

Manipulando os *spins* nucleares por ressonância magnética para obter imagens da perfusão cerebral

Patrícia Figueiredo

Instituto de Sistemas e Robótica, Instituto Superior Técnico
Av. Rovisco Pais 1049-001 Lisboa

A perfusão sanguínea é um dos parâmetros fisiológicos de maior importância na avaliação da função cerebral. Por essa razão, têm-lhe sido dedicadas múltiplas técnicas de medição, tanto no contexto de experimentação laboratorial como no âmbito das aplicações clínicas. A imagiologia por ressonância magnética nuclear oferece a possibilidade de obter medidas quantitativas da perfusão cerebral, sem recurso à administração de meios de contraste e portanto de forma completamente não-invasiva. Os *spins* dos núcleos de hidrogénio das moléculas de água são manipulados por meio da excitação com impulsos de rádio-frequência, de modo a produzir um marcador endógeno do fluxo sanguíneo. Com esta técnica, hoje é possível obter imagens detalhadas da perfusão sanguínea no cérebro humano, com grande utilidade não só a nível da investigação científica mas também no diagnóstico médico.

Origens históricas

Em 1945 surgiam simultânea e independentemente os dois trabalhos científicos pioneiros que estiveram na origem do posterior desenvolvimento das técnicas de medição da perfusão cerebral por imagem de ressonância magnética. Enquanto Kety e Schmidt efectuavam as primeiras medições do fluxo sanguíneo do cérebro humano, Purcell e Bloch descobriam o fenómeno da ressonância magnética nuclear (RMN) que está na base da imagiologia por ressonância magnética (RM).

Na reunião anual da Federation of American Societies for Experimental Biology em 1944, foi amplamente discutida a dificuldade recorrente da inexistência até então de uma técnica para a medição do fluxo sanguíneo cerebral em doentes não anestesiados [1]. Em resposta a este desafio, Kety e Schmidt inventaram um método baseado na inalação de uma baixa concentração do gás inerte óxido nitroso (N_2O) seguida da amostragem da sua concentração no sangue arterial e venoso [2]. A ideia assentava no já então

conhecido princípio de Fick, segundo o qual a taxa a que um gás inerte como o N_2O é absorvido pelo tecido cerebral é igual à taxa a que este lhe é distribuído pela circulação arterial menos a taxa a que lhe é retirado pela circulação venosa. A constante de tempo para atingir o equilíbrio entre os vários compartimentos (arterial, tecidual e venoso) é então dada pela razão entre o volume de distribuição do gás (ou seja, o cérebro todo) e a taxa a que este é distribuído (ou seja, o fluxo sanguíneo cerebral total) (ver Fig. 1). Foram assim obtidas as primeiras medidas quantitativas do fluxo sanguíneo do cérebro humano.

São estes os princípios fundamentais da cinética de marcadores diluídos no sangue (ilustrados na Fig. 1) nos quais se baseiam, mais ou menos directamente, todas as técnicas actualmente utilizadas para a medição da perfusão cerebral. Todas elas recorrem à utilização de um marcador da perfusão sanguínea

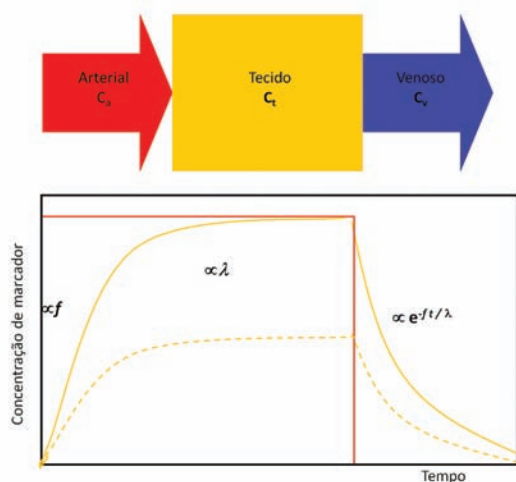


Fig. 1 - Princípios da cinética de marcadores diluídos no sangue.

