TESIS CARRERA DE MAESTRÍA EN FÍSICA MÉDICA

MEDICIÓN NO INVASIVA DE LA CONCENTRACIÓN DE HIERRO EN HÍGADO MEDIANTE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE 1.5T

Ing. Manuel José Castrillón Fernández
Maestrando

M. Sc. Sergio Mosconi
Director

Diciembre, 2010

Trabajo realizado en el Servicio de Resonancia Magnética de Alto Campo
Fundación Escuela de Medicina Nuclear

Instituto Balseiro
Universidad Nacional de Cuyo
Comisión Nacional de Energía Atómica
Argentina

Índice de abreviaturas

ADC: conversor analógico-digital.

ADN: ácido desoxirribonucleico.

AP: dirección anterior-posterior

BLS: susceptometría biomagnética de hígado, *Biomagnetic Liver Susceptometry*.

CHH: concentración de hierro en hígado.

DICOM: Protocolo de imágenes digitales y comunicación en medicina (*Digital Imaging and Communication in Medicine*)

FH: dirección pies-cabeza

FOV: tamaño de campo de visión (*Field of view*)

GPD: Distribución de Poisson Generalizada (*Generalized Poisson Distribution)*

HH: hemocromatosis hereditaria.

IRM: imagen de resonancia magnética.

IS: intensidad de la señal de resonancia magnética.

NTBI: Formas de hierro no enlazadas a transferrina, *Non Transferrin-Bound forms of Iron.*

PACS: sistema de archivado y de transmisión de imágenes (*Picture Archiving and communication system*)

R1: tasa de relajación longitudinal 1/T1.

R2: tasa de relajación transversal 1/T2.

RF: radiofrecuencia.

RL: dirección derecha-izquierda

RM: resonancia magnética.

RMN: resonancia magnética nuclear.

ROI: región de interés, *Region Of Interest*.

SNR: relación señal-ruido (*Signal Noise Ratio*)

SRE: sistema retículo endotelial.

T1: tiempo que tarda la magnetización en recuperar un 63% de su valor inicial. Se denomina el nombre de tiempo de relajación longitudinal.

T2: tiempo que tiene que transcurrir para que la magnetización transversal pierda un 63% de su valor. Se denomina tiempo de relajación transversal.

Tf: transferrina.

Índice de contenido

Índice de abreviaturas i
Índice de contenido ii
Resumen 2
Abstract 3
Capítulo 1. Introducción 4
1.1 Organización del trabajo 7
1.2 Objetivos 8
1.2.1 Objetivo general 8
1.2.2 Objetivos específicos 8
Capítulo 2. Entorno biomédico 9
2.1 Patologías dependientes de la concentración de hierro 18
2.1.1 Hemocromatosis 18
2.1.2 Talasemias 21
Capítulo 3. Imágenes de resonancia magnética 23
3.1 Origen de la magnetización neta 23
3.2 Magnetización del vóxel de un tejido 30
3.3 Excitación nuclear por un pulso de radiofrecuencia 31
3.3.1 Selectividad de la resonancia magnética 34
3.4 Relajación nuclear 35
3.5 Contraste de las IRM 36
3.5.1 Imágenes potenciadas en T1 37
3.5.2 Imágenes potenciadas en densidad protónica. 39
3.5.3 Imágenes potenciadas en T2 y T2* 39
3.6 Métodos de evaluación de la CHH usando IRM. 43
3.6.1 Relación entre la relajación transversal protónica y el contenido de hierro en tejido 43
3.6.2 Antecedentes de la medición de CHH 46
Capítulo 4. Metodología e implementación 49
4.1 Protocolo general de IRM de hígado 49
4.1.1 Tiempo de adquisición 49
4.1.2 Relación señal/ruido 50

4.1.3 Amplitud de banda 50
4.1.4 Antenas receptoras de superficie 51
4.1.5 Resolución espacial 51
4.1.6 Resolución de contraste 52
4.1.7 Estudios en respiración suspendida (apnea) 52
4.1.8 Estudios en respiración continua (sin apnea) 52
4.1.9 Adquisiciones en paralelo 53
4.2 Protocolo de IRM para la medición de la CHH 54
4.2.1 Elementos del equipo de adquisición de IRM 55
4.2.1.1 Equipo de resonancia magnética 55
4.2.1.2 Bobinas 55
4.2.1.3 Estaciones de trabajo 56
4.2.1.4 Fantomas 56
4.2.2 Posicionamiento del paciente y colocación de la bobina 57
4.2.3 Control de calidad y reproducibilidad de los valores de R2 59
4.2.4 Creación y comprobación de la precisión de la curva de calibración de concentración de hierro 60
4.2.5 Parámetros de adquisición de las imágenes 63
4.2.6 Corrección de la deriva de la ganancia 67
4.2.7 Modelamiento del ruido de fondo 68
4.3 Análisis del decaimiento monoexponencial 71
4.4 Pacientes 72
4.5 Entorno gráfico implementado para la medición de la CHH 73
4.5.1 Algoritmo para la visualización del mapa de R2 76
Capítulo 5. Resultados y análisis 79
5.1 Prueba de reproducibilidad de los valores de R2 79
5.2 Curva de calibración de R2 a partir de soluciones de $FeCl_3$ 80
5.3 Prueba en pacientes 86
Capítulo 6. Conclusiones y observaciones 91
Bibliografía 93
Anexo A: Formato de consentimiento informado 96
Anexo B: Curvas de IS en función del TE. 100
Agradecimientos 106

A mi madre, por haber sido

y ser siempre mi apoyo y cariño incondicional.

A la memoria de Sebastián Barberís. . . .

Resumen

Esta tesis describe la implementación de un método para la medición no invasiva de la concentración de hierro en el hígado (CHH) usando imágenes de resonancia magnética (IRM) nuclear de 1.5T.

La biopsia punzante es la técnica *gold standard* que permite una medición directa de la CHH por espectroscopia de absorción atómica y una evaluación histológica de la patología hepática. Sin embargo, la biopsia hepática no es utilizada como un método rutinario debido a que es invasivo, incómodo y de alto riesgo para el paciente. Además, el tamaño de la muestra es inadecuado y la no uniformidad de la distribución de hierro en el hígado puede dar resultados erróneos. Otro método ampliamente utilizado para evaluar la cantidad total de sobrecarga de hierro corporal es medir la concentración de ferritina en el suero sanguíneo, cuyo análisis representa una baja correlación para usarse como un valor de diagnóstico y pronóstico de enfermedades relacionadas con la sobrecarga de hierro.

La medición de la CHH usando IRM, reduce el tiempo de análisis del valor de concentración de hierro, debido a que la biopsia debe ser realizada por un médico especialista y su estudio tarda en ser evaluado. Igualmente, esta técnica permite un apoyo visual a los especialistas y fortalece las pruebas realizadas con las otras técnicas utilizadas, para darle al paciente un diagnóstico rápido, económico y no invasivo. Además de ser apropiada para monitorear los tratamientos quelantes, evaluando la respuesta al tratamiento a lo largo del tiempo, para evitar riesgos y dar pronósticos acertados durante su uso.

Este trabajo presenta los resultados de un estudio en el campo de las imágenes médicas, que se basó en la elaboración de una rutina software que permite cuantificar la concentración de hierro en el hígado, mediante la técnica de relaxometría R2 o medición de la tasa de relajación de la magnetización transversal, obtenida a partir de IRM.

Palabras clave: concentración de hierro en hígado (CHH), ferritina, imágenes de resonancia magnética (IRM), relaxometría.

Abstract

This thesis describes the implementation of a method for noninvasive measurement of the liver iron concentration (LIC) using magnetic resonance imaging (MRI) of 1.5T.

Puncture biopsy is the gold standard technique that allows direct measurement of LIC by atomic absorption spectroscopy and histological assessment of liver pathology. However, liver biopsy is not used as a routine method because it is invasive, uncomfortable and risky for the patient. In addition, the sample size is inadequate and the non-uniformity of the distribution of iron in the liver may give erroneous results. One widely used to assess total body iron overload is to measure the concentration of ferritin in blood serum, which represents a low correlation analysis for use as a diagnostic and prognostic value of disease related to iron overload.

Measurement of LIC using MRI scanning, reduces the analysis time of iron concentration value, because the biopsy should be performed by a medical specialist and the study delay to be evaluated. Also, this technique provides a visual support to specialists and strengthens the tests carried out on other techniques, to give the patient a rapid, inexpensive and not invasive diagnosis. In addition, to being appropriate to monitor chelation therapy, evaluating treatment response over time, to avoid risks and provide accurate prognosis during use.

This paper presents the results of a study in the field of medical imaging, which was based on the development of a software routine to quantify the concentration of iron in the liver using R2 relaxometry technique or measurement of transverse magnetization relaxation rate, obtained from MRI.

Keywords: liver iron concentration (LIC), ferritin, magnetic resonance imaging (MRI), relaxometry.

Capítulo 1. Introducción

El hierro es un elemento esencial para la vida. Su déficit provoca una de las enfermedades más prevalentes en la especie humana, la anemia ferropénica. Sin embargo, en sociedades desarrolladas no es la ferropenia la alteración más frecuente del metabolismo de este metal, sino la sobrecarga. Las mismas características que hacen del hierro un elemento insustituible por su capacidad de aceptar y donar electrones, le capacitan, en situaciones patológicas, para causar daño tisular grave.

El hierro se absorbe en el organismo en el intestino, específicamente en el duodeno, y sus únicas vías de eliminación consisten en la descamación de células intestinales y de la piel, así como la caída del pelo, la menstruación, la gestación y la lactancia en las mujeres. Ya que no existe ningún mecanismo activo de excreción de hierro, el control de la absorción intestinal es el único sistema que permite evitar la sobrecarga. Una vez absorbido, el hierro se une a la transferrina plasmática en forma de Fe^{3+}. El hierro unido a la transferrina es ligado selectivamente por receptores celulares e internalizado en la célula, dentro de vesículas, por endocitosis. Posteriormente, es liberado al interior de la célula gracias a la acidificación que se produce dentro de la vesícula endosómica, uniéndose finalmente a la proteína de almacenamiento ferritina. Cuando existe gran cantidad de hierro, éste puede sobrepasar la capacidad de unión de la transferrina y la ferritina, apareciendo Fe^{2+} libre, que puede entrar en las células por difusión pasiva y sin control alguno. El hierro libre puede catalizar la formación de radicales libres mediante la reacción de Fenton, al reaccionar con peróxido de hidrógeno, y producir radicales hidroxilo. Los radicales libres son especies químicas muy reactivas que poseen un electrón desapareado, que les confiere una gran inestabilidad energética, llegando a afectar al ADN, proteínas y lípidos, constituyendo la base molecular del daño tisular.

Existen diversos trastornos por sobrecarga de hierro: los hay adquiridos, como es el caso de la hemocromatosis adquirida o secundaria, relacionada con múltiples transfusiones, las talasemias y la eritropoyesis ineficaz; y también genéticos, como el caso de la hemocromatosis hereditaria o primaria, que pueden ser debidos a la alteración de genes distintos, expresando fenotipos con diversa agresividad. El hierro excedente tiende a depositarse en diferentes tejidos, inicialmente lo hace en el hígado, pero cuando la

sobrecarga de hierro continúa incrementándose, empieza a depositarse en cualquier parte del organismo incluyendo corazón, páncreas, bazo, sistema nervioso central, sistema endocrino, músculo y piel, produciendo consecuencias importantes en su función.

En la mayoría de los centros clínicos, el método estándar para evaluar la cantidad total de sobrecarga de hierro en el cuerpo es medir la concentración de ferritina en suero sanguíneo. Sin embargo, la correlación entre ferritina en suero y el hierro corporal no es lo suficientemente precisa para ser un valor de pronóstico fuerte, especialmente debido a su asociación con inflamación y daño tisular. Por otra parte, la relación entre la concentración de ferritina en suero sanguíneo y el hierro corporal es alterada de forma compleja por el tratamiento quelante y con la vitamina C. Además, la relación entre la ferritina en suero y el hierro corporal parece ser diferente para distintas condiciones hematológicas. Una alternativa para evaluar la sobrecarga de hierro en el cuerpo es la medición de la concentración de hierro en el hígado (CHH). El hígado es el principal órgano de almacenamiento de hierro en el cuerpo, conteniendo aproximadamente el 70% de la cantidad total. La cantidad de hierro en el hígado está estrechamente relacionada con la cantidad de hierro en todo el cuerpo y puede ser evaluada por la extracción de una biopsia hepática, o mediante imágenes de resonancia magnética (IRM) o susceptometría biomagnética de hígado (BLS).

La biopsia punzante es la técnica corriente o *gold standard* que permite una medición directa de la CHH por espectroscopia de absorción atómica, así como una evolución histológica de la patología hepática. Sin embargo, la biopsia hepática no puede ser usada como un método rutinario debido a que es invasivo, incómodo y de significativo riesgo para el paciente. Además, el tamaño de la muestra es inadecuado y la no uniformidad de la distribución de hierro en el hígado puede dar resultados engañosos.

Actualmente, las IRM son usadas comúnmente para diagnóstico clínico. Esta técnica utiliza las propiedades magnéticas del cuerpo humano para obtener las imágenes. Los núcleos de hidrógeno son el principal constituyente de los tejidos corporales, haciendo parte de las moléculas de agua y lípidos. Un núcleo de hidrógeno produce un momento magnético que puede interactuar con un campo magnético externo. Los equipos modernos de IRM generan un fuerte y homogéneo campo magnético haciendo uso de un campo eléctrico generado por una bobina superconductora. Los pacientes son posicionados dentro

del imán cilíndrico, exponiéndolos al campo magnético intenso, haciendo que los núcleos de hidrógeno en el cuerpo, que normalmente tienen una orientación aleatoria, se alineen en dirección paralela al campo magnético. Los equipos de IRM aplican pulsos electromagnéticos a una radiofrecuencia específica (RF), los núcleos de hidrógeno absorben la energía del pulso de RF y precesan fuera del equilibrio. Cuando el pulso de RF es apagado, los núcleos que están precesando liberan su energía absorbida y retornan a su posición normal siguiendo dos curvas caracterizadas por los tiempos de relajación T1 y T2. La alteración de la magnetización del núcleo induce un voltaje en una bobina receptora o antena que convierte la señal de resonancia magnética (RM) en una imagen.

Para medir la concentración de hierro en un tejido, las IRM la evalúan indirectamente, detectando los efectos sobre los tiempos de relajación del hierro almacenado en el tejido en forma de ferritina y hemosiderina, los cuales son paramagnéticos. La ferritina y la hemosiderina tienen alrededor de 4000 iones de Fe por molécula y cada ión tiene algunos electrones desapareados. Varios tipos de hierro repercuten en leves alteraciones del campo magnético local de los protones del tejido, mejorando su relajación magnética y acortando el tiempo de relajación T2. Por lo tanto, la concentración de hierro depositado en los tejidos hace que los protones se desfasen rápidamente debido al acortamiento del tiempo de relajación T2, así el valor del decrecimiento refleja la cantidad de compuestos de hierro presente en el tejido.

La técnica de medición de la CHH usando IRM reduce el tiempo de análisis del valor de concentración de hierro, debido a que la biopsia debe ser realizada por un médico especialista y su estudio tarda en ser evaluado. Igualmente, esta técnica permite un apoyo visual a los especialistas y fortalece las pruebas realizadas con las otras técnicas utilizadas, para darle al paciente un diagnóstico rápido, económico y no invasivo.

Este trabajo presenta los resultados de un estudio en el campo de las imágenes médicas, que se basó en la elaboración de una rutina software que permite cuantificar la concentración de hierro en el hígado, mediante la técnica de relaxometría R2 o medición de la tasa de relajación de la magnetización transversal, obtenida a partir de IRM. Bajo estos aspectos, el trabajo facilita el diagnóstico médico gracias a que entrega el resultado en poco tiempo y permite ser una alternativa para aquellos pacientes en tratamiento quelante que requieren control a lo largo del procedimiento.

Con la implementación de esta técnica se está dando un paso importante en el estudio y análisis de imágenes médicas de RM para la medición de la CHH, teniendo en cuenta que actualmente este estudio no se realiza en ningún centro especializado de la Argentina y las pocas instituciones que lo promulgan, lo derivan a algún laboratorio en el exterior. Con este trabajo se busca a futuro, cuantificar la CHH mediante IRM, disminuyendo los costos y el tiempo de la tecnología de diagnóstico para realizar procedimientos más accesibles a los pacientes, además de ser un método no invasivo de estudio. En la actualidad se encuentran en el país muy pocos resonadores magnéticos de alto campo y en la provincia de Mendoza solamente está disponible en la Fundación Escuela de Medicina Nuclear (FUESMEN); por lo tanto el estudio implementado es considerado de suma necesidad para poder atender la demanda de pacientes que requiere de este examen, tanto a nivel regional como nacional.

1.1 Organización del trabajo

A continuación se presenta una perspectiva general de la organización estructural del documento:

En el capítulo introductorio se exponen una descripción generalizada del problema y su justificación, así como las expectativas futuras. En el Capítulo 2, “Entorno biomédico”, se da una introducción a los conceptos básicos del metabolismo del hierro en el cuerpo humano, así como una breve reseña de las patologías relacionadas con el aumento de la concentración de hierro en el hígado. En el Capítulo 3, “Imágenes de resonancia magnética”, se presenta una descripción general sobre el fenómeno de resonancia magnética nuclear (RMN), así como la obtención de las IRM y la explicación de la técnica de relaxometría como método para cuantificar la CHH.

En el Capítulo 4, “Metodología e implementación”, se realiza una descripción detallada acerca del método implementado, se muestran los protocolos para medir la reproducibilidad de la técnica en diferentes equipos, así como la obtención de la curva de calibración que relaciona diferentes concentraciones de hierro con la tasa de relajación transversal R2. También se mencionan las herramientas de desarrollo y su importancia dentro de la ejecución del proyecto, así como cada una de las componentes de procesamiento y análisis digital de imágenes utilizadas en la rutina software desarrollada.

En el Capítulo 5, “Resultados y análisis”, se realiza una evaluación de los resultados obtenidos durante la ejecución de cada etapa del trabajo; así mismo, se efectúa una estimación del logro de los resultados esperados y una evaluación de la eficiencia y eficacia de la aplicación software comparada con otros métodos de medición de la CHH. En el último capítulo, “Conclusiones y observaciones”, se formulan las conclusiones a partir de los resultados del trabajo y se expresan algunas consideraciones adicionales para mejorar el desarrollo del trabajo en el futuro, así como las perspectivas del sistema implementado. El Anexo A, “Información para el paciente y consentimiento informado” muestra el formato del consentimiento firmado por cada participante del estudio. El Anexo B, “Curvas de IS en función del TE”, presenta las curvas de reproducibilidad del fantoma utilizado.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general

- Medir de forma no invasiva la concentración de hierro en hígado usando imágenes de resonancia magnética nuclear de 1.5T.

1.2.2 Objetivos específicos

- Implementar una secuencia de adquisición de IRM para la protocolización de la técnica de medición de concentración de hierro en el hígado usando el resonador magnético *Achieva* de 1.5T de PHILIPS.
- Evaluar la correlación entre valores de R2 y concentración de hierro *in vitro* con el fin de crear una curva de calibración para el resonador magnético *Achieva* de 1.5T de PHILIPS.
- Comprobar la precisión de los valores calculados de R2 a partir de la curva de calibración obtenida.
- Construir una curva de calibración entre valores de R2 y concentración de hierro en hígado *in vivo*, a partir de los resultados de ferritina sérica y biopsia hepática de diversos pacientes con hemocromatosis y talasemia.

Capítulo 2. Entorno biomédico

El hierro es un elemento fundamental para todos los organismos vivos. En las primeras etapas de la evolución biológica, los seres primitivos lo utilizaban como parte de su sistema de generación de energía, existiendo en su estado ferroso o reducido debido al escaso oxígeno ambiental. Posteriormente, cuando la concentración de oxígeno aumentó, predominaron las formas oxidadas, poco solubles y los organismos tuvieron que sintetizar moléculas que tuvieran la capacidad de unir el hierro para poder así beneficiarse de su presencia. En los animales vertebrados esta función es realizada por las proteínas transferrina (Tf) y ferritina, las cuales son responsables del transporte y almacenamiento de hierro, respectivamente [1]. Estas proteínas unen el metal muy estrechamente para evitar la formación de productos hidrolíticos insolubles, pero debido a la reversibilidad del proceso, el elemento se encuentra disponible ante la demanda celular. Además, la combinación del hierro con una proteína evita la pérdida de hierro a través de la filtración glomerular dada en el riñón.

En soluciones acuosas, el hierro puede encontrarse en dos estados de oxidación estables: Fe^{2+} (ferroso) y Fe^{3+} (férrico), haciéndolo capaz de participar en reacciones que abarcan gran parte de la bioquímica, incluyendo aquéllas que controlan el flujo de electrones a través de rutas bioenergéticas, la síntesis de ADN y el aporte de oxígeno a los tejidos. Entre las hemoproteínas que utilizan hierro como cofactor se encuentran las que participan en el metabolismo del oxígeno (oxidasas, peroxidasas, catalasas e hidroxilasas), en la transferencia de electrones (citocromos) y en el transporte de oxígeno (hemoglobina y mioglobina) [2].

En el organismo existen dos compartimientos que poseen hierro: un compartimiento funcional, que incluye los diversos compuestos celulares que contienen o requieren hierro, entre los que se incluyen la hemoglobina, la mioglobina, la transferrina y las enzimas que requieren hierro como cofactor o como grupo prostético, ya sea en forma iónica o como grupo hemo; y otro compartimiento de depósito, constituido por la ferritina y la hemosiderina, que constituyen las reservas corporales de hierro. El transporte de hierro unido a la Tf plasmática facilita el intercambio del metal entre ambos compartimientos. El exceso de hierro se deposita intracelularmente asociado a ferritina y hemosiderina,

fundamentalmente en el sistema monocito-macrófago del bazo, el hígado y la médula ósea. En condiciones fisiológicas el hierro está unido a una proteína ya que su presencia aislada, como en los casos de intoxicación por el metal, produce daños graves en los tejidos. Esta toxicidad se debe a la habilidad del hierro libre de generar, en conjunto con el oxígeno y por medio de las reacciones de Fenton y de Harber-Weiss, radicales hidroxilos que pueden causar peroxidación de las membranas lipídicas y otros constituyentes celulares [3]; o por las reacciones del hierro ferroso con el oxígeno, produciendo ferrilo, los radicales perferrilo u otras especies reactivas del oxígeno [4]. Por esta razón, la absorción, concentración y estado redox de este metal, deben ser regulados cuidadosamente: si la cantidad de hierro presente es escasa, se produce anemia y si se encuentra en exceso, causa daño en los órganos por siderosis. La defensa contra el efecto tóxico del hierro está dada por dos proteínas especializadas en enlazar el hierro, ellas son: la Tf extracelular y la ferritina intracelular. Ambas retienen el hierro férrico en forma segura, el cual pierde su capacidad de catalizar la producción de radicales libres. El hierro es almacenado principalmente de forma intracelular, donde los efectos de su daño potencial son mayores. La habilidad protectora de la ferritina está basada en su capacidad para transformar el hierro ferroso (Fe^{2+}) altamente tóxico a uno menos tóxico (Fe^{3+}) y secuestrarlo en su interior.

El contenido total de hierro de un individuo normal es aproximadamente de 3,5 a 4 g en la mujer y de 4 a 5 g en el hombre. En individuos con un estado nutricional óptimo alrededor del 65% del hierro se encuentra formando parte de la hemoglobina, el 15% está contenido en las enzimas y la mioglobina, el 20% como hierro de depósito y solo entre el 0,1 y 0,2 % se encuentra unido con la Tf como hierro circulante [5]. Del total del hierro que se moviliza diariamente, sólo se pierde una pequeña proporción a través de las heces, la orina y el sudor. La reposición de esta pequeña cantidad se realiza a través de la ingesta, a pesar de que la proporción de hierro que se absorbe de los alimentos es muy baja, entre 1 y 2 mg (aproximadamente el 10% de la ingesta total). En un adulto normal, la hemoglobina contiene 2 g de hierro (3,4 mg/g de hemoglobina), que luego de los 120 días de vida media de los eritrocitos, son cedidos a los fagocitos del sistema retículo endotelial (SRE) a razón de 24 mg/día aproximadamente, de los cuales, 1 mg en los hombres y 2 mg en las mujeres son excretados diariamente. El SRE recibe también un remanente de hierro que proviene de la eritropoyesis ineficaz (aproximadamente 2 mg). De los 25 mg contenidos en el SRE,

2 mg se encuentran en equilibrio con el compartimiento de depósito y 23 mg son transportados totalmente por la Tf hasta la médula ósea para la síntesis de hemoglobina. Para cerrar este ciclo, la médula requiere diariamente 25 mg, de los cuales 23 mg provienen del SRE y de 1 a 2 mg de la absorción intestinal. Aproximadamente, 7 mg se mantienen en equilibrio entre la circulación, y los depósitos, representados por la Tf y ferritina, respectivamente [6]. La Figura 2.1 muestra un esquema del ciclo del metabolismo del hierro en el organismo. La principal diferencia entre el metabolismo del niño y del adulto está dada por la dependencia que tienen los primeros del hierro proveniente de los alimentos. En los adultos, aproximadamente el 95% del hierro necesario para la síntesis de la hemoglobina proviene de la recirculación del hierro de los hematíes destruidos. En contraste, un niño entre los 4 y 12 meses de edad, utiliza el 30 % del hierro contenido en los alimentos con este fin, y la tasa de reutilización a esta edad es menos significativa [7].

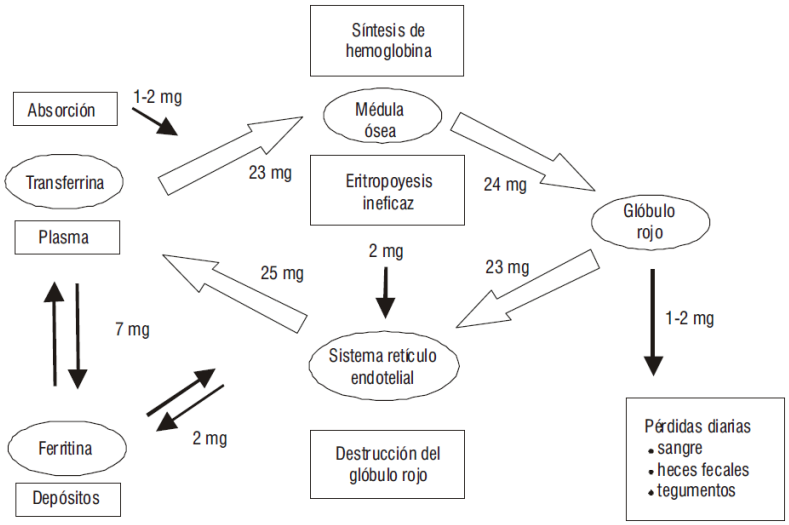


Figura 2.1 - Esquema del ciclo del hierro en el organismo [7]

La circulación del hierro entre los compartimientos de depósito y utilización constituye un ciclo muy eficiente y prácticamente cerrado. Dado que sólo una pequeña proporción del metal es excretada, la necesidad diaria de incorporación de hierro en un individuo es muy baja. Por lo tanto, sólo una pequeña proporción del total del metal ingerido es absorbida (aproximadamente el 10%). Aunque el hierro puede ser absorbido a lo largo de todo el intestino, este proceso es más eficiente en el duodeno y en la parte alta del yeyuno. El hierro presente en la dieta se encuentra principalmente en estado férrico o como hierro hémico, mientras que el incorporado a través de productos farmacológicos

usualmente está presente como sal ferrosa. El ión férrico (Fe^{3+}) es insoluble en soluciones con pH mayor a 3, por lo que, en el estómago se forman complejos solubles del metal unidos a mucina, lo que aumenta su disponibilidad para ser absorbido en el duodeno.

Por otra parte, en el lumen del intestino se forman cantidades variables de iones ferrosos como consecuencia de la reducción del hierro férrico por agentes dietarios, como el ácido ascórbico (vitamina C), algunos aminoácidos y azúcares [1]. En consecuencia, ambos iones, ferroso y férrico, pueden presentarse ante las células intestinales o enterocitos, que son los encargados de degradar diversas moléculas alimenticias y transportarlas hacia el interior del cuerpo humano. Estas células se encuentran en el intestino delgado y en el colon, tienen una organización polarizada, presentan una zona apical orientada hacia el lumen del intestino y una zona basal, donde se encuentran los vasos sanguíneos; poseen microvellosidades en su polo apical, incrementando el área para la digestión y el transporte de moléculas desde el lumen intestinal.

El hierro dietario se encuentra en las formas hemo y no hemo (iónico) y su absorción ocurre en la superficie apical de los enterocitos duodenales por diferentes mecanismos. El hierro orgánico es el que forma parte de la hemoglobina, mioglobina y enzimas hemínicas, y está especialmente presente en los alimentos de origen animal. Este tipo de hierro se absorbe mucho más eficientemente y más rápidamente que el hierro inorgánico y la mayoría del mismo entra en las células intestinales como una metaloporfirina intacta, a través de la proteína transportadora hemo (HCP-1). Una vez en el interior de la célula el hierro es liberado de la porfirina, por acción de una hemo-oxigenasa (HO-1), dejando libre intracelularmente el hierro ferroso [8].

El hierro no hemo existe principalmente en su forma oxidada Fe^{3+}, la cual no es biocompatible y debe ser reducida primero a la forma de Fe^{2+} antes de que sea transportada dentro del epitelio intestinal. La penetración de los iones férricos, a través de la membrana de los enterocitos, está dada por una enzima ferrireductasa de membrana llamada Dcytb expresada en el borde en cepillo del duodeno. Posteriormente, el ión Fe^{2+} es transportado al interior de la célula gracias a una proteína llamada DMT-1 (transportador de metales divalentes), la cual también trafica otros metales tales como zinc, cobre, cobalto y plomo, mediante mecanismos protónicos. En el citoplasma este átomo de hierro es transferido a las mobilferrinas, y puede quedar unido a estos compuestos, ser transferido a ferritina o, ser

transportado a la porción basolateral de estas células, hacia la proteína transmembrana ferroportina 1, que juega el papel de exportador duodenal de hierro [9].

El transporte del átomo de hierro desde el exportador duodenal, donde se encuentra en forma Fe^{2+} a través de la membrana, a la Tf donde se encuentra en forma Fe^{3+} no está clarificada, existiendo un mecanismo de oxidación en el que participa una molécula similar a la ceruloplasmina y que se denomina hefaestina, la cual facilita la incorporación del hierro a la apotransferrina o Tf apoférrica. En las células de las criptas duodenales se transmite información del nivel de los depósitos férricos del organismo a través de la captación por el receptor de transferrina de la Tf circulante, modulándose así la síntesis en estas células de las proteínas implicadas en la absorción y depósito de hierro, como el receptor de Tf, ferritina y DMT-1. En la porción laterobasal de los enterocitos duodenales el receptor de Tf forma un complejo de alta afinidad con la proteína HFE, dificultando la unión de Tf a su receptor. En la hemocromatosis hereditaria la proteína HFE anómala no impide la unión de Tf y su receptor, facilitando así la transmisión incontrolada de hierro [9] [10]. La Figura 2.2 muestra un esquema del metabolismo del hierro en los enterocitos del duodeno.

El hierro es transportado por la transferrina (Tf), que es una glicoproteína sintetizada en el hígado, que posee 2 dominios homólogos de unión para el hierro férrico (Fe^{3+}). Esta proteína toma el hierro liberado por los macrófagos producto de la destrucción de los glóbulos rojos o el procedente de la mucosa intestinal, se ocupa de transportarlo y hacerlo disponible a todos los tejidos que lo requieren. Se le denomina apotransferrina a la proteína que no contiene hierro, Tf monoférrica cuando contiene un átomo de hierro y diférrica cuando contiene 2 átomos del metal. Cuando todos los sitios de transporte están ocupados se habla de Tf saturada. En condiciones fisiológicas, la concentración de Tf excede la capacidad de unión necesaria, por lo que alrededor de dos tercios de los sitios de unión están desocupados. En el caso de que toda la Tf esté saturada, el hierro que se absorbe no es fijado y se deposita principalmente en el hígado en forma de ferritina, de la cual una parte puede ser posteriormente liberada a la circulación, mediante mecanismos que se encuentran en discusión [9] [10].

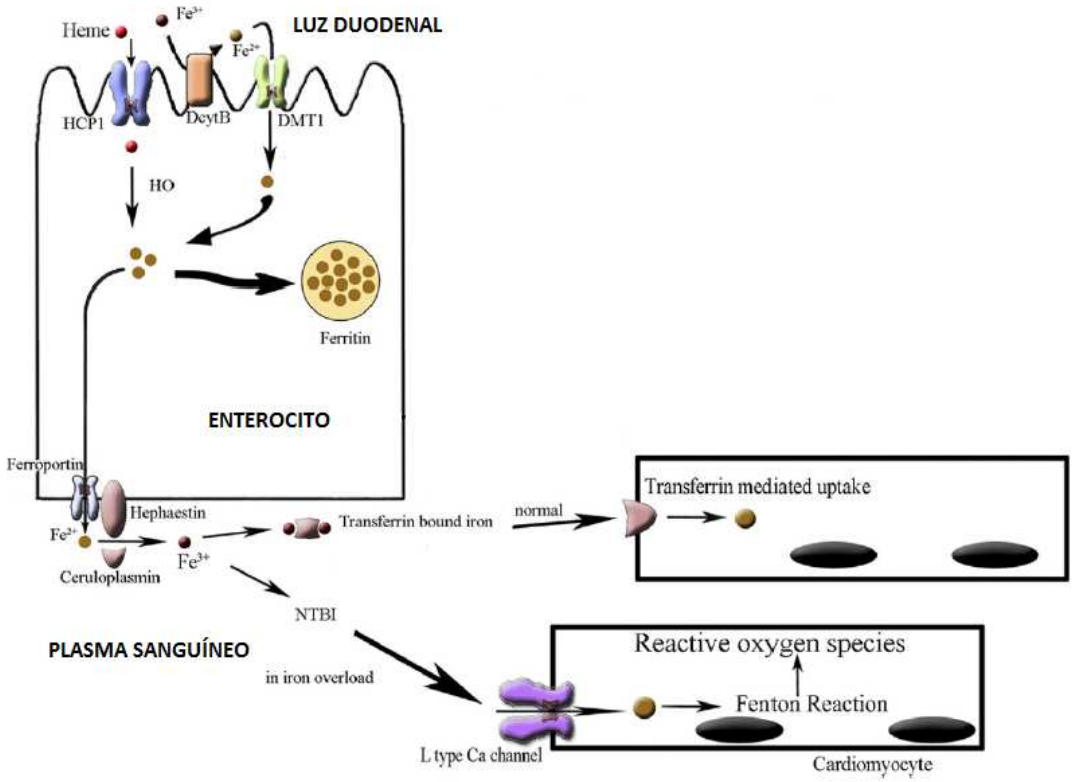


Figura 2.2 - Esquema del metabolismo del hierro en los enterocitos del duodeno [11].

Los depósitos de hierro localizados fundamentalmente en los hepatocitos y en las células tisulares del sistema monocítico-fagocitario, están constituidos principalmente en forma de moléculas de ferritina y hemosiderina, que evitan su toxicidad y lo mantienen disponible para la síntesis de las proteínas y enzimas [10]. La ferritina es una molécula esférica formada por cadenas pesadas y ligeras, llamadas isoferritinas. Los átomos de hierro se acumulan en un núcleo de hidroxifosfato férrico, para lo que se precisa la oxidación previa del ión ferroso, proceso catalizado por las cadenas pesadas de ferritina, que tienen capacidad ferroxidasa. Cada molécula de ferritina puede almacenar 4500 átomos de hierro. El cúmulo de ferritina en la célula no es visible con el microscopio de luz, pero cuando su nivel aumenta se transforma en hemosiderina, compuesto insoluble, de mayor peso molecular y visible bajo el microscopio óptico con tinciones adecuadas [12].

