



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA-IZTAPALAPA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA ELÉCTRICA

**ESTUDIO DE LA DESNUTRICIÓN EN MODELOS
ANIMALES APLICANDO TÉCNICAS DE
IMAGENOLÓGÍA POR RESONANCIA MAGNÉTICA
(IRM)**

TESIS QUE PRESENTA:

M. en C. RODRIGO ALFONSO MARTÍN SALAS

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS (INGENIERÍA BIOMÉDICA)

ASESOR:

DR. JOSÉ RAFAEL GODÍNEZ FERNÁNDEZ

COMITÉ EVALUADOR:

DR. ISMAEL JIMÉNEZ ESTRADA (PRESIDENTE)

DR. JOSÉ RAFAEL GODÍNEZ FERNÁNDEZ (SECRETARIO)

DRA. EDITH CORTÉS BARBERENA (VOCAL)

DRA. ANABEL JIMÉNEZ ANGUIANO (VOCAL)

DR. LUIS CONCHA LOYOLA (VOCAL)

This block contains several handwritten signatures in black ink, corresponding to the names listed in the 'COMITÉ EVALUADOR' section. The signatures are written over the printed names of the President, Secretary, and three vocal members.

México, D.F. Febrero 2016



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA-IZTAPALAPA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA ELÉCTRICA

**ESTUDIO DE LA DESNUTRICIÓN EN MODELOS
ANIMALES APLICANDO TÉCNICAS DE
IMAGENOLÓGÍA POR RESONANCIA MAGNÉTICA
(IRM)**

TESIS QUE PRESENTA:

M. en C. RODRIGO ALFONSO MARTÍN SALAS

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS (INGENIERÍA BIOMÉDICA)

ASESOR:

DR. JOSÉ RAFAEL GODÍNEZ FERNÁNDEZ

COMITÉ EVALUADOR:

DR. ISMAEL JIMÉNEZ ESTRADA (PRESIDENTE)

DR. JOSÉ RAFAEL GODÍNEZ FERNÁNDEZ (SECRETARIO)

DRA. EDITH CORTÉS BARBERENA (VOCAL)

DRA. ANABEL JIMÉNEZ ANGUIANO (VOCAL)

DR. LUIS CONCHA LOYOLA (VOCAL)

México, D.F. Febrero 2016

DEDICATORIA

A mis padres Fabiola y Francisco, ya que sin su apoyo a lo largo de mi vida no estaría en estos momentos en donde estoy. Gracias por todo, por mostrarme lo que es el amor incondicional y apoyarme en cada uno de mis proyectos.

A mi hermano, por ser siempre un aliciente en mi vida y mostrarme que cada vez que caemos, podemos pararnos y seguir con la frente en alto.

A mi abuelo, que sin duda siempre es y será un motor en mi vida.

A mis tíos (padres) y primos (hermanos) que me apoyan y sé que están ahí siempre conmigo.

A mis dos guías que me esperan en otro lado y sé que me siguen cuidando.



AGRADECIMIENTOS

Al Dr. José Rafael Godínez Fernández por el apoyo y los consejos que me ha dado a lo largo de estos años para que esto siguiera adelante.

Al Dr. Alfredo Rodríguez, primero por mostrarme lo maravilloso que es la Resonancia Magnética, pero sobre todo por la confianza y la gran amistad que se ha construido a lo largo de estos años.

A la Dra. Lucía Medina, por brindarme la oportunidad y la confianza para seguir adelante con mis sueños.

A mis amigos Fabián, Óscar, Sergio y César, por todo el apoyo a lo largo de este recorrido, por estar ahí en los momentos difíciles siempre apoyándonos los unos con los otros, gracias hermanos.

A los profesores que siempre estuvieron desde que inicié la Licenciatura en Ingeniería Biomédica, Alfonso Martínez, Miguel Ángel Peña, Martha Ortiz, Juan Carlos Echeverría, Raquel Valdés, Gerardo Urbina, Alejandro Guzmán, Sonia Charleston, Tomás Aljama, por mencionar a algunos, por guiarme y mostrarme lo que se puede hacer como un Ingeniero Biomédico íntegro, gracias a todos.

Al CONACyT por la beca otorgada de Doctorado.

A los sinodales: Dra. Anabel Jiménez Anguiano, Dra. Edith Cortés Barbarena, Dr. Ismael Jiménez Estrada, Dr. Luis Concha Loyola y Dr. José Rafael Godínez Fernández, por el tiempo y dedicación en la revisión de la presente tesis.