A evolução temporal da concentração do marcador (baixo) é descrita com base num modelo de compartimentos (arterial, tecido e venoso) (cima), em função da perfusão, f , e do coeficiente de partição do marcador entre o sangue e os tecidos, λ , o qual corresponde ao volume de distribuição do marcador.

que é diluído no sangue e cuja concentração é medida por meio de algum sistema de detecção apropriado. Desde as experiências pioneiras de Kety e Schmidt, foram muitos os desenvolvimentos destas técnicas, mas talvez o mais importante tenha sido aquele que levou à utilização de métodos imagiológicos que permitissem a medição da perfusão nas várias regiões do cérebro. Entre estes encontram-se as técnicas da medicina nuclear de tomografia por emissão de positão (*Positron Emission Tomography*, PET) e tomografia por emissão de fóton único (*Single Photon Emission Tomography*, SPECT), com as quais é possível medir a concentração da água marcada radioativamente [3,4]. Mais recentemente, o espantoso progresso da imagiologia por RM conduziu ao aparecimento de duas novas técnicas de imagem da perfusão sanguínea: uma recorrendo à administração de um agente de contraste paramagnético e outra, completamente não-invasiva, por meio da utilização de um marcador endógeno.

Na origem da imagiologia por RM está o fenómeno descoberto de modo independente por Felix Bloch e Henry Purcell em 1945 [5,6]. Conduzindo experiências diferentes, ambos observaram que os núcleos de hidrogénio absorviam e re-emitem energia na gama das rádio-frequências (RF) quando expostos a um campo magnético com uma intensidade relacionada com a frequência da radiação de acordo com a equação anteriormente demonstrada por Sir Joseph Larmor ($\omega_L = \gamma B$, onde γ é a razão giromagnética do núcleo). O fenómeno de RMN é observado para todos os núcleos exibindo a propriedade quântica de *spin* (que, por isso, são frequentemente designados como *spins* por simplicidade) e os físicos perceberam imediatamente que o processo de relaxação dos núcleos excitados para o seu estado fundamental fornecia um mecanismo com grande

A imagiologia médica por RM baseia-se essencialmente na interacção de Zeeman dos momentos magnéticos dipolares dos núcleos de hidrogénio das moléculas de água (que existem em abundância nos tecidos biológicos) com um campo magnético aplicado muito intenso (tipicamente ~1-3 Tesla, gerado por um magnete super-condutor). Como resultado do seu número quântico de spin $\frac{1}{2}$, estes núcleos são polarizados entre dois níveis energéticos e é assim gerada uma magnetização macroscópica cuja amplitude correspondente à diferença entre as duas populações (determinada pela distribuição de Boltzmann). Quando excitados por energia da frequência apropriada (gerada por uma bobine de rádio-frequência colocado junto do corpo), os spins de menor energia transitam para o nível de maior energia levando a uma redução da magnetização. A magnetização de equilíbrio é reposta pelo retorno ao estado fundamental, o qual se processa através de dois tipos de mecanismos distintos: a relaxação spin-rede, por meio de interacções com o meio, com uma constante de tempo T_1 ; e a relaxação spin-spin, por meio da interacção entre spins, com uma constante de tempo T_2 .

potencial para medir a interacção dos núcleos com o meio circundante. Designadamente, as constantes de tempo de relaxação associadas às interacções spin-rede, T_1 , e spin-spin, T_2 , reflectem características importantes da amostra. Surgiram rapidamente aplicações ao estudo da estrutura química da matéria por meio de espectroscopia, mas foi apenas em 1973 que Paul Lauterbur obteve as primeiras imagens de RM aplicando gradientes espaciais ao campo magnético para codificar a posição dos núcleos através das suas frequências de ressonância [7].

Desde a sua descoberta, a técnica de imagem por RM não tem parado de se multiplicar nas mais variadas vertentes e aplicações, não só no diagnóstico médico mas também em várias áreas de investigação científica. Uma das suas características mais interessantes é provavelmente a enorme versatilidade no contraste das imagens que se conseguem obter [8]. De facto, a magnetização total da amostra que é medida em cada instante pode ser manipulada por meio da aplicação de impulsos de rádio-frequência com a potência e forma adequadas, de modo a produzir imagens ponderadas em parâmetros como a densidade protónica ou as constantes de tempo de relaxação T_1 e T_2 . Para além disso, são também conseguidas modificações do contraste das imagens como resultado de pequenas perturbações do campo magnético aplicado, nomeadamente através da administração de agentes de contraste paramagnéticos, as quais se traduzem em constantes de tempo de relaxação spin-spin, T_2^* , mais curtas.