Bajo condiciones fisiológicas, la concentración de hierro en el cuerpo humano es cuidadosamente regulada y normalmente mantenida en aproximadamente 40 mg Fe/kg de peso corporal en mujeres y aproximadamente 50 mg Fe/kg en hombres, distribuida entre los compartimientos funcional, de almacenamiento y de transporte. La deficiencia de

hierro es designada como una serie de condiciones en las cuales el hierro corporal disminuye y surge de un incremento sostenido de los requerimientos de hierro por encima de los suministros del metal, usualmente debido a pérdida de sangre, embarazo o a la etapa de crecimiento. Muchos de los casos de deficiencia de hierro pueden ser detectados por mediciones de ferritina en suero, concentración del receptor Tf en suero o ambos, determinados a partir de una muestra de sangre periférica. La sobrecarga de hierro aparece a partir del incremento sostenido en el suministro de hierro por encima de los requerimientos normales y se desarrolla en condiciones en las cuales la regulación de la absorción intestinal está alterada, como en la hemocromatosis hereditaria y anemia refractaria con eritropoyesis insuficiente, anulada, como en la sobrecarga de hierro transfusional, o ambas [13] [14].

La sobrecarga de hierro resulta principalmente en un incremento del almacenamiento de hierro visto en los niveles de ferritina y hemosiderina [15], mientras que el hierro funcional es mínimamente afectado. Ya sea derivada de una mayor absorción de hierro en la dieta o de la transfusión de glóbulos rojos, la progresiva acumulación de hierro, finalmente abruma la capacidad del cuerpo para la absorción segura de este metal. Los pacientes sintomáticos pueden tener cualquier manifestación característica de sobrecarga de hierro sistemática tales como: enfermedad del hígado con eventual desarrollo de cirrosis y carcinoma hepatocelular, diabetes mellitus, insuficiencia gonadal, y otros desordenes endocrinos, tales como arteropatía e incremento en la pigmentación de la piel, además, la cardiomiopatía inducida por hierro puede ser letal. El pronóstico de los pacientes con sobrecarga de hierro está influenciada por varios factores, entre ellos, la edad en la cual empezó la sobrecarga, la tasa y ruta de la carga de hierro, la distribución de los depósitos de hierro entre macrófagos y sitios parenquimales, la cantidad y duración de la exposición del hierro no enlazado a la Tf, el nivel corporal de ascorbato, y desórdenes coexistentes, especialmente alcoholismo y hepatitis viral. A pesar de que los complejos hierro-ferritina y hierro-hemosiderina no son directamente responsables de los efectos adversos del hierro, la magnitud global de acumulación de depósitos de hierro parece ser el principal determinante de los resultados clínicos en todas las formas de sobrecarga de hierro sistémico.

Las reservas de hierro corporal total pueden ser medidas por flebotomía cuantitativa [16], pero no puede ser utilizada en pacientes dependientes de transfusión con sobrecarga de hierro y es generalmente aceptable únicamente si el procedimiento provee un beneficio terapéutico. La medición de ferritina en plasma otorga una estimación indirecta del hierro corporal almacenado, pero la utilidad de esta medida está limitada por muchas condiciones clínicas comunes en las cuales la ferritina en plasma no es un indicador confiable de hierro corporal. La inflamación, infección, lesión del hígado, hemolisis, eritropoyesis ineficiente, y deficiencia de ascorbato, son complicaciones comunes de hemocromatosis hereditaria, sobrecarga de hierro transfusional o ambas, y perturban los niveles de ferritina en suero independientemente de los cambios en el hierro corporal total [9].

El método de referencia para evaluar el grado de exceso de hierro corporal, y por ende la sobrecarga de hierro sistémico, es la medición de la concentración de hierro almacenado en el hígado [17], reconociendo que la relación exacta entre el hierro hepático y la carga de hierro corporal total depende de desordenes subyacentes. El hígado es el único compartimento cuyo contenido de hierro es consistentemente incrementado con el aumento de hierro corporal, detectándose la sobrecarga en los sitios retículo-endotelial y parenquimal. El primer sitio es caracterizado por las células de Kupffer que son la población más grande de macrófagos del tejido, localizados estratégicamente dentro del sinusoide hepático para supervisar, en la sangre filtrada por la vena porta, la presencia de una variedad de sustancias extrañas. También son responsables en la eliminación de los glóbulos rojos senescentes que ya no cumplen su función y de la degradación de la hemoglobina. El segundo sitio está caracterizado por lo hepatocitos que tienen un rol fundamental en el metabolismo de los nutrientes, y por lo tanto en el balance del nitrógeno y de la energía, factores determinantes para la función e integridad estructural del organismo. Otro rol importante de los hepatocitos es la síntesis y degradación de las proteínas plasmáticas, tales como la Tf y la ceruloplasmina.

Aunque la biopsia de hígado para análisis químico del contenido de hierro en el tejido otorga la medida cuantitativa más directa del hierro disponible, la incomodidad y riesgo del procedimiento limita su aceptabilidad en los pacientes y excluye su uso frecuente en observaciones seriales durante el tratamiento. Es debido a esto que desde hace más de dos décadas se han realizado investigaciones para que la medición del hierro

almacenado sea de forma no invasiva, segura, precisa y fácilmente disponible para mejorar el diagnóstico y tratamiento de los pacientes con sobrecarga de hierro, incluyendo aquellos con hemocromatosis hereditaria, talasemia mayor, enfermedad de células falciformes, anemia aplásica, mielodisplasia y otras enfermedades [18].

Las prioridades en la investigación clínica de la sobrecarga de hierro han sido identificadas como: a) desarrollar, calibrar y validar nuevos métodos o modificaciones de los métodos actuales para medir cuantitativamente los depósitos de hierro en tejido, de forma que sean no invasivos, seguros, precisos y fácilmente disponibles para su uso clínico; b) examinar la relación entre la carga de hierro total y las manifestaciones de toxicidad del hierro en diferentes formas de sobrecarga; c) evaluar el valor de mediciones no invasivas de hierro en hígado para orientar la terapia quelante en pacientes con sobrecarga de hierro transfusional, y en la identificación de pacientes que podrían beneficiarse de la terapia de flebotomía y que presentan un alto riesgo genético de hemocromatosis hereditaria; y d) determinar las relaciones entre la concentración de hierro en tejidos específicos y daño en el corazón, hígado, páncreas, otras glándulas endocrinas y articulaciones, en diferentes formas de sobrecarga de hierro [19].

Por otro lado, la RM ha sido probada como un método eficiente en la medición de la CHH. La presencia de iones de hierro en una muestra causa una reducción de la intensidad de la señal, lo cual está relacionado con el decrecimiento en el tiempo de relajación T2 de los protones. Basándose en este principio, las IRM sirven como una técnica no invasiva para determinar la CHH. Algunos estudios han mostrado que el logaritmo de la intensidad de la señal (IS) y la tasa de relajación transversal R2 (1/T2) de las imágenes adquiridas usando secuencias de eco de gradiente y eco de espín tienen una correlación lineal con la biopsia punzante [20] [21]. Sin embargo, las mediciones de IRM en pacientes con sobrecarga severa de hierro son erróneas debido a los ultrarrápidos tiempos de relajación transversal. Así, existe un límite superior de CHH que puede ser evaluado con IRM. Otra desventaja de la IRM es su dependencia con alteraciones del tejido tales como fibrosis e inflamación. Sin embargo, la IRM tiene la ventaja de permitir evaluar la carga de hierro en diferentes órganos de almacenamiento, tales como el corazón y el bazo.

Una vez establecido el diagnóstico de sobrecarga de hierro es necesario iniciar la terapia quelante teniendo en cuenta que el hierro es esencial para muchas funciones fisiológicas en el organismo, por lo que es indispensable obtener la quelación sin llegar a la depleción [22]. La principal meta de la terapia quelante es disminuir la concentración de hierro tisular a concentraciones a las que no pueda ocurrir la toxicidad mediada por hierro. Con las terapias quelantes actuales el obtener un nivel de hierro tisular seguro lleva meses o años debido a la poca capacidad que tienen para remover el hierro fijado en los tejidos. Aunque la CHH no necesariamente refleja la sobrecarga en el resto de los tejidos del organismo, se toma como referencia para disminuir la toxicidad en miocardio que es la principal causa de muerte en pacientes politransfundidos [23].

Por sus características físico-químicas, los tejidos biológicos, en su mayoría, tienen una susceptibilidad magnética muy próxima a la del agua, es decir que están compuestos por moléculas diamagnéticas. Algunos órganos como el hígado, el bazo y el corazón, presentan propiedades paramagnéticas por causa de la presencia de compuestos de ferritina en sus tejidos. El hígado ha sido uno de los órganos más estudiados en virtud de la acumulación de Fe^{3+}. En su estado normal, el hígado posee concentraciones de Fe^{3+} que varían entre 0.1 y 1.5 mg de Fe/g de tejido seco, y cuando existe una acumulación anormal, la concentración de Fe^{3+} puede llegar a alcanzar hasta 50 mg/g de tejido seco.

2.1 Patologías dependientes de la concentración de hierro

A continuación se mencionan las principales características de las dos enfermedades más comunes relacionadas con el aumento de la CHH. La Tabla 2.1 muestra una clasificación de todas las patologías relacionadas con los desordenes de la sobrecarga de hierro en diferentes tejidos.

2.1.1 Hemocromatosis

La hemocromatosis es una enfermedad caracterizada por el depósito excesivo de hierro en el organismo, causada por una absorción intestinal aumentada de hierro. Existen otras condiciones en que se acumula hierro excesivo, como personas que han recibido transfusiones múltiples de glóbulos rojos o personas con anemias hemolíticas, sin embargo, en estas condiciones se tiende a hablar de hemosiderosis en lugar de hemocromatosis. Se reconocen dos tipos: primaria y secundaria. En la hemocromatosis

primaria o hereditaria, el hierro se deposita dentro de las células parenquimatosas del hígado y de otros órganos como páncreas, tracto gastrointestinal, riñón, corazón, piel y glándulas endócrinas, lo que resulta en insuficiencia funcional; mientras que la hemocromatosis secundaria o hemosiderosis se refiere al incremento del depósito de hierro en forma de hemosiderina, sin lesión del órgano, inicialmente dentro del sistema reticuloendotelial (bazo, ganglios linfáticos y células de Kupffer en el hígado) y posteriormente se hace indistinguible clínica e histológicamente de la primaria [24].

La hemocromatosis hereditaria (HH) o primaria se transmite por herencia autosómica recesiva, y en la gran mayoría de pacientes es causada por mutación en el gen de la hemocromatosis, denominado HFE, que se localiza en el brazo corto del cromosoma 6. La HH debe diferenciarse de aquellas enfermedades o situaciones que producen una sobrecarga adquirida o secundaria de hierro. Se han identificado dos mutaciones del gen HFE en pacientes con HH: la C282Y (sustitución de cisteína por tirosina en el aminoácido 282) y la H63D (sustitución de histidina por aspartato en el aminoácido 63). Generalmente, aproximadamente un 90% de pacientes con HH son homocigotos para la mutación C282Y (homocigoto C282Y/C282Y) y un 5% presentan ambas mutaciones en estado heterocigoto (heterocigoto compuesto C282Y/H63D). En el 5% restante la enfermedad no se asocia a mutación en el gen HFE. El gen HFE codifica la síntesis de una proteína transmembranosa, que se une al receptor de la Tf y disminuye su afinidad por la Tf. La consecuencia de la mutación C282Y es la ausencia de expresión de la proteína HFE en la superficie de la célula, mientras que la de la mutación H63D es la alteración de la estructura terciaria de la proteína HFE. Resultado de ello es la absorción excesiva de hierro por la mucosa duodenal en cantidades superiores a las necesidades del organismo y el acumulo progresivo del metal en las células del hígado, hipófisis, páncreas y músculo cardíaco, provocando fibrosis e insuficiencia funcional. Cuando la concentración de hierro alcanza un valor umbral de 400 mg de Fe/g de tejido hepático seco se produce la fibrosis. La participación de otros factores como infección viral y el alcohol pueden causar que la fibrosis aparezca antes de que la concentración hepática de hierro alcance dicho valor [25] [18] [8]. Si bien la acumulación progresiva de hierro se produce en la HH desde el nacimiento, la sobrecarga férrica no suele alcanzar suficiente cuantía como para expresarse fenotípicamente hasta la adolescencia. Ello se traduce en un aumento en el índice de saturación de transferrina (IST) y en la concentración de ferritina sérica.

Tabla 2.1 - Clasificación de los desordenes de sobrecarga de hierro [11]

Enfermedad	Mecanismo	Órgano de deposición de hierro
Primaria		
Hemocromatosis hereditaria		
Tipo 1 (relacionada con HFE) (AR)	Incremento de la AGI con dieta normal	Hígado, corazón, glándulas endocrinas
Tipo 2 (hemocromatosis juvenil) (AR)	Incremento de la AGI con dieta normal	Hígado, corazón, glándulas endocrinas
Tipo 3 (AR)	Incremento de la AGI con dieta normal	Hígado, corazón, glándulas endocrinas
Tipo 4 (AD)	Incremento de la AGI con dieta normal	Macrófagos, hígado, corazón, glándulas endocrinas
Secundaria		
a. Anemias de sobrecarga de hierro (relacionadas con transfusión)		
Talasemia	Incremento de la AGI con dieta normal, en talasemia severa	Corazón, páncreas, pituitaria, hígado
Anemia de células falciformes	Relacionada con transfusión	Hígado, corazón
Anemia sideroblástica	Relacionada con transfusión, incremento de la AGI con dieta normal	Neuronas, corazón, mitocondria
Anemia Diamond-Blackfan	Relacionada con transfusión	Hígado, corazón
Anemia por eritropoyesis ineficaz congénita	Relacionada con transfusión	Hígado, corazón, glándulas endocrinas
Pacientes con trasplante de células madres	Relacionada con transfusión	Hígado, corazón
Pacientes con falla renal crónica	Suplemento de hierro oral o intravenoso, relacionada con transfusión	Corazón, hígado
b. Sobrecarga dietaría	Ingesta dietaria incrementada	Corazón, hígado, glándulas endocrinas
c. Varias		
Aceruloplasminemia (AR)	Inhibición de la oxidación del hierro	Hígado, cerebro, páncreas
Atransferrinemia congénita (AR)	Inhibición del transporte de hierro	Hígado, corazón, páncreas
Enfermedades crónicas del hígado		
Hepatitis C y B	Incremento de la AGI	Hígado
Enfermedad de hígado inducida por alcohol	Incremento de la AGI	Hígado
Porfiria cutánea tarda	Incremento de la AGI	Hígado
Enfermedad de hígado graso	Incremento de la AGI	Hígado

AD = autosómica dominante; AR = autosómica recesivo; AGI = absorción gastrointestinal

Posteriormente, la sobrecarga férrica se asocia a daño tisular y desarrollo de los síntomas. En los enfermos con cirrosis, los síntomas más frecuentes son debilidad y letargia, dolor en hipocondrio derecho, artralgias, impotencia, amenorrea y disnea de esfuerzo. Los signos físicos más comunes son la presencia de hepatomegalia, hiperpigmentación cutánea, pérdida del vello corporal, esplenomegalia, edema periférico, ictericia, ascitis, ginecomastia y artritis franca. La posibilidad de una HH hay que

considerarla en todo paciente con hepatomegalia de origen no aclarado, hiperpigmentación cutánea, cardiomiopatía, diabetes, artritis o hipogonadismo [26] [27] [25].

2.1.2 Talasemias

Las talasemias son una familia de desordenes hematológicos genéticos caracterizados por un desequilibrio en la síntesis de las cadenas de globina que resulta en la ausencia o reducción de la producción de la hemoglobina adulta. El principal componente de un eritrocito adulto es la hemoglobina A, que es el resultado de la combinación de dos cadenas alfa y dos cadenas beta de la proteína globina [$\alpha 2\beta 2$] y un grupo hemo que contiene el hierro. Otro componente es la hemoglobina A2 que está compuesta por dos cadenas alfa y dos cadenas delta [$\alpha 2\delta 2$]. La hemoglobina fetal, que disminuye después del nacimiento está también presente y está conformada por dos cadenas alfa y dos cadenas gamma [$\alpha 2\gamma 2$]. Se han encontrado varios cientos de mutaciones o deleciones en los genes de la globina que pueden dar origen a diferentes formas de talasemia. La alfa-talasemia y la beta-talasemia son las más comunes y las más relevantes clínicamente [18] [16] [28].

La alfa-talasemia corresponde a la pérdida de las cadenas de alfa-globina. Los genes alfa son duplicados y generalmente se describen como [aa/aa]. La pérdida de ambos genes se conoce como alfa0-talasemia y se representa [--/aa], y la pérdida de un solo gen se llama alfa+-talasemia [-a/aa]. Usualmente, estos genes alfa se pierden por deleción y por mutación. La hemoglobina fetal y la hemoglobina adulta contienen cadenas de alfa-globina, por lo cual, esta enfermedad aparece tanto en la vida fetal como adulta. En contraste, la beta-talasemia es el resultado de diferentes mutaciones de los genes de beta-globina que dan lugar a la ausencia de cadenas de beta-globina (beta0-talasemia) o una síntesis reducida de las mismas (beta+-talasemia) con un exceso de cadenas alfa-globina. La gravedad varía desde una anemia moderada hasta anemia severa con diferentes formas intermedias. En los casos graves de beta-talasemias (conocidos como talasemia mayor) hay complicaciones que incluyen deformación ósea, esplenomegalia y retraso del crecimiento [18].

La clasificación fenotípica de la talasemia se basa en la gravedad de la anemia y la necesidad de transfusiones. Los portadores de un solo gen anormal tienen una talasemia

menor (anemia moderada y cambios hematológicos mínimos). Las personas con dos o más genes anormales pueden heredar talasemia intermedia (anemia moderada y cambios corporales típicos, tales como deformación ósea y retraso en el crecimiento) o talasemia mayor (anemia grave dependiente de transfusiones). Para el tratamiento de la talasemia mayor se requieren transfusiones sanguíneas de forma regular durante toda la vida, lo que conlleva a una excesiva acumulación de hierro en el cuerpo que, a largo plazo, puede dar lugar a varias complicaciones, como el fallo cardíaco, insuficiencia hepática, diabetes e hipogonadismo. La sobrecarga de hierro puede ser prevenida y tratada con infusiones nocturnas del quelante desferrioxamina o desferal. El no cumplimiento con este tratamiento es el problema clínico más importante en la talasemia mayor [28].

Hay dos copias del gen que produce la hemoglobina α (HBA1 y HBA2), y cada gen codifica una α-cadena, y ambos genes están localizados en el cromosoma 16. El gen que codifica las cadenas β (HBB) está localizado en el cromosoma 11. En la alfa-talasemia hay una deficiencia de síntesis de cadenas α, por lo que existirá un exceso de cadenas β trasportando deficientemente el oxígeno lo que conduce a bajas concentraciones de O_2 o hipoxemia. Igualmente, en la β-talasemia hay una falta de cadenas β, sin embargo, el exceso de cadenas alfa puede formar agregados insolubles que se adhieren a la membrana de los eritrocitos, pudiendo causar la muerte de éstos y sus precursores, originando anemia de tipo hemolítica.

Capítulo 3. Imágenes de resonancia magnética

El fenómeno de resonancia magnética nuclear (RMN) o simplemente resonancia magnética (RM) fue descubierto independientemente por dos grupos de investigación distintos, liderados por los físicos F. Bloch y E.M. Purcell. La RM está basada en la interacción entre un campo magnético aplicado y un núcleo que posee espín. El espín nuclear es una de las propiedades intrínsecas del átomo y su valor depende de la composición atómica.

3.1 Origen de la magnetización neta

Los átomos están compuestos de tres partículas fundamentales: los protones, los cuales poseen carga positiva; los neutrones, que no poseen carga; y los electrones que tienen carga negativa. Los protones y neutrones están ubicados dentro del núcleo del átomo, mientras que los electrones están localizados en capas u orbitas alrededor del núcleo. Las propiedades más comunes para categorizar los elementos son el número atómico y el peso atómico: el primero corresponde al número de protones en el núcleo, mientras que el segundo corresponde a la suma del número de protones y el número de neutrones. Los átomos con el mismo número atómico pero diferentes pesos atómicos son llamados isótopos, y en un átomo estable el número de electrones es igual al número de protones. Los átomos con un déficit o exceso en el número de electrones son llamados iones [29].

Una tercera propiedad del núcleo es el espín, la cual consiste en que el núcleo presenta una rotación constante alrededor de un eje perpendicular a la dirección de rotación, a una velocidad determinada. El espín (I) se encuentra cuantizado a ciertos valores discretos, que dependen del número y peso atómico del núcleo particular, y toman tres posibles tipos de valores: cero, semi-enteros y enteros. Un núcleo no tiene espín (I=0) si este tiene un número atómico par y un peso atómico par. Tales núcleos no interaccionan con un campo magnético externo y no pueden ser estudiados usando RM. Un núcleo tiene un valor entero para I, si este tiene un peso atómico par y un número atómico impar. Un núcleo tiene un valor semi-entero para I si este tiene un peso atómico impar. El núcleo ^{1}H posee un solo protón, tiene un espín semi-entero de 1/2, es el isotopo más abundante del

hidrógeno, su respuesta a un campo magnético aplicado es una de las más grandes, y el cuerpo humano está compuesto por tejidos que contienen principalmente agua y grasa, constituidos por este elemento [29].

Por otra parte, un campo magnético es generado por cargas eléctricas en movimiento y la dirección del campo puede ser en el sentido horario o anti-horario con respecto a la dirección del flujo de corriente. La ley de Ampere determina la magnitud y dirección del campo magnético debido a la corriente. Así como las cargas eléctricas en movimiento generan campos magnéticos, el cambio de campos magnéticos genera corrientes eléctricas. Cuando un imán entra y sale de un circuito cerrado, una corriente oscilante es generada y cesa cuando el imán deja de moverse. Esta corriente es llamada corriente eléctrica inducida y es explicada por la ley de inducción de Faraday. El cambio del flujo magnético a través de un circuito cerrado induce una fuerza electromotriz (f.e.m.) en el circuito, lo que produce una corriente en el circuito. La f.e.m. inducida es proporcional a la tasa de cambio del campo magnético y al área del circuito, y está en dirección opuesta al cambio en el campo magnético que la produce.

Además de su espín, un núcleo cargado positivamente tiene un campo magnético local o momento magnético, que es fundamental para que se dé el fenómeno de RM. Un núcleo con espín tiene un eje de rotación que puede ser visto como un vector con una magnitud y dirección definida, y el momento magnético del núcleo es paralelo a dicho eje de rotación. La Figura 3.1 muestra una representación del momento magnético nuclear.

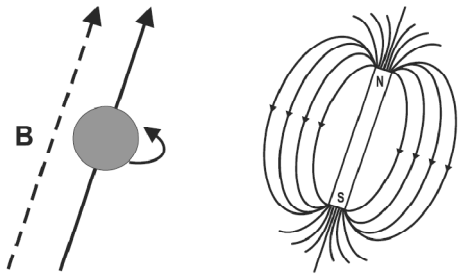


Figura 3.1 - Izquierda: Un núcleo con carga positiva rotando, produce un campo magnético conocido como momento magnético, paralelo al eje de rotación. Derecha: Analogía del núcleo con respecto a un imán [29].

En general, las mediciones de RM son hechas sobre grupos de espines más que sobre un solo espín, por lo tanto si se considera un volumen arbitrario de tejido que contiene hidrógeno, cada protón tiene un vector espín de igual magnitud. Sin embargo, los

vectores de espín de un grupo de protones dentro del tejido, están orientados aleatoriamente en todas las direcciones, por lo tanto, al sumar todos los vectores espín se obtiene un vector resultante, cuyo valor puede ser cero, si no existe magnetización en el tejido. La Figura 3.2 muestra la representación microscópica y macroscópica de los protones en ausencia de un campo magnético externo. Si el tejido es colocado dentro de un campo magnético $\boldsymbol{B_0}$, los protones individuales empiezan a precesar o rotar perpendicularmente a este campo, y se inclinan levemente fuera de su eje, pero su eje de rotación será paralelo al vector del campo $\boldsymbol{B_0}$. Esta leve inclinación es debida a la fuerza de repulsión entre el campo magnético $\boldsymbol{B_0}$ y los momentos magnéticos.

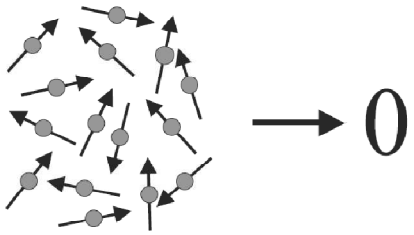


Figura 3.2 - Representación microscópica (izquierda) y macroscópica (derecha) de un grupo de protones en ausencia de un campo magnético externo [29].

Por lo tanto, cuando los núcleos son colocados en un campo magnético externo sus momentos magnéticos se alinean con las líneas de flujo del campo externo, lo que se denomina alineación. La precesión tiene una tasa constante y ocurre debido a la interacción del campo magnético con la carga positiva del núcleo. Por convención, $\boldsymbol{B_0}$ y el eje de precesión están definidos en la dirección del eje z del sistema de coordenadas, tal como se ve en la Figura 3.3. La coordenada z permanece constante pero las coordenadas x e y varían con el tiempo. La tasa o frecuencia de precesión es proporcional a la intensidad del campo magnético B_0 y es expresado por la ecuación de Larmor:

$$\omega = \frac{\gamma B_0}{2\pi} \quad (1)$$

Donde ω es la frecuencia de Larmor en megahertz (MHz), B_0 es la intensidad del campo magnético en Tesla (T) que los protones experimentan, y γ es la razón giromagnética, con unidades $s^{-1}T^{-1}$ [29] [30].

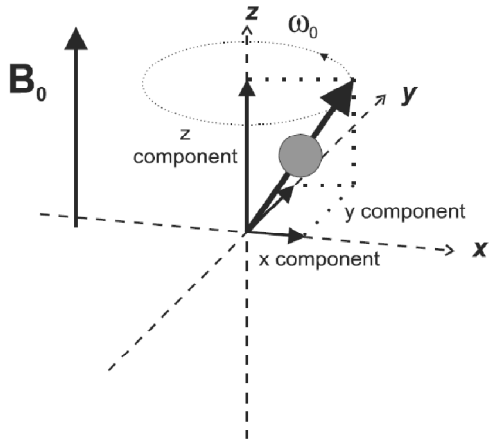


Figura 3.3 - Dentro de un campo magnético, un protón precesa alrededor de dicho campo. El eje precesional es paralelo al campo magnético externo $\boldsymbol{B_0}$, mientras el momento magnético sigue la trayectoria precesional [29].

La alineación puede ser explicada usando una teoría clásica o una teoría cuántica. La primera enfatiza en que la alineación puede ser de dos tipos: paralela, cuando los momentos magnéticos se alinean en la misma dirección del campo magnético externo, o antiparalela, cuando los momentos magnéticos se alinean en dirección opuesta al campo externo. A temperatura ambiente, existen siempre más núcleos con sus momentos magnéticos alineados paralelamente al campo externo que alineados antiparalelamente, por lo tanto, el vector de magnetización neta, el cual refleja el balance entre los momentos magnéticos paralelos y antiparalelos, se alinea paralelamente al campo externo. La Figura 3.4 muestra una representación microscópica y macroscópica de un grupo de protones en presencia de un campo magnético externo.

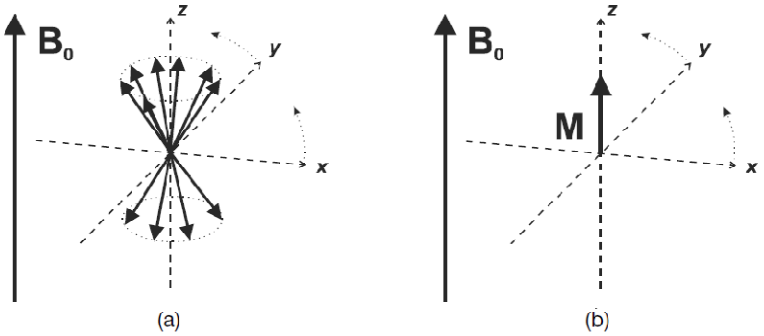


Figura 3.4 - Representación a) microscópica y b) macroscópica de un grupo de protones en presencia de un campo magnético externo. Los protones tomarán una trayectoria en forma de dos conos, uno con una componente z positiva y la otra con una componente z negativa. Debido a que existen más protones en el cono superior, existirá un vector suma $\boldsymbol{M}$ diferente de cero, cuya magnitud es constante y será paralelo a $\boldsymbol{B_0}$ [29].

Mientras que, la teoría cuántica usa el nivel de energía de los núcleos para explicar la alineación. Existen ciertos factores que determinan si el momento magnético de un núcleo se alinea en la dirección paralela o antiparalela, ellos son: la magnitud del campo magnético externo B_0 y el nivel de energía de los núcleos. De acuerdo a la teoría cuántica, los momentos magnéticos de los núcleos de hidrógeno, se alinean en presencia de un campo magnético presentándose un desdoblamiento de los niveles de energía de los núcleos, por lo tanto se producirán dos estados de energía, esto es conocido como interacción Zeeman. Esto causa una diferencia en la energía entre los protones alineados paralelamente y los alineados de forma antiparalela, cuya magnitud es proporcional a B_0, dicha diferencia de energía está dada por:

$$\Delta E = h\omega \quad (2)$$

Por lo tanto, al colocar el núcleo bajo un campo magnético, la interacción entre el momento magnético nuclear y el campo magnético externo promoverá que los dos estados de espín dejen de tener la misma energía. La energía del momento magnético $\boldsymbol{\mu}$ bajo la influencia del campo magnético $\boldsymbol{B_0}$ está dado por el producto escalar negativo de los vectores:

$$E = -\boldsymbol{\mu} \cdot \boldsymbol{B_0} \quad (3)$$

El momento magnético $\boldsymbol{\mu}$ puede expresarse como:

$$\boldsymbol{\mu} = \gamma \hbar \boldsymbol{I} \quad (4)$$

Donde $\hbar \boldsymbol{I}$ es el momento angular del núcleo y γ es la razón giromagnética. Si $I = \pm 1/2$, como en el caso del hidrógeno, la energía E puede tomar los valores $-\gamma\hbar B_0/2$ si $\boldsymbol{\mu}$ es paralelo a $\boldsymbol{B_0}$, ó $\gamma\hbar B_0/2$ si $\boldsymbol{\mu}$ es antiparalelo a $\boldsymbol{B_0}$. Por lo tanto la diferencia de energía entre los dos estados es:

$$\Delta E = \gamma \hbar B_0 \quad (5)$$

Esta diferencia se traduce en una pequeña mayoría de espines en el estado de baja energía. Así, la absorción de resonancia ocurre cuando esta diferencia de energía es excitada por radiación electromagnética de la misma frecuencia, la cual corresponde al intervalo de radiofrecuencias del espectro, es decir la frecuencia de Larmor:

$$\omega = \frac{\Delta E}{h} = \frac{\gamma B_0}{2\pi} \quad (6)$$

El resultado de la interacción de Zeeman es que los espines en las dos orientaciones, paralela (también llamados *spin up*) y antiparalela (*spin down*), tienen diferentes energías. La orientación que es paralela a $\boldsymbol{B_0}$ es de menor energía que la orientación antiparalela, por lo tanto para un grupo de protones, muchos de ellos se orientarán de forma paralela a $\boldsymbol{B_0}$ en vez de ser orientados en forma antiparalela; es decir que hay una polarización inducida por el campo magnético para la orientación del espín. El número exacto de protones en cada nivel de energía está gobernado por una distribución de Boltzmann:

$$\frac{N_{arriba}}{N_{abajo}} = e^{-\frac{\Delta E}{kT}} \quad (7)$$

Donde N_{arriba} es el número de protones en el nivel de energía superior, N_{abajo} es el número de protones en el nivel de energía inferior, k es la constante de Boltzmann y T es la temperatura. La Figura 3.5 muestra un diagrama de Zeeman y el comportamiento de los protones en ausencia y presencia de un campo magnético externo.

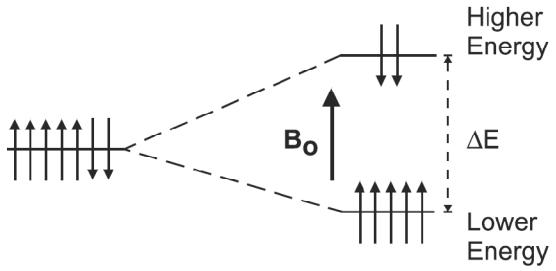


Figura 3.5 - Diagrama de Zeeman. Izquierda: En ausencia de un campo magnético, un grupo de protones tendrá las configuraciones de sus componentes z iguales en energía. Derecha: En presencia del campo magnético, la diferencia de energía ΔE entre los dos niveles es proporcional a B_0 [29].

Debido a que la separación entre los niveles de energía ΔE depende de la intensidad del campo B_0, el número exacto de espines en cada nivel también depende de B_0 e incrementa cuando aumenta B_0. Debido al número diferente de protones en cada nivel de energía, el vector suma de los espines será diferente de cero y apuntará paralelo al campo magnético externo. En otras palabras, el tejido empezará a polarizarse o magnetizarse en presencia de $\boldsymbol{B_0}$ con un valor M, conocido como la magnetización neta, cuyo vector tendrá

la misma dirección que $\boldsymbol{B_0}$ y permanecerá constante respecto al tiempo. Para diferentes tejidos, la magnitud de $\boldsymbol{M}$ es proporcional a $\boldsymbol{B_0}$:

$$\boldsymbol{M} = \chi \boldsymbol{B_0} \quad (8)$$

Donde χ es conocida como la susceptibilidad magnética. Este comportamiento con $\boldsymbol{M}$ alineado a lo largo del campo magnético sin ninguna componente transversal, es la configuración normal o el estado de equilibrio de los protones. Esta configuración de espines presenta la menor energía y es el arreglo al cual los protones naturalmente intentan retornar luego de cualquier perturbación, como la absorción de energía. La magnetización inducida $\boldsymbol{M}$ es la fuente de la señal para todos los sistemas de RM, por lo tanto entre mayor sea el campo magnético externo, mayor será el valor de M y más grande será la señal de RM [29] [30] [31].

El ión férrico tiene un efecto paramagnético sobre los átomos adyacentes de hidrógeno, lo que puede ser detectado en la RM [32]. El paramagnetismo tiene su origen en los momentos angulares de las partículas cargadas, los cuales tienen asociado un momento magnético. Aunque el núcleo atómico es una partícula cargada y puede presentar momento angular de espín, sus momentos magnéticos son más de mil veces inferiores a los que genera un electrón, y por tanto despreciables. En un electrón, tanto el momento magnético de espín como el orbital aportan paramagnetismo, aunque generalmente la contribución del espín es más significativa. El momento magnético del electrón tiende a alinearse con el campo externo, reforzándolo, y haciendo que la susceptibilidad paramagnética sea positiva. La magnetización paramagnética de una sustancia en ausencia de campo es nula ya que los momentos magnéticos individuales de los electrones se orientan al azar resultando en su mutua anulación. Por lo tanto, en presencia del campo, la magnetización paramagnética aparece como consecuencia de que los estados que alinean el momento magnético con el campo se hacen más estables, y por lo tanto, más poblados, y cuanto mayor sea el número de estados alineados con el campo, mayor es la intensidad del campo.