Y a todos aquellas personas que estuvieron y a los que están junto a mí impulsándome a ser mejor día a día.

ÍNDICE GENERAL

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	ii
ÍNDICE DE TABLAS	viii
RESUMEN	ix
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	xi
HIPÓTESIS	xi
OBJETIVO GENERAL	xi
OBJETIVOS PARTICULARES	xi
CAPÍTULO 1	
Introducción	1
1.1 Principios de Resonancia Magnética	2
1.1.2 Fenómeno de relajación	8
1.2 Formación y Adquisición de la señal	
1.2.1 Señal de Decaimiento Libre Inducido (FID)	13
1.2.2 Codificación y ubicación espacial de la señal	15
1.2.2.1 Gradiente selector de corte	17
1.2.2.2 Gradiente Codificador en frecuencia	19
1.2.2.3 Gradiente Codificador en fase	20
1.2.3 El espacio k	21
1.3 Secuencias de pulsos	22
1.3.1 Secuencia Espín Eco	24
1.3.2 Secuencia Gradiente Eco	26
1.3.3 Inversión – Recuperación	27
1.3.4 Imagenología Eco-Planar (EPI)	28
1.4 Contraste en la imagen de IRM	30
1.4.1 Ponderación en T1	31
1.4.2 Ponderación en T2	31
1.4.3 Ponderación en Densidad de Protones	32
1.4.4 Ponderación en T2*	32
CAPÍTULO 2	
Introducción: Imagenología por Resonancia Magnética Funcional	35
2.1 Fisiología de la actividad cerebral	36
2.2 Imagenología por Resonancia Magnética funcional (IRMf)	37
2.2.1 Efecto BOLD	38
2.2.1.1 Hemoglobina	40

2.2.1.2 Hemoglobina y efecto BOLD	42
2.3 Diseño experimental y análisis de datos para IRMf	43
2.3.1 Paradigma por bloques (Diseño por bloques)	45
2.3.2 Paradigma por Eventos Relacionados (Diseño por eventos relacionados)	46
2.3.3 Preprocesamiento de las imágenes	46
2.3.3.1 Corrección Espacio-Temporal	48
2.3.3.2 Corrección de Movimiento	48
2.3.3.3 Corregistro y Normalización	50
2.3.3.4 Filtrado espacial	51
2.3.4 Análisis estadístico de los datos	52
CAPÍTULO 3	
Introducción: Desnutrición y Sistema Nervioso Central	55
3.1 Desnutrición	55
3.2 Cuadros clínicos de la desnutrición en la etapa infantil	57
3.3 Desnutrición y Sistema Nervioso	
3.3.1 Desarrollo Cerebral	59
3.3.2 Efectos de la desnutrición en el Sistema Nervioso	62
CAPÍTULO 4	
METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	
4.1 Estudio en un modelo animal	67
4.2 Protocolo de desnutrición	69
4.3 Preparación de los animales	71
4.4 Protocolo de estimulación	72
4.5 Adquisición y procesamiento de las imágenes	73
CAPÍTULO 5	
RESULTADOS EXPERIMENTALES	77
5.1 Análisis entre grupo control y grupo experimental	78
5.2 Análisis del grupo experimental	80
5.3 Análisis morfológico	84
CAPÍTULO 6	
CONCLUSIONES	87
BIBLIOGRAFÍA	91
APÉNDICE A	99
APÉNDICE B	105

LISTA DE ABREVIATURAS

IRM	Imagenología por Resonancia Magnética
IRMf	Imagenología por Resonancia Magnética funcional
ERM	Espectroscopía por Resonancia Magnética
EEG	Electro Encefalografía
RM	Resonancia Magnética
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
\vec{B}_0	Campo magnético estático
$\vec{\mu}$	Momento magnético
\vec{M}	Vector de magnetización neto
T1	Tiempo de relajación longitudinal
T2	Tiempo de relajación transversal
DP	Densidad de protones
T2*	Tiempo de relajación transversal debida a inhomogeneidades
FID	Señal inducida debida a la relajación del sistema de espines
TR	Tiempo de Repetición
TE	Tiempo Eco
SE	Secuencia Espín Eco
GE	Secuencia Gradiente Eco
RF	Pulso de Radio Frecuencia
TI	Tiempo de Inversión
EPI	Secuencia Eco Planar
CBF	Flujo sanguíneo cerebral
BOLD	Blood Oxygenation Level-Dependent
CBV	Volumen sanguíneo cerebral
Hb	Hemoglobina
CMRO ₂	Tasa de consumo metabólico cerebral de oxígeno
CMRO _{glu}	Tasa metabólica de glucosa cerebral
Hct	Hematocrito
HRF	Respuesta hemodinámica
GLM	Modelo lineal general (General Linear Model)
SN	Sistema Nervioso
SNP	Sistema Nervioso Periférico
SNC	Sistema Nervioso Central
PEM	Desnutrición proteínico – calórica
u.a.	Unidades arbitrarias