A técnica de contraste de susceptibilidade dinâmica (DSC)

A primeira técnica desenvolvida para a medição da perfusão cerebral por RM baseia-se precisamente na monitorização, através de imagens rápidas, da passagem pelos tecidos de um bolo de substância paramagnética introduzido na circulação [9]. Os únicos agentes de contraste até agora

aprovados para aplicações médicas são compostos que integram o íon metálico paramagnético gadolínio (Gd). Devido à toxicidade da sua forma iônica, o Gd é usado como um quelato, ou seja, é integrado em moléculas orgânicas grandes formando um complexo ligante estável ao seu redor. Como consequência, estes agentes de contraste paramagnéticos não são capazes de atravessar a barreira hemato-encefálica e permanecem no espaço intra-vascular. A sua presença nos vasos sanguíneos conduz então a uma redução do sinal ponderado em T_2^* , por efeitos ditos de susceptibilidade magnética, pelo que este tipo de imagem é conhecida como contraste de susceptibilidade dinâmico (*Dynamic Susceptibility Contrast, DSC*).

Os compostos paramagnéticos utilizados em DSC constituem um tipo de marcador fundamentalmente diferente dos até aqui referidos, no que diz respeito à sua distribuição no cérebro. De facto, o marcador original utilizado por Kety e Schmidt, o gás inerte N_2O , é livremente difusível do compartimento vascular para o compartimento dos tecidos, pelo que o seu volume de distribuição é o cérebro todo. No entanto, como os marcadores paramagnéticos permanecem sempre no espaço intra-vascular por não poderem atravessar a barreira hemato-encefálica, o seu volume de distribuição fica limitado ao volume sanguíneo cerebral. Esta diferença leva a que, com base na teoria da cinética dos marcadores diluídos no sangue, a técnica de DSC seja considerada mais adequada para a medição do volume do que da perfusão sanguínea do cérebro [10]. De qualquer forma, a utilização de marcadores paramagnéticos está bem estabelecida na prática clínica e os neurorradiologistas extraem informação útil a partir dos dados de DSC, ainda que esta não seja rigorosamente quantitativa.

A técnica de marcação dos spins arteriais (ASL)

Entre 1992 e 1995 surgiram as primeiras demonstrações da possibilidade de obter imagens de perfusão por RM baseadas na marcação das moléculas de água no sangue arterial por meio da aplicação de campos RF apropriados (*Arterial Spin Labeling, ASL*) [11,12]. O efeito destes campos RF é saturar (anular) ou inverter a magnetização das moléculas de água (ver Fig. 2). Após um tempo de trânsito na circulação arterial, estas moléculas chegam às redes de capilares que irrigam o tecido cerebral e são transferidas do compartimento vascular para o do tecido. Uma imagem é então recolhida num certo instante após a marcação (tempo de inversão) e a magnetização medida é comparada com a que é medida na ausência de marcação (imagem de controlo). Para certos tempos de inversão, a diferença de magnetização é essencialmente proporcional à perfusão sanguínea local, pelo que é possível obter um imagem ponderada na perfusão a partir da simples subtração de uma imagem controlo a uma imagem marcada (Fig. 2).

A diferença de magnetização entre a imagem de controlo e a imagem marcada está relacionada com a perfusão sanguínea local, bem como com o tempo de trânsito arterial, através dum modelo da cinética de marcadores diluídos no sangue [13]. É portanto possível obter medidas quantitati-

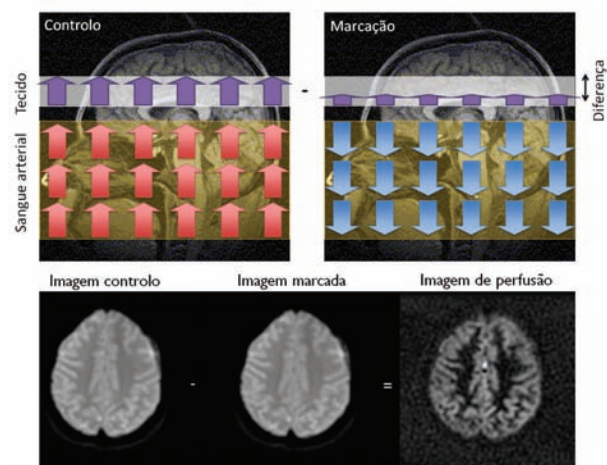


Fig. 2 - Princípios da técnica de Arterial Spin Labeling (ASL). Os spins das moléculas de água do sangue arterial são marcados por inversão da sua magnetização (cima, direita) e a magnetização total medida nos tecidos é subtraída à magnetização medida numa imagem de controlo (cima, esquerda). O resultado é uma imagem ponderada na perfusão sanguínea cerebral (baixo), com uma resolução de $\sim 4 \times 4 \times 4 \text{ mm}^3$.

vas da perfusão sanguínea e do tempo de trânsito arterial a partir da estimação deste modelo, se forem adquiridos dados de ASL em múltiplos tempos de inversão (Fig. 3) [14]. Vários métodos de aquisição e análise dos dados têm sido propostos no sentido de

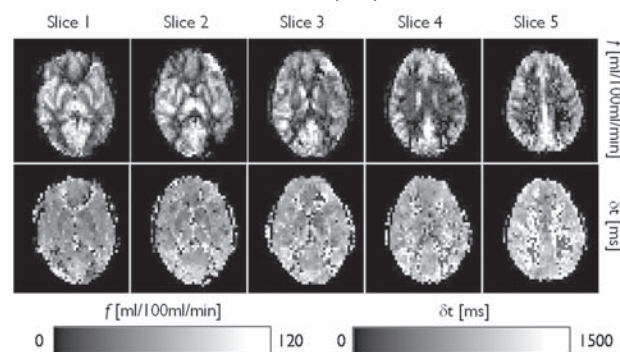


Fig. 3 - Mapas quantitativos de perfusão e tempo de trânsito arterial por ASL.

Mapas quantitativos de perfusão e tempo de trânsito arterial obtidos a partir da modelação cinética de dados de ASL adquiridos a múltiplos tempos de inversão, para 5 cortes representativos de um indivíduo saudável [14].

melhorar a qualidade dos mapas de perfusão que se conseguem obter [15]. Em particular, no nosso grupo no IST estamos interessados na utilização de métodos Bayesianos que incorporam informação a priori acerca dos valores fisiológicos dos parâmetros biofísicos, bem como da sua distribuição espacial, para otimizar a escolha dos tempos de aquisição, assim como a estimação dos parâmetros dos modelos cinéticos em cada pixel (Fig. 4) [16,17].

Aplicações

A medição da perfusão sanguínea por técnicas imagiológicas constitui um elemento de grande valor no diagnóstico e monitorização de doenças cerebrovasculares, nomeadamente acidentes vasculares

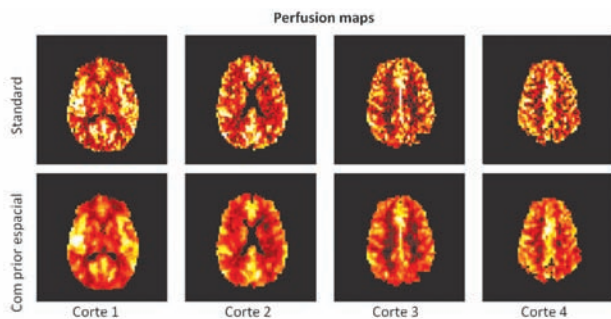


Fig. 4 - Optimação da estimação de modelos cinéticos em ASL. Mapas de perfusão obtidos a partir da modelação cinética de dados de ASL adquiridos a múltiplos tempos de inversão, num sistema Siemens Verio de 3 Tesla (Hospital da Luz), para quatro cortes representativos de um indivíduo saudável, usando um método de estimação Bayesiano, incluindo informação *a priori* sobre os parâmetros fisiológicos apenas (cima) e informação *a priori* sobre a variação espacial (baixo) [16]. É visível a melhoria na qualidade dos mapas de perfusão quando é incorporada a informação espacial [17].

cerebrais, tumores cerebrais, epilepsia, demência, enxaqueca, entre outras patologias neurológicas e psiquiátricas [18].

Para além das múltiplas aplicações ao estudo da perfusão sanguínea cerebral de base, a técnica de ASL tem também recebido muita atenção como potencial medida indirecta da actividade neuronal e, logo, como mecanismo de contraste para a obtenção de imagens funcionais do cérebro (*functional Magnetic Resonance Imaging, fMRI*) [10]. De facto, desde o seu aparecimento em 1992 que foram detectadas, por meio da marcação de spins arteriais, alterações da perfusão sanguínea do córtex visual em resposta a estímulos visuais [19]. Relativamente à técnica mais comum de fMRI, que usa um contraste devido à oxigenação sanguínea (*Blood Oxygen Level Dependent, BOLD*), a técnica de ASL apresenta algumas vantagens importantes. Nomeadamente, verificamos já que o seu carácter quantitativo permite obter medidas mais reproduzíveis da activação cerebral [20]. Por outro lado, mostramos recentemente num trabalho de colaboração com o Departamento de Imagiologia do Hospital da Luz que as áreas de activação identificadas por ASL fornecem a melhor localização da activação cerebral relativamente a marcos bem conhecidos das zonas anatómicas envolvidas (Fig. 5) [21], o que se deve ao enviesamento do sinal BOLD para o compartimento venoso já anteriormente observado [20].

Nas doenças cerebro-vasculares, há especial interesse no estudo da reactividade cerebro-vascular, definida como a capacidade de vaso-dilatação ou vaso-constricção, e consequentes aumentos ou reduções da perfusão sanguínea, em resposta a determinados estímulos. Para tal, têm sido utilizados diferentes tipos de desafios com o objectivo de testar os limites desta capacidade, nomeadamente através da inalação de concentrações relativamente elevadas de dióxido de carbono (CO_2) (cujos efeitos vaso-dilatadores são bem conhecidos) ou da execu-

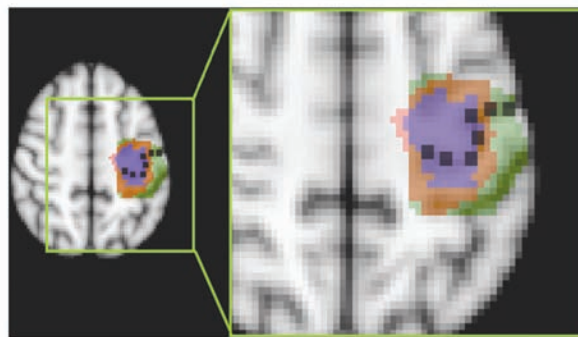


Fig. 5 - Imagem funcional de actividade motora por contraste ASL e BOLD.

Mapas de activação em resposta ao movimento da mão direita, obtidos num sistema Siemens Verio de 3 Tesla (Hospital da Luz), usando os contrastes ASL (azul), BOLD simultâneo com ASL (vermelho) e BOLD optimizado (verde), num grupo de 15 indivíduos saudáveis, comparados com a localização anatómica da área cortical motora primária (pontado, preto) [21].

ção de períodos de apneia (que conduzem na prática ao aumento da concentração sanguínea de CO_2). A dificuldade de execução de apneias suficientemente prolongadas e o desconforto associado à inalação de concentrações elevadas de CO_2 levaram-nos a investigar a possibilidade de, alternativamente, obter medidas de vaso-reatividade a partir da execução de períodos de hiper-ventilação controlada (Fig. 6) [22]. Em particular, procuramos otimizar o paradigma de modo a que seja possível obter medidas de reactividade cerebro-vascular, não só com a técnica BOLD mas também

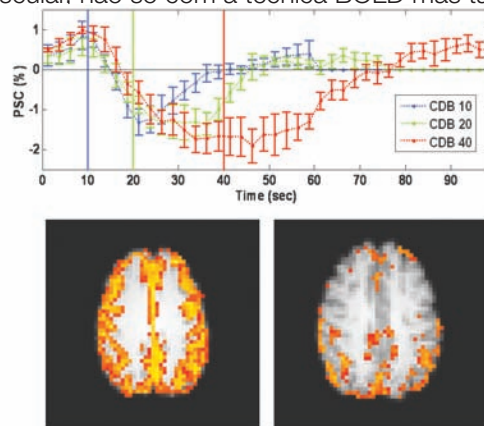


Fig. 6 - Avaliação da vasoreactividade por meio de fMRI.

Respostas médias (em termos de *Percent Signal Change, PSC*) a hiper-ventilação controlada (*Cued Deep Breathing, CDB*) durante períodos de 10, 20 e 40 s (cima) e respectivos mapas de vaso-reatividade obtidos por BOLD (esquerda) e por ASL (direita) a 40 s (baixo), obtidos para um indivíduo saudável num sistema Siemens Verio de 3 Tesla (Hospital da Luz) (Sousa et al., submetido).

com ASL. De facto, as medidas através do contraste BOLD têm sido mais comumente utilizadas para este fim devido à superior razão sinal-ruído, mas apresentam a desvantagem de serem indirectas e sujeitas à influência de outros factores fisiológicos difíceis de controlar. Os nossos resultados mostram que o método de hiper-ventilação controlada pode de facto ser optimizado no sentido de fornecer medições úteis da vaso-reatividade cerebral em termos de perfusão.

Desenvolvimentos futuros

A técnica de ASL apresenta um enorme potencial para

a obtenção de mapas de perfusão quantitativos de forma completamente não-invasiva, mas começa apenas agora a entrar na prática clínica. De facto, a obtenção de imagens por ASL requer sequências de aquisição especialmente desenvolvidas para o efeito e equipamentos de elevado campo magnético que assegurem a sensibilidade necessária, sendo ainda preciso resolver vários problemas metodológicos. A grande dificuldade da técnica ASL reside essencialmente no facto de apresentar uma razão sinal-ruído intrinsecamente muito baixa, a qual, aliada à complexidade dos modelos cinéticos do sinal medido, faz dela um dos grandes desafios actuais da imagiologia por RM. O recente aparecimento de sequências de ASL disponíveis comercialmente, bem como o número crescente de estudos relatando diversas aplicações da técnica, leva a crer que em breve esta se poderá estabelecer definitivamente, não só na prática clínica mas também como ferramenta de grande importância na investigação básica em Neurociências.

Agradecimentos:

Apoio financeiro pela FCT, através do Projecto PTDC/SAU-BEB/65977/2006 e do financiamento plurianual do ISR/IST, e apoio logístico do Departamento de Imagiologia do Hospital da Luz.



Patrícia Figueiredo

Patrícia Figueiredo licenciou-se em Engenharia Física Tecnológica pelo Instituto Superior Técnico em 1996 e completou depois a pós-graduação em Biofísica e Engenharia Biomédica da Universidade de Lisboa. Doutorou-se em 2003 na

área da Neuroimagiologia pela

Universidade de Oxford, onde se especializou em imagem funcional por ressonância magnética. Após ter leccionado como Professora Convidada na Universidade de Thammasat na Tailândia, regressou a Portugal como investigadora de pós-doutoramento na Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra em 2004. É desde Maio de 2007 Professora Auxiliar no Instituto Superior Técnico, onde exerce a sua actividade na área da Engenharia Biomédica. É actualmente investigadora do Instituto de Sistemas e Robótica de Lisboa, focando o seu trabalho no desenvolvimento e aplicação das técnicas de neuroimagem funcional, área em que lidera actualmente vários projectos científicos.

1. Traystman RJ, "The paper that completely altered our thinking about cerebral blood flow measurement", *J. Appl. Physiol.* 97(5), 1601-1602 (2004).
2. Kety SS e Schmidt CF, "The determination of cerebral blood flow in man by the use of nitrous oxide in low concentrations", *Am. J. Physiol.* 143, 53-66 (1945).
3. Herscovitch P, Markham J, Raichle ME, "Brain blood flow measured with intravenous H₂(15)O. I. Theory and error analysis", *J. Nucl. Med.* 24(9), 782-789 (1983).
4. Raichle ME, Martin WR, Herscovitch P, Mintun MA, Markham J, "Brain blood flow measured with intravenous H₂(15)O. II. Implementation and validation", *J. Nucl. Med.* 24(9), 790-798 (1983).
5. Bloch F, Hansen WW, Packard M, "Nuclear Induction", *Phys. Rev.* 69, 127 (1946).
6. Purcell EM, Torrey HC, Pound RV, "Resonance Absorption by Nuclear Magnetic Moments in a Solid", *Phys. Rev.* 69, 37 (1946).
7. Lauterbur, PC "Image Formation by Induced Local Interactions: Examples Employing Nuclear Magnetic Resonance", *Nature* 242, 190-191 (1973).
8. Haacke EM, Robert WB, Michael RT, Ramesh V, "Magnetic Resonance Imaging: Physical Principles and Sequence Design", Wiley (1999).
9. Rosen BR, Belliveau JW, Vevea JM, Brady TJ, "Perfusion imaging with NMR contrast agents", *Magn. Reson. Med.* 14(2), 249-265 (1990).
10. Buxton RB, "Introduction to Functional Magnetic Resonance Imaging: Principles and Techniques", Cambridge University Press (2001).
11. Williams DS, Detre JA, Leigh JS, Koretsky AP, "Magnetic resonance imaging of perfusion using spin inversion of arterial water", *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 89(1), 212-216 (1992).
12. Kwong KK, Chesler DA, Weisskoff RM, Donahue KM, Davis TL, Ostergaard L, Campbell TA, Rosen BR, "MR perfusion studies with T1-weighted echo planar imaging", *Magn. Reson. Med.* 34(6), 878-887 (1995).
13. Buxton RB, Frank LR, Wong EC, Siewert B, Warach S, Edelman RR, "A general kinetic model for quantitative perfusion imaging with arterial spin labeling", *Magn. Reson. Med.* 40(3), 383-396 (1998).
14. Figueiredo P, Clare S, Jezard P, "Quantitative Perfusion Measurements using Pulsed Arterial Spin Labelling: Effects of Large ROI Analysis", *J. Magn. Reson. Imag.* 21, 676-682 (2005).
15. Petersen ET, Zimine I, Ho YC, Golay X, "Non-invasive measurement of perfusion: a critical review of arterial spin labelling techniques", *Br. J. Radiol.* 79(944), 688-701 (2006).
16. Santos N, Sanches JM, Figueiredo P, "Bayesian optimization of perfusion and transit time estimation in PASL-MRI", 32nd Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, Buenos Aires, Argentina (2010).
17. Santos N, Sanches JM, Figueiredo P, "A Total Variation spatial prior for perfusion and transit time estimation in PASL-MRI", 19th Annual Meeting of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine, May 2011, Montreal, Canada (submetido).
18. Detre JA, Wang Z, Rao H, "Arterial spin-labeled perfusion MRI in basic and clinical neuroscience", *Curr. Opin. Neurol.* 22(4), 348-55 (2009).
19. Kwong KK, Belliveau JW, Chesler DA, Goldberg IE, Weisskoff RM, Poncelet BP, Kennedy DN, Hoppel BE, Cohen MS, Turner R, et al., "Dynamic magnetic resonance imaging of human brain activity during primary sensory stimulation" *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 89, 5675-5679 (1992).
20. Tjandra T, Brooks JCW, Figueiredo P, Wise R, Matthews PM, Tracey I, "Quantitative Assessment of the Reproducibility of Functional Activation measured with BOLD and MR Perfusion Imaging: Implications for Clinical Trial Design", *Neuroimage* 27(2), 393-401 (2005).
21. Pimentel M, Sousa I, Vilela P, Figueiredo P, "Localization of the hand motor area using BOLD and ASL fMRI", *Proc. 18th Annual Meeting of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, May 2010, Stockholm, Sweden (2010).
22. Sousa I, Vilela P, Figueiredo P, "Optimization of a Cued Deep Breathing paradigm for CBF and BOLD cerebrovascular reactivity measurements", 19th Annual Meeting of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine, May 2011, Montreal, Canadá (submetido).