3.2 Magnetización del vóxel de un tejido

En realidad, el campo magnético $\boldsymbol{B}$ que percibe el núcleo es la suma vectorial de tres posibles componentes: el campo magnético principal creado por el imán $\boldsymbol{B_0}$, un segundo campo magnético mucho más pequeño (del orden de 10^{-3} respecto a B_0) añadido externamente para trabajar con la señal de resonancia y que corresponde al campo magnético de los gradientes ($\boldsymbol{B_{GRAD}}$), y por último un campo magnético a nivel molecular mucho más pequeño (del orden de 10^{-6} respecto a B_0) que es percibido individualmente por cada núcleo en función de la estructura bioquímica de su entorno, llamada campo magnético bioquímico ($\boldsymbol{B_{BIOQ}}$). Es decir que:

$$\boldsymbol{B} = \boldsymbol{B_0} + \boldsymbol{B_{GRAD}} + \boldsymbol{B_{BIOQ}} \quad (9)$$

Por lo tanto, cada núcleo dentro de un elemento de volumen percibe un campo magnético distinto lo que originará dispersiones en las frecuencias de resonancia [29].

Si se somete un elemento de volumen del paciente o vóxel a un campo magnético $\boldsymbol{B_0}$, la multitud de núcleos de hidrógeno que contiene se ven obligados a precesar y sus espines se orientarán, formando la misma angulación, respecto a la dirección del campo magnético, pero sus frecuencias de precesión serán ligeramente distintas ya que dependen del entorno bioquímico. Por lo tanto al no tener exactamente la misma frecuencia, aunque se muevan manteniendo la misma angulación unos se adelantan respecto a los otros, es decir se desfasan. La señal de base para obtener la imagen depende del valor de $\boldsymbol{M}$. Si aumenta el valor del campo magnético al que está sometido el vóxel, disminuye el cociente entre N_{arriba}/N_{abajo} en consecuencia aumenta $\boldsymbol{M}$ con lo que se obtiene mayor señal.

En imágenes de resonancia magnética, el computador interpreta una única señal que proviene de cada vóxel, que es el resultado de todos los movimientos de precesión. Si imaginamos todos los espines trasladados al punto central del vóxel, tal como se muestra en la Figura 3.6, tendríamos la formación de dos conjuntos que se moverían precesando desfasados sobre dos conos, nuevamente el cono de los núcleos *up* y el cono de los núcleos *down.* El vector resultante estaría sobre el eje del cono apuntando en la dirección del campo magnético, y constituye la magnetización neta $\boldsymbol{M}$ del elemento de volumen o vóxel. Por la mayor abundancia de los estados menos energéticos, la magnetización del elemento de volumen $\boldsymbol{M}$ tiene el sentido y la dirección de $\boldsymbol{B_0}$. En cuanto a su valor, depende de la

diferencia entre las dos poblaciones nucleares y por tanto está relacionado con la cantidad de núcleos dentro del vóxel ya que si estos aumentan, aumentará la proporción de la distribución, por lo tanto, el valor de la magnetización está relacionado con la densidad de núcleos en el vóxel [29] [30] [31].

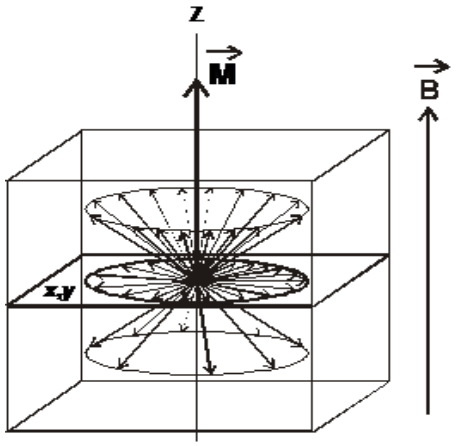


Figura 3.6 - Magnetización de un vóxel. Se define al eje +z como el eje longitudinal, y el plano x,y perpendicular, se denomina plano transversal [31]

3.3 Excitación nuclear por un pulso de radiofrecuencia

Si se coloca una bobina emisora en la dirección de máxima emisión, orientada hacia el vóxel sobre el plano transversal, y se cambia la frecuencia de emisión, cuando se emita a una determinada frecuencia que coincida con la frecuencia del movimiento de precesión, los núcleos absorben energía, es decir, entran en resonancia. Desde el punto de vista cuántico, un espín en estado *up* pasaría al estado *down* al absorber selectivamente un valor energético exactamente igual a la diferencia de los niveles energéticos que le impone el valor del campo magnético. Cuando los núcleos del vóxel entran en resonancia, la magnetización $\boldsymbol{M}$ se desplaza realizando un movimiento de giro en espiral respecto a la dirección de $\boldsymbol{B_0}$ a la frecuencia de precesión y el extremo se va separando de su posición de equilibrio moviéndose sobre una esfera imaginaria. Esto se conoce como movimiento de nutación (Figura 3.7).

La nutación de la magnetización se debe a que la onda de radiofrecuencia crea una fuerza que actúa sobre el plano transversal y le obliga a desplazarse de la posición de equilibrio. En cada punto del espacio, una onda electromagnética está compuesta de un campo eléctrico y un campo magnético que se propagan a la frecuencia de emisión en forma de movimientos sinusoidales en planos perpendiculares entre sí.

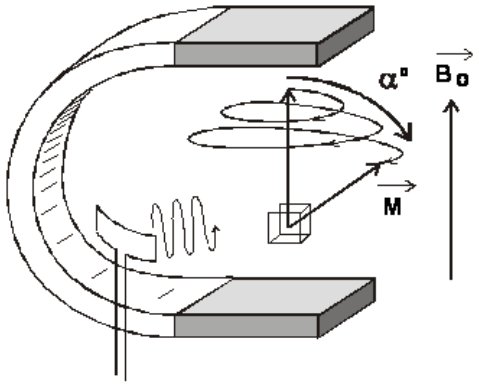


Figura 3.7 - Movimiento (nutación) del vector de magnetización al entrar en resonancia los núcleos del vóxel con la emisión de ondas electromagnéticas de frecuencia igual a la frecuencia de precesión [31].

El movimiento del vector de magnetización es medible a escala macroscópica y representa la entrada en resonancia de los miles de millones de núcleos de hidrógeno que pueden existir en un elemento de volumen. Debido a que cada núcleo entrará en resonancia a una frecuencia específica determinada por la ecuación de Larmor en función del campo magnético externo que percibe y del entorno bioquímico en que se encuentre, la emisión de radifrecuencia contiene un ancho de banda de la amplitud adecuada para que puedan entrar en resonancia los núcleos de hidrógeno de interés. Este ancho de banda es del orden de los kHz y está situado simetricamente a la frecuencia impuesta por el campo magnético principal [29] [30] [31].

La separación del vector de magnetización con respecto a la posición de equilibrio se determina por el ángulo α o ángulo de inclinación o *flip angle*, cuyo valor depende, entre otros factores, de la potencia y del tiempo de la emisión de la RF. En la generación de la IRM la duración de la emisión de RF es de microsegundos por lo que se denomina pulso de RF y se cuantifica por el valor del *flip angle*. Después de un pulso de 90º, la componente longitudinal de la magnetización es nula ya que la magnetización está sobre el plano x,y. Por lo tanto, en esta posición el número de núcleos de estado *up* iguala al número de núcleos en estado *down*, es decir que se llega a un estado de saturación. Un vóxel estará más saturado después de un pulso, cuanto menor sea la componente longitudinal de la magnetización. Aparte del desplazamiento de la magnetización, uno de los efectos de la emisión de radiofrecuencia es que inmediatamente después de aplicar un pulso RF los espines están moviéndose exactamente a la misma frecuencia, es decir a la frecuencia de emisión. Por tanto inmediatamente después de un pulso de radiofrecuencia

los espines están en fase, pero a medida que pasa el tiempo se van desfasando dependiendo de la diversidad de campos magnéticos que perciban individualmente los núcleos del vóxel [29] [30] [31].

Cuando el transmisor de la señal RF es apagado, los protones inmediatamente son realineados a su orientación de equilibrio original, emitiendo energía con una frecuencia ω, además, el vector de magnetización neta empezará a precesar con respecto a $\boldsymbol{B_0}$. Si una bobina receptora es colocada perpendicularmente al plano transversal, los protones inducen un voltaje en la bobina durante la precesión. Este voltaje inducido, que corresponde a la señal de RM, es conocido como el decaimiento de inducción libre o FID (*Free Induction Decay*). La magnitud inicial de la señal de la FID depende del valor de Mo inmediatamente antes del pulso de 90º. La FID decae con el tiempo así como muchos protones dan su energía absorbida a través del proceso conocido como relajación y la coherencia o uniformidad del movimiento del protón se va perdiendo.

En general, tres aspectos de una señal de RM son de interés: su magnitud, su frecuencia y su fase relativa a la fase del transmisor de RF. La magnitud de la señal está relacionada con el valor de $\boldsymbol{M}$ inmediatamente anterior al pulso RF. La frecuencia de la señal está relacionada con la influencia del campo magnético sobre los protones. Si todos los protones experimentan el mismo campo magnético B_0, entonces únicamente una sola frecuencia estará presente con la FID. En realidad, existen muchos campos magnéticos, y así muchas señales de RM con muchas frecuencias aparecerán después del pulso RF. Estas señales se superponen, así que la FID contiene muchas frecuencias que varían como función del tiempo. Para examinar la señal de múltiples componentes en frecuencias se utiliza la transformada de Fourier. En el espectro del dominio de las frecuencias, la señal de RM es mapeada de acuerdo a su frecuencia relativa a una frecuencia de referencia, típicamente la frecuencia del transmisor f_{tr}. El dominio frecuencial provee una forma simple de examinar el ambiente magnético que experimentan los protones. Usar la transformada de Fourier hace perder la capacidad de relacionar directamente las intensidades de la señal con el número de protones que producen dicha señal. Sin embargo, la intensidad de la señal puede ser relacionada de una frecuencia a otra dentro de la misma medida, solo si se compara con respecto a una intensidad de señal de referencia.

Debido a que la precesión es de naturaleza continua, la señal de RM es continua o analógica. Sin embargo, las técnicas de post-procesamiento tales como la transformada de Fourier, requiere una representación digital de la señal. Para producir una forma digital de la señal, la FID es medida o muestreada usando un conversor analógico-digital (ADC). En muchos casos, las frecuencias de resonancia de los protones son más grandes que muchos ADC puedan procesar, por lo tanto una señal de diferencia de coherencia de fase es generada basada en la frecuencia y fase del pulso RF de entrada, por lo tanto la señal realmente digitalizada es la señal medida relativa a f_{tr}. Bajo condiciones normales, esta señal demodulada es digitalizada bajo un determinado tiempo de muestreo y limitada por una máxima frecuencia o frecuencia de Nyquist. Para excluir frecuencias más grandes que la de Nyquist, se utiliza una filtro pasa-bajas antes de la digitalización. Las frecuencias excluidas por dicho filtro corresponderán usualmente a ruido, mejorando así la relación señal ruido (SNR) de la medición.

3.3.1 Selectividad de la resonancia magnética

La resonancia magnética es un fenómeno muy selectivo, de manera que si se tienen dos vóxeles, puestos bajo distintos campos magnéticos, se pueden excitar selectivamente uno u otro con tan sólo cambiar la frecuencia de emisión de la antena.

En la selectividad de la resonancia se basa la selección del plano tomográfico. La imposición de un gradiente magnético (Grad B) implica que los núcleos perciban un campo magnético distinto según su posición (z). Aparte de las variaciones del entorno bioquímico, de un orden de magnitud muy inferior, se puede hacer entrar en resonancia selectivamente todos los núcleos que estén dentro de las posiciones excitadas con la banda de frecuencias empleada en el pulso emisor. Con ello se excitarán todos los vóxeles contenidos en un plano perpendicular a la dirección del gradiente y cuyo grosor dependerá, una vez definido el valor del gradiente, del ancho de banda utilizado en el pulso emisor. En la Figura 3.8 se observan tres vóxeles bajo campos magnéticos de distinto valor B_a, B_b y B_c, y por lo tanto con frecuencias de resonancia distintas. Al emitir un pulso de RF a la frecuencia f_b, tan solo el vóxel correspondiente a esta frecuencia entrará en resonancia. El establecimiento de un gradiente magnético (Grad B) en una dirección (z), implica que existan diferentes frecuencias en los núcleos de un vóxel. Para que entren en resonancia, la frecuencia de la emisión tiene que ser la que corresponde al punto central del vóxel junto

con un ancho de banda de frecuencias adecuada al grosor del vóxel, y el ancho de banda se sitúa simétricamente alrededor de la frecuencia principal.

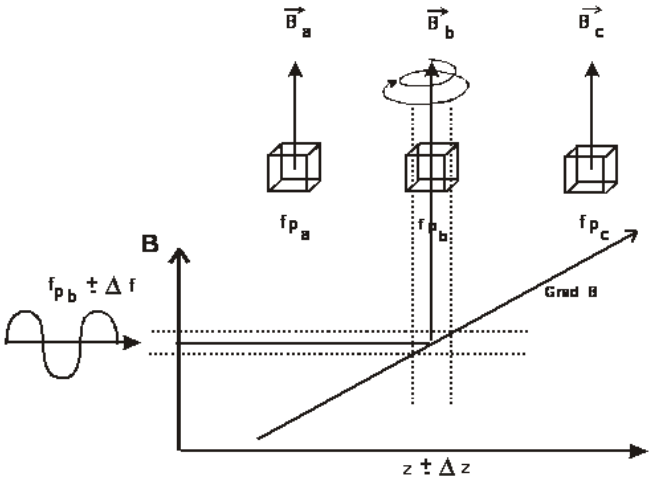


Figura 3.8 - Excitación selectiva de los vóxeles del tejido [31]

3.4 Relajación nuclear

Una vez finalizada la emisión de la RF, la magnetización vuelve a su posición inicial mediante un proceso de liberación energética denominado relajación. La relajación se produce ya que los núcleos desprenden el exceso energético que han absorbido al entrar en resonancia. La relajación termina cuando la proporción de núcleos del vóxel entre los estados energéticos *spin up/spin down* coincide con el equilibrio Boltzmiano.

La relajación energética no es un proceso espontáneo sino que requiere de estructuras del entorno que sean capaces de absorber las energías que van a liberar los núcleos. Esta energía liberada por los núcleos es del mismo orden de magnitud del que utilizan las moléculas para sus movimientos Brownianos, por lo que durante la relajación nuclear se produce una transferencia de energía desde los núcleos a las estructuras moleculares circundantes. Es debido a esto, que la liberación energética se ve muy influenciada por el medio histoquímico en el que se encuentran los núcleos. Las estructuras bioquímicas del entorno nuclear susceptibles de intercambiar energía con los núcleos, reciben el nombre de red o medio. Esta dependencia del medio implica que la forma en que la magnetización vuelve a su posición inicial después del pulso de RF sea muy variable, lo que afectará también la señal inducida y por último la imagen. La Figura 3.9 muestra el movimiento del vector de magnetización neta durante el proceso de relajación nuclear y al mismo tiempo la obtención de la señal FID en una antena receptora.

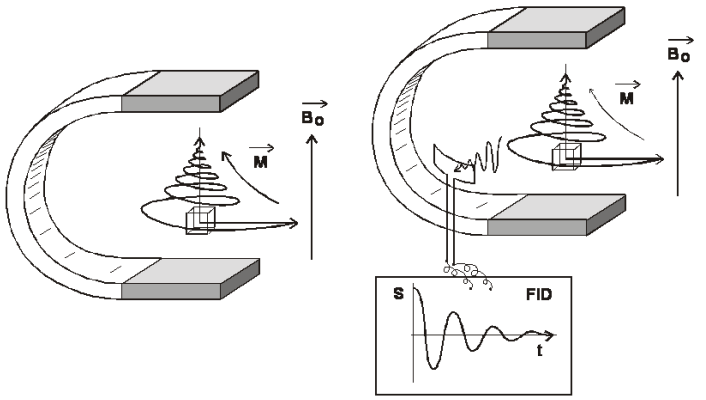


Figura 3.9 - Izquierda: Movimiento del vector de magnetización neta durante la relajación. Derecha: Obtención de la señal eléctrica en una antena receptora durante la relajación, después de un pulso de 90º, induciéndose una señal sinusoide amortiguada (FID) [31].

Estudiando la señal de relajación se puede obtener información sobre la densidad (D) de núcleos de hidrógeno existentes en el vóxel y también información relacionada con el medio mediante los parámetros T1, T2 y T2* [33], que se obtendrán estudiando la relajación nuclear sobre el eje longitudinal y sobre el plano transversal. Las imágenes de RM reflejan en mayor o menor grado cada uno de estos parámetros, por lo tanto se puede potenciar una imagen en uno de ellos mediante la programación de secuencias de pulsos adecuadas.

3.5 Contraste de las IRM

Una imagen tiene contraste si existen áreas de alta señal o blanco, así como áreas de baja señal o negro, además de señales intermedias entre estos dos valores. Un tejido tiene una alta señal (blanco) si tiene una componente transversal de magnetización grande, lo que hace que la amplitud recibida por la bobina sea grande, y por lo tanto se induce un mayor voltaje, mientras que un tejido tiene una baja señal (negro) si tiene una componente transversal de magnetización pequeña, lo que hace que el voltaje inducido en la bobina sea menor. El contraste de la IRM es controlado principalmente por los siguientes parámetros: el tiempo de repetición (TR), que es el tiempo desde la aplicación de un pulso de RF hasta la aplicación del siguiente pulso, y el tiempo de eco (TE), que es el tiempo entre un pulso de excitación RF y la recolección de la señal. Ambos tiempos son medidos en milisegundos (ms).

3.5.1 Imágenes potenciadas en T1

Durante la relajación los núcleos van liberando su exceso energético y una vez finalizada la relajación el vector magnetización recuperará su valor inicial alineado con el campo magnético. Por lo tanto, el estudio de la relajación longitudinal ($\boldsymbol{M_z}$) da idea de la rapidez con que se alcanza de nuevo el estado inicial.

La relajación longitudinal tiene la forma de una exponencial creciente regulada por una constante de tiempo expresada en milisegundos llamada T1. Cuanto menor es el valor de T1, más rápidamente se alcanza el estado de equilibrio, es decir, la relajación es más rápida. Por tanto un T1 corto corresponde a una liberación rápida de energía. El valor de la magnetización está dada por:

$$M(t) = M_0\left(1 - e^{-\frac{t}{T1}}\right) \quad (10)$$

Donde t es el tiempo seguido del pulso RF. Se puede deducir que, después de tres T1 periodos de tiempo, M habrá retornado al 95% de su valor inicial M_0 antes del pulso de excitación. De esta fórmula deducimos que, cuando el tiempo transcurrido a partir del pulso inicial (t) sea igual a T1, M_z/M será igual a 0,63, lo que equivale a decir que el T1 es el tiempo que tarda la magnetización en recuperar un 63% de su valor inicial. Generalmente, T1 recibe el nombre de tiempo de relajación longitudinal. La Figura 3.10 muestra la forma exponencial creciente de la relajación longitudinal, y en la Figura 3.11 se observa una representación de la relajación longitudinal con respecto a diferentes valores de T1.

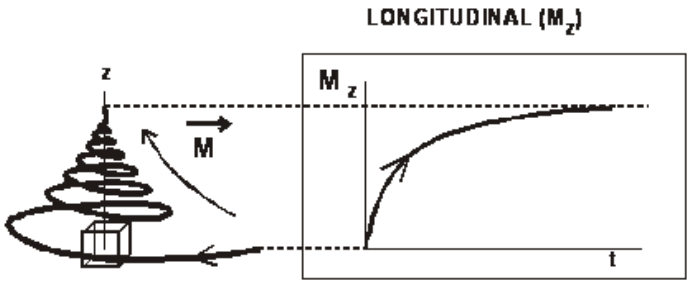


Figura 3.10 - Forma exponencial creciente de la relajación longitudinal [31].

Desde el punto de vista biofísico la liberación energética es un intercambio energético del núcleo con el medio (interacción espín-red) con lo que el valor de T1 es

fuertemente dependiente del tipo y movilidad de las moléculas con las que núcleo se relaciona. En las moléculas intermedias como los lípidos, el procedimiento más frecuente es la liberación energética intramolecular, por ello la liberación energética está muy facilitada y en consecuencia tienen un T1 corto. Por el contrario, en las moléculas de agua el proceso de liberación energética depende de la facilidad de correlacionarse con otras moléculas que puedan absorber la energía. Los valores de T1 aumentan con el valor del campo magnético.

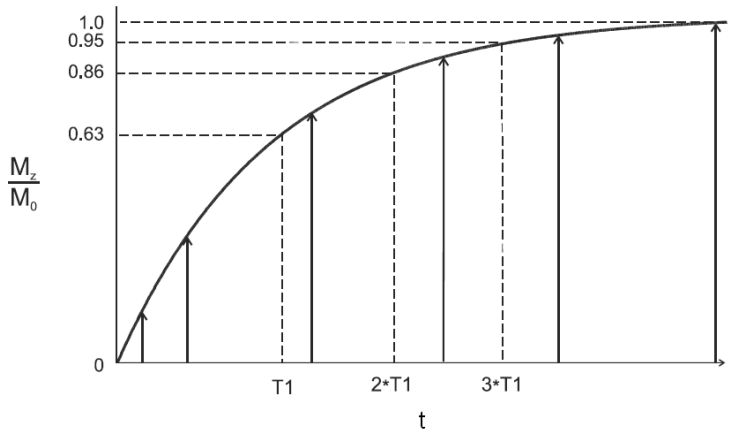


Figura 3.11 - Representación de una curva de relajación longitudinal [29].

Para obtener una imagen pesada en T1, se envía un pulso de un determinado ángulo sobre los diversos vóxeles, se deja pasar un cierto tiempo para que los núcleos liberen su energía según su entorno y se lee el valor de sus respectivas relajaciones longitudinales. Si tienen T1 diferentes, se obtendrán valores diferentes, que serán escalados en niveles de grises para obtener la imagen. Si el tiempo de lectura es muy largo todos los núcleos se relajarán y lo que se leería sería el valor de la magnetización inicial. Se puede considerar como una imagen estándar de referencia en T1 aquella en que los vóxeles con valores de T1 cortos se representan en gran intensidad y los vóxeles con valores de T1 largos tenderán al negro. Es decir que una imagen estándar en T1 es aquella en la que la intensidad de la señal es inversamente proporcional al valor de T1 y por tanto directamente proporcional a la facilidad de la relajación energética. La Figura 3.12 expone las diferencias entre los valores de T1 del agua y la grasa, lo que se traduce en que la grasa se verá hiperintensa y el agua hipointensa.

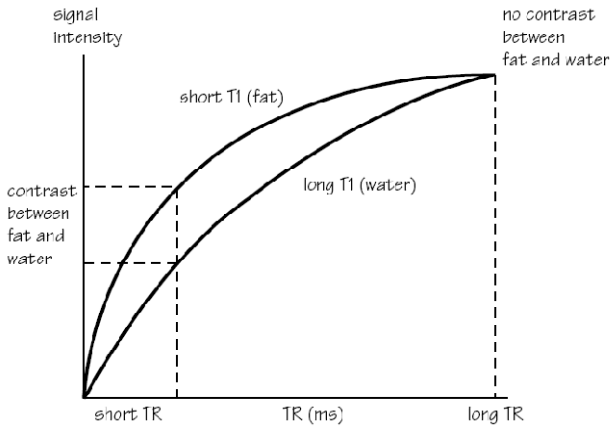


Figura 3.12 - Diferencias entre los T1 del agua y la grasa [30].

3.5.2 Imágenes potenciadas en densidad protónica.

El valor de la magnetización es proporcional a la densidad de núcleos de hidrógeno que contiene el vóxel. Dos vóxeles con distinta densidad tienen magnetizaciones e intensidades distintas. Después de enviar a ambos vóxeles un pulso de 90º, el valor inicial de la señal recogida en la bobina receptora será proporcional a sus densidades respectivas. Por lo tanto, se puede obtener una imagen en la que la intensidad sea directamente proporcional a la densidad de núcleos de hidrógeno. Puede ser que no todos los núcleos del elemento de volumen entren en resonancia. En efecto, el núcleo está precesando a la frecuencia impuesta por el campo magnético externo B_o más las pequeñas variaciones originadas por los otros núcleos y cargas eléctricas en movimiento de su entorno.

Para obtener una imagen potenciada en densidad protónica, uno de los procedimientos que se puede realizar, consiste en enviar pulsos de 90º separados un tiempo de repetición (TR) suficientemente largo para que la magnetización se restablezca. Después de cada pulso de 90º la amplitud inicial de la FID es proporcional a la densidad de núcleos del vóxel que han entrado en resonancia.

3.5.3 Imágenes potenciadas en T2 y T2*

Aparte de la información sobre la facilidad en la relajación energética que suministra la relajación longitudinal (M_z), se puede obtener otra información relacionada con la estructura bioquímica del medio, estudiando las variaciones con el tiempo de la componente sobre el plano transversal x,y de la magnetización durante su relajación o relajación transversal ($M_{x,y}$). Cuando $M_{x,y}$ sea igual a cero, implica que el vector de

magnetización se ha alineado sobre el eje z con el campo magnético principal. Si se representa sobre el plano transversal la evolución de la proyección de los espines con el tiempo después de un pulso de 90º, se observará que inmediatamente después del pulso están en fase, y a medida que pasa el tiempo, esta coherencia se va perdiendo, desfasándose progresivamente, debido a las diferencias en los campos magnéticos que individualmente perciben los núcleos del vóxel. La Figura 3.13 muestra un esquema de la relajación transversal de la magnetización $M_{x,y}$.

Durante la relajación, cada núcleo libera su exceso energético a una frecuencia que depende del campo magnético que percibe localmente. El valor del campo magnético percibido por el núcleo, aparte del campo magnético externo, depende del entorno bioquímico en que se encuentra, ya que todas las cargas eléctricas en movimiento de su entorno modifican localmente el valor del campo magnético. Esta influencia del entorno bioquímico se conoce como interacción espín-espín. Si los núcleos de un vóxel estuvieran totalmente aislados (interacción espín-espín nula) y percibieran únicamente el campo magnético externo creado por el imán y suponiendo que su valor fuese perfectamente idéntico en todo el vóxel, todos los núcleos liberarían su energía a la misma frecuencia y el proceso de relajación sería coherente y sincrónico.

Por el contrario si los núcleos del vóxel forman parte de radicales químicos distintos, los campos localmente percibidos son ligeramente distintos (interacción espín-espín no nula) lo que origina que cada núcleo libere la energía a frecuencias distintas originándose una relajación incoherente. El sincronismo en la relajación del vóxel depende por tanto de las heterogeneidades del campo magnético externo en el vóxel y de las características tisulares internas, es decir de una función de la composición y estructura molecular en el vóxel. En el agua libre debido a la movilidad de las moléculas, la resultante promedio de las variaciones magnéticas locales es prácticamente nula, con lo que la interacción espín-espín es de escasa trascendencia y habrá una gran coherencia en la relajación. Por el contrario, en los tejidos en los que el agua está ligada, los núcleos percibirán campos magnéticos distintos en función de las diferentes estructuras bioquímicas de sus alrededores lo que implicará una gran incoherencia (interacción espín-espín elevada) en la relajación de los núcleos.

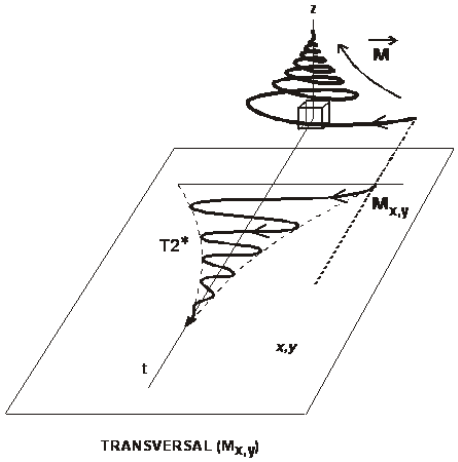


Figura 3.13 - Representación de la relajación transversal de la magnetización $M_{x,y}$ después de un pulso de 90º [31].

El sincronismo en la relajación nuclear del vóxel se observa estudiando la relajación transversal $M_{x,y}$. En efecto, si dentro del vóxel los núcleos tienen una relajación incoherente, cada núcleo emite a frecuencias distintas. Los espines de los núcleos que emiten a frecuencias más elevadas precesan a frecuencias mayores y en consecuencia las proyecciones sobre el plano transversal de sus espines, se adelantan respecto a los que emiten a frecuencias más bajas. Ello origina que en el plano transversal se alcance rápidamente la orientación al azar**.** Por el contrario si dentro del vóxel la relajación es muy coherente, todos los núcleos liberan la energía a frecuencias muy similares, lo que origina un gran sincronismo y muy poco desfase. En consecuencia se tardará mucho en que los espines alcancen la orientación al azar y por tanto el vector magnetización vuelva a su posición inicial.

La evolución de la magnetización transversal con el tiempo hasta que se anula, corresponde a una sinusoide a la frecuencia de relajación, amortiguada por una exponencial decreciente. El decaimiento exponencial de la envolvente está regulada por un parámetro llamado T2*, si se consideran todos los factores que influyen sobre el asincronismo de los núcleos, o T2 si no se consideran ni la influencia de las heterogeneidades del campo magnético externo ni las variaciones locales magnéticas que actúan de forma fija sobre los núcleos. Por tanto, T2 nos indica el asincronismo de los núcleos del vóxel durante la relajación debido a las influencias espín-espín aleatorias que dependen de la composición y estructuración propias del tejido. Si suponemos un campo externo perfectamente homogéneo y un tejido sin variaciones magnéticas locales fijas, el

T2 coincide con el T2*. Por lo general, el T2* siempre es menor que el T2 ya que cuando se contemplan todas las causas que pueden producir asincronismo la relajación es mucho más incoherente. Si se considera únicamente la relajación transversal de la magnetización en el vóxel, como originada solo por los factores que intervienen en T2, la envolvente exponencial que regula el decrecimiento está dada por:

$$M_{x,y}(t) = M_{x,y}(0)e^{-\frac{t}{T2}} \quad (11)$$

Cuando t = T2, $M_{x,y}(t) / M_{x,y}(0)$ es igual a 0.37, es decir que el T2 es el tiempo que tiene que transcurrir para que la magnetización transversal pierda un 63% de su valor. La constante T2 recibe el nombre de tiempo de relajación espín-espín o tiempo de relajación transversal, ya que viene determinada por la proyección de la relajación sobre el plano x,y. Una curva de magnetización que decrece rápidamente, implica un valor de T2 bajo, indicando un gran asincronismo en la relajación (alta influencia espín-espín). El tiempo T2 se mide en milisegundos.

Se puede obtener una imagen en la que el contraste entre los vóxeles potencie su diferencia en los valores de T2. Una imagen potenciada en T2 da idea de la estructura molecular en el vóxel por medio del sincronismo en la relajación. En una imagen potenciada en T2, la intensidad de la señal es directamente proporcional al valor del T2, es decir que, a mayor señal, mayor coherencia en la relajación y menor influencia entre núcleos. Los líquidos en reposo tienen una alta señal de resonancia en imágenes potenciadas en T2. Si la imagen obtenida no está corregida por las heterogeneidades del campo magnético externo ni de los efectos de las variaciones de susceptibilidad fijas, la imagen será potenciada en T2* siempre que los líquidos aparezcan hiperintensos. La Figura 3.14 expone las diferencias entre los valores de T2 del agua y la grasa, lo que se traduce en que la grasa se verá hipointensa y el agua hiperintensa.

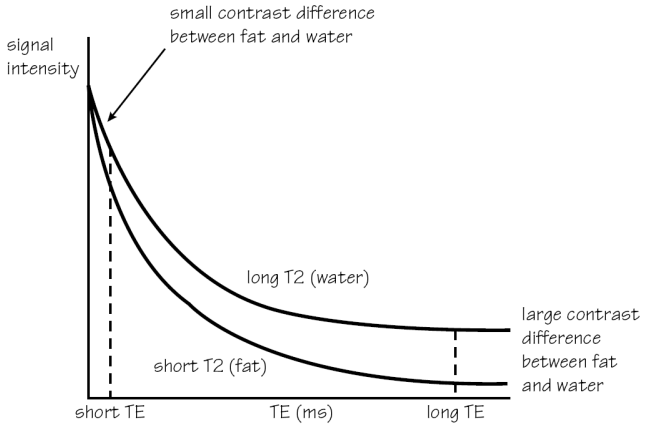


Figura 3.14 - Diferencias entre los T2 del agua y la grasa [30].

3.6 Métodos de evaluación de la CHH usando IRM.

Desde hace dos décadas, las imágenes de resonancia magnética (IRM) han sido investigadas como un método no invasivo para determinar la CHH. El potencial de esta técnica, para evaluar la sobrecarga de hierro en tejido, surgió de los estudios de RMN sobre el comportamiento de la relajación protónica de una solución de iones paramagnéticos. Bloembergen *et al.* demostraron que la tasa de relajación de los protones del solvente es proporcional a la concentración de los iones paramagnéticos [34] [35]. Además, los estudios de dispersión de la RMN sobre soluciones de ferritina han mostrado que la tasa de relajación transversal 1/T2, designada como R2, es significativamente mayor que la tasa de relajación longitudinal 1/T1, llamada también R1. Este fenómeno motivó a realizar estudios del hígado y bazo en pacientes que sufren de enfermedades relacionadas con la sobrecarga de hierro [36] [37] [20] [38] [39], esperando que las observaciones concordarán con la disminución de T2 como resultado de los grandes momentos magnéticos de los iones férricos Fe^{3+}.

3.6.1 Relación entre la relajación transversal protónica y el contenido de hierro en tejido

Las consideraciones teóricas de los iones paramagnéticos en un medio acuoso, predicen correlaciones lineales entre la tasa de relajación transversal R2 y la concentración de los iones paramagnéticos [34]. Desde el punto de vista de la adquisición de IRM, existen dos métodos principales, para la medición de las tasas de relajación transversal protónica.

Los métodos *spin-echo* miden el tiempo de relajación transversal protónica (T2) o la tasa (R2=1/T2). Algunos estudios *in vivo* [40] [41], así como *in vitro* [42] han demostrado que existe un alto grado de correlación entre la concentración de hierro en tejido y R2. A medida que la concentración de los centros paramagnéticos aumenta, la tasa de desfase de los protones (R2) aumenta, debido a la variación en la intensidad del campo magnético local inducida por las particulas de hierro que están en el tejido [43], y al intercambio protónico entre el agua del tejido y los protones sobre la superficie de las partículas de oxihidróxido férrico del tejido [44]. Aunque existen otros factores que contribuyen al valor de R2, además de la concentración de hierro, en el hígado este aparece como el factor dominante. St Pierre *et al.* [45] mostraron que los factores que contribuyen a R_2 pueden ser expresados como:

$$R_2 = R_{2_{hierro}} + R_{2_{otros}} \pm \Delta R_{2_{otros}} \quad (12)$$

Donde $R_{2_{hierro}}$ es la contribución a R_2 por parte de los depósitos de hierro en el tejido, $R_{2_{otros}}$ es la contribución promedio a R_2 por parte de los otros factores, que es un valor constante para un determinado tejido y $\pm\Delta R_{2_{otros}}$ es la desviación de $R_{2_{otros}}$ punto a punto dentro del tejido o dentro del hígado en diferentes pacientes. Los experimentos realizados por Papakonstantinou [41], Engelhardt [40] y Clark [42], sugieren que $\pm\Delta R_{2_{otros}}$ es muy pequeño en comparación con las variaciones inducidas por hierro de $R_{2_{hierro}}$, por lo tanto R_2 es una buena medida de la concentración de hierro en tejido.

Los métodos eco gradiente miden el tiempo de relajación transversal protónica (T_2^*) o la tasa ($R_2^* = 1/T_2^*$). En muchas situaciones, los métodos eco gradiente son más fáciles de implementar que los métodos *spin-echo*. Los métodos de múltiple eco gradiente también adquieren los datos más rápido y no presentan los mismos problemas asociados al *multi-spin-echo.* Sin embargo, la tasa de relajación transversal protónica (R_2^*) medida con los métodos eco gradiente depende de más factores que el parámetro R_2 medido con *spin-echo*. El parámetro R_2^* depende de los efectos de la geometría macroscópica del tejido, derivados de las diferencias en las susceptibilidades diamagnéticas de diferentes tejidos, así como la variación de la susceptibilidad magnética propia de las variaciones espaciales de la concentración de hierro. La contribución de estos efectos a la tasa de relajación transversal protónica pueden ser asignados a una componente de R_2^* llamada R_2' así:

$$R_2^* = R_2 + R_2^{'} \quad (13)$$

Donde $R_2^{'}$ depende del arreglo geométrico de los tejidos con diferentes susceptibilidades magnéticas. Esta ecuación se puede reescribir como:

$$R_2^* = R_{2_{Hierro}} + R_{2_{otros}} \pm \Delta R_{2_{otros}} + R_{2_{Hierro}}^{'} + R_{2_{otros}}^{'} \pm \Delta R_{2_{Otros}}^{'} \quad (14)$$

Donde $R_{2_{Hierro}}^{'}$ es la contribución a R_2^* de las variaciones macroscópicas en la concentración de hierro del tejido, $R_{2_{otros}}^{'}$ es la contribución promedio a R_2^* de las variaciones macroscópicas de la susceptibilidad magnética no relacionada con el hierro, que corresponde a un valor constante para un sitio específico del cuerpo humano, y $\pm\Delta R_{2_{Otros}}^{'}$ es la desviación punto a punto de $R_{2_{otros}}^{'}$ dentro del tejido o entre diferentes pacientes. Las componentes $\Delta R_{2_{otros}}$ y $\Delta R_{2_{Otros}}^{'}$ son suficientemente pequeñas en comparación con los cambios inducidos por hierro de $R_{2_{Hierro}}$ y $R_{2_{Hierro}}^{'}$, para así establecer que los valores de R_2^* sean tomados como una medida de la concentración de hierro en tejido.

Diferentes estudios han mostrado que existe una correlación entre R_2^* y la concentración de hierro en hígado, aunque estas son más débiles que las observadas entre R_2 y la misma concentración. Ambas relaciones son afectadas por la distribución espacial de depositos de hierro dentro del tejido. Sin embargo, mientras la relación entre la concentración de hierro en el tejido y R_2 es afectada por los cambios espaciales microscópicos, su relación con R_2^* es afectada por el arreglo espacial de los depósitos de hierro en escala micro y macroscópica. Ya que algunos factores patológicos tienden a cambiar la distribución espacial del hierro, como por ejemplo la fibrosis, R_2 puede ser un parámetro adecuado para la medición de las concentraciones de hierro en hígado. Por lo tanto, las técnicas *spin-echo* son más específicas para medir la concentración de hierro que las técnicas eco gradiente.

Las mediciones de R_2 pueden ser realizadas usando una serie de mediciones con la secuencia *spin-echo* o una sola medición con la secuencia *multi-spin-echo*, donde varios ecos pueden ser medidos despues de una sola excitación inicial. Aunque la secuencia *multi-spin-echo* presenta una rápida adquisición de los datos, las secuencias *spin-echo* son preferidas para realizar estudios de relaxometría, debido a que varios estudios han

demostrado que las secuencias *spin-echo* son más precisas que las *multi-spin-echo*, ya que en las segundas el valor de R_2 puede depender del espacio entre ecos [45]. Además, el uso de las técnicas *multi-spin-echo* dan lugar a un comportamiento no exponencial de la señal de decaimiento del tejido con sobrecarga de hierro [43]. Sin embargo, el uso de la técnica de *single spin-echo* introduce varios inconvenientes, tales como: corregir los posibles cambios de la ganancia del instrumento entre las mediciones de cada *spin-echo*, usar valores de TE extremadamente cortos entre 4 y 6ms, debido a que el tejido con sobrecarga presenta valores de T_2 muy cortos, y aplicar valores de TR muy largos, evitando el uso de mediciones en apnea o *breath-hold*, por lo tanto se requieren algunos métodos para tratar el *ghosting* debido al movimiento causado por la respiración [46].

3.6.2 Antecedentes de la medición de CHH

Desde hace dos décadas, distintos grupos de investigación y laboratorios de todo el mundo, han realizado estudios para medir la CHH de forma no invasiva, utilizando IRM o BLS. La deposición de hierro hepático con IRM puede ser cuantificada midiendo la razón de la IS del hígado y de un tejido de referencia [47] [48] , que generalmente es el músculo paraespinal, el cual no desarrolla siderosis debido a la sobrecarga. Estas razones de IS pueden ser derivadas de secuencias *spin-echo* o de eco gradiente. Por otra parte, la siderosis de hígado también puede ser medida por medición directa del tiempo de relajación transversal o relaxometría, es decir con T2 para secuencias *spin-echo* y T2* para secuencias de eco gradiente. También es posible realizar mediciones híbridas usando las dos secuencias [49]. Los métodos de medición de las razones de IS son más rápidos que los de relaxometría pero son menos sensibles, particularmente en pacientes con sobrecarga de hierro severa [49]. Por lo tanto, los métodos de medición de las razones de IS presentan una pequeña reproducibilidad entre equipos a diferencia de los métodos de relaxometría, aunque el tiempo de adquisición de R2 es más largo que el de R2*.

A continuación se observarán los coeficientes de correlación de diferentes estudios cuyo objetivo fue medir la CHH con los dos métodos usados en IRM y compararla con los valores dados de la biopsia hepática: Alústiza *et al.* encontraron un coeficiente de correlación de 0.937 usando una secuencia eco gradiente [48], Gandon *et al.* encontraron los coeficientes de correlación usando secuencias eco gradiente, 0.92 con IRM pesadas en T1, 0.91 pesadas en densidad protónica, 0.89 pesadas en T2 y 0.88 pesadas en T2* [47].

Wood *et al.* encontraron un coeficiente de correlación de 0.98 con una secuencia *spin-echo* y de 0.97 con una secuencia eco gradiente, y un coeficiente de correlación de 0.94 al comparar el valor medido promedio de R2 y R2* con el valor dado por la biopsia [50]. Hankins *et al.* obtuvieron un coeficiente de correlación de 0.98 con una secuencia eco gradiente [21]. St Pierre *et al* [51] [52] [53] encontraron un coeficiente de correlación de 0.98 con una secuencia *spin echo*. Carneiro *et al* compararon la CHH medida con IRM y BLS encontrando un coeficiente de correlación de 0.93 [54]. Otros estudios relacionados con la medición de la CHH y las ventajas y desventajas de cada secuencia se encuentran en [49].

Aunque, la gran mayoría de estudios presentan una relación lineal entre la CHH medida con la biopsia y la medida con IRM, el estudio de St. Pierre *et al.* presenta una relación no lineal para estos parámetros, y tiene el mismo coeficiente de correlación que el estudio de Wood *et al.* realizado con una secuencia *spin-echo*. Para explicar la naturaleza curvilínea de R2, se debe tener en cuenta que R2 y R2* dependen del tamaño y distribución de las inhomogeneidades magnéticas. R2 debería aumentar linealmente con el hierro únicamente si el tamaño y distribución celular de los depósitos de hierro en el hígado son independientes de la CHH. R2 se hace cada vez menos sensible a las fluctuaciones magnéticas mayores que la escala celular, debido a que las moléculas de agua viajan lentamente a través de los bordes de la membrana. Si la sobrecarga de hierro severa, produce proporcionalmente inhomogeneidades magnéticas más grandes en el orden de los 100μm o más, se espera que R2 se ubique en un *plateau* a altas CHH. Las mediciones de R2* son robustas a las alteraciones magnéticas de alto rango, así que se debe esperar una relación lineal entre R2* y la CHH sobre todo el rango fisiológico de la deposición de hierro [50].

Se sabe que la ferritina es la proteína de almacenamiento del hierro en los mamiferos. Esta comprende 24 subunidades que forman un cascarón esférico de 13nm de diámetro, en cuyo interior está alojado el hierro en una cavidad interna de diámetro 8nm, el cual está estructurado como un cristal de ferrihidrita nanométrico ($5Fe_2O_3*9H_2O$). La ferrihidrita es un oxido de hierro hidratado antiferromagnético y las nanopartículas de ferrihidrita son superparamagnéticas [44]. Aunque la ferritina es mucho más compleja que un material paramagnético, a temperatura ambiente la ferritina produce una magnetización proporcional al campo magnético aplicado $\mathbf{B_0}$. Sin embargo, para una misma concentración

de hierro, la relajación causada por la ferritina *in vivo* parece ser más eficiente que en las soluciones de ferritina o similares [55]. Por ejemplo, en el tejido hepático, la relaxividad de la ferritina a 1.5T es tres veces mayor que en soluciones acuosas [56] [44]. Por lo tanto, la precisión de las medidas de hierro en diferentes órganos, basada en las propiedades de relajación de la ferritina por IRM, es difícil de encontrar, debido al desconocimiento de las proporciones exactas de complejos de hierro de bajo peso molecular, hierro enlazado a la ferritina y hierro enlazado a la hemosiderina [57]. Otra dificultad es la posible presencia de desoxihemoglobina, ya que puede contribuir a la relajación del tejido, pero a través de un R2 no lineal.

Los estudios histológicos de las biopsias de hígado, mediante tinciones especiales y microscopía electrónica de transmisión, muestran que el hierro no está homogéneamente distribuido dentro de las células, y la distribución parece ser diferente en hígado y bazo. La ferritina forma conglomerados en los tejidos, los cuales son más grandes en hígado que en el bazo. Además, cabe la posibilidad que el tamaño de los conglomerados en el mismo tejido varíe con el contenido de hierro. Otro de los modelos es el de Jensen y Chandra [43], el cual sugiere un mecanismo de relajación no exponencial, basado en la difusión de los protones en las inhomogeneidades del campo magnético inducidas por los conglomerados de hemosiderina dentro del tejido, ya que la cantidad de relajación mejora por átomo de hierro.

Capítulo 4. Metodología e implementación

Durante las últimas décadas, la resonancia magnética (RM) ha adquirido un papel protagonista en la evaluación de pacientes con sospecha de patología; ya que proporciona una resolución de contraste entre tejidos, mayor a la de otras técnicas de imagen, lo que la convierte en una exploración especialmente útil en aquellos pacientes en los que el ultrasonido (US) o la tomografía computada (TC) no son concluyentes. La RM facilita tanto la detección y la caracterización de lesiones focales como la evaluación de procesos difusos que afectan al parénquima hepático. El estudio del hígado por RM también se indica para la evaluación y la planificación del transplante hepático o para la cuantificación de la sobrecarga de hierro hepático. A diferencia de la TC, la RM no utiliza radiaciones ionizantes, por lo que es de especial valor en pacientes pediátricos y mujeres embarazadas, así como en aquellos pacientes en los que es necesario el seguimiento de una patología hepática a largo plazo mediante repetidas exploraciones de imagen.

4.1 Protocolo general de IRM de hígado

El protocolo IRM para el estudio del hígado debe individualizarse en función de la indicación clínica y de las secuencias disponibles en el equipo de resonancia. Para optimizar los protocolos de RM, es necesario conocer los parámetros y factores que afectan la adquisición de la imagen. A continuación, se realiza una breve indicación de los parámetros más importantes que afectan la adqusición.

4.1.1 Tiempo de adquisición

El tiempo de adquisición es un factor fundamental en el diseño y la optimización de los protocolos de imagen por RM de abdomen en general y del hígado en particular. La adquisición de imágenes de RM en respiración suspendida (apnea), en principio, elimina los artefactos generados por los movimientos respiratorios. Por lo tanto, el tiempo de adquisición de cada secuencia en el protocolo debe ajustarse a la capacidad de apnea de cada paciente. La mayoria de los pacientes tolera bien un periodo de apnea entre 20 y 25 segundos [58].

4.1.2 Relación señal/ruido

La relación señal/ruido (SNR, *Signal Noise Ratio*) es la cantidad de información útil que se recibe (señal) en relación con la información no útil (ruido). El ruido disminuye la calidad de la imagen dándole un aspecto granulado y, cuando alcanza un nivel determinado, puede disminuir la calidad diagnóstica de las imágenes, así mismo puede incrementar el valor de la IS y dar valores erróneos de la CHH. La señal recibida en una adquisición es directamente proporcional al TR y al número de adquisiciones, e inversamente proporcional al número de codificaciones de fase y frecuencia. En general, la SNR, y por lo tanto la calidad de la imagen, mejora con el aumento del tamaño del vóxel, pero lleva a una disminución en la resolución espacial de la imagen. Entre las diferentes estrategias para aumentar el tamaño del vóxel se incluyen: el aumento del tamaño del campo de visión (FOV, *field of view*), el aumento del espesor del corte y la disminución de la matriz de la imagen. Esta última opción acorta el tiempo de adquisición al reducir el número de codificaciones de fase [58].

En el software de manejo del equipo *Achieva* utilizado en este estudio, se puede visualizar la SNR para cada secuencia de adquisición utilizada. El valor de la SNR está dado como un porcentaje, el cual cambia cuando se modifican los parámetros de la secuencia, y se mantiene relativo al protocolo predefinido del inicio de la secuencia, por lo tanto su valor inicial será 100%. Es decir que, si el espesor de corte original se reduce a la mitad, la SNR mostrada será del 50% con relación al procedimiento original. Sin embargo, si este protocolo se convierte en el actual y se vuelve a cargar para realizar más cambios, la SNR mostrada será el 100%, esto se debe a que ahora es considerado como un protocolo nuevo. Por lo tanto, las modificaciones siempre son relativas al punto inicial y no se toman en cuenta los cambios previos. Algunos parámetros que afectan a la SNR de una secuencia, son: NSA, TR, TE, ángulo de inclinación, tamaño de vóxel, espesor de corte, media adquisición y tamaño del FOV, que serán ampliados en las siguientes secciones.

4.1.3 Amplitud de banda

La señal analógica emitida durante una secuencia de RM es recibida por una bobina o antena receptora con una determinada frecuencia de onda. Esta señal será posteriormente amplificada y convertida en una señal digital. La amplitud de banda indica el rango de frecuencias de onda que la RM recibe por unidad de tiempo. Por lo tanto, cuanto mayor es

la amplitud de banda, mayor es la velocidad de muestreo de la señal de RM y menor el tiempo que toma adquirir la información para formar la imagen, aunque tiene como inconveniente la disminución de la relación señal/ruido [58].

4.1.4 Antenas receptoras de superficie

El uso de antenas receptoras o bobinas de superficie mejora considerablemente la relación señal/ruido en los estudios de RM abdominales. En general, a menor tamaño de la antena, mejor relación señal/ruido, aunque con menor cobertura anatómica. Esta limitación de las antenas de superficie fue solucionada por los fabricantes, con el diseño de antenas de superficie con múltiples bobinas de pequeño tamaño: las antenas de receptores múltiples, que ofrecen las mismas ventajas que las bobinas de pequeño tamaño en la relación señal/ruido y una cobertura anatómica mucho más amplia [58].

4.1.5 Resolución espacial

La resolución espacial es la capacidad para discriminar entre dos puntos de la imagen y está determinada por el tamaño del píxel, a menor tamaño del píxel, mejor resolución espacial. El tamaño del píxel es directamente proporcional al FOV e inversamente proporcional al tamaño de la matriz y al número de codificaciones de fase y frecuencia. Por lo tanto, el uso de un FOV de menor tamaño disminuirá el tamaño del píxel, por lo que mejorará la resolución espacial, siempre y cuando se mantenga constante el número de codificaciones de fase y frecuencia, aunque a expensas de una disminución en la relación señal/ruido. Mientras que para un FOV determinado, la reducción del número de codificaciones aumentará el tamaño del píxel y por lo tanto, disminuirá la resolución final de la imagen, aunque la relación señal/ruido mejorará.

Las estrategias que permitan el aumento de la resolución espacial degradarán la relación señal/ruido, y viceversa, debido a que la relación señal ruido es directamente proporcional al tamaño del píxel. Sin embargo, una relación señal/ruido pobre debida a un tamaño de píxel muy pequeño puede reducir la resolución espacial efectiva, sin poder discriminar dos puntos en la imagen como elementos independientes, llevando a un detrimento en la utilidad diagnóstica de la imagen [58].

4.1.6 Resolución de contraste

La resolución de contraste de la imagen hace referencia a la relación entre la intensidad de señal de los distintos tejidos de la imagen. En IRM, el contraste depende de la distribución heterogénea de los tiempos de relajación de los diferentes tejidos en la imagen. Una resolución de contraste superior ofrece una mayor capacidad diagnóstica, ya que permite discriminar mejor entre tejidos. El contraste se ve afectado por el TR en imágenes pesadas en T1 y por el TE en imágenes pesadas en T2 [58].

4.1.7 Estudios en respiración suspendida (apnea)

Siempre que sea posible, se debe intentar obtener las IRM de abdómen durante cortos periodos de apnea. La adquisición durante la suspensión de la respiración simplifica los estudios de RM y evita errores en la localización anatómica de las imágenes. El final de la espiración es el momento más fácilmente reproducible del ciclo respiratorio y por lo tanto, el momento más apropiado para realizar la adquisición, ya que facilita la alineación de las imágenes obtenidas en cada localización anatómica. El paciente debe ser informado de la importancia de evitar movimientos respiratorios profundos y debe saber que el objetivo es lograr un volumen pulmonar similar al final de cada espiración. La capacidad de suspender la respiración mejora luego de al menos dos ciclos de órdenes respiratorios del tipo “tome aire, suéltelo, no respire” y debe practicarse antes de comenzar el estudio de RM. Este periodo de preparación es útil, ya que permite identificar a aquellos pacientes que no serán capaces de mantener la respiración durante el estudio. En estos casos, se puede tener en cuenta la posibilidad de adquirir las imágenes manteniendo la respiración al final de la inspiración. En aquellos pacientes en los que estas estrategias no son efectivas, deben utilizarse técnicas de imagen por RM sin suspensión de la respiración [58].

4.1.8 Estudios en respiración continua (sin apnea)

Existen varias alternativas para realizar estudios sin suspensión de la respiración, comprendidas en las secuencias ultrarrápidas y los mecanismos de compensación del movimiento.

- Secuencias ultrarrápidas: las secuencias de disparo único (*single-shot*) producen imágenes potenciadas en T2 que no están afectadas por el movimiento, debido a que se obtienen en un tiempo muy corto (aproximadamente una imagen por

segundo) y de manera secuencial. Para obtener imágenes potenciadas en T2, son útiles las secuencias *spin-echo* rápidas o *fast spin-echo* con adquisición de la mitad del espacio K (*half Fourier*). Estas adquisiciones aprovechan la posibilidad de reconstruir el espacio K completo, basándose en su simetria, y reducen así el tiempo de adquisición a la mitad [58].

- Estrategias de compensación de movimiento: existen dos estrategias básicas para eliminar los artefactos por movimientos respiratorios. Durante algún tiempo, la adquisición de una misma secuencia de forma repetida, utilizando el promedio de la información obtenida, fue la base de las técnicas de compensación del movimiento. Sin embargo, esta estrategia ha caído prácticamente en desuso, debido a que aumenta de forma considerable el tiempo total de adquisición. En la actualidad, la estrategia más extendida consiste en sincronizar la adquisición de las imágenes de RM con el ciclo respiratorio, registrado mediante un sensor de respiración colocado en el abdomen. Existen dos modalidades de sincronización: *respiratory gating* o modalidad de gatillado respiratorio, que es una secuencia disparada por los movimientos respiratorios en la que se obtienen imágenes durante una fracción del ciclo respiratorio relativamente reposado, y *respiratory triggering* o modalidad de coordinación respiratoria, que obtiene imágenes de un mismo punto en cada ciclo respiratorio. El uso de los navegadores para la sincronización respiratoria es limitado en los estudios del abdomen, debido a los artefactos que producen en el parénquima hepático [58].

4.1.9 Adquisiciones en paralelo

La aceleración de las adquisiciones tradicionales de RM se basa en la optimización de la intensidad de los gradientes, de su frecuencia de cambio (*switching rate*) y de los patrones de aplicación de gradientes y pulsos de radiofrecuencia. Cuando los gradientes se alternan rápidamente, pueden inducir estimulación neuromuscular en el paciente. Asimismo, los trenes de pulsos de radiofrecuencia excesivamente largos pueden provocar un depósito de energía y acumulación de calor de niveles inaceptables. Por tanto, la velocidad de adquisición ha estado, durante muchos años, limitada por la frecuencia máxima de cambio de los gradientes permitida por los equipos de RM, con un margen de seguridad razonable para el paciente. La adquisición de imágenes en paralelo SENSE en el equipo *Achieva* 1.5T de Philips, consiste en la utilización de la información espacial

inherente a la geometría de la antena, para reducir el número de codificaciones de fase que deben adquirirse. Las codificaciones de fase se obtienen mediante pulsos de radiofrecuencia o de gradientes. En el caso de las adquisiciones aceleradas mediante técnicas de imagen en paralelo, el número de codificaciones de fase en una adquisición se reduce de forma inversamente proporcional al factor de aceleración. Las codificaciones de fase no adquiridas de forma prospectiva son calculadas de forma retrospectiva, utilizando la información inherente a la localización espacial de cada uno de los elementos de la antena. El requisito fundamental es la utilización de antenas con múltiples receptores o canales de recepción. Así, se obtienen de forma simultánea múltiples series de líneas del espacio K por cada aplicación del gradiente de codificación de fase. Esto equivale al relleno de múltiples líneas del espacio K simultáneamente, lo que reduce el número de codificaciones necesarias para obtener una imagen [58].

Debido a que la aplicación del gradiente de codificación de fase representa el principal factor determinante de la duración de la secuencia, las técnicas en paralelo permiten acelerar significativamente la adquisición de la información sin incrementar la frecuencia de cambio de los gradientes o la absorción de energía por parte del paciente. Es decir, la adquisición se produce más rápido de lo que permiten las adquisiciones tradicionales, pero manteniéndose dentro de los límites máximos permitidos de estimulación neuromuscular y acumulación de calor. En el estudio del hígado, estas estrategias pueden ser empleadas para disminuir el tiempo total de la exploración y aumentar la resolución espacial por unidad de tiempo [58].

4.2 Protocolo de IRM para la medición de la CHH

El protocolo IRM para el estudio de la medición de la CHH se individualizó teniendo en cuenta todos los factores que afectan la adquisición mencionados anteriormente, así como la indicación clínica y las secuencias disponibles en el equipo de resonancia utilizado. La optimización de los protocolos de imagen por RM para la medición de la CHH requiere el ajuste de estos parámetros de forma conjunta, para obtener imágenes diagnósticas en un tiempo de apnea apropiado para la capacidad respiratoria de cada paciente.

4.2.1 Elementos del equipo de adquisición de IRM

A continuación se detallarán los elementos o materiales utilizados para la realización del estudio:

4.2.1.1 Equipo de resonancia magnética

El estudio fue realizado en el servicio de Resonancia Magnética de Alto Campo de la Fundación Escuela de Medicina Nuclear (FUESMEN) de Mendoza, Argentina. Se utilizó un resonador magnético de 1.5T, modelo *Achieva* del fabricante Philips, mostrado en la Figura 4.1.

Figura 4.1 - Equipo de resonancia magnética de 1.5T utilizado

4.2.1.2 Bobinas

Se usó una bobina SENSE de cuerpo, la cual es una bobina multielemento de 4 elementos que solo cumple la función receptora, su volumen es flexible y tiene una parte superior y otra inferior, cada parte contiene dos elementos de bobina multielemento, sus dimensiones son 45cm de izquierda a derecha por 30cm de pies a cabeza. El pulso de RF de excitación es transmitido por la bobina *Q-body* que se encuentra en el cuerpo del equipo. La Figura 4.2, muestra la bobina SENSE de cuerpo utilizada.

Figura 4.2 - Bobinas SENSE utilizadas

4.2.1.3 Estaciones de trabajo

Las imágenes fueron adquiridas en la estación de trabajo de la consola de mando del equipo. La Figura 4.3 muestra la visualización de un estudio estándar de CHH en la consola del equipo. Todas las imágenes adquiridas fueron enviadas mediante el sistema PACS a otra estación de trabajo, en la cual se ejecuta la rutina software desarrollada para la medición de la CHH. El formato de las imágenes utilizado durante todo el trabajo fue DICOM, y su visualización fue realizada con el programa eFilm Workstation 2.1.0.

Figura 4.3 - Estación de trabajo del equipo *Achieva* de Philips

4.2.1.4 Fantomas

El fantoma utilizado para evaluar la reproducibilidad del método y establecer la curva de calibración está conformado por un cilindro de acrilico de 20cm de diámetro externo y 17cm de longitud., y doce insertos o tubos del mismo material de 5cm de largo y 2cm diámetro interno. La Figura 4.4 muestra el fantoma construido. Para determinar la

reproducibilidad de la técnica, se obtuvieron soluciones en agua destilada de Cloruro de Manganeso Monohidratado ($MnCl_2.H_2O$) [59] abarcando el rango de concentraciones entre 0.1 y 3.4 mM (0.1; 0.4; 0.7; 1.0; 1.3; 1.6; 1.9; 2.2; 2.5; 2.8; 3.1; 3.4). Para determinar la curva de calibración, se realizaron soluciones en agua destilada de Cloruro Férrico Hexahidratado ($FeCl_3.6H_2O$) abarcando el rango de concentraciones entre 2,066 y 48,708 mg Fe/g tejido seco (2.066; 6.062; 8.749; 14.881; 17.912; 22.253; 24.526; 30.520; 33.483; 35.963; 43.128; 48.708).

Figura 4.4 - Fantoma diseñado. Izquierda: Vista lateral; Derecha: Vista inferior

4.2.2 Posicionamiento del paciente y colocación de la bobina

- El paciente debe despojarse de todos los elementos de metal antes de entrar a la sala del equipo.
- Se posiciona el paciente en dirección cabeza primero, es decir, de entrada al túnel del imán (Figura 4.5).
- Se coloca la bobina con la mayor cobertura en dirección de derecha a izquierda (Figura 4.6).
- Se debe utilizar la colchoneta SENSE, el cojín SENSE y dos correas para hombros con el fin de que haya una distancia entre el paciente y la bobina, así como para obtener más comodidad (Figura 4.5 y 4.6).
- Colocar la parte posterior de la bobina con las correas para hombros en la mesa.
- Posicionar la colchoneta sobre la bobina posterior para que el paciente no sienta incomodidad, y para obtener la mejor señal posible (Figura 4.6).
- Situar la parte anterior de la bobina directamente encima del torso del paciente. Si se utiliza SENSE se debe fijar el cojín SENSE a la bobina, con tal de crear una

pequeña distancia entre el paciente y la bobina, reduciendo así considerablemente la posibilidad de calentamiento del paciente (Figura 4.5 y 4.6).

- Colocar el sensor de respiración entre el paciente y la bobina, y envolver la parte anterior de la bobina alrededor del paciente, ajustando bien las correas de hombro y dejando los brazos del paciente por fuera de la bobina (Figura 4.6).
- Posicionar los brazos del paciente sobre un cojín angular detrás de la cabeza para evitar artefactos en la imagen debido a los brazos, y así mismo posicionar las piernas sobre otro cojín angular para mayor comodidad (Figura 4.6).

Figura 4.5 - Vistas laterales del posicionamiento del paciente y colocación de la bobina

- Colocar los auriculares al paciente con el fin de darle las instrucciones de respiración y monitorear su condición a lo largo del estudio.
- Desplazar la camilla hacia adentro del túnel del imán usando los controles del panel central del imán (Figura 4.6).
- Encender el láser de posicionamiento y hacer coincidir la cruz láser con la cruz grabada en la bobina anterior de torso. Cuanto más cerca del isocentro se encuentre la región de obtención de las imágenes, mejor será la calidad de la imagen.

- Pulsar el botón de centrado automático y subir el interruptor de arriba/adentro hasta que se alcance el isocentro y la camilla se detenga automáticamente.
- Conectar la bobina a cualquier entrada compatible del panel de control del imán (Figura 4.6).

Figura 4.6 - Arriba izquierda: Bobina posterior y colchoneta SENSE; Arriba centro: Bobina SENSE; Arriba derecha: Sensor de respiración; Abajo izquierda: visualización de la frecuencia respiratoria; Abajo derecha: controles del panel central del imán

4.2.3 Control de calidad y reproducibilidad de los valores de R2

La reproducibilidad del valor de R2 en el equipo, es necesaria evaluarla antes de empezar a adquirir la curva de calibración de concentración de hierro.

1) Se obtuvieron series de una solución de Cloruro de Manganeso Monohidratado ($MnCl_2.H_2O$) con concentraciones que varían en un rango de 0.1 mmol a 3.4 mmol (0.1, 0.4, 0.7, 1.0, 1.3, 1.6, 1.9, 2.2, 2.5, 2.8, 3.1, 3.4 mmol). Cada solución fue agregada dentro de un tubo de acrilico con tapa enroscada, sin dejar burbujas dentro del tubo. Los 12 tubos fueron insertados en una placa de acrilico, que en conjunto van dentro de un cilindro hueco del mismo material.
2) El fantoma fue posicionado en la camilla y ajustado con la bobina SENSE de cuerpo, siguiendo todo el protocolo de posicionamiento del paciente y colocación de la bobina.

3) Se adquirieron imágenes del fantoma con los parámetros dados en la Tabla 4.1.
4) La adquisición fue repetida por 9 días usando los mismo parámetros.
5) En cada imagen con un TE específico, se midió la intensidad de señal promedio dada por los niveles de gris de cada concentración de solución de Cloruro de Manganeso Monohidratado ($MnCl_2.H_2O$), usando una ROI de 12 píxeles de diámetro. Previamente, cada imagen fue filtrada con un kernel promedio de 3x3. El software empleado fue ImageJ.
6) Se graficaron los datos de intensidad de señal con respecto a cada valor de TE y para cada concentración de la solución de Cloruro de Manganeso Monohidratado ($MnCl_2.H_2O$).
7) Los datos fueron ajustados mediante una regresión no lineal usando el método de Levenberg-Marquardt en el programa Origin 8.0. A partir de este fiteo se obtienen el valor de R2 y de S(0), que son parámetros que se explicarán más adelante.
8) Se repitieron los pasos anteriores para las adquisiciones de cada día y se calcularon el promedio y la desviación estándar de R2.

4.2.4 Creación y comprobación de la precisión de la curva de calibración de concentración de hierro

Para la creación de la curva de calibración de concentración de hierro, la cual relaciona los valores de R2 y diferentes concentraciones de hierro, se siguió el siguiente protocolo:

1) Se obtuvieron series de una solución de Cloruro de Hierro (III) Hexahidratado ($FeCl_3.6H_2O$) con concentraciones que varían en un rango de 2.066 a 48.708 mg Fe/g tejido seco (2.066; 6.062; 8.749; 14.881; 17.912; 22.253; 24.526; 30.520; 33.483; 35.963; 43.128; 48.708). Cada solución fue agregada dentro de un tubo de acrilico con tapa enroscada, sin dejar burbujas dentro del tubo. Los 12 tubos fueron insertados en una placa de acrilico, que en conjunto van dentro de un cilindro hueco del mismo material.
2) El fantoma fue posicionado en la camilla y ajustado con la bobina SENSE de cuerpo, siguiendo todo el protocolo de posicionamiento del paciente y colocación de la bobina.
3) Se adquirieron imágenes del fantoma siguiendo los parámetros dados en la Tabla 4.1.

4) En cada imagen con un TE específico, se midió la intensidad de señal promedio dada por los niveles de gris de cada concentración de solución de Cloruro de Hierro (III) Hexahidratado ($FeCl_3.6H_2O$), usando una ROI de 12 píxeles de diámetro. Previamente, cada imagen fue filtrada con un kernel promedio de 3x3. El software empleado fue ImageJ.
5) Se graficaron los datos de intensidad de señal con respecto a cada valor de TE y para cada concentración de la solución de Cloruro de Hierro (III) Hexahidratado ($FeCl_3.6H_2O$).
6) Los datos fueron ajustados mediante una regresión no lineal usando el método de Levenberg-Marquardt en el programa Origin 8.0. A partir de este fiteo se obtiene el valor de R2 y de S(0), que son parámetros que se explicarán más adelante.
7) Posteriormente, los valores de R2 y de concentración de la solución de Cloruro de Hierro (III) Hexahidratado fueron graficados y ajustados mediante una regresión lineal usando el método de mínimos cuadrados en el programa Microsoft Excel, y esta función fiteada corresponde a la curva de calibración del fantoma.

Para la verificación de la precisión de la curva de calibración, se evaluaron concentraciones desconocidas de solución de Cloruro de Hierro (III) Hexahidratado ($FeCl_3.6H_2O$) siguiendo el siguiente protocolo:

1) Se prepararon múltiples soluciones de cloruro de hierro (III) hexahidratado ($FeCl_3.6H_2O$) a concentraciones desconocidas. Cada solución fue agregada dentro de un tubo de acrilico con tapa enroscada, sin dejar burbujas dentro del tubo. Los 12 tubos fueron insertados en una placa de acrilico, que en conjunto van dentro de un cilindro hueco del mismo material.
2) El fantoma fue posicionado en la camilla y ajustado con la bobina SENSE de cuerpo, siguiendo todo el protocolo de posicionamiento del paciente y colocación de la bobina.
3) Se adquirieron imágenes del fantoma siguiendo los parámetros dados en la Tabla 4.1.
4) En cada imagen con un TE específico, se midió la intensidad de señal promedio dada por el nivel de gris de cada solución de cloruro de hierro (III) hexahidratado ($FeCl_3.6H_2O$) de concentración desconocida, usando una ROI de 12 píxeles de

diámetro. Previamente, cada imagen fue filtrada con un kernel promedio de 3x3. El software empleado fue ImageJ.

5) Se graficaron los datos de intensidad de señal con respecto a cada valor de TE de cada concentración desconocida.
6) Los datos fueron ajustados mediante una regresión no lineal usando el método de Levenberg-Marquardt en el programa Origin 8.0. A partir de este fiteo se obtiene el valor de R2 y de S(0), que son parámetros que se explicarán más adelante.
7) Usando los valores calculados de R2 del punto anterior se encuentra el valor de cada concentración usando la ecuación fiteada de la curva de calibración.
8) Se comparan los valores de concentración de hierro obtenidos en el punto anterior con los valores reales, y se obtiene un porcentaje de error.

Tabla 4.1 - Parámetros de adquisición de las imágenes

PARÁMETROS		VALOR
Coil selection		SENSE-Body
FOV	RL (mm)	380 - 520
	AP (mm)	300 - 520
	FH (mm)	55
Voxel size	RL (mm)	1,8
	AP (mm)	1,8
Slice thickness (mm)		5
TE(ms)		4, 8, 10, 12
TR(ms)		2500
Recon voxel size (mm)		1,48 hasta 2
NSA		1
CLEAR		yes
Fold-over suppression		Yes, No
Reconstruction matrix		256
SENSE		yes
	P reduction (AP)	2 o 2,5
Slices		6 o 10
Slice gap (mm)		5
Slice orientation		transverse
Scan mode		M2D
	technique	SE
Fast Imaging mode		TSE
	shot mode	multishot
TSE factor		10
	DRIVE	yes
	ultrashort	yes
Echoes		1
	partial echo	no
Flip angle (deg.)		90
Halfscan		yes
Respiratory compensation		no, trigger, breath-hold

4.2.5 Parámetros de adquisición de las imágenes

El programa de adquisición de imágenes del equipo *Achieva* permite la modificación de más de cien parámetros, empleados para obtener la mejor calidad de imagen, a partir de características modificables tales como: la geometría, el contraste, el postprocesamiento, entre otras. Los principales parámetros que contiene la secuencia implementada para la medición de la CHH se encuentran en la Tabla 4.1, y son ampliados a continuación.

La bobina empleada debe ser la bobina SENSE de cuerpo o torso. La técnica SENSE, llamada así en los equipos del fabricante Philips, se ha desarrollado en colaboración con el Instituto de Ingeniería Biomédica e Informática Clínica de Zurich, Suiza. SENSE utiliza la señal de canales individuales de una bobina *Synergy* que se combinan en una imagen, acortando significativamente el tiempo de adquisición. Utilizando dos elementos de bobina, sólo se adquiere la mitad del número de pasos de codificación de fase con el fin de medir el mismo campo de visión con la misma resolución y reduciendo a la mitad el tiempo de adquisición. A diferencia de la reconstrucción convencional de las bobinas multielemento (*phased array*), los elementos de bobina no se utilizan para cubrir zona anatómicas independientes. Por el contrario, se utilizan para medir simultáneamente la misma región, mientras que la información de cada elemento se utiliza para compensar la reducción de los pasos de codificación de fase. Además, este método se puede ampliar con más elementos de bobina con un aumento proporcional en la velocidad de adquisición. Al activarse la opción de adquisición SENSE, se activa automáticamente la opción de *P reduction*, la cual determina la reducción del tiempo de adquisición al reducir el FOV de codificación de gradiente en la dirección de codificación de fase [60] [61]. Se debe tener precaución en la reducción del FOV al adquirir imágenes en pacientes, ya que pueden aparecer artefactos por retroplegamiento intrínseco, los cuales se solucionan agrandando el FOV o manteniendo el factor *P reduction* en 2. Para las imágenes de los fantomas, no se presentan estos artefactos, debido a que el tamaño de FOV es grande y no existe inconvenientes al aumentar el factor *P reduction* a 2,5 para disminuir el tiempo de adquisición. La Figura 4.7 muestra un artefacto típico de retroplegamiento intrínseco, en donde se observa una línea brillante y granulamiento en algunas zonas en el centro de la imagen. Se nota, que para un mismo FOV, al disminuir el factor *P reduction*, se disminuyen este tipo de artefactos.

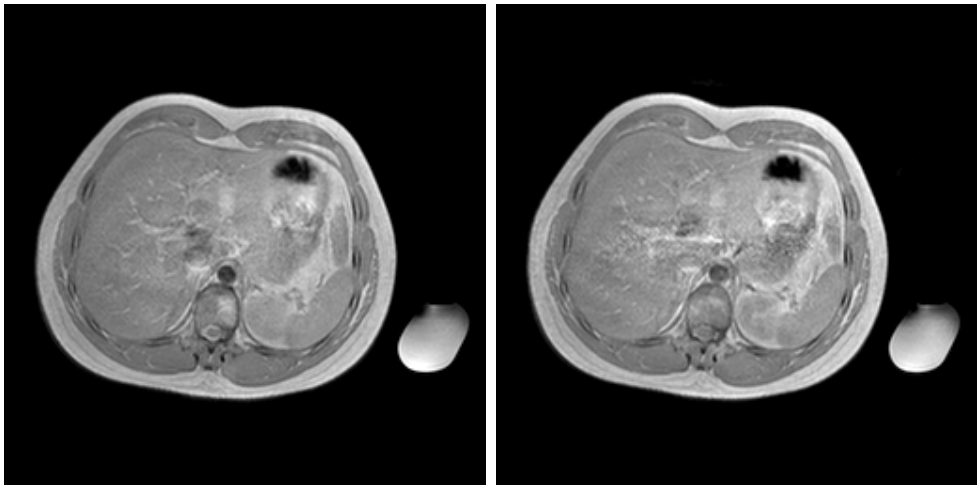


Figura 4.7 - IRM de un paciente normal con el mismo FOV. Izquierda: secuencia con TE=4ms, con Factor SENSE = 2; Derecha: secuencia con TE=4ms, con Factor SENSE = 2,5

El tamaño de campo de visión (FOV) está presente en los tres planos anatómicos. La visualización del FOV combina dos direcciones dependiendo del plano anatómico visualizado, por ejemplo: para el plano transversal utilizado en todas las secuencias, el FOV puede modificarse en las direcciones derecha-izquierda (RL) y anterior-posterior (AP), manteniendose fijo el valor de la tercera dirección, es decir pies-cabeza (FH). El tamaño del FOV utilizado para la adquisición de las imágenes del fantoma de reproducibilidad fue de 300 mm en AP, 380 mm en RL, y 55 mm en FH. Para la adquisición de las imágenes de los pacientes el FOV varía de acuerdo a las dimensiones del paciente. El tamaño de vóxel se fijó en 1,8 mm en las direcciones AP y RL. La profundidad del vóxel corresponderá al espesor del corte que fue fijado en 5 mm. Los TE utilizados son 4, 8, 10 y 12 ms, que son lo suficientemente cortos para detectar la relajación de la magnetización transversal. El TE=6 ms no fue utilizado, debido a que la SNR al pasar desde la secuencia TE=4ms aumentaba considerablemente, obteniendo grandes valores de IS, sin poder corregirlos con el método de corrección de deriva empleado. El TR utilizado es de 2500 ms, suficientemente largo como para obtener toda la señal debida al decaimiento de la relajación de la magnetización transversal. El tamaño de vóxel reconstruído corresponde a su tamaño en la matriz de 256x256 y su rango se debe al cambio en el tamaño del FOV en las IRM de los pacientes. El número de cortes o *slices* fue establecido en 6, para las IRM del fantoma de reproducibilidad, y en 10, para las IRM de los pacientes. El espacio entre cada corte o *slice gap* se definió en 5 mm. Se pueden realizar más cortes o disminuir el *gap* para obtener un estudio del hígado completo o más

detallado, aunque el tiempo de adquisición aumentará considerablemente, haciendo que la opción de respiración sostenida no sea posible.

Al adquirir cualquier IRM con una bobina SENSE del equipo *Achieva* de Philips, se activa el parámetro CLEAR, el cual corresponde a una corrección de homogeneidad durante la ejecución del algoritmo de reconstrucción, presentando una mejor visualización en los niveles de contraste de la imagen. Para evitar solapamientos en las imágenes, se activa el parámetro *fold-over supression* permitiendo que todas las señales de los tejidos queden dentro del FOV, evitando así el registro erróneo de los espines de estos tejidos. La Figura 4.8 muestra una imagen de abdomen adquirida sin *fold-over supression* y su corrección activando dicho parámetro [61].

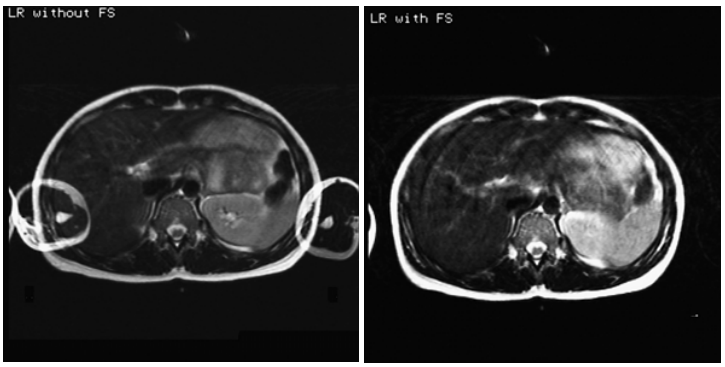


Figura 4.8 - Imágenes de abdomen. Izquierda: sin *fold-over supression*, Derecha: con *fold-over supression* [61]

Todas las imágenes fueron adquiridas en modo 2D con técnica *spin-echo,* con opción *Turbo spin-echo* (TSE), que consiste en la emisión de un pulso de 90° que inclina la magnetización al plano horizontal, y luego se aplican un número de pulsos consecutivos de 180° por cada excitación, lo que da como resultado varios ecos o perfiles (Figura 4.9). Cada grupo de ecos se denomina segmento o disparo. Los disparos se adquieren a intervalos regulares (TR) hasta finalizar la secuencia. De esta forma, los tiempos de adquisición son mucho más cortos que con *spin-echo* simple. El factor TSE es el número de perfiles medido por cada excitación, es decir que es una medida de la aceleración del tiempo de adquisición. En este estudio se utiliza un factor TSE de 10, por lo tanto para la matriz empleada de 256x256, solo se necesitan 26 TR para medir los 256 perfiles [61]. La aplicación de un TSE ultracorto hace que la velocidad de muestreo de los datos sea más alta, haciendo que los espacios entre ecos sean muy cortos, y es recomendada por el

fabricante para secuencias abdominales. El parámetro DRIVE, llamado equilibrio inducido, consiste en un pulso de reinicio de RF de equilibrio inducido aplicado al final de una sucesión de ecos TSE para acelerar el tiempo de relajación y devolver el equilibrio a la magnetización longitudinal. El parámetro NSA corresponde al número de señales promediadas, que al aumentarlo también incrementará el tiempo de adquisición, por lo tanto se fijó en 1. La separación del vector de magnetización con respecto a la posición de equilibrio o *flip angle* se fijó en 90° [61].

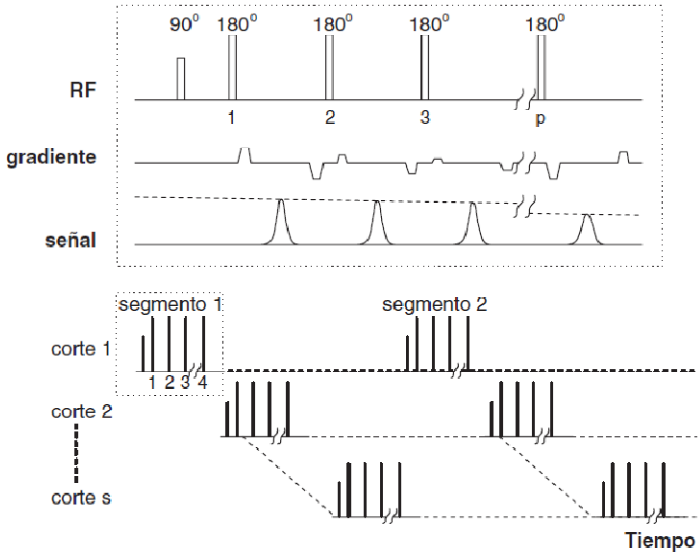


Figura 4.9 - Modo de adquisición de *turbo spin-echo* [61]

Se utilizó el parámetro de *halfscan* o imagen mitad de Fourier, el cual se basa en el comportamiento real de la señal, sin parte imaginaria, por lo tanto su transformada de Fourier tiene la propiedad de ser la conjugada simétrica. Debido a esto, la parte superior e inferior de los datos de Fourier deben ser los mismos, aunque cambiados de signo. Como los datos se recogen directamente en el espacio de Fourier, es posible utilizar esta propiedad y generar la mitad de las líneas a partir de los datos simétricos recogidos en la mitad superior. Estas técnicas de *halfscan* tienen el potencial de simplificar las técnicas de obtención de imagen por un factor de 2 o 4. La aplicación práctica de esta técnica está limitada por la presencia de varios desplazamientos de fase aditiva en la captura de los datos debido a diversas fuentes, tales como el movimiento respiratorio. La mayoría de las implementaciones intentan estimar y corregir los datos para estos desplazamientos desconocidos midiendo las líneas adicionales a través de la línea media antes de rellenar simétricamente los datos restantes perdidos. Las correcciones no siempre son satisfactorias

para restablecer el conjunto de datos y la imagen es propensa a contener artefactos. Además, debido a que solo se adquiere la mitad del número de líneas de datos, la SNR desciende de manera proporcional [61].

Para la compensación respiratoria se utilizó en forma general la apnea espiratoria, con el fin de obtener todos los cortes en todas las secuencias TE = 4, 8, 10, 12 ms, en la misma posición anatómica y evitar imprecisiones en las medidas de R2 cuando se posiciona la ROI en el hígado. La apnea espiratoria tiene una duración entre 15 y 17 segundos, que fueron soportados por la mayoría de los pacientes analizados. Se recomienda que después de cada apnea se dé un tiempo corto de relajación respiratoria del paciente para evitar la fatiga y por tanto la mala adquisición de las imágenes. En aquellos pacientes cuyo tiempo de apnea es difícil de mantener, se puede utilizar la opción *trigger* sin la necesidad de sostener la respiración, pero alargando el tiempo de adquisición de las imágenes. El tiempo total de la adquisición de las IRM de toda la secuencia implementada, es alrededor de 30 minutos, incluyendo el posicionamiento y descanso respiratorio entre adquisiciones del paciente.

4.2.6 Corrección de la deriva de la ganancia

La deriva de un instrumento es la variación o fluctuación de su curva de transferencia a lo largo del tiempo, es decir un cambio en el valor de una medición cuando se mide la misma característica, bajo las mismas condiciones, por el mismo operador, en diferentes intervalos de tiempo. Algunos equipos de RM cambian automaticamente la ganancia del instrumento a medida que las IS decrecen en la secuencia implementada. Aunque algunos equipos poseen la opción de fijar la ganancia, siempre existirá una leve deriva de la ganancia entre las mediciones realizadas. Para monitorear y corregir los cambios de la ganancia del instrumento, se puede utilizar una bolsa o *sachet* de solución fisiológica isotónica al 0.90%.

El procedimiento de corrección empleado consiste en usar la IS de la solución fisiológica de la imagen *spin-echo* con TE=4ms como una intensidad de referencia, y escalar las IS de las otras imágenes *spin-echo* relativas a cualquier cambio en la IS de la solución fisiológica en las otras imágenes. Los factores de escala son obtenidos a partir de la medición de las IS de la solución fisiológica de cada imagen usando una ROI.

El procedimiento completo de escalar las intensidades de la señal inicia suavizando cada imagen *spin-echo* con un filtro promedio con un kernel de 3x3, para reducir el ruido. Posteriormente, se miden las IS de la solución fisiológica usando la ROI en cada imagen *spin-echo,* se calcula la media de las IS en cada ROI y se obtiene la razón entre la IS promedio de la solución fisiológica de cualquier imagen *spin-echo* y la IS promedio de la solución fisiológica de la imagen de referencia, es decir con TE=4ms. Este valor será el factor de escala de la imagen *spin-echo* correspondiente. Luego, se dividen las IS de cada imagen *spin-echo* entre el factor de escala correspondiente, corrigiendo así la deriva promedio de la IS de la imagen.

4.2.7 Modelamiento del ruido de fondo

Las tasas de relajación transversal protónica son determinadas a partir de la magnitud de la IS, que siempre presenta un *offset* por fuera de los tejidos visualizados en cualquier IRM, lo que corresponde al fondo. Este *offset* surge debido a la presencia de ruido en las componentes real e imaginaria de la señal de RM. Generalmente, una distribución de Rice de ruido es generada en los datos de las IRM [62]. Aunque el ruido térmico de la magnitud de la señal de RM presenta una distribución de Rice, otras fuentes de ruido pueden perturbar su comportamiento. Gudbjartson y Patz reportaron que la distribución Rayleigh de ruido de los datos de la señal de RM, se encuentra afectada por la deriva en la inducción magnética y distribuciones no uniformes de la señal [63]. Además, en presencia de un paciente, también aparecerá ruido debido al movimiento respiratorio, tales como *ghosting* y moteado en la dirección de codificación de fase, llevando a una sobredispersión de la componente de ruido térmico en la distribución de Rice. Clark *et al.* mostraron que una distribución de Poisson generalizada (GPD, *Generalized Poisson Distribution*) da una mejor estadística del ruido de fondo de una IRM que una distribución de Rice [64]. La GPD es una distribución no negativa de valores enteros, que posee dos parámetros λ, que considera las componentes de ruido adicional, y θ. Una variable aleatoria N que tenga esta distribución con dichos parámetros es denotada como GPD(θ,λ). La probabilidad de encontrar una determinada intensidad de señal está definida como [65] [66] [67]:

$$p_{(S)} = \alpha \frac{\theta(\theta + S\lambda)^{(S-1)} e^{-(\theta+S\lambda)}}{S!} \quad (15)$$

Usando la fórmula de Stirling, se convierte en:

$$p_{(S)} = \alpha \frac{\theta(\theta + S\lambda)^{(S-1)} e^{-(\theta+S\lambda)}}{\sqrt{2\pi S}(S/e)^S}, \quad S \geq 1 \quad (16)$$

Donde $0 \leq \lambda \leq 1$, $\theta > 0$, S es la IS medida y α es un factor de escala. El promedio μ de la GPD corresponde al *offset* (S_{LO}) de los datos de la IRM, y está dado por:

$$\mu = \theta(1 - \lambda)^{-1} = S_{LO} \quad (17)$$

En este trabajo se comprobó que el ruido de fondo es modelado por una GPD, usando dos métodos. El primero consiste en segmentar cada imagen, es decir extraer todos los objetos de interés del fondo, y cada valor de IS del fondo es reemplazado dentro de la ecuación (16), calculando así su probabilidad de ocurrencia y hallando los parámetros θ y λ para encontrar el *offset* de los datos de la IRM. Todos los valores fueron ajustados a esta función usando el programa GNUPlot, usando parámetros de inicialización definidos. La Figura 4.10 muestra una IRM del fantoma de reproducibilidad a partir de la cual se extrae la IS de los vóxeles del fondo y son ajustados a la función GPD, tal como se observa en la misma figura. El segundo método consiste en usar una ROI para medir las IS de los vóxeles que la constituyen y reemplazarlos dentro de la ecuación (16), calculando así su probabilidad de ocurrencia y hallando los parámetros θ y λ para encontrar el *offset* de los datos de la IRM. Nuevamente, se utilizó GNUPlot para ajustar los datos, usando parámetros de inicialización definidos. La Figura 4.11 muestra la misma imagen del fantoma de reproducibilidad con el constraste ajustado para mejor visualización, y la ROI empleada para extraer la IS de los vóxeles seleccionados y ajustados a la función GPD, tal como se observa en la misma figura.

A partir del modelamiento del ruido de la señal, se puede hacer una corrección sobre la IS de los vóxeles de las imágenes de la secuencia empleada para el cálculo de la CHH. Para realizar esto, el *offset* calculado de la IS para cada imagen debe ser sustraido de la imagen correspondiente antes de seguir con el análisis del decaimiento de la relajación transversal. El *offset* sebe ser sustraído de las imágenes como su valor cuadrado, debido al origen complejo de la señal de RM, es decir que la IS corregida para un determinado vóxel de la imagen puede ser determinado como:

$$S_C^2 = S_M^2 - S_{LO}^2 \quad (18)$$

Donde S_M es la IS medida, S_{LO} es el *offset* dado por la señal del fondo y S_C es un estimado para IS en ausencia de ruido. Cuando S_M es menor que S_{LO}, S_C es llevado a cero.

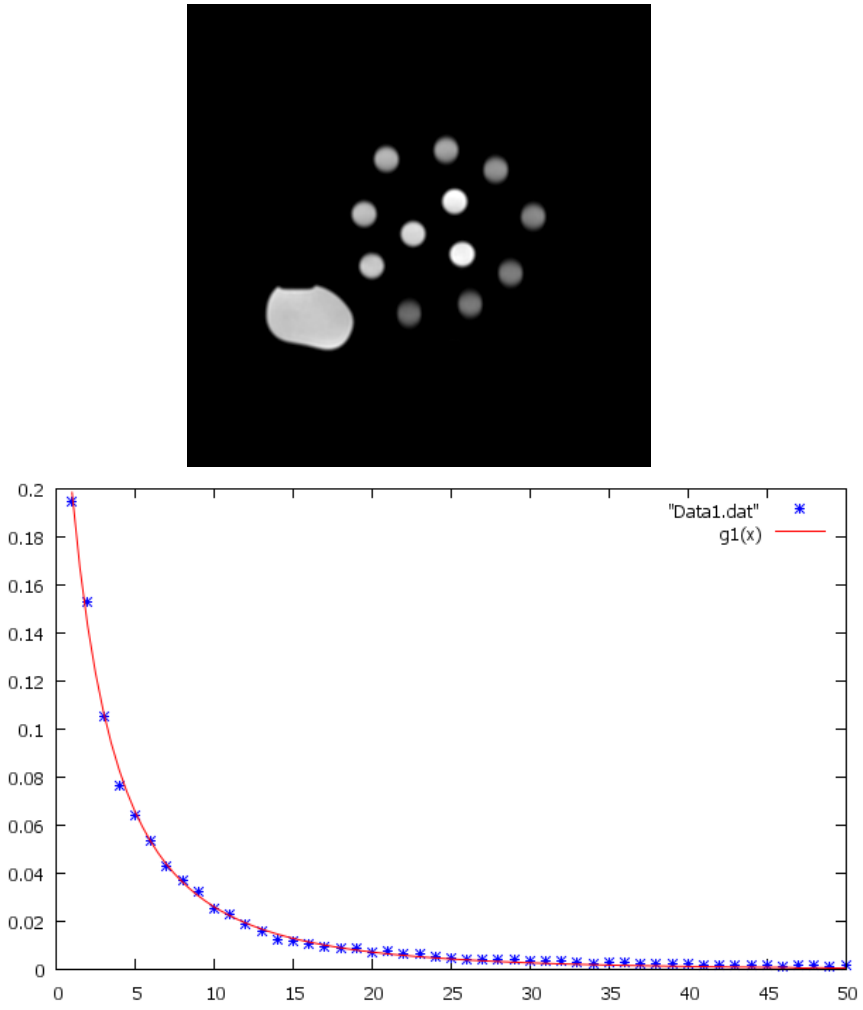


Figura 4.10 - Modelamiento del ruido de fondo con el primer método. Arriba: IRM del fantoma de reproducibilidad, Abajo: Comportamiento del ruido de fondo de la imagen.

Aunque este esquema de corrección de IS es reportado para trabajar de forma correcta en imágenes con SNR mayores que 1 [68], el máximo valor de *offset* S_{LO} evaluado con ambos métodos no supera el valor de 15 al medirlo como nivel de gris en cada imagen de la secuencia implementada, valor que es despreciable al compararlo con cualquier nivel de gris del rango de IS que va desde 50 a más de 1000.

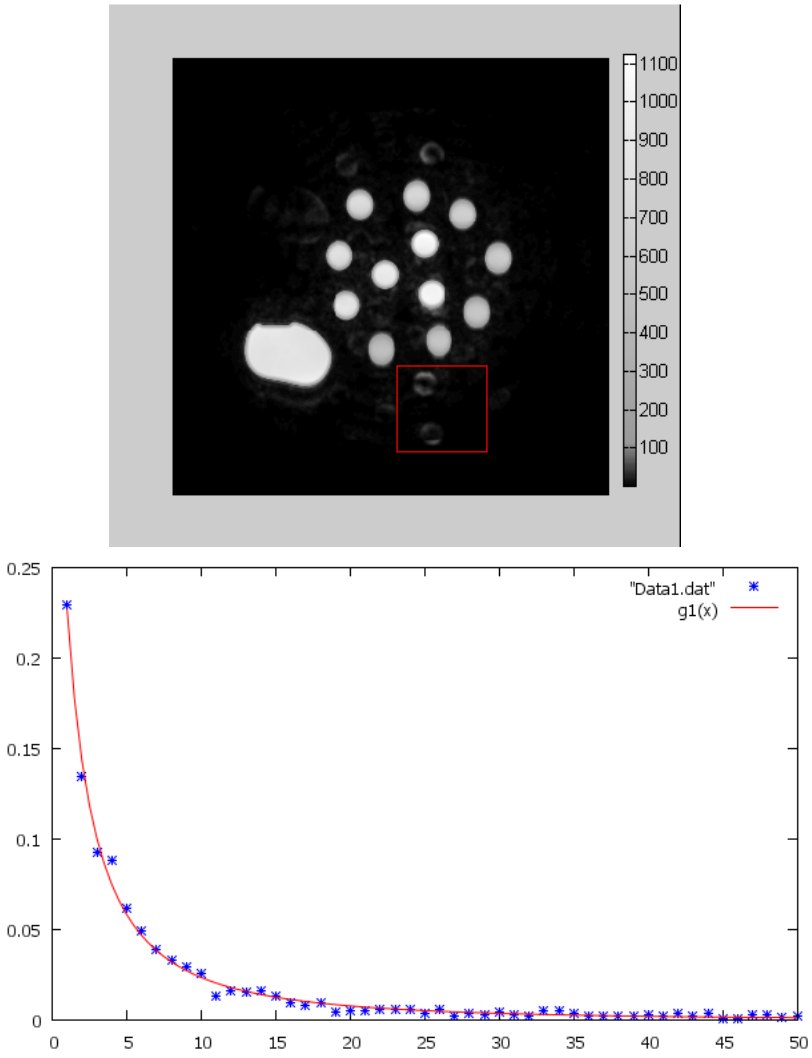


Figura 4.11 - Modelamiento del ruido de fondo con el segundo método. Arriba: IRM con contraste mejorado del fantoma de reproducibilidad con la ROI posicionada en una región de alto ruido, Abajo: Comportamiento del ruido de fondo dada por la ROI.

4.3 Análisis del decaimiento monoexponencial

La elección de un modelo de decaimiento de la señal de magnetización transversal es una parte crítica para la evaluación de R2. Aunque el modelo de decaimiento bi-exponencial ha sido utilizado en estudios y simulaciones de relaxometría del hígado humano, el modelo de decaimiento más popular en estos estudios en IRM es el decaimiento exponencial simple o bi-exponencial simplificado. La ecuación (19) corresponde al modelo de decaimiento exponencial simple. La ecuación (20) muestra el mismo decaimiento simple más una constante. La ecuación (21) modela el decaimiento bi-

exponencial con una componente lenta y otra rápida, con la que R2 estará ponderado por valores de R2 de cada componente.

$$S(TE) = S(0)e^{-R2 \cdot TE} \quad (19)$$

$$S(TE) = S(0)e^{-R2 \cdot TE} + S_{LO} \quad (20)$$

$$S(TE) = S_r(0)e^{-R2r \cdot TE} + S_l(0)e^{-R2l \cdot TE} \quad (21)$$

$$\rho_r = \frac{S_r(0)}{S_r(0) + S_l(0)} \;\; y \;\; \rho_l = \frac{S_l(0)}{S_r(0) + S_l(0)} \quad (22)$$

$$R2 = \rho_r R2_r + \rho_l R2_l \quad (23)$$

Donde $S(TE)$ es la IS de un vóxel determinado de la imagen con un TE dado, $S(0)$ es la IS cuando TE=0ms, S_{LO} es el *offset* de la IS, $S_r(0)$ es la amplitud de la componente de relajación rápida, $R2_r$ es la tasa de relajación transversal de la componente rápida, $S_l(0)$ es la amplitud de la componente de relajación lenta, $R2_l$ es la tasa de relajación transversal de la componente lenta [53] [69] .

Al no tener en cuenta el ruido de fondo de las IRM adquiridas y debido a la simplicidad del modelo, se escogió el decaimiento simple sin *offset* (ecuación 19) como el modelo para el ajuste de los datos. Luego de adquirir la IS para cada imagen, se realizó el ajuste de los datos usando el método de regresión no lineal de Levenberg-Marquardt, generando como resultado el valor de R2.

4.4 Pacientes

Luego de realizar las diversas mediciones con el fantoma de reproducibilidad y el fantoma de calibración, se probó la técnica implementada en pacientes que presentaban alguna patología relacionada con la sobrecarga de hierro en el hígado. Los resultados obtenidos de estos pacientes, fueron contrastados con los de un grupo control conformado por 8 pacientes en condiciones normales que no presentan aparentemente ninguna enfermedad hepática relacionada con sobrecarga de hierro en el organismo. Todos los pacientes tanto del grupo de casos como los del grupo de control fueron sometidos a dar un consentimiento informado para permitir su participación voluntaria en el estudio. El formato del consentimiento informado empleado, se encuentra en el Anexo A [70].

Los pacientes del grupo de casos presentan alguna condición cuyo diagnóstico ha sido una posible o afirmativa sobrecarga de hierro en el organismo o específicamente en el hígado. Todos ellos fueron remitidos por parte de diferentes servicios de hematología de la ciudad de Mendoza. El número de enfermos de acuerdo a los diferentes desordenes de sobrecarga de hierro son: 2 individuos con anemia sideroblástica, 1 con hemocromatosis hereditaria (HH), 3 con posible talasemia; de los cuales los pacientes del primer grupo se encuentran actualmente en tratamiento quelante. Todos los pacientes del grupo de casos presentaron el análisis clínico de la ferritina en suero, medida en ng/ml, antes de comenzar el estudio. En la Tabla 4.2 se muestran los valores de referencia del análisis de la biopsia hepática, su relevancia clínica, su especificidad y sensibilidad de su valor.

Tabla 4.2. Valores de referencia de la CHH a partir de la biopsia [51]

Umbral de CHH, mg Fe/g tej. seco (µmol Fe/g tej. seco)	**Relevancia clínica**	**Sensibilidad (límites de confianza 95%)**	**Especificidad (límites de confianza 95%)**
1.8 (32)	Por encima del 95% de lo normal	0.94 (0.86-0.97)	1.00 (0.88-1.00)
3.2 (57)	Límite inferior sugerido del rango óptimo para terapia quelante en sobrecarga transfusional de Fe.	0.94 (0.85-0.98)	1.00 (0.91-1.00)
7.0 (125)	Límite superior sugerido del rango óptimo para terapia quelante en sobrecarga transfusional de Fe y umbral para aumento del riesgo de complicaciones inducidas por Fe.	0.89 (0.79-0.95)	0.96 (0.86-0.99)
15.0 (269)	Umbral para el incremento del riesgo de enfermedad cardíaca y muerte temprana de pacientes con sobrecarga de hierro transfusional.	0.85 (0.70-0.94)	0.92 (0.83-0.96)

4.5 Entorno gráfico implementado para la medición de la CHH

Luego de adquirir las imágenes correspondientes a los 10 o más cortes realizados al tejido hepático propios de cada TE=4, 8, 10 y 12ms, estas son transferidas por el PACS de la FUESMEN a una estación de trabajo, en la cual se utiliza el programa e-Film para cargar y visualizar estas imágenes. Posteriormente, se escoge una imagen en la que se observe la mayor área transversal del hígado para cada TE. Se recomienda visualizar las cuatro imágenes del mismo corte en adquisiciones en apnea, mientras que en adquisiciones en modo *trigger* es necesario buscar los cortes adecuados, que correspondan con la misma región anatómica estudiada. La rutina implementada fue diseñada en el programa MatLab

7. Todas las imágenes son cargadas en formato DICOM y se mantiene durante todo el procesamiento. El entorno gráfico fue diseñado con la aplicación GUIDE de MatLab (Figura 4.12).

Figura 4.12 - Entorno gráfico diseñado con la aplicación GUIDE de MatLab.

Antes de ejecutar la rutina realizada, es necesario conocer la región hepática en la cual se va a posicionar la ROI, ya que el cálculo de la CHH depende del sitio del parénquima hepático del cual se obtiene la biopsia. Generalmente, los estudios que determinan la CHH mediante IRM han sido comparados con los valores dados por la biopsia, que es tomada del lóbulo derecho del hígado, y su ubicación es determinada mediante imágenes de ultrasonido. La ubicación de la ROI debe ser lo más cercana posible al sitio de la punción o extracción de la muestra. En este estudio, debido a que no es posible obtener los resultados de las biopsias de los pacientes, ya que se requiere de técnicas, personal y laboratorios especializados, la posición de la ROI fue determinada con las referencias anatómicas dadas por St. Pierre *et al* [51] estas son: en cada imagen de TE, la ROI debe posicionarse en una región del lóbulo derecho, comprendida entre el punto más distal de la superficie del hígado y un plano sagital ubicado a 35 mm desde la supercicie hepática. En la Figura 4.13 se observa una imagen de referencia anatómica (imagen superior izquierda) obtenida durante el estudio para escoger los cortes ha adquirir

y abarcan todo el órgano. La imagen superior derecha muestra una línea correspondiente al plano sagital ubicado a 35 mm de la superficie del hígado, región en la cual se debe posicionar la ROI.

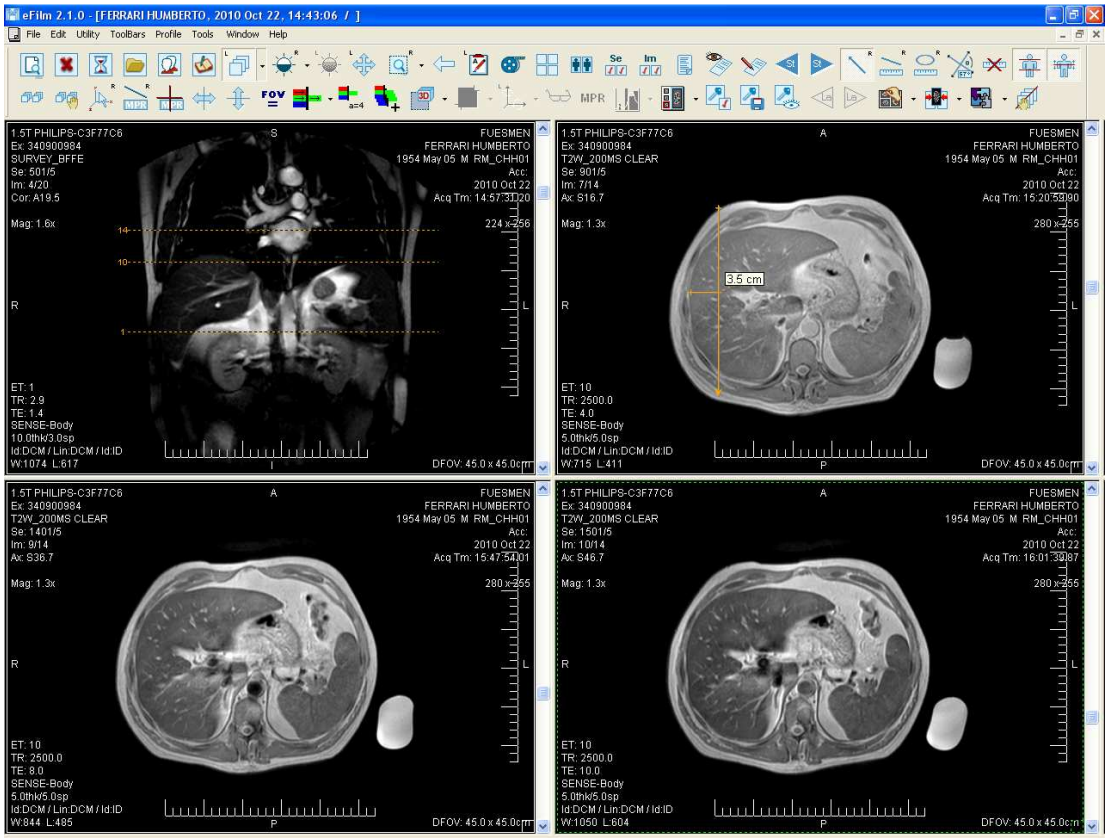


Figura 4.13 - Visualización de las imágenes adquiridas en el estudio, usando el programa e-Film.

Luego de determinar la posición tentativa de la ROI en cada imagen, las cuatro imágenes son cargadas en la carpeta *work* de MatLab. En seguida, se abre el entorno gráfico y cada imagen es visualizada usando el botón “CARGAR IMAGEN”. La primera imagen a cargar es la TE=4, inmediatamente, se presiona el botón “PROCESAR TE=4ms” y se despliega un cuadro con la imagen y una ROI de color rojo para posicionarla en el parénquima del tejido y se presiona ENTER para continuar. A continuación, aparece otro cuadro con la imagen, la ROI roja fijada en el tejido, y una ROI de color verde para posicionarla en la solución fisiológica, y se presiona ENTER para continuar. La Figura 4.14, muestra una imagen de TE=4ms y las dos ROI’s posicionadas por el usuario. Luego, se cargan las siguientes imágenes en el orden TE=8ms, TE=10ms y TE=12ms, repitiendo los pasos anteriores. Al finalizar el procesamiento de las imágenes, se pulsa el botón “ANALIZAR DATOS”. Luego de haber pulsado el botón mencionado, en el cuadro de

texto ubicado en la parte inferior derecha del entorno gráfico, aparecerá el valor calculado de la CHH en las unidades mg de Fe/g de tejido seco. Además de realizar el cálculo de la CHH, el entorno gráfico tiene la opción de visualizar el hígado en función de R2, con el fin de obtener una representación indirecta de la CHH en todo el tejido. Para realizar esto, primero se debe cargar la imagen correspondiente a TE=4ms, presionar ENTER y luego el usuario dibuja una ROI que contenga a todo el tejido hepático.

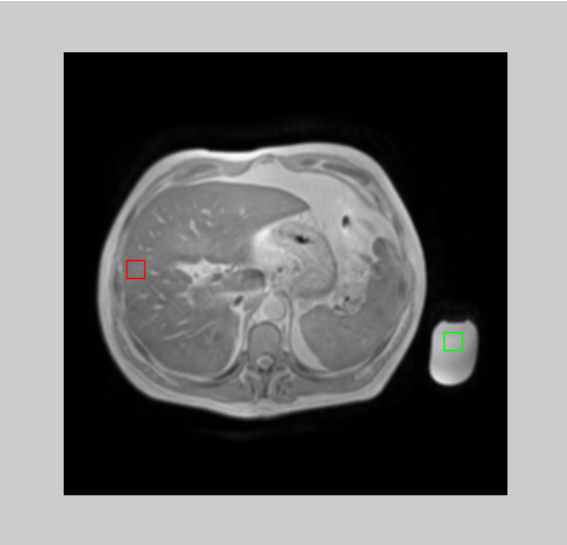


Figura 4.14. Imagen de TE=4ms y las dos ROI's posicionadas por el usuario

4.5.1 Algoritmo para la visualización del mapa de R2

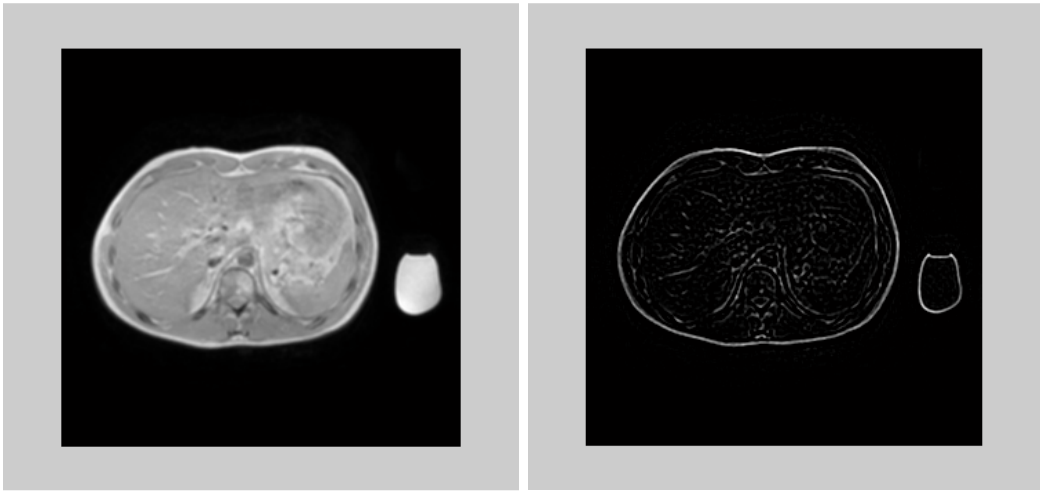
Se sabe que la biopsia hepática es el método más exacto para determinar la CHH, pero la muestra extraída no es representativa de todo el hígado, ya que la ferritina presenta algunos lugares de almacenamiento específicos, depositándose a largo plazo en hemosiderina, cuyas moléculas modifican la IS en dichas regiones. Por otra parte, cuando la ROI es posicionada cerca del sitio de punción, es posible que no concuerde con la pequeña región de la cual se extrajo la muestra, debido a que no existe un método de control de posicionamiento preciso, por lo tanto, es conveniente construir un mapa de R2 con el fin de obtener cada valor de la CHH en cada vóxel de la imagen.

Para construir el mapa de valores de R2, primero se aplica un filtro pasa-altas, definido por el kernel de la ecuación 23, a la imagen de TE=4ms (Figura 4.15a), que ha sido filtrada anteriormente con un kernel promedio de 3x3, con el fin de resaltar los vasos hepáticos y las vías biliares, los cuales no hacen parte del parénquima hepático y no

contienen depósitos de hierro (Figura 4.15b). Posteriormente, se realiza un umbralizado a la imagen resultante (Figura 4.15c) y se suma con la imagen original, con el fin de aumentar aún más la IS de los objetos más hiperintensos de la imagen (Figura 4.15d). Luego, se umbraliza la imagen obtenida para llevar todos los objetos hiperintensos de la imagen a un nivel de gris de cero (Figura 4.15e).

$$\begin{matrix} -1 & -1 & -1 \\ -1 & 8 & -1 \\ -1 & -1 & -1 \end{matrix} \quad (23)$$

Luego, a cada píxel de la imagen resultante se aplica la función de decaimiento exponencial ajustada por el método de Levenberg-Marquardt anteriormente, usando los parámetros IS del vóxel, IS(0) y TE=4ms, para obtener el R2 en dicho vóxel (Figura 4.15f). Se observa, que todo el ruido de fondo propio de la adquisición de IRM de abdomen presenta una alta tasa de relajación transversal, contrario a lo observado en los tejidos y en la solución fisiológica. A continuación, el usuario debe trazar una ROI que abarque todo el tejido de interés y se visualizará todo el tejido seleccionado en una escala de valores de R2 (Figura 4.15g), no en IS, que para poder distinguirlos se les asigna un falso color (Figura 4.15h).



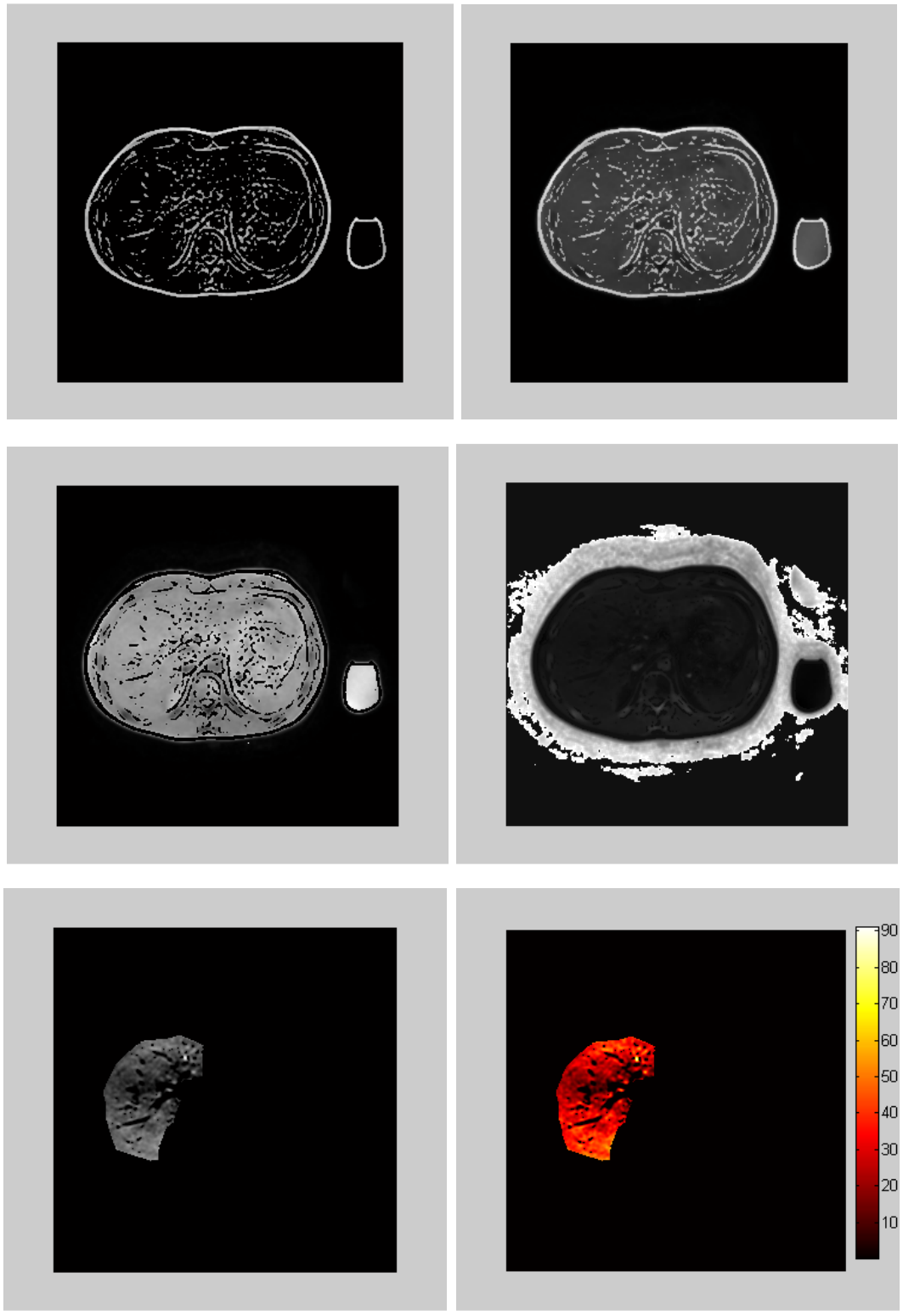


Figura 4.15. a) Imagen de TE=4ms suavizada; **b)** Imagen de TE=4ms filtrada con pasa-altas; **c)** Umbralización del filtrado pasa-alto; **d)** Suma entre las imágenes a) y c); **e)** Umbralización de los objetos hiperintensos; **f)** Imagen de TE=4ms donde cada píxel tiene un R2 específico; **g)** Mapa de R2 del tejido de interés determinado por una ROI manual; **h)** Mapa de R2 en escala de colores.

Capítulo 5. Resultados y análisis

5.1 Prueba de reproducibilidad de los valores de R2

Se evaluó la reproducibilidad de los valores de R2 de cada concentración de solución de $MnCl_2$, midiendo la IS promedio para cada valor de TE, a lo largo de 9 días usando el fantoma descrito en el capitulo anterior. La Tabla 5.1, muestra el valor promedio y la desviación estándar de R2 para cada concentración de $MnCl_2$ del fantoma. La desviación estándar mínima es ±1,608 y la máxima es de ±4,021, por lo tanto la reproducibilidad de la medición de R2 es aceptable. Las curvas de IS en función del TE para cada concentración y para cada día, pueden observarse en el Anexo B. Posteriormente, se graficó la curva (Figura 5.1) con los datos de la Tabla 5.1, obteniendo una relaxividad media 69.898 $s^{-1}*mM^{-1}$, con una desviación estándar de 0.92 $s^{-1}*mM^{-1}$, teniendo en cuenta la relaxividad media de cada día obtenida de la pendiente de la curva correspondiente (Figura 5.2).

Tabla 5.1 Valores promedio y desviaciones estándar de R2 para cada concentración de $MnCl_2$

Concentración de $MnCl_2$ (mM)	R2 promedio	Desviación Estándar de R2
3,4	242,573	±3,067
3,1	207,671	±3,139
2,8	195,931	±4,021
2,5	175,653	±3,315
2,2	157,538	±3,973
1,9	135,240	±1,621
1,6	108,836	±2,444
1,3	86,904	±2,534
1	74,828	±1,608
0,7	51,241	±2,456
0,4	25,177	±1,817
0,1	6,256	±1,832

El coeficiente de variación (CV) obtenido para el valor de relaxividad es de 0.01316 o 1,316%. Por lo tanto se determina que existe una buena reproducibilidad de la técnica a partir de las mediciones hechas con dicho fantoma. Las medición de relaxividad con $MnCl_2$ realizada por Andersen y Jensen [71] usando IRM con secuencia *spin-echo* reporta un valor medio de 74.0 $s^{-1}*mM^{-1}$, y la realizada por St. Pierre *et al* [53] reporta un

valor medio de 74.2 $s^{-1}*mM^{-1}$ en un solo equipo y 73.6 $s^{-1}*mM^{-1}$ a partir de varios equipos de 1.5T [51]. El porcentaje de error del valor medio de la relaxividad obtenida en este trabajo es de 5.54% con respecto a la medición de Jensen y Andersen, y 5,79% con respecto a la medición de St. Pierre *et al.* Las variaciones de los valores obtenidos con respecto a los trabajos mencionados, pueden deberse a diferencias dadas en: el pesaje del soluto, la pureza del agua destilada, la hermeticidad de los insertos que contienen a las soluciones, y el posicionamiento de la bobina.

Las imágenes del fantoma de reproducibilidad típicas se muestran en la Figura 5.3. En ella se observan los doce insertos con diferentes concentraciones de la solución mencionada, así como el *sachet* de solución fisiológica para realizar la corrección de deriva del instrumento. Los insertos con mayor IS corresponden a los que tienen una menor concentración de la solución acuosa de MnCl2, y a su vez los insertos con menor IS corresponden a aquellos con una mayor concentración de dicha solución. La Figura 5.1 muestra los resultados de R2 promedio en función de la concentración de $MnCl_2$, obtenidos del equipo utilizado, *Achieva* de Philips de 1.5T, para una prueba de reproducibilidad realizada durante 9 días. St. Pierre y *et al* realizaron la prueba de reproducibilidad de su técnica en diversos equipos de IRM de 1.5T de las tres marcas mundialmente reconocidas, logrando un coeficiente de variación del 2.1%. Esto lleva a pensar que la técnica implementada puede ser probada en diferentes equipos de IRM de 1.5T, que de obtener un coeficiente de variación pequeño, abriría la posibilidad de realizar este tipo de estudio en cualquier servicio de resonancia magnética de alto campo de 1.5 T de cualquier institución, con cualquier equipo, utilizando la secuencia implementada.

5.2 Curva de calibración de R2 a partir de soluciones de $FeCl_3$

Aunque la biopsia hepática sigue siendo valorada como el "*gold standard*" para evaluar la CHH, en este estudio no fue posible disponer de biopsias de hígado de los pacientes, debido a que su estudio depende de la disponibilidad de un laboratorio especializado de análisis bioquímicos, que cuente con un espectrómetro de absorción atómica, además de la complejidad de la extracción de la muestra, que puede poner en riesgo la vida del paciente, y debe ser realizada por especialistas.

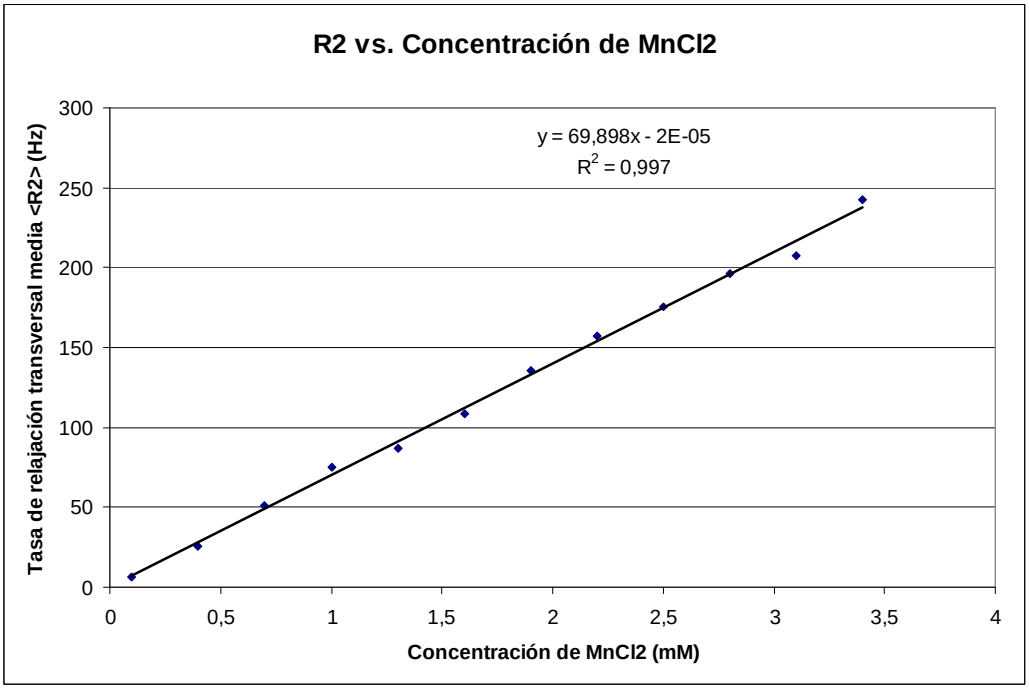


Figura 5.1. R2 promedio en función de la concentración de $MnCl_2$. La pendiente corresponde a la relaxividad promedio obtenida a partir de las pendientes de las curvas durante los nueve días.

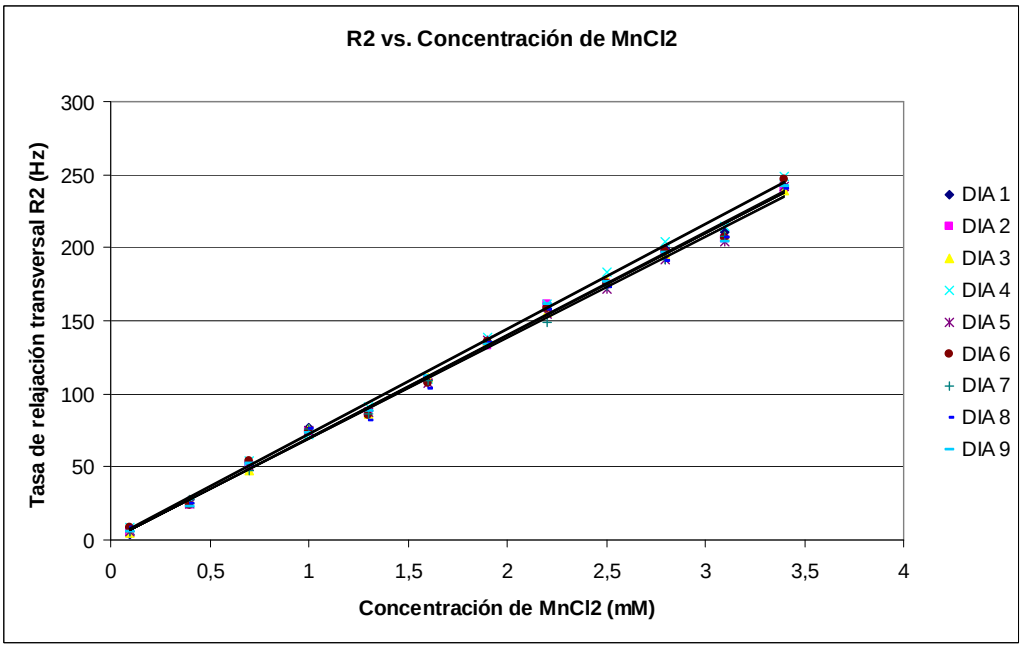


Figura 5.2. R2 en función de la concentración de $MnCl_2$ para nueve días de prueba de reproducibilidad.

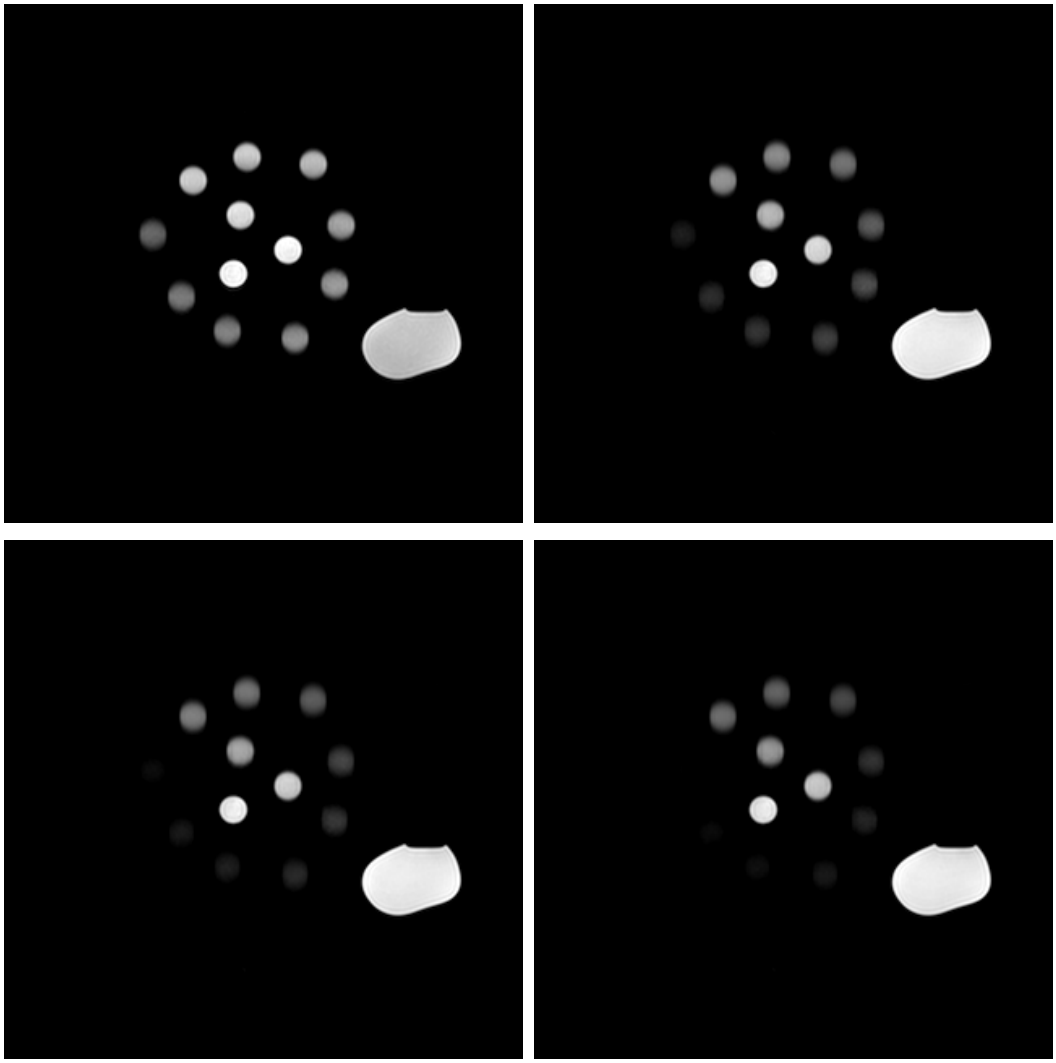


Figura 5.3. IRM del fantoma de reproducibilidad. Arriba izquierda: secuencia con TE=4ms; Arriba derecha: secuencia con TE=8ms; Abajo izquierda: secuencia con TE=10ms; Abajo derecha: secuencia con TE=12ms.

Para tratar de simular el comportamiento de R2 del hierro férrico, almacenado en la ferritina y hemosiderina, se utilizaron diferentes concentraciones de $FeCl_3*6H_2O$, ajustando los valores obtenidos a una función, la cual sirve de curva de calibración para diferentes soluciones de $FeCl_3$ medidas en el equipo *Achieva* de Philips de 1.5T. Para obtener la curva de calibración se siguieron los pasos descritos en el capítulo anterior. Las imágenes típicas del fantoma de calibración se muestran en la Figura 5.4. En ella se observan los doce insertos con diferentes concentraciones de la solución mencionada, así como el *sachet* de solución fisiológica para realizar la corrección de deriva del instrumento. Los insertos con mayor IS corresponden a los que tienen una menor

concentración de la solución acuosa de $FeCl_3$, y a su vez los insertos con menor IS corresponden a aquellos con una mayor concentración de dicha solución.

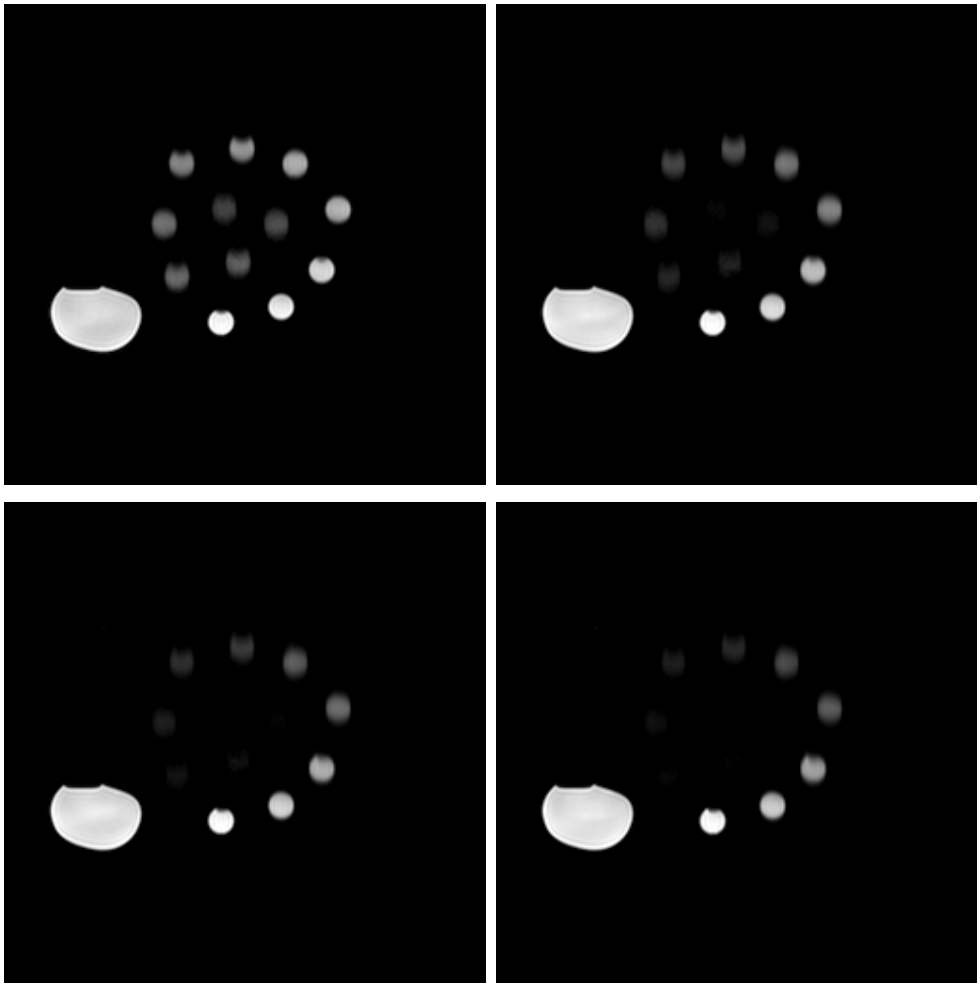


Figura 5.4. IRM del fantoma de calibración. Arriba izquierda: secuencia con TE=4ms; Arriba derecha: secuencia con TE=8ms; Abajo izquierda: secuencia con TE=10ms; Abajo derecha: secuencia con TE=12ms.

Las unidades de la CHH dadas por el valor de la biopsia, corresponden a mg de Fe/g de tejido seco ó µmol de Fe/g de tejido seco, las cuales solo son fáciles de obtener a partir del análisis de espectrometría. Para medir la concentración de hierro en las soluciones dadas, en las unidades estándar, se debe asumir que el hígado está compuesto por 70% de agua y 30% de sólidos [72] [73]. La Tabla 5.2 muestra los valores de calibración de R2 y de concentración de hierro (CH) de las soluciones acuosas de $FeCl_3$ utilizadas. La primera columna corresponde a la masa de soluto utilizada ($FeCl_3*6H_2O$), dada en mg, para las soluciones correspondientes para encontrar la curva de calibración. La segunda columna muestra el valor de R2 de cada concentración obtenido a partir de la

regresión no lineal, y la tercera columna muestra los valores de la CH de cada solución utilizada en las unidades de referencia. Para su obtención, se debe tener en cuenta la masa atómica del hierro (55,847 g/mol), la masa atómica del $FeCl_3*6H_2O$ (270,197 g/mol) y el factor de conversión 1mg Fe/g tejido húmedo = 3,33mg de Fe/g tejido seco ó 0,3 g de tejido seco/g de tejido húmedo. A partir de los valores de R2 y su CH en solución asociada, se obtuvo la curva de calibración mostrada en la Figura 5.5. El ajuste de la curva fue realizado en Microsoft Excel (Figura 5.5), y se obtuvo que la relación entre la concentración de hierro férrico en fantoma y el R2 es:

$$CH\ en\ fantoma = 0.1646 * R2 + 0.9102 \quad (24)$$

con un coeficiente de correlación de 0.997.

Tabla 5.2 Valores de calibración y de comprobación de R2 y de concentración de hierro (CH) de las soluciones acuosas de $FeCl_3$.

VALORES DE CALIBRACIÓN			**VALORES DE COMPROBACIÓN**			
Masa de $FeCl3*6H_2O$ (mg)	**R2(Hz)**	**CH en solución (mg de Fe/g tej. Seco)**	**R2 (Hz)**	**CH obtenido (mg de Fe/g tej. Seco)**	**CH esperado (mg de Fe/g tej. Seco)**	**Porcentaje de error (%)**
70,7	295,329	48,708	287,366	48,210	45,539	-5,8
62,6	242,985	43,128	276,255	46,382	44,643	-3,8
52,2	210,097	35,963	240,169	40,442	37,823	-6,9
48,6	204,511	33,483	218,457	36,868	35,343	-4,3
44,3	175,249	30,52	194,883	32,987	30,52	-8,0
35,6	147,556	24,526	173,521	29,472	27,075	-8,8
32,3	140,270	22,253	164,238	27,944	26,386	-5,9
26	102,309	17,912	102,172	17,727	18,533	4,3
21,6	87,223	14,881	84,116	14,755	13,985	-5,5
12,7	44,082	8,749	50,844	9,279	9,438	1,6
8,8	27,173	6,062	39,142	7,353	7,372	0,2
3	8,367	2,066	11,440	2,793	3,169	11,8

En la Tabla 5.2 se muestran además, los valores de comprobación obtenidos de concentraciones conocidas de $FeCl_3*6H_2O$, los valores de R2 logrados de las IRM y el valor esperado de dicha concentración. También se observa el porcentaje de error alcanzado para cada concentración, cuyos valores representan los inconvenientes dados en el pesaje del soluto, la pureza del agua destilada, la hermeticidad de los insertos que contienen a las soluciones, y el posicionamiento de la bobina.

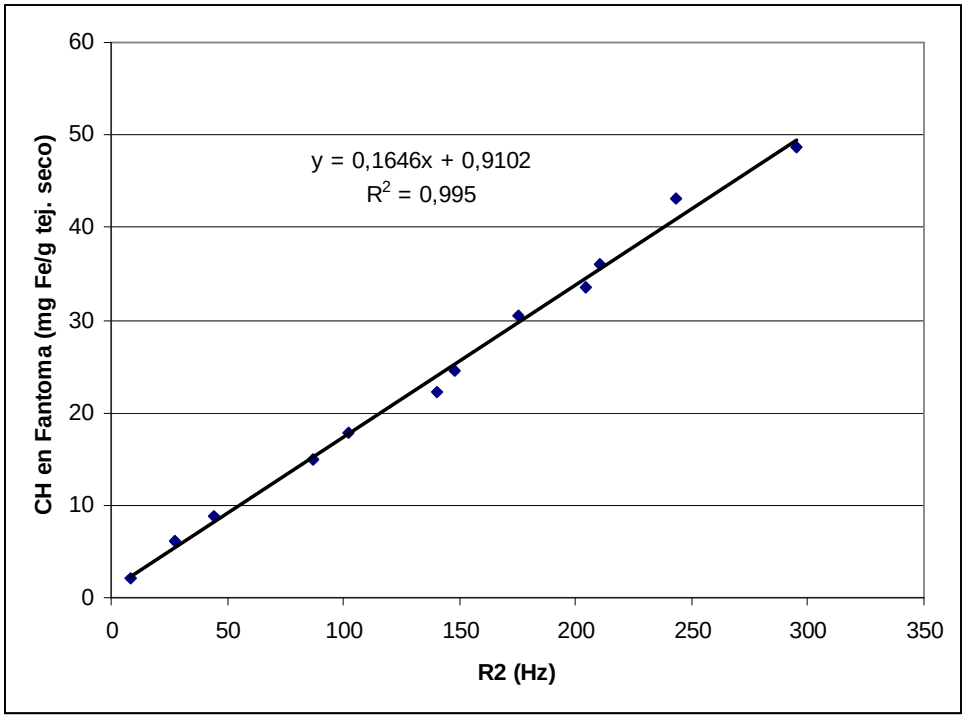


Figura 5.5. Curva de calibración de Concentración de hierro vs. R2 a partir de soluciones acuosas de $FeCl_3$.

A pesar de que la curva de calibración encontrada, presenta un buen coeficiente de correlación y la relación entre la concentración de hierro y el valor de R2 es similar con la analizada por Wood *et al.* (Ecuación 25) [50], los valores obtenidos de CH de las soluciones no se corresponden con la curva de ajuste encontrada por St. Pierre *et al.* (Ecuación 26) [51].

$$[\mathrm{Fe}] = 0.148 * \mathrm{R2} - 6.51 \quad (25)$$

$$< R2 >= a + bx^d + cx^{2d} \quad (26)$$

Donde $< R2 >$ es el valor promedio de R2 en unidades de s^{-1}, x es la CHH promedio en unidades de mg Fe/g tejido seco, $a = 6.88s^{-1}$, $b = 26.06s^{-1} \cdot (mg\ Fe)^{-0.701} \cdot (g\ tejido\ seco)^{1.402}$, $c = -0.438s^{-1} \cdot (mg\ Fe)^{-1.402} \cdot (g\ tejido\ seco)^{0.701}$ y $d = 0.701$.

Que al manipular algebraicamente se obtiene [50]:

$$[Fe] = (29.75 - \sqrt{900.7 - 2.283R2})^{1.424} \quad (27)$$

Por lo tanto, la obtención de una relación lineal entre los valores de R2 y la concentración de hierro de las soluciones de $FeCl_3$ puede deberse al agua libre de la solución, lo que permite una gran coherencia en el desfase de los espines durante la relajación transversal, haciendo que el valor de R2 sea menor, mientras que para obtener la misma concentración de hierro en tejido seco usando el modelo de St Pierre *et al* se obtiene un valor de R2 mucho mayor. Por ejemplo, para una concentración de hierro en solución acuosa de $FeCl_3$ de 8,749 mg Fe/g tejido seco, se obtuvo un R2 de 44,082 Hz (Tabla 5.2), mientras que esta misma concentración de hierro en un tejido hepático seco obtenido de la relación de St. Pierre *et al* (ecuación 26) daría un valor de R2 de 117,175 Hz, debido a los agrupamientos de ferritina y hemosiderina dados en el tejido seco correspondiente a pacientes con HH y talasemias del estudio mencionado.

Otro factor que puede explicar la linealidad de R2 con la concentración de hierro en solución, es que el soluto empleado no corresponde totalmente al hierro almacenado en la ferritina, además los conglomerados de hemosiderina no se forman dentro de las soluciones utilizadas y tampoco existen otros complejos de hierro de bajo peso molecular, así como desoxihemoglobina, que pueden influir como una medida real del comportamiento de la relajación transversal dentro del hígado. Debido a esto, es conveniente realizar la curva de calibración con biopsias de pacientes, o utilizar soluciones de Fercayl® que es un medicamento clinicamente usado como inyecciones de hierro intramuscular en pacientes anémicos, o usar ferritina extraída de biopsias de animales o de cadáveres humanos.

5.3 Prueba en pacientes

Todas las imágenes de los pacientes del grupo control y del grupo de casos fueron adquiridas bajo los protocolos y parámetros dados en el Capítulo 4. La Figura 5.6 muestra las cuatro imágenes de TE adquiridas de un paciente perteneciente al grupo de control. A partir del análisis de decaimiento exponencial realizado a los valores dentro de la ROI de las cuatro imágenes, se obtuvo un valor de R2 de 19,2676 Hz, para este caso. Debido a que la curva de calibración fue obtenida a partir de soluciones de $FeCl_3$ y no representan el comportamiento real del hierro en el tejido hepático, se utilizó la curva obtenida por St. Pierre *et al*, para encontrar el valor de la CHH, es decir, que el paciente sano estudiado

presenta una CHH de 0,352 mg Fe/g tejido seco, valor que se encuentra dentro del rango de referencia de normalidad.

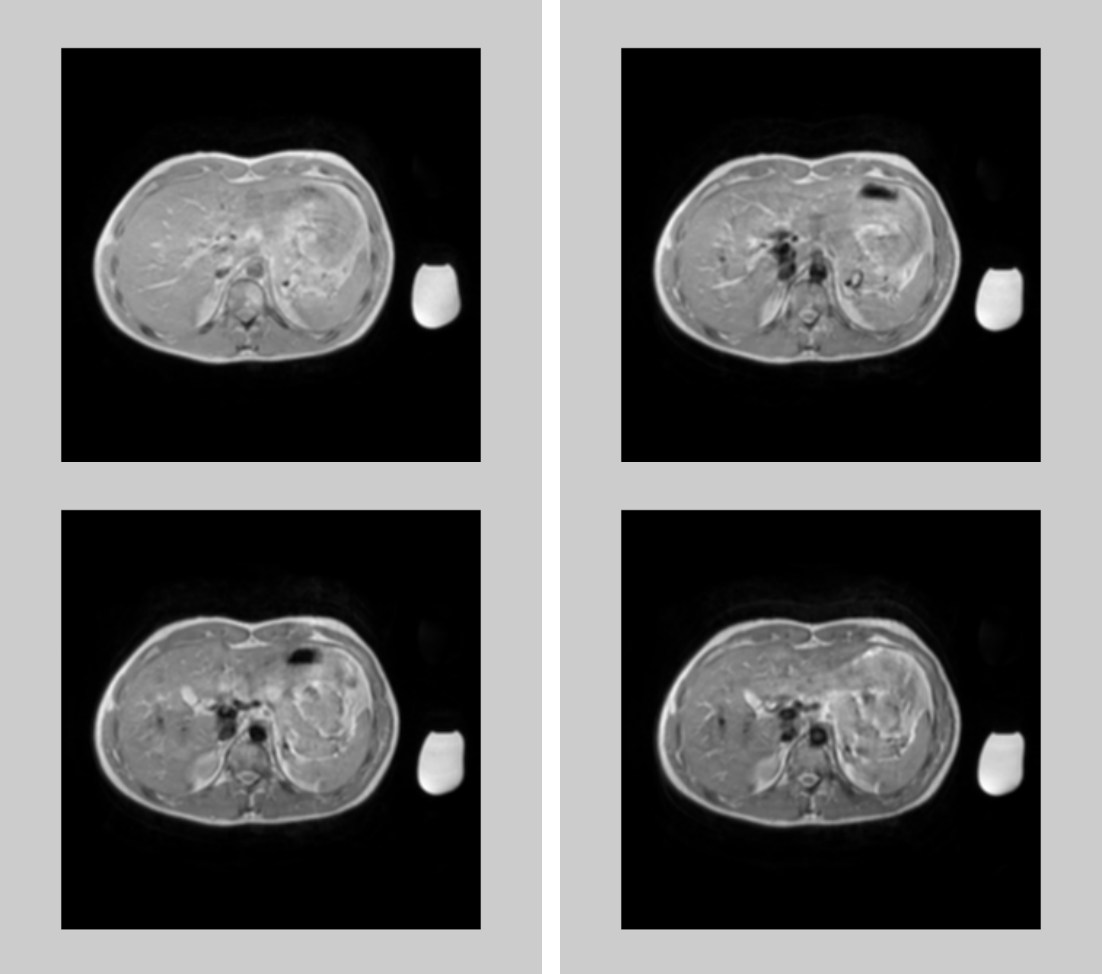


Figura 5.6. IRM de un paciente normal. Arriba izquierda: secuencia con TE=4ms; Arriba derecha: secuencia con TE=8ms; Abajo izquierda: secuencia con TE=10ms; Abajo derecha: secuencia con TE=12ms.

El mapa de R2 correspondiente a la imagen de TE=4ms del paciente sano analizado, se muestra en la Figura 5.7, así mismo su histograma, en el cual se nota que la moda se ubica en aproximadamente 20 Hz, que corresponde a una CHH dentro del rango de normalidad, tal como se mostró en la Tabla 4.2. Los valores hiperintensos del mapa de R2 corresponden a vasos sanguíneos que no fueron segmentados totalmente.

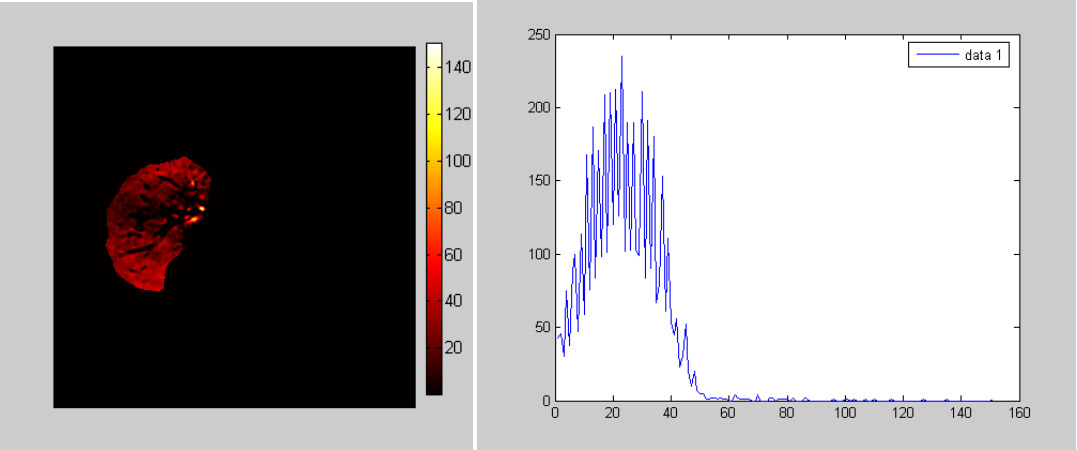
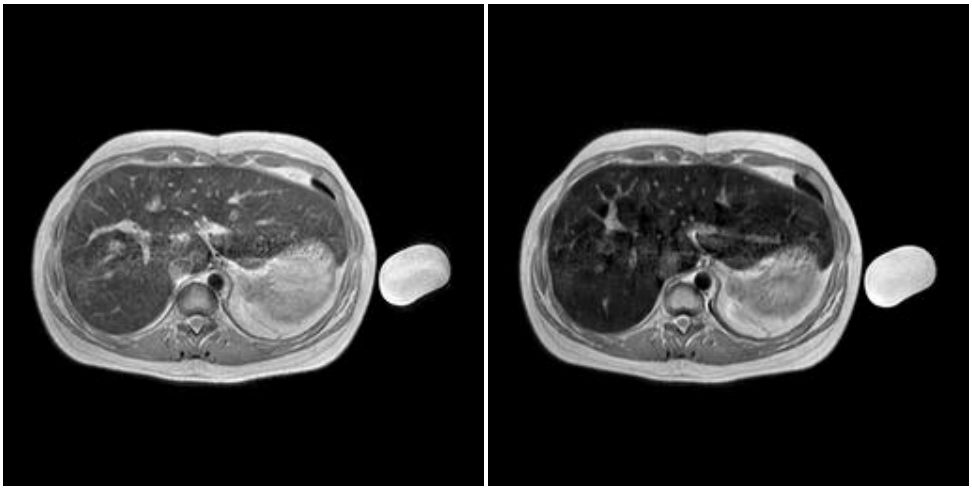


Figura 5.7. Izquierda: Mapa de R2 del hígado de un paciente sano a partir de la imagen con TE=4ms; Derecha: Distribución de los valores de R2 de los vóxeles de la imagen.

La Figura 5.8 muestra las cuatro imágenes de TE adquiridas de un paciente perteneciente al grupo de casos, cuyo diagnóstico es anemia sideroblástica, lo que ocasiona una hemocromatosis secundaria. A partir del análisis de decaimiento exponencial realizado a los valores dentro de la ROI de las cuatro imágenes, se obtuvo un valor de R2 de 124,7 Hz, para este caso, lo que corresponde a una CHH de 11,044 mg Fe/g tejido seco, valor que se encuentra por encima del límite superior sugerido del rango óptimo para terapia quelante en sobrecarga transfusional de Fe y umbral para el aumento del riesgo de complicaciones inducidas por Fe.



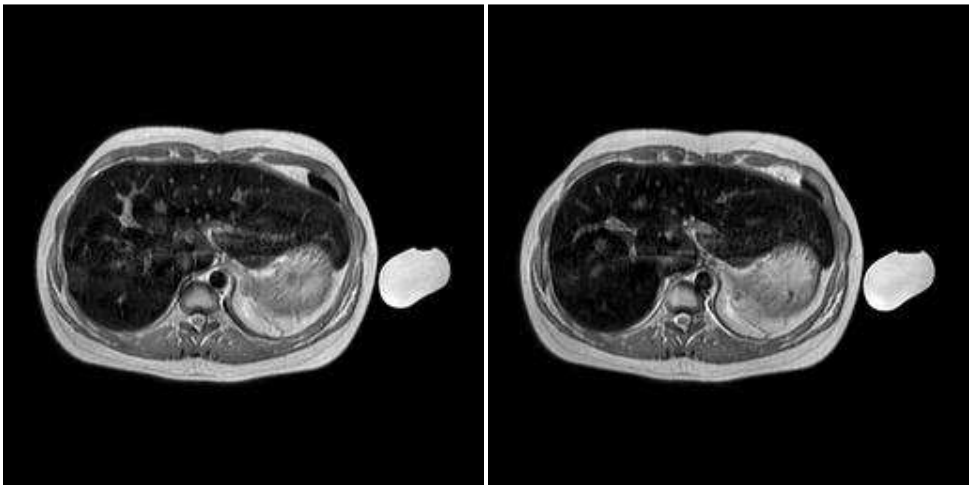


Figura 5.8. IRM de un paciente con anemia sideroblástica. Arriba izquierda: secuencia con TE=4ms; Arriba derecha: secuencia con TE=8ms; Abajo izquierda: secuencia con TE=10ms; Abajo derecha: secuencia con TE=12ms.

El mapa de R2 correspondiente a la imagen de TE=4ms del paciente con anemia sideroblástica analizado, se muestra en la Figura 5.9, así mismo su histograma, en el cual se nota que la moda se ubica en aproximadamente 110 Hz, que corresponde a una CHH dentro del rango de complicaciones por sobrecarga de hierro, tal como se mostró en la Tabla 4.2. Los valores hiperintensos del mapa de R2 corresponden a zonas donde la ferritina posiblemente se haya depositado en forma de hemosiderina, y presenta alta concentración del metal. Se observa que el tejido en su totalidad presenta alta concentración de hierro y su distribución es totalmente heterogénea.

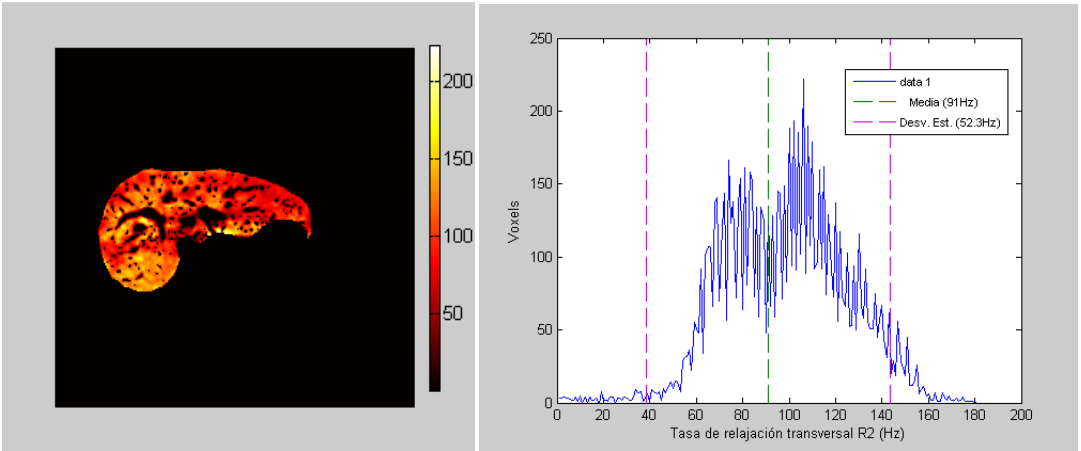


Figura 5.9. Izquierda: Mapa de R2 del hígado de un paciente con anemia sideroblástica a partir de la imagen con TE=4ms; Derecha: Distribución de los valores de R2 de los vóxeles de la imagen.

La Tabla 5.3 muestra los valores promedio de R2 logrados a partir del análisis de las IRM con el método implementado, así como los correspondientes valores de CHH usando el modelo obtenido a partir del fantoma y el modelo de St. Pierre *et al*. para todos los pacientes analizados.

Tabla 5.3 Valores de CHH de los pacientes estudiados, usando la curva de calibración del fantoma y el modelo de St Pierre.

Paciente	CHH. Modelo Fantoma (mg Fe/g tej. seco)	Modelo St. Pierre (mg Fe/g tej. seco)	<R2>	DIAGNÓSTICO
CHH-001	15,817	5,730	90,56	Hemocromatosis
CHH-002	10,700	2,862	59,47	Sospecha de talasemia
CHH-003	7,815	1,580	41,95	Sospecha de talasemia
CHH-004	4,081	0,352	19,26	Sano
CHH-005	21,435	9,697	124,70	Anemia sideroblástica
CHH-006	23,106	11,044	134,85	Hemosiderosis secundaria
CHH-007	4,545	0,472	22,08	Sano
CHH-008	5,620	0,789	28,61	Sano
CHH-009	5,906	0,882	30,35	Sano
CHH-0010	5,272	0,681	26,50	Sano
CHH-0011	4,457	0,448	21,55	Sano
CHH-0012	5,623	0,790	28,63	Sano-Anemia
CHH-0013	4,645	0,499	22,69	Sano
CHH-0014	6,488	1,081	33,89	Sospecha de talasemia

Por otra parte, al graficar los valores de ferritina sérica, dados en ng/mL, con los valores de CHH, dados en mg de Fe/g tejido seco (Figura 5.10), se puede observar que no existe ninguna correlación entre ambas variables, por lo tanto se comprueba la desconfianza de utilizar el valor de ferritina en sangre como un método para evaluar la sobrecarga de hierro en el organismo.

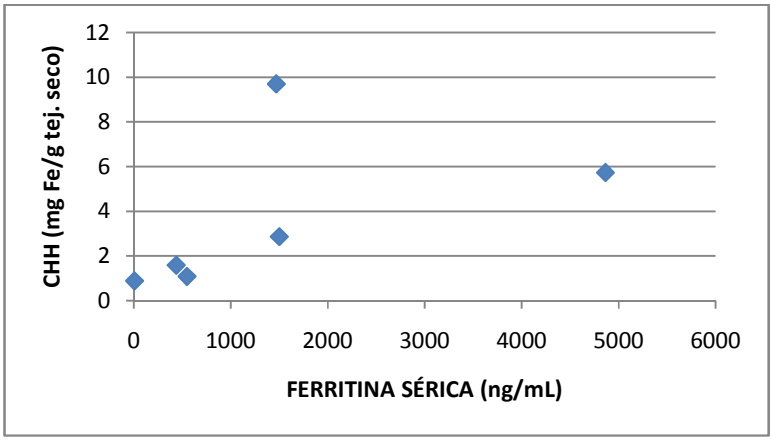


Figura 5.10. Relación entre la CHH y el valor de ferritina sérica, a partir de los pacientes del grupo de casos.

Capítulo 6. Conclusiones y observaciones

Mediante este trabajo se ha logrado implementar un sistema de medición no invasiva de la CHH haciendo uso de IRM. La técnica implementada consiste en la adquisición de imágenes usando una serie de secuencias *spin-echo* con TE=4ms, 8ms, 10ms y 12ms, para obtener la tasa de relajación transversal R2 en función de la CHH, sin tener dependencia de los arreglos macroscópicos del hígado, como es el caso de los estudios con fibrosis y otras alteraciones del tejido. La técnica implementada presenta una buena reproducibilidad en las mediciones de diferentes concentraciones de soluciones de $MnCl_2$, con un coeficiente de variación de 1,316% del valor de relaxividad, siendo necesario aplicar la técnica implementada en diferentes equipos de RM de 1.5T con el fin de evaluar la reproducibilidad en cada equipo y entre ellos.

El método estándar para evaluar la cantidad total de sobrecarga de hierro corporal es medir la concentración de ferritina en el suero sanguíneo, cuyo análisis representa una baja correlación para usarse como un valor de pronóstico. La biopsia hepática permite evaluar la sobrecarga de hierro en todo el cuerpo de forma precisa, aunque, el tamaño de la muestra es inadecuado, la no uniformidad de la distribución de hierro en el hígado puede dar resultados engañosos y su estudio requiere de laboratorios y personal muy especializado. Por lo tanto, la técnica de medición de la CHH usando IRM reduce el tiempo de análisis, permite un apoyo visual a los especialistas y fortalece las pruebas realizadas con las otras técnicas utilizadas, para darle al paciente un diagnóstico rápido, económico y no invasivo. Además, esta técnica es de vital importancia para monitorear los tratamientos quelantes, evaluando la respuesta al tratamiento a lo largo del tiempo, para evitar riesgos y dar pronósticos acertados durante su uso.

Para evaluar estadísticamente los resultados del método aplicado, es necesario realizar un estudio prospectivo, en el que se tenga en cuenta una muestra significativa de pacientes con patologías de sobrecarga y déficit de hierro, principalmente del primer grupo, a los cuales se les debe tomar una muestra del parénquima hepático y ser analizada en un solo laboratorio especializado certificado para determinar la CHH en las unidades de referencia de mg de Fe/g de tejido seco o μmol de Fe/ g de tejido seco. El grupo de los casos debe ser conformado por pacientes con HH, cuyo examen genético-molecular debe

dar positivo en alguno de los genes o en ambos, y pacientes politransfundidos, ya sea por hemocromatosis secundaria, cualquier tipo de talasemia, mayor o intermedia, trasplantados de médula ósea, accidentados o cualquier otra causa. La biopsia debe ser extraída de una región del lóbulo derecho del hígado y su posición debe ser referenciada. Pasado un tiempo de recuperación del paciente, alrededor de un par de semanas, se recomienda realizar el estudio de IRM con la técnica desarrollada y relacionar los valores de R2 y de CHH del análisis de espectrometría del laboratorio, para construir una curva de calibración real que permita ser usada como referencia para analizar los resultados de otros estudios y empleada en otros equipos de RM en los que se desee implementar el método.

Es importante analizar el mapa de R2 de la imagen TE=4ms de un paciente, ya que representa información muy útil para correlacionar el valor de la biopsia con la distribución de la CHH en todo el tejido, lo cual no es posible con solo el valor dado por la biopsia. Aunque el mapa de R2 ideal debería tener en cuenta todos los vóxeles de cada imagen de TE y la curva de decaimiento debería ser analizada punto a punto, esto no es posible de realizar, ya que cada imagen no corresponderá al mismo corte anatómico, debido a que las apneas no son siempre iguales como para que aparezcan los mismos detalles anatómicos en las cuatro imágenes analizadas. Esto sería posible de realizar con secuencias tipo eco gradiente, en las cuales con la misma apnea se pueden adquirir los cuatro cortes.

Por otra parte, cuando la sobrecarga de hierro es muy alta, este tiende a depositarse en diferentes tejidos, además del hígado, tales como: corazón, bazo, páncreas, sistema nervioso central, sistema endocrino, articulaciones, músculo y piel, produciendo consecuencias en su función. La cardiomiopatía por sobrecarga de hierro resulta de la acumulación de hierro en el miocardio, y es la principal causa de muerte en pacientes que reciben terapia de transfusión sanguínea crónica, y es notable su aparición en pacientes con trasplante de médula ósea y en terapia con células madre [11]. Por lo tanto, es necesario estandarizar una técnica para la medición de la concentración de hierro en miocardio, para tener otro método de control de sobrecarga de hierro en el organismo. Se sugiere adecuar la técnica basada en valores de R2* para evaluar la concentración de hierro en miocardio, usando la secuencia contenida en el equipo utilizado en el servicio y suministrada por el fabricante.

Bibliografía

[1] Pérez G, Vittori D, Pregi N, Garbossa G, Nesse A. Homeostasis del hierro. Mecanismos de absorción, captación celular y regulación. Acta Bioquim Clin Latinoam, 39 (3): 301-314, 2005.

[2] Ponka P. Tissue-specific regulation of iron metabolism and heme synthesis: distinct control me chanisms in erythroid cells. Blood, 89: 1-25, 1997.

[3] Crichton RR, Wilmet S, Legssyer R, ward RJ. Molecular and cellular mechanisms of iron homeostasis and toxicity in mammalian cells. J Inorg Biochem, 89: 1-25, 2002.

[4] Qian SY, Buettner GR. Iron and dioxygen chemistry is an important route to initiation of biological free radical oxidations: an electron paramagnetic resonance spin trapping study. Radic Biol Med, 26: 1447-1456, 1999.

[5] Wick M, Pinggera W, Lehmann P. Iron metabolism, diagnosis and therapy of anemias. 3th ed. New York : Springer, 1996.

[6] Fairbanks V, Klee G. Biochemical aspects of hematology. Philadelphia : WB Saunders, 1986.

[7] Forrelat M, Gautier H, Fernández N. Metabolismo del hierro. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 16: 149-160, 2000.

[8] Siah CW, Trindera D, Olynyk JK. Iron overload. Clinica Chemical Acta. 358: 24-36, 2005.

[9] Alonso JJ, Cánovas A, De la Prieta R, Pereira T, Ruíz C, Aguirre C. Conceptos generales sobre el metabolismo del hierro. Gac med Bilbao. 99: 33-37, 2002.

[10] Andrews NC. Disorders of iron metabolism. NEJM. 341: 1986-1995, 1999.

[11] Gujja P, Rosing DR, Tripodi DJ, Shizukuda Y. Iron overload cardiomyopathy: better understanding of an incresing disorder. Journal of the American College of Cardiology. 13 (56): 1001-1012, 2010.

[12] Andrews SC, Arosio P, Bottke W. Structure function and evolution of funtions of ferritins. J Inorg Biochem. 47: 161-174, 1992.

[13] Brittenham GM. Disorders of iron metabolism: iron deficiency and overload. En: Shattil SJ, Furie B, Hoffman RBE. Hemotology: Basic Principles and Practice. New York: Churchill Livingstone, 2000.

[14] Pérez Candela V. Resonancia magnética nuclear en pediatría. BSCP Can Ped. 2 (29): 43-49, 1992.

[15] Aisen P, Enns C, Wessling-Resnick M. Chemestry and biology of eukaryotic iron metabolism. J Biochem Cell Biol. 33: 940-959, 2001.

[16] Angelucci E, Brittenham GM, McLaren C, et al. Hepatic iron concentration and total body iron stores in thalassemia major. N Engl J Med. 343: 327-331, 2000.

[17] Brittenham GM, Allen CJ, Farell DE. Noninvasive methods for quantitative assessment of transfusional iron overload in sickle cell disease. Semin Hematol. 38: 37-56, 2001.

[18] Deugnier Y, Turlin B. Pathology of hepatic iron overload. World J Gastroenterol. 13 (35): 4755-4760, 2007.

[19] Brittenham GM, Badman DG. Noninvasive measurement of iron: report of an NIDDK workshop. Blood. 101: 15-19, 2003.

[20] Gomori JM, Grossman RI, Drott HR. MR relaxation times and iron content of thalassemic spleens: an in vitro study. Am J. Roentgenol. 150: 567-569, 1988.

[21] Hankins JS, McCarville MB, Loeffler RB, Smeltzer MP, Onciu M, Hoffer FA, Li CS, Wang WC, Ware RE, Hillenbrand CM. R2* magnetic resonance imaging of the liver in patients with iron overload. BLOOD. 113: 4853-4855, 2009.

[22] López Santiago N. Indicaciones de terapia quelante de hierro. Rev Mex Med Tran. 2: 75-78, 2009.

[23] Jiménez R, Martos E, Díaz M. desde el laboratorio a la clínica: Metabolismo del hierro. An Pediatr Contin. 3: 352-356, 2005.

[24] Castiella A, Zapata E, Alústiza JM. Non-invasive methods for liver fibrosis prediction in hemochromatosis: one step beyond. World J Hepatol. 2 (7): 251-255, 2010.

[25] Adams PC, deugnier Y, Moirand R, et al. The relationship between iron overload, clinic symptoms and age in 410 patients with genetic hemochromatosis. Hepatology. 25: 162-166, 1997.

[26] Bacon BR, Powell LW, Adams PC, et al. Molecular medicine and hemochromatosis: Atthe crossroads. Gastroenterology. 116: 193-207, 1999.

[27] Shaheen NJ, Bacon BR, Grimm IS. Clinical characteristics of hereditary hemochromatosis in patients who lack the C282Y mutation. Hapatology. 28: 526-529, 1998.

[28] Anie KA, Massaglia P. Terapias psicológicas para talasemia. Oxford : 2, 2008. Disponible en: http://www.update-software.com.

[29] Brown MA, Semelka RC. MRI: basic principles and applications. Third edition. Hoboken: John Wiley & Sons, 2003.

[30] Westbrook C. MRI at a glance. First edition. Malden: Blackwell Science Ltd, 2002.
[31] Gili J. Introducción biofísica a la resonancia magnética. Barcelona. Primera edición. Centre Diagnóstic Pedralbes, 1993.
[32] Runge VM, Clanton JA, Lukehart CM, Partain CL, James AE. Paramagnetic agents contrast-enhanced NMR imaging: a review. Am J Roentgenol. 141: 1209-1215, 1983.
[33] Gálvez M, Farías M, Asahi T, Bravo E. Cálculo de tiempos T1 y T2 in vitro. Revista Chilena de Radiología. 3 (11): 109-115, 2005.
[34] Bloembergen N, Purcell EM, Pound RV. Relaxation effects in nuclear magnetic resonance absorption. Phys. Rev. 73: 679-715, 1948.
[35] Fernández López MB. Ferritinas naturales y sintéticas. Implicaciones nanobiomédicas. Tesis Doctoral: Universidad de Granada, 2009.
[36] Brash RC, Wesbey GE, Gooding CA, Koerper MA. Magnetic resonance imaging of transfusional hemosiderosis complicating thalassemia major. Radiology. 150: 767-771, 1984.
[37] Stark DD, Moseley ME, Bacon BR, Moss AA, Goldberg HI, Bass NM, James TL. Magnetic resonance imaging and spectroscopy of hepatic iron overload. Radiology. 154: 137-142, 1985.
[38] Fisher R, Harmatz PR. Non.invasive assessment of tissue iron overload. Hematology. 215-221, 2009.
[39] Clark PR, Chua-anusorn W, St. Pierre TG. Proton transverse relaxation rate (R2) images of iron-loaded liver tissue mapping local tissue iron concentrations with MRI. Magnetic resonance in medicine. 49: 572-575, 2003.
[40] Engelhardt R, Langkowski JH, Fisher R, Nielsen P, Kooijman H, Heinrich HC, Bucheler E. Liver iron quantification: studies in aqueous iron solutions, iron overloaded rats, and patients with hereditary hemochromatosis. Magn Reson Imag. 12: 999-1007, 1994.
[41] Papakonstantinou OG, Maris TG, Kostaridou V, Gouliamos AD, Koutoulas GK, Kalovidouris AE, Papavassiliou GB, Kordas G, Kattamis C, Vlahos LJ, Papavassiliou CG. Assessment of liver iron overload by T2-quantitative magnetic resonance imaging: correlation of T2-QMRI measurements with serum ferritin concentration and histologic grading of siderosis. Magn Reson Imag. 13: 967-977, 1995.
[42] Clark PR, Chua-anusom W, St.Pierre TG. Proton transverse relaxation rate (R2) images of liver tissue: mapping local tissue iron concentrations with MRI. Magn Reson Med. 49: 572-575, 2003.
[43] Jensen JH, Chandra R. Theory of nonexponential NMR signal decay in liver with iron overload or superparamagnetic iron oxide particles. Magn Reson Med. 47: 1131-1138, 2002.
[44] Gossuin Y, Roch A, Muller RN, Gillis P, Lo Bue F. Anomalous nuclear magnetic relaxation of aqueous solutions of ferritin: an unprecedented first-order mechanism. Magn Reson Med. 48: 959-964, 2002.
[45] Wood JC, Fassler JD, Meade T. Mimicking liver iron overload using liposomal ferritin preparations. Magn Reson Med. 51: 607-611, 2004.
[46] Clark PR, Chua-anusorn W, St. Pierre TG. Reduction of respiratory motion artifacts in transverse relaxation rate (R2) images of the liver. Computarized medical imaging and graphics. 28: 69-76, 2004.
[47] Gandon Y, Olivié D, Guyader D, Aubé C, Oberti F, Sebille V, Deugnier Y. Non-invasive assessment of hepatic iron stores by MRI. The Lancet. 363: 357-362, 2004.
[48] Alústiza JM, Artetxe J, Castiella A, Agirre C, Emparanza JI, Otazua P, García-Bengoechea M, Barrio J, Mújica F, Recondo JA. MR Quantification of hepatic iron concentration. Radiology. 230: 479-484, 2004.
[49] Tziomalos K, Perifanis V. Liver iron content determination by magnetic resonance imaging. World Journal of Gastroenterology. 16 (13): 1587-1597, 2010.
[50] Wood JC, Enríquez C, Ghugre N, Tyzka JM, Carson S, Nelson MD, Coates TD. MRI R2 and R2* mapping accurately estimates hepatic iron concentration in transfusion-dependent thalassemia and sickle cell disease patients. BLOOD. 4:(106) 1460-1465, 2005.
[51] St. Pierre TG, Clark PR, Chua-anusorn W, Fleming AJ, Jeffrey GP, Olynyk JK, Pootrakul P, Robins E, Lindeman R. Noninvasive measurement and imaging of liver iron concentrations using proton magnetic resonance. BLOOD. 2 (105): 855-861, 2005.
[52] St Pierre TG, Clark PR, Chua-anusorn W, Fleming A, Pardoe H, Jeffrey GP, Olynyk JK, Pootrakul P, Jones S, Moroz P. Non-invasive measurement and imaging of tissue iron oxide nanoparticle concentrations in vivo using proton relaxometry. Journal of Physics: Conference Series : Institute of Physics Publishing. 17: 122-126, 2005.

[53] St Pierre TG, Clark PR, Chua-anusorn W. Single spin-echo proton transverse relaxometry of iron-loaded liver. NMR in Biomed. 17: 446-458, 2004.
[54] Carneiro AA, Fernandes JP, De Araujo DB, Elias J, Martinelli AL, Covas DT, Zago MA, Angulo IL, St. Pierre TG, Baffa O. Liver iron concentration evaluated by two magnetic methods: magnetic resonance imaging and magnetic susceptometry. Magnetic resonance in medicine. 54: 122-128, 2005.
[55] Stark DD, Moseley ME, Bacon BR, et al. Magnetic resonance imaging and spectroscopy of hepatic iron overload. Radiology. 154: 137-142, 1985.
[56] Gossuin Y, Burtea C, Monseux A, Toubeau G, Roch A, Muller RN, Gillis P. Ferritin-induced relaxation in tissues: an in vitro study. Journal of magnetic resonance imaging. 20: 690-696, 2004.
[57] Vymazal J, Urgosik D, Bulte JW. Differentiation between hemosiderin- and ferritin-bound brain iron using nuclear magnetic resonance and magnetic resonance imaging. Cell Mol Biol. 46: 835-842, 2000.
[58] Muñoz de Hernández A, Pedrosa I. Resonancia Magnética. En: García Mónaco R. Stoopen ME. Avances en diagnóstico por Imágenes. Buenos Aires: Ediciones Journal, 2009.
[59] Prasertkulchai W. Measurement of transverse relaxation time (T2) of iron by using 1.5T and 3T magnetic resonance imaging; a study in phantom model. Thesis of master of science: Mahidol University, 2008.
[60] PHILIPS. Manual de Aplicación. Conceptos Básicos. Volumen 1. Achieva Versión 2.6.1. Países Bajos : Philips Medical Systems, 2008.
[61] PHILIPS. Manual de Aplicación. Métodos de adquisición. Volumen 2. Achieva Versión 2.6.1. Países Bajos : Philips Medical Systems, 2008.
[62] Gudbjartsson H, Patz S. The Rician distribution of noisy MRI data. Magn. Reson. Med. 34: 910-914, 1995.
[63] Sijbers J. Signal and noise estimation from magnetic resonance images. Thesis: University of Antwerp, 1998.
[64] Clark PR, Chua-anusorn W, St Pierre TG. Bi-exponential proton transverse relaxation rate (R2) image analysis using RF field intensy-weighted spin density projection: potential for R2 measurement of iron-loaded liver. Magn. Reson. Imag. 21: 519-530, 2003.
[65] Consul PC. Generalized Poisson distributions: properties and applications. New York: Marcel Dekker, 1989.
[66] Ambagaspitiya RS, Balakrishnan N. On the compound generalized Poisson distributions. Astin Bulletin. 24 (2), 1994.
[67] Lerner B, Lone A, Rao M. On generalized Poisson distributions. Probability and mathematical statistics. 2 (17): 377-385, 1997.
[68] Andersen AH. On the Rician distribution of noisy MRI data. Magn. Reson. Med. 36: 331-333, 1996.
[69] Positano V, Salani B, Pepe A, Santarelli MF, De Marchi D, Ramazzotti A, Favilli B, Cracolici E, Midiri M, Cianciulli P, Lombardi M, Landini L. Improved T2* assessment in liver iron overload by magnetic resonance imaging. Magnetic Resonance Imaging. 27: 188-197, 2009.
[70] Asociación Médica Argentina. Código de ética para el equipo de salud. Buenos Aires: Dirección nacional del derecho del autor, 2001.
[71] Andersen C, Jensen FT. Presicion, accuracy, and image plane uniformity in NMR relaxation time imaging on a 1.5T whole-body MR imaging system. Magn. Reson. Imag. 12: 775-784, 1994.
[72] Fisher R, Tiemann CD, Engelhardt R, et al. Assessment of iron stores in children with transfusión siderosis by biomagnetic liver susceptometry. Am J Hematol. 60: 289-299, 1999.
[73] Bauman JH, Harris JW. Estimation of hepatic iron stores by in vivo measurement of magnetic susceptibility. J Lab & Clin Med. 70 (2): 246-257, 1967.

Anexo A: Formato de consentimiento informado

El consentimiento informado fue firmado por todos los participantes, que de forma voluntaria, desearon realizarse el estudio de medición de concentración de hierro en el hígado mediante imágenes de resonancia magnética.

INFORMACIÓN PARA EL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

La sobrecarga de hierro se produce cuando aumenta el ingreso de hierro durante un periodo de tiempo sostenido, tanto por la transfusión de glóbulos rojos como por la mayor absorción de hierro en el tracto digestivo. Ambas suceden en la talasemia, siendo la transfusión la mayor causa en la talasemia mayor y por aumento de absorción en la talasemia intermedia. El exceso de hierro se deposita en forma de hemosiderina en: hígado, bazo, miocardio y glándulas endócrinas. En los pacientes jóvenes, el crecimiento y la pubertad se retardan, y en grupos de todas las edades pueden desarrollarse complicaciones tales como enfermedad hepática, diabetes mellitus, entre otras. Todas estas secuelas pueden minimizarse con el tratamiento quelante de hierro.

Para determinar si usted presenta alguna enfermedad cuyo diagnóstico involucre la medición de la concentración de hierro o si usted requiere de un método de control confiable para ajustar el tratamiento quelante, es necesario medir el exceso de hierro en el hígado, debido a que el 90% de hierro libre en el organismo se deposita en este órgano. Los métodos convencionales para esta medición son la biopsia hepática y la ferritina sérica. Actualmente, el primero es el más preciso y directo para estimar la sobrecarga de hierro, además permite evaluar la naturaleza y severidad de la enfermedad hepática por medio del análisis patológico e histológico del hígado, pero presenta las desventajas de ser un método invasivo, requiere de médicos experimentados y técnicas de laboratorio estandarizadas, es doloroso y puede conllevar al riesgo de hemorragia e infección, al igual que el daño al hígado y otros órganos que lo rodean. Además, el tamaño inadecuado de la muestra (menor a 1mg/g peso seco) o la distribución no homogénea del hierro, especialmente en presencia de cirrosis, pueden dar resultados erróneos. El método de ferritina sérica es sencillo, ya que se analiza una muestra de sangre, pero es necesaria cada tres meses, para tener una idea aproximada de la sobrecarga de hierro del paciente y reducir el riesgo de sobredosis de quelante. Además, tiene la desventaja de ser un marcador que estima en forma indirecta los depósitos de hierro, ya que los niveles de ferritina (proteína que almacena el hierro) se ven influenciados por factores como la inflamación, deficiencia de vitamina C y hepatitis.

Los métodos que se encuentran en investigación son: 1) la medición de hierro hepático por susceptometría magnética (SQUID), que es no invasivo y se puede medir de forma frecuente, pero presenta un alto costo, una disponibilidad muy limitada de equipos y un procedimiento complejo que necesita técnicos muy especializados; 2) la medición de la concentración de hierro utilizando imágenes de tomografía computada (TC), que es no invasivo y se puede medir rápidamente, aunque presenta la desventaja de utilizar dosis

de radiación ionizante, lo cual limita los controles durante un tratamiento quelante; 3) la evaluación hepática de hierro por imágenes de Resonancia Magnética (RM), que es ampliamente disponible, no invasivo que permite la visualización de todo el hígado y paralelamente se puede evaluar el estado patológico, pero es necesario encontrar el método óptimo para mejorar la precisión y la repetición de las mediciones de la concentración de hierro. Con este estudio esperamos determinar el nivel de concentración de hierro en hígado por medio de imágenes de Resonancia Magnética, sin la necesidad de extraer una muestra de sangre o una biopsia de su hígado.

Su participación en esta investigación es **ABSOLUTAMENTE VOLUNTARIA** y no afectará su atención médica posterior. En este estudio, la adquisición de las imágenes es independiente de la toma de la muestra de sangre, la extracción de la biopsia y la terapia quelante, ya que estas pueden ser ordenadas por su médico especialista y no por nosotros.

Procedimientos del estudio
Si usted acepta participar, primero se le tomarán imágenes de Resonancia Magnética durante 30 minutos aproximadamente, que no le causarán dolor ni ningún otro efecto secundario indeseado y no requiere de preparación previa alguna. Estas imágenes serán llevadas a un computador para su procesamiento y análisis. El equipo utilizado será un resonador magnético superconductor de 1.5T de intensidad de campo magnético.

Beneficios
Si usted acepta participar, no recibirá beneficio directo de los resultados de este estudio, pero la información obtenida de este procedimiento podrá ayudarnos a mejorar la determinación de la concentración de hierro en el hígado.

Riesgos e incomodidades
- En cuanto al Campo Magnético Estático: no se ha detectado ningún efecto fisiológico ni patológico, a las intensidades y tiempos requeridos para las exploraciones clínicas con Resonancia Magnética. Aunque algunas experiencias informan, para 3-4 Teslas, de posibles variaciones transitorias de la temperatura corporal, de alteraciones leves del electrocardiograma, o de mínimas afectaciones neurológicas, la experiencia de millones de exploraciones realizadas mediante Resonancia Magnética confirman la <u>total inocuidad</u> de efectos de la exposición a estas intensidades de campo magnético constante.
- En cuanto a Campos Electromagnéticos de Radiofrecuencia: existen estudios precisos que demuestran la imposibilidad, por una parte, de que se produzcan efectos térmicos, que requieren potencias mucho mayores que las aplicadas en Resonancia Magnética, y que afectarían, en primer lugar, a los órganos de más difícil refrigeración, como los testículos o el ojo; y por otra parte, tampoco se han detectado efectos atérmicos, de modo que hay que destacar la <u>nula peligrosidad</u> de la aplicación de estos campos de radiofrecuencia en los estudios
- En cuanto a gradientes de Campo Magnético: sobre la zona corporal examinada se puede ejercer un intenso gradiente de campo magnético, que genera en el organismo una corriente inducida que, con los valores actuales, se mantiene siempre por debajo del umbral de intensidad necesario para producir algún efecto fisiológico. De hecho, los

efectos de estas corrientes inducidas pueden ser térmicos o atérmicos; los térmicos son despreciables para los gradientes utilizados en Resonancia Magnética. Los efectos atérmicos son de difícil demostración y son solo válidos para gradientes muy elevados (superiores a los utilizados en clínica).
La molestia o peligrosidad de las exploraciones por Resonancia Magnética radica en otros aspectos: el nivel de ruido durante la exploración, la posible desviación y calentamiento de las prótesis metálicas; la interferencia en el funcionamiento de prótesis electrónicas (marcapasos), implantes cocleares, ciertas válvulas cardiacas artificiales, grapas para aneurisma cerebral, prótesis dentales removibles, etc.

Una resonancia magnética no causa dolor. Algunas personas pueden volverse ansiosas dentro del escáner. El movimiento excesivo puede ocasionar errores e imágenes borrosas en la resonancia. La mesa puede sentirse dura o fría, pero usted puede solicitar una frazada o una almohada. Dado que la máquina emite ruidos sordos o zumbidos fuertes al encenderse se pueden usar protectores de oídos con el fin de reducir el ruido.
Un intercomunicador en el cuarto le permite a usted hablar con el operador del equipo en cualquier momento. Asimismo, usted puede solicitar audífonos especiales para escuchar su música favorita que le ayudará a pasar el tiempo.
No se requiere un período de recuperación, a menos que se necesite sedación. Después de una resonancia magnética, usted puede reanudar la dieta, actividades y medicamentos normalmente.

Responsabilidades del paciente
Siempre debe seguir las indicaciones de la forma de respirar cuando se encuentre dentro del equipo, por parte de los técnicos o médicos, así como cualquier otra indicación que se mencione.

Confidencialidad
Sólo los miembros del equipo de investigación sabrán que usted está participando en el estudio. A través de las imágenes que se le tomarán, no será posible identificarlo, debido a que corresponden a una región interna del organismo, específicamente la región abdominal. Si los resultados de este estudio son publicados, usted no será identificado por el nombre. Los registros que se hagan se harán identificándolo solo con un código, por ejemplo, CHH-B001 y CHH-I001, y no con su nombre; sin embargo representantes autorizados de las autoridades reguladoras podrán revisar sus registros como parte de su actividad de supervisión del estudio.

Compensación
Usted no tendrá que incurrir en ningún gasto por participar en este estudio, ni tampoco se le dará algún tipo de aporte económico. Así mismo, ningún integrante del equipo de trabajo técnico y médico, recibirá algún tipo de contribución económica.

Personas a contactar
Si tiene cualquier pregunta acerca de este estudio o acerca de lo que debe hacer en caso de que sienta alguna molestia durante el estudio, puede comunicarse con el Lic. Sergio Mosconi o el Ing. Manuel Castrillón Fernández al teléfono 4201615 Ext.5269. Si tiene

dudas con respecto a los derechos y deberes que tiene por su participación en este estudio puede comunicarse con el Servicio de Resonancia Magnética de Alto Campo de la Fundación Escuela de Medicina Nuclear de Mendoza.

Terminación del estudio
Usted entiende que su participación en el estudio es totalmente **VOLUNTARIA**. En cualquier momento usted puede retirar su consentimiento a participar en el estudio. Su médico también podrá detener el estudio por razones clínicas u otras razones.

Autorización para uso de las muestras y datos obtenidos en este estudio
Se le solicita la autorización al participante para que las muestras y datos obtenidos en esta investigación, puedan ser utilizados en otros estudios.

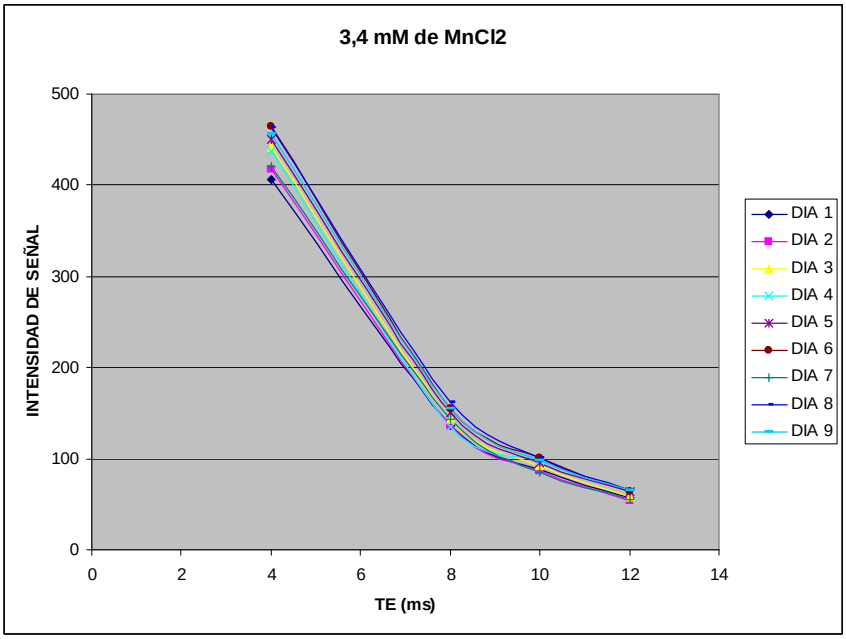
Aceptación
Usted recibirá una copia de este consentimiento informado que está firmando; aquí encontrará la información que le permita contactar a los investigadores y su equipo de trabajo para cualquier inquietud. Yo he leído la información suministrada arriba, y **VOLUNTARIAMENTE CONSIENTO** en participar en el estudio y permito a los investigadores usar la información obtenida del método.

SU FIRMA INDICA QUE USTED HA DECIDIDO PARTICIPAR VOLUNTARIAMENTE EN ESTE ESTUDIO HABIENDO LEIDO (O ESCUCHADO) LA INFORMACIÓN ANTERIOR.

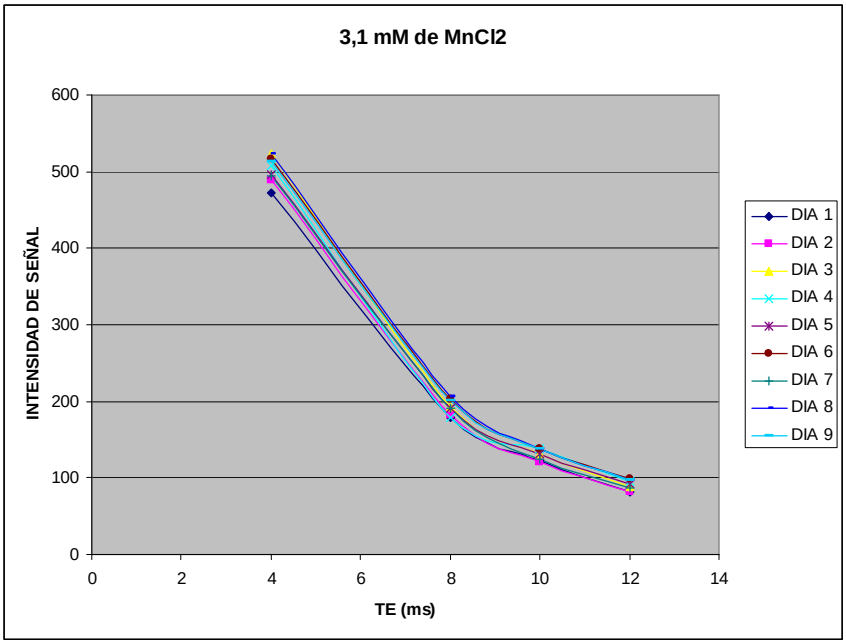
	Nombre completo	**Lugar y fecha**	**Firma**	**Parentesco con el paciente**
Paciente o participante DNI.				
Testigo (acompañante o familiar) DNI.				
Médico Responsable				
Físico Responsable				

Anexo B: Curvas de IS en función del TE.

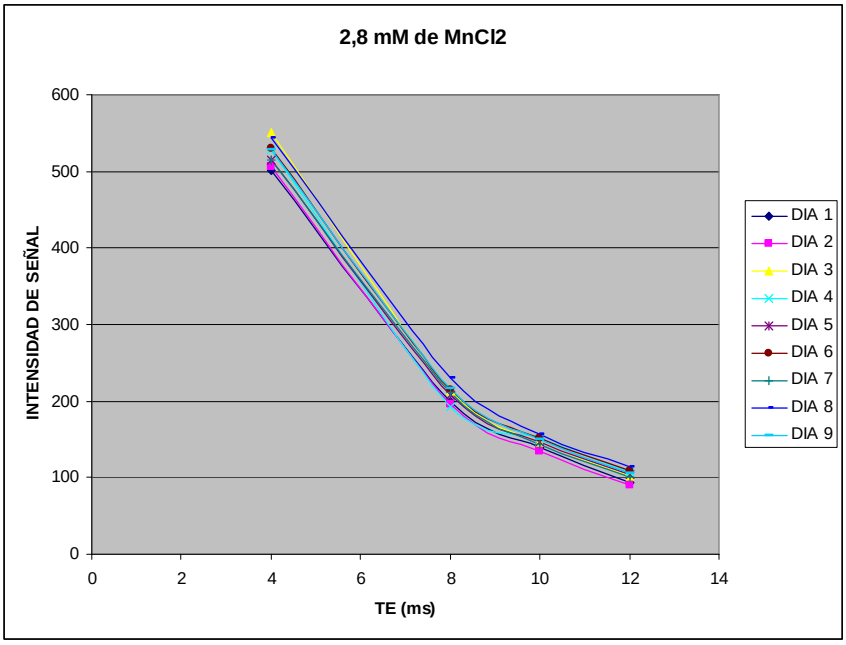
Las curvas que relacionan las IS y los TE de las diferentes concentraciones de $MnCl_2$ para los nueve días usados para medir la reproducibilidad de la técnica, se muestran a continuación.



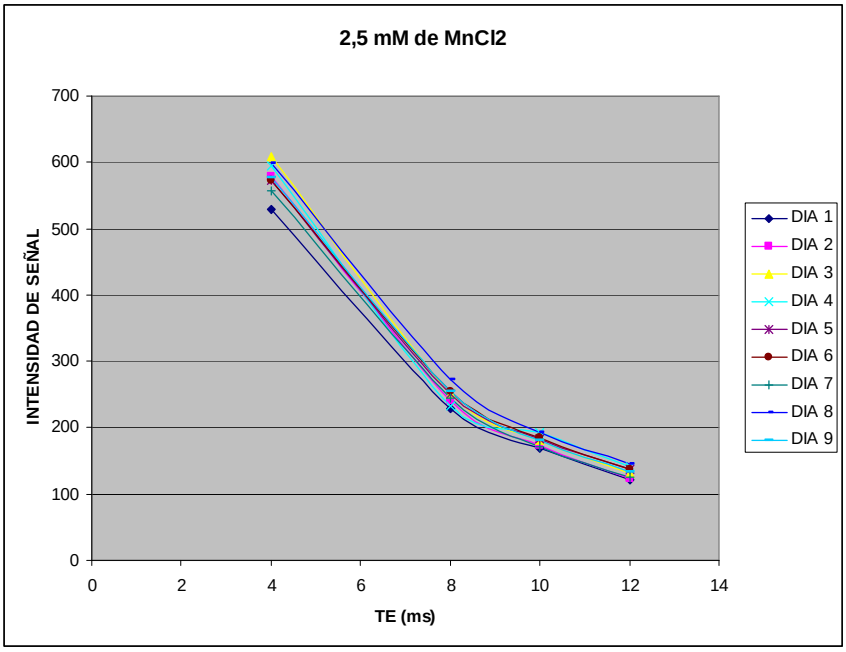
(a)



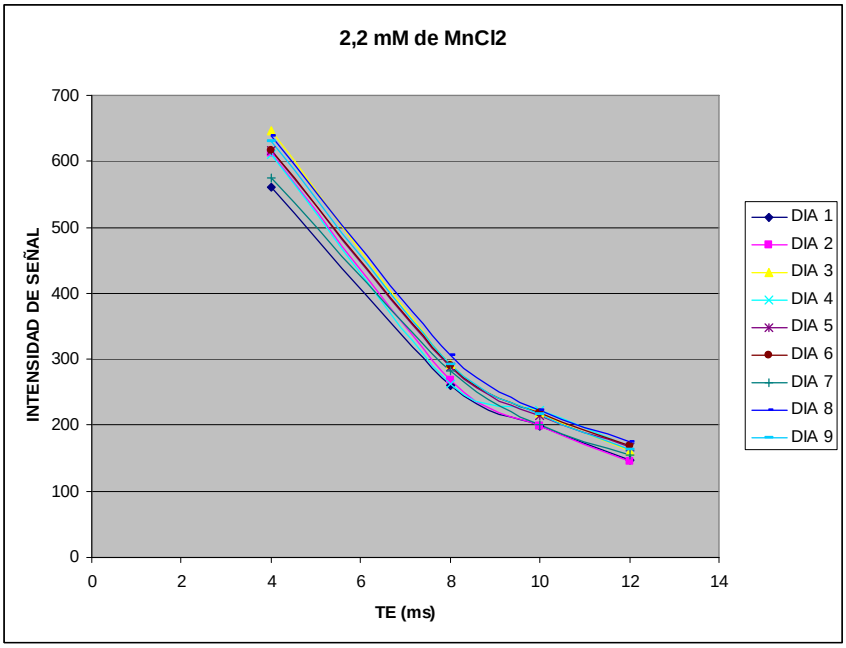
(b)


2,8 mM de MnCl2
INTENSIDAD DE SEÑAL
TE (ms)
0
100
200
300
400
500
600
0
2
4
6
8
10
12
14
DIA 1
DIA 2
DIA 3
DIA 4
DIA 5
DIA 6
DIA 7
DIA 8
DIA 9

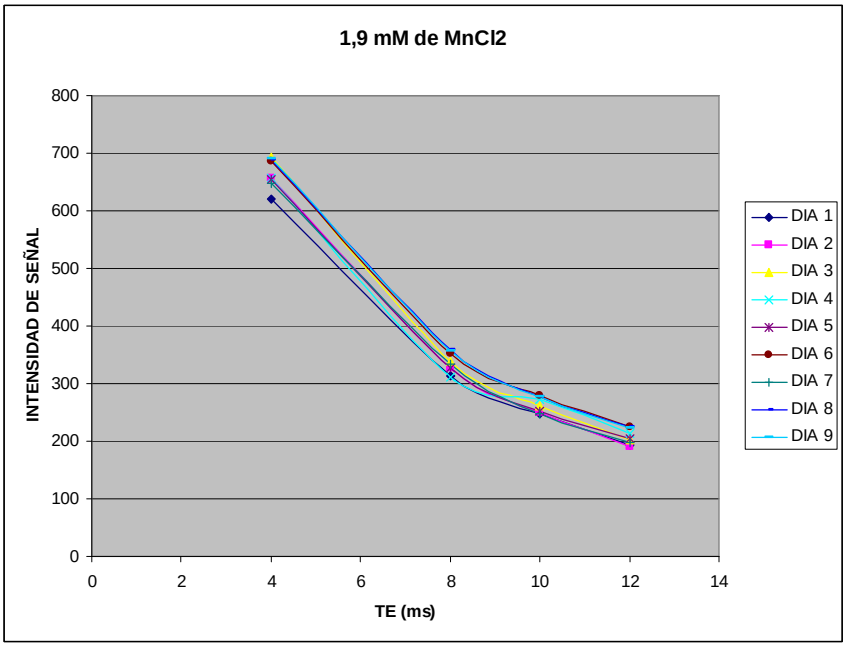
(c)


2,5 mM de MnCl2
INTENSIDAD DE SEÑAL
TE (ms)
0
100
200
300
400
500
600
700
0
2
4
6
8
10
12
14
DIA 1
DIA 2
DIA 3
DIA 4
DIA 5
DIA 6
DIA 7
DIA 8
DIA 9

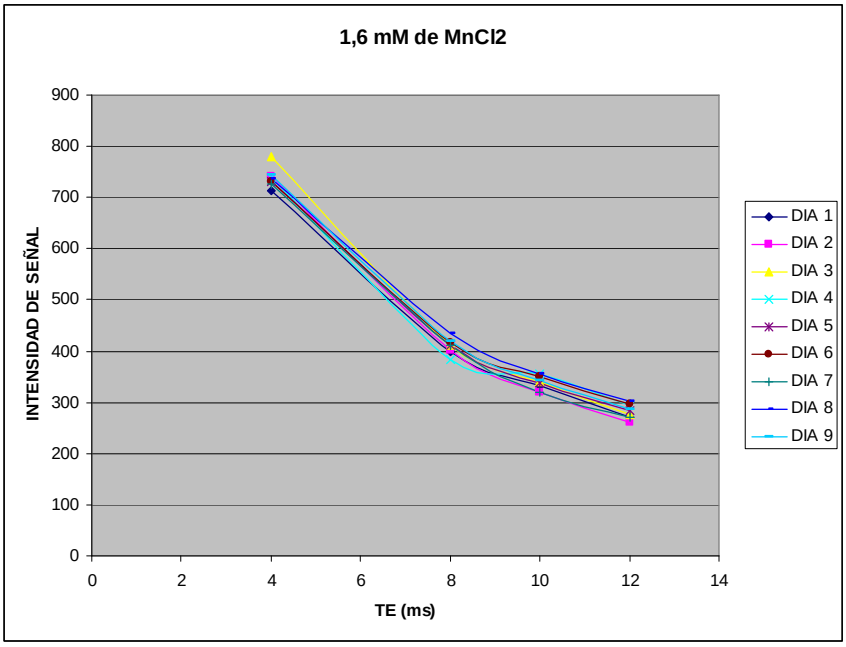
(d)


2,2 mM de MnCl2
INTENSIDAD DE SEÑAL
TE (ms)
0
100
200
300
400
500
600
700
0
2
4
6
8
10
12
14
DIA 1
DIA 2
DIA 3
DIA 4
DIA 5
DIA 6
DIA 7
DIA 8
DIA 9

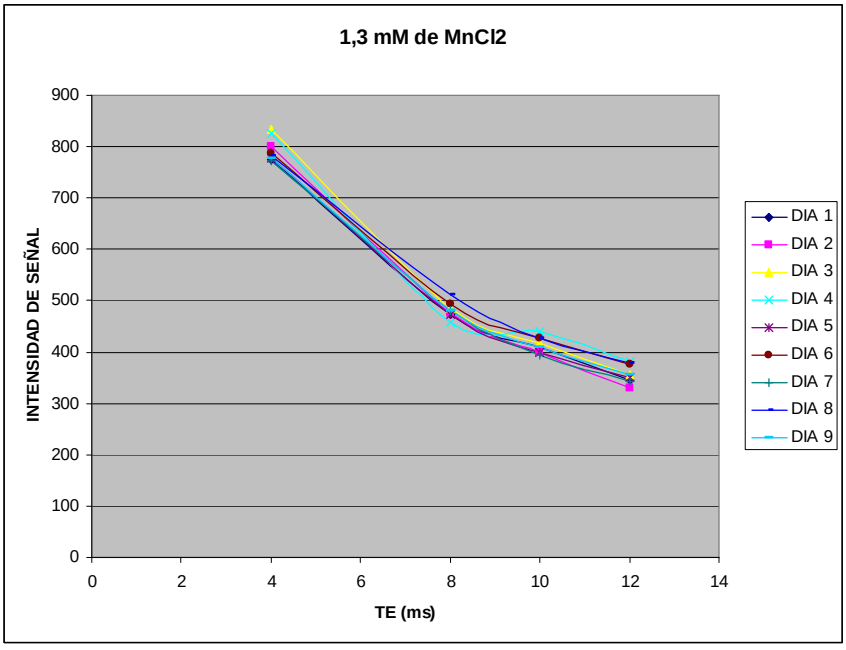
(e)


1,9 mM de MnCl2
INTENSIDAD DE SEÑAL
TE (ms)
0
100
200
300
400
500
600
700
800
0
2
4
6
8
10
12
14
DIA 1
DIA 2
DIA 3
DIA 4
DIA 5
DIA 6
DIA 7
DIA 8
DIA 9

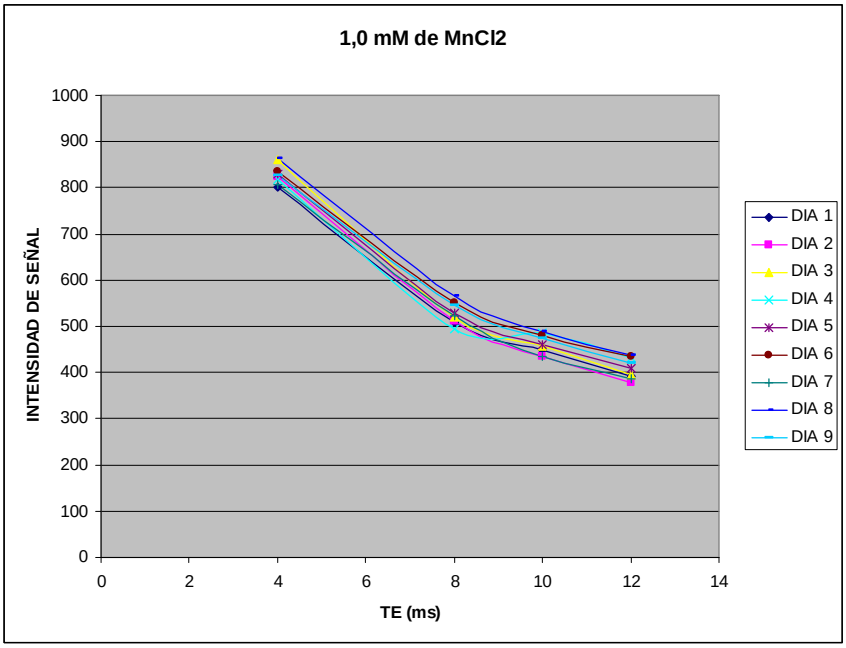
(f)


1,6 mM de MnCl2
INTENSIDAD DE SEÑAL
TE (ms)
DIA 1
DIA 2
DIA 3
DIA 4
DIA 5
DIA 6
DIA 7
DIA 8
DIA 9

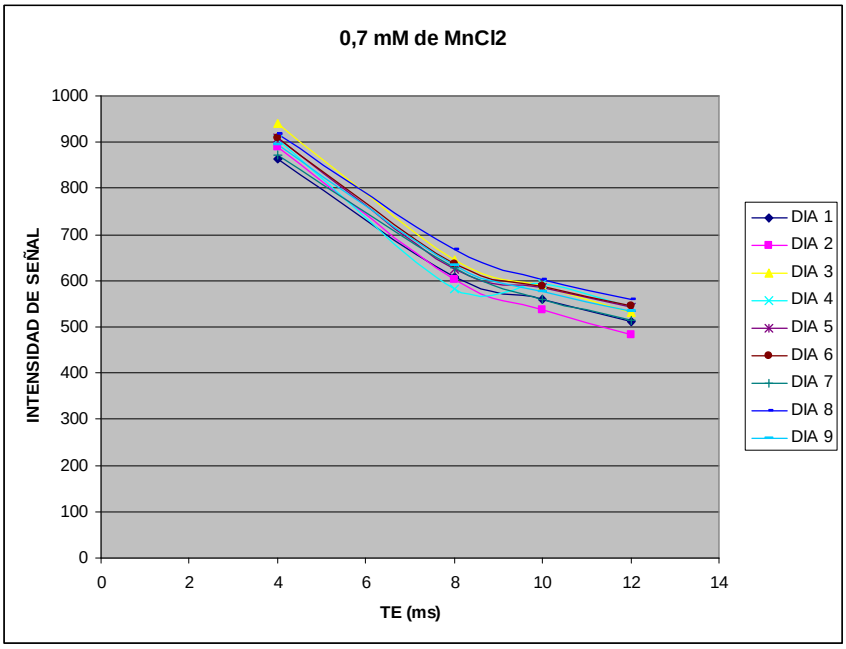
(g)


1,3 mM de MnCl2
INTENSIDAD DE SEÑAL
TE (ms)
DIA 1
DIA 2
DIA 3
DIA 4
DIA 5
DIA 6
DIA 7
DIA 8
DIA 9

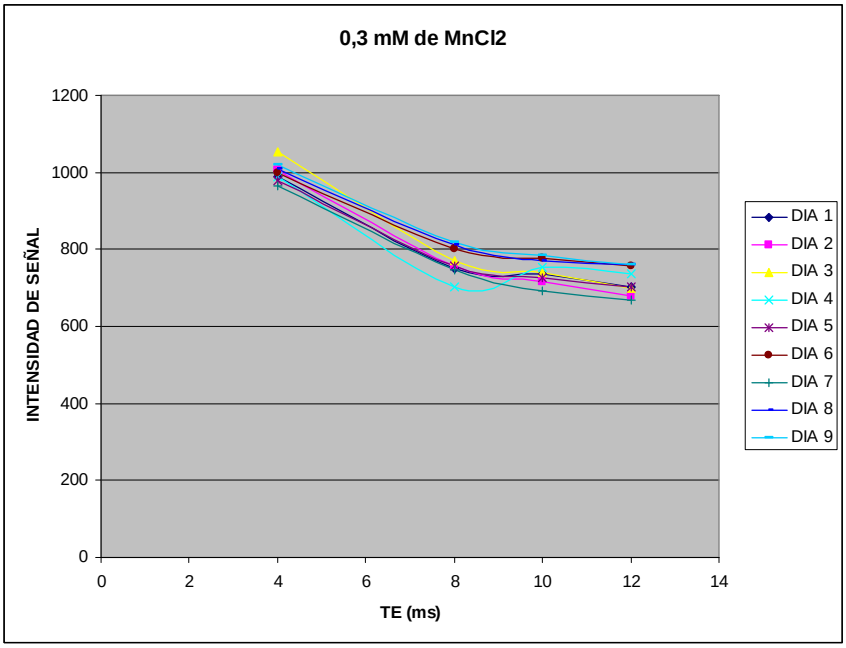
(h)


1,0 mM de MnCl2
INTENSIDAD DE SEÑAL
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
0
2
4
6
8
10
12
14
TE (ms)
DIA 1
DIA 2
DIA 3
DIA 4
DIA 5
DIA 6
DIA 7
DIA 8
DIA 9

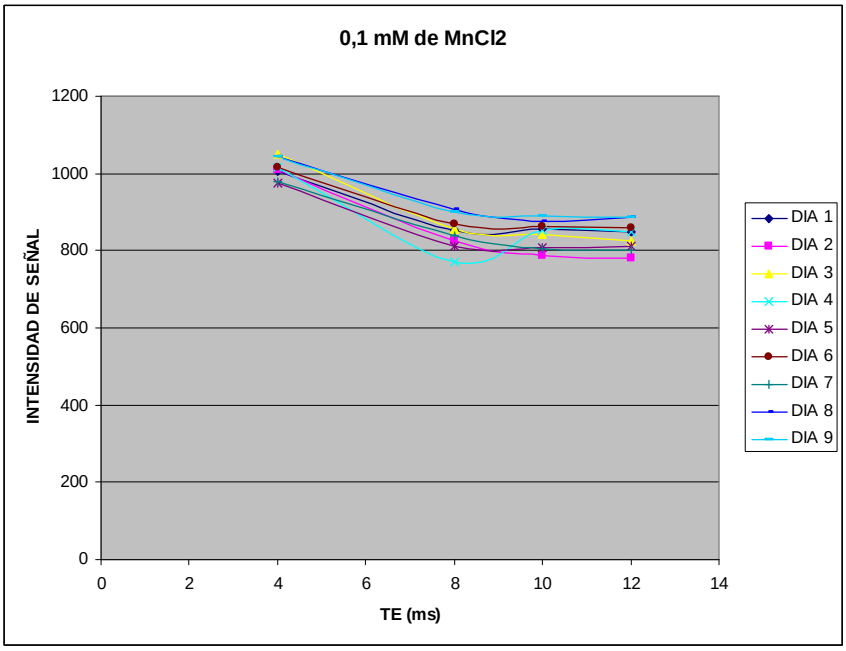
(i)


0,7 mM de MnCl2
INTENSIDAD DE SEÑAL
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
0
2
4
6
8
10
12
14
TE (ms)
DIA 1
DIA 2
DIA 3
DIA 4
DIA 5
DIA 6
DIA 7
DIA 8
DIA 9

(j)



(k)



(l)

Figura B.1 – Curvas de IS vs. TE para diferentes concentraciones de una solución de $MnCl_2.H_2O$. (a) 3.4 mmol); (b) 3.1 mmol; (c) 2.8 mmol; ; (d) 2.5 mmol; (e) 2.2 mmol; (f) 1.9 mmol; (g) 1.6 mmol; (h) 1.3 mmol; (i) 1.0 mmol; (j) 0.7 mmol; (k) 0.4 mmol; (l) 0.1 mmol.

Agradecimientos

A mis padres por haberme enseñado el sentido de la responsabilidad y la constancia, y por forjar en mí los valores más apreciables para la vida.

A mis compañeros y amigos de la Maestría: Gaby, Daniel, Clarence y Pablo, que fueron como mi familia durante este tiempo.

A mis compañeros y amigos del Servicio de Resonancia Magnética de Alto Campo de la Fundación Escuela de Medicina Nuclear (FUESMEN), Verónica, Andrés, Cecilia, Macarena, Silvia, Soraya, Maxi y Gaby, por haberme transmitido todos sus valiosos conocimientos en imágenes de resonancia magnética y haberme dado el espacio y tiempo necesarios para el desarrollo del proyecto, además de su invaluable amistad durante mi estadía en Mendoza, llevándome los mejores recuerdos.

A Sergio Mosconi como profesor y director de tesis, por estar siempre dispuesto durante el desarrollo de la tesis, por transmitirme sus experiencias en el tema y por compartir sus puntos de vista y escuchar los míos.

A Federico González Nicolini por su valiosa ayuda en el desarrollo del trabajo y sus valiosos comentarios.

A Pablo Ariza por colaborar y confiar en la importancia de la tesis.

A los técnicos del Laboratorio de Radiofarmacia y Ciclotrón de la Fundación Escuela de Medicina Nuclear (FUESMEN), Fernando y Jorge, así como el Jefe del Servicio Sergio Baigorria por su importante colaboración en la preparación de las soluciones.

A María Laura y Natalia, del Laboratorio Clínico de la Fundación Escuela de Medicina Nuclear (FUESMEN) por su gran ayuda en la toma de muestras, así como sus valiosos comentarios.

A la Comisión Nacional de Energía Atómica, al Instituto Balseiro y la Fundación Escuela de Medicina Nuclear por otorgarme el privilegio de ampliar mis conocimientos tecnológicos e interdisciplinarios.