spanishbeyonddiscovery/EI%20desarrollo%20de%20la%20resonancia%20magn%C3%A9tica.html> (17/06/2015)
- 17) [http://www.biografiasyvidas.com/biografia/b/bloch\\_felix.htm](http://www.biografiasyvidas.com/biografia/b/bloch_felix.htm) (17/06/2015)
- 18) <http://www.grupogamma.com/2011/09/historia-resonancia/> (17/06/2015)
- 19) <https://www.usc.es/gl/investigacion/riaidt/rm/rmn/introduccion.html> (17/06/2015)
- 20) <http://queaprendemoshoy.com/como-funciona-una-resonancia-magnetica/> (18/06/2015)
- 21) <https://www.imaio.com/es/e-Cursos/e-MRI/Magnetic-Resonance-Spectroscopy-MRS/single-voxel-spectroscopy> (20/06/2015)
- 22) <http://www.elsevier.es/es-revista-radiologia-119-articulo-espectroscopia-por-resonancia-magnetica-proton-13070954> (23/06/2015)
- 23) <http://escuela.med.puc.cl/publ/cuadernos/2002/espectroscopia.html> (25/06/2015)
- 24) <http://www.amter.org/publicaciones/pasado-presente-y-futuro-de-la-resonancia-magnetica/> (25/06/2015)
- 25) <http://www.tsid.net/resonancia/espectroscopia/espectroscopia.htm> (25/06/2015)