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1.1. . El modelo de Bohr ‘cuantiza’ las órbitas para poder explicar la estabilidad del átomo.	3
Figura 1.2. Comportamiento de los espines a) fuera de un campo magnético externo, se encuentran orientados aleatoriamente; b) en presencia de un campo magnético externo, los espines se alinean de forma paralela o antiparalela con respecto al campo magnético (Tomado de: http://www.schoolphysics.co.uk/age16-19/Medical%20physics/text/MRI/index.htm).	4
Figura 1.3. Figura 1.3. Torque producido por la influencia del campo magnético.	6
Figura 1.4. Figura 1.4. Modelo simplificado de la magnetización microscópica (izquierda) y macroscópica (derecha) de un conjunto de espines en presencia de un campo magnético. En el equilibrio hay más espines en la dirección del campo (+z) lo que da lugar a un vector de magnetización neta M de magnitud constante (Tomado de Hornak,JP. The Basics of MRI. 2014, https://www.cis.rit.edu/htbooks/mri/inside.htm).	7
Figura 1.5. Figura 1.5. Magnetización longitudinal en el equilibrio (Tomado de Hornak,JP. The Basics of MRI. 2014, https://www.cis.rit.edu/htbooks/mri/inside.htm).	9
Figura 1.6. Figura 1.6. Ejemplificación de la relajación longitudinal. a) en el equilibrio se tiene el sistema de espines precesando, generando un vector de magnetización neto sobre el eje z; b) posteriormente al excitar este vector, y retirar la excitación, el vector de magnetización (Mz) comienza a recuperarse; c) el vector Mz se sigue recuperando; d) Mz se recupera totalmente (Tomado de https://en.wikibooks.org/wiki/Basic_Physics_of_Nuclear_Medicine/MRI_%26_Nuclear_Medicine).	9
Figura 1.7. Comportamiento de la relajación longitudinal T1 (Tomado de: http://www.thno.org/v01p0083.htm).	10
Figura 1.8. . Ejemplificación de la relajación transversal. Cuando el vector de magnetización cae al eje transversal (xy), éste empieza a disminuir poco a poco (como se muestra de a) – d)) (Tomado de: https://en.wikibooks.org/wiki/Basic_Physics_of_Nuclear_Medicine/MRI_%26_Nuclear_Medicine).	11
Figura 1.9. Comportamiento de la relajación transversal T2 (Tomado de: http://www.thno.org/v01p0083.htm).	12
Figura 1.10. Comportamiento y diferencia en los tiempos T2 y T2* (Tomado de: http://www.thno.org/v01p0083.htm).	13
Figura 1.11. a) Efecto de la magnetización transversal, b) comportamiento de la señal de RM (FID) (Tomado de http://www.revisemri.com/questions/basicphysics/fid).	14

Figura 1.12. a) Componentes real e imaginario de la señal FID, b) transformada de Fourier del FID.	15
Figura 1.13. Localización de los gradientes dentro de un sistema de IRM (izquierda), observamos los tres diferentes gradientes que se tienen dentro de un sistema de IRM (derecha) (Tomado de https://www.imaios.com/es/e-Cursos/e-MRI)	16
Figura 1.14. Proceso de la selección del corte (Tomado de: https://www.projectrhea.org/rhea/index.php/ECE438HonorsContractMRI).	18
Figura 1.15. Diferentes formas de modificar el grosor del corte seleccionado.	19
Figura 1.16. a) Debido a la variación lineal del gradiente G_x , las muestras 1, 2 y 3 presentarán cambios en sus frecuencias ω_i , donde i representa las posiciones x_1 , x_2 y x_3 . b) Para cada una de las muestras se presentan diferentes amplitudes y frecuencias debido a sus posiciones. c) Señal total resultante que permite obtener una representación de la imagen unidimensional debido a la frecuencia y posición	20
Figura 1.17. Supongamos que tenemos 16 píxeles. a) después del pulso de RF, la magnetización transversal tendrá la misma fase (dirección) en cada píxel. b) posteriormente de que se aplica el gradiente codificador de fase, la fase de la magnetización transversal varía en cada punto a lo largo de la dirección en fase.	21
Figura 1.18. Llenado del espacio k , dependiendo de la variación de amplitud y la codificación en fase	22
Figura 1.19. Ejemplo de un diagrama de pulsos (Tomado de: http://www.revisemri.com/questions/creating_an_image/simplest_psd).	24
Figura 1.20. Diferenciación entre el Tiempo de Repetición (TR) y el Tiempo Eco (TE).	24
Figura 1.21. Diagrama de pulsos de una secuencia SE (Tomado de Hornak,JP. The Basics of MRI. 2014, https://www.cis.rit.edu/htbooks/mri/inside.htm).	25
Figura 1.22. a) El vector de magnetización se encuentra en equilibrio, posteriormente b) se manda el pulso de RF de 90° que manda al vector de magnetización al plano transversal, c) comienza a haber un desfaseamiento de espines, d) se manda un pulso de 180° , e) con este pulso, los espines comienzan a tener la misma fase (pulso de reenfaseamiento), f) todos los espines se reenfasean, y finalmente los espines al tener la misma fase tendrán un valor máximo de M_0 (Tomado de: http://www.snipview.com/q/Spin_echo).	25
Figura 1.23. Diagrama de pulsos de una secuencia GE.	26
Figura 1.24. (Izquierda) Secuencia de pulsos para el método de Inversión-Recuperación. (Derecha) a) el vector de magnetización se encuentra en el equilibrio, b) se manda el pulso de RF de 180° que invierte la magnetización, c) y d) la magnetización se empieza	27

a recuperar al estado de equilibrio si es que no se manda el pulso de 90° siguiente (Tomado de: http://www.revisemri.com/questions/pulse_sequences/stir).

Figura 1.25. Contraste entre dos tejidos debido a sus diferencias en valor de T1 (Tomado de: <http://www.thno.org/v01p0083.htm>). 28

Figura 1.26. Diagrama de una secuencia EPI típica (Tomado de: <http://www.iisc.ernet.in/currsci/mar25/articles24.htm>). 29

Figura 1.27. Diagrama Secuencia Gradiente Eco - EPI. 29

Figura 1.28. Diagrama Secuencia Spin Eco - EPI. 29

Figura 1.29. Curvas representativas de T1 (a) y T2 (b), que ejemplifican el cambio en la intensidad de la señal para generar contrastes en base a estos tiempos de relajación. 31

Figura 1.30. Ejemplo de cómo se observan las diferencias de contraste en una imagen ponderada en T1, T2 y Densidad de Protones (DP). 32

Figura 1.31. Relación entre los tiempos de relajación T2 y T2*. 33

Figura 2.1. Representación de los mecanismos involucrados cuando existe un incremento en la actividad neuronal debido a un estímulo. 38

Figura 2.2. Composición sanguínea. 40

Figura 2.3. Esquematación de una molécula de Hb, donde se muestran las cadenas alfa, beta y los grupos heme (Tomado de: <http://hannongen677s11.weebly.com/>). 41

Figura 2.4. Esquematación de la Hb en su estado como oxihemoglobina (a), y en deoxihemoglobina (b). La diferencia se ilustra por la presencia o ausencia del oxígeno ligado a un grupo heme (Tomado de: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-93082007000100005&script=sci_arttext). 42

Figura 2.5. Representación del comportamiento de una sustancia diamagnética (a) como es el caso de la oxihemoglobina, y una sustancia paramagnética (b) como es el caso de la deoxihemoglobina. 42

Figura 2.6. Cambio en la intensidad de la señal T2*, debida al consumo de oxígeno durante la activación neuronal, principio BOLD. 43

Figura 2.7. Curva característica que representa a la respuesta hemodinámica (HRF) (Tomado de: <http://www.math.mcgill.ca/keith/fmristat/>). 44

Figura 2.8. Ejemplo de un diseño de bloques, para un estímulo visual a diferentes intervalos de tiempo, ejemplo en el que podríamos observar a este estímulo como un tipo "on-off". 45

- Figura 2.9.** Ejemplificación de un diseño experimental por eventos relacionados, aquí se presentan 2 tipos de estímulos, uno visual y otro auditivo, donde se le pide al sujeto que correlacione ambos estímulos, cuando coinciden entonces decir si son correctos o no. 46
- Figura 2.10.** Un experimento funcional consta de una serie de imágenes (más de 300), que se adquieren en un tiempo relativamente corto. Cada volumen de imágenes (serie de imágenes que hacen un barrido del cerebro) llegan a adquirirse en un tiempo aproximado de 2 segundos. 47
- Figura 2.11.** Los datos de cada imagen que pertenece a cada volumen de imágenes, en realidad se obtienen en tiempos diferentes (a), el proceso de corrección espacio-tiempo hace una corrección en la que asume que los datos fueron adquiridos en un mismo tiempo para cada imagen de cada volumen (b). 48
- Figura 2.12.** Las imágenes son realineadas con respecto a una imagen promedio (J), para tener las mismas coordenadas de origen como se muestra en (a). Además, se calculan vectores de rotación y traslación (b) que serán empleados posteriormente como covariables en el análisis estadístico 49
- Figura 2.13.** Posteriormente las imágenes se realinean para tener los mismos orígenes y orientaciones para su posterior análisis. 49
- Figura 2.14.** Una imagen funcional volumétrica tiene una resolución espacial pobre (a), el objetivo del corregistro, es extrapolar estas imágenes funcionales, hacia una imagen estructural (b) de mejor calidad en su resolución espacial. 50
- Figura 2.15.** . En la normalización, se tiene una imagen tipo plantilla (conocida también como “template”) (a) que es una imagen estandarizada y caracterizada que contiene la información necesaria para que las imágenes funcionales se puedan llevar a este espacio caracterizado (b) y de esta forma tener un mismo espacio de coordenadas (c) para una mejor localización de las zonas donde se visualiza(n) la(s) activación(es). 51
- Figura 2.16.** (a) Y es la matriz de señales de BOLD, cada columna representa un solo vóxel muestreado a tiempos sucesivos. (b) Se empieza a formar la matriz de datos, ésta representa los valores de X, esto quiere decir que diferentes columnas representan igual número de predictores, que se derivan a partir del diseño experimental, definimos las variables de experimentación que darán los diversos contrastes. (c) Formulación de la matriz que se ha de resolver, como vimos a partir de las ecuaciones 2.5 a 2.7. (d) Finalmente así observamos la matriz de diseño para obtener los vóxeles que representan una diferencia significativa, observamos las condiciones (recuadro rojo), estudio entre sujetos (recuadro azul) y las covariables (recuadro verde), éstas últimas provienen del análisis de movimiento de las imágenes para descartar activación por movimiento. 53
- Figura 3.1.** Comparación de la densidad neuronal a lo largo del tiempo (edad). 60
- Figura 3.2.** Comparación del desarrollo cerebral con el crecimiento en talla durante 61

hasta los primeros 5 años de vida. Posteriormente a esta edad, el crecimiento es más lento y se considera que el cerebro ha madurado en más del 80%.

Figura 4.1. Comparación entre un cerebro humano y uno de rata, claramente se aprecia que se tienen bien localizadas diversas estructuras cerebrales que cumplen las mismas funciones en ambas especies (Tomado de: https://danavanderford.files.wordpress.com/2011/02/brains_compared.jpg). 68

Figura 4.2. Comparación entre los dos diferentes tipos de protocolos de desnutrición, por calidad del alimento (a) [46] y por competencia (b) [63]. Claramente se observa una tendencia similar de ambos protocolos. 70

Figura 4.3. “Setup” para la preparación de las ratas. Para cada experimento, se colocaba a la rata en un sistema estereotáxico plástico para reducir el movimiento de la cabeza. Además se colocaron sensores (temperatura, presión y electrocardiograma) para monitorizar los signos vitales. El sistema estereotáxico además cuenta con un sistema de tubos para la entrada y salida de aire por el cual se les administraba la anestesia. Los electrodos de estimulación fueron colocados las vibrisas (“bigotes”) de cada animal para estimular el nervio trigémino. 71

Figura 4.4. Descripción gráfica de los relevos encefálicos por los cuales viaja la información sensorial desde las vibrisas hasta la corteza somatosensorial. La información del nervio trigémino viaja hacia el tallo cerebral, de donde va hacia el tálamo y de ahí hace su último relevo hacia corteza somatosensorial. 72

Figura 4.5. El cerebro de los roedores está bien caracterizado. Se tiene bien localizadas las áreas de la corteza cerebral donde se recibe la información visual, somatosensorial y auditiva. 73

Figura 4.6. a) Estimulador GRASS-S48, por medio del cual se mandaban los pulsos de estimulación, por medio de éste dispositivo se puede controlar la duración y amplitud de los pulsos. b) Ejemplo del tipo del tren de pulsos que se emplearon para el protocolo de estimulación, cada pulso se caracterizaba por tener una amplitud de 500mV y una corriente de 2mA, cada pulso se mandó a 1Hz, cada segundo y un ancho de banda de 100 μ s. 73

Figura 4.7. Sistema “posicionador” que se diseñó y se construyó. Este sistema tiene la característica de que puede introducirse y moverse dentro del sistema de RM por medio de un tornillo sin fin para colocar a las ratas en el isocentro del imán. 74

Figura 4.8. Se contaba además con un módulo que calentaba el aire, dicho aire es enviado por una manguera hacia el animal por medio de un ventilador, para poder mantener una temperatura adecuada del animal. Recordemos que el sistema de RM es muy frío debido a los criogénicos que mantienen la superconductividad del imán, por lo tanto se necesita controlar la temperatura de los animales para evitar que murieran. 74

Figura 4.9. Antena de jaula de perico de 16 piernas. a) Vista superior de la antena, donde claramente se observan los dos canales (antena en cuadratura), y b) el diámetro 75

de la antena fue de 5 cm. Esta antena fue diseñada especialmente para animales pequeños (ratas de 1-30 días de edad y ratones).

Figura 5.1. Mapas representativos promedio del grupo control y del grupo experimental, para poder facilitar las zonas de activación, se añadieron diagramas del atlas de Paxinos. Se muestra un barrido desde bulbo olfatorio, hasta el cerebelo. Claramente se observan las diferencias entre grupo control y grupo experimental, cada imagen fue corregida con su cerebro individual, debido a la gran diferencia entre cerebros. 77

Figura 5.2. a) Respuestas BOLD del grupo control en corteza somatosensorial, b) respuesta BOLD del grupo experimental en la corteza somatosensorial, c) repuestas promedio para cada uno de los grupos. Para ilustrar la zona donde se tomaron estas respuestas se tiene una imagen de la zona somatosensorial. 78

Figura 5.3. Respuestas de la señal BOLD ajustada para las cuatro diferentes áreas analizadas en el grupo experimental. 80

Figura 5.4. Respuestas promedio para cada una de las áreas analizadas en el grupo experimental. Se muestra una imagen representativa que nos permite ver de dónde provienen dichas señales. 81

Figura 5.5. Comparación de las intensidades de la señal BOLD promedio obtenidas con su error en las diferentes regiones de interés. A – Corteza Somatosensorial del grupo control; mientras que B – Corteza Somatosensorial, C – Hipocampo, D – Hipotálamo y E – Cerebelo representan los resultados del grupo experimental. 83

Figura 5.6. a) Cerebro en 3D de una rata del grupo control, b) reconstrucción en 3D de un cerebro de una rata del grupo experimental. Se muestran flechas en diferentes colores que indican las zonas donde se observan diferencias morfológicas entre los dos cerebros. En rojo apreciamos una irregularidad notoria en cuanto a la división de los hemisferios cerebrales, en amarillo se muestra en orientación sagital una diferencia notable en el cerebelo, en verde apreciamos una formación irregular de un hemisferio cerebral y en azul se señala una notoria irregularidad en la formación del cerebelo. 85

Figura 5.7. Se muestran los cerebelos segmentados para cada uno de los grupos (6 para cada uno), tanto el control (a), como el experimental (b). Además, en la última columna se muestra el resultado del cerebelo promedio de cada uno de los grupos. 86

Figura 6.1. Esquematación de las aferencias (flechas negras punteadas) y las eferencias (flechas azules sólidas) del hipotálamo. 88

Figura 6.2. . a) Resultado obtenido por Just y colaboradores [74], b) resultado obtenido por nosotros, estimulando el nervio trigémino con un pulso de 2 mA a 1 Hz. 89

Figura A1. Prototipo de antena que se construyó. Modelado y simulado en el programa CST Microwave. 99

Figura A2. a) Antena tipo jaula de perico construida, mostrando las dimensiones, la antena se hizo en cuadratura, b) y c) muestran los parámetros S12 y S21 de cada uno de los canales (0° y 90°).	100
Figura A3. Imágenes obtenidas de una esfera que contiene solución salina, con la antena construida.	101
Figura A4. Perfil de línea obtenido de la imagen adquirida con la antena jaula de perico.	101
Figura A5. Diseño del sistema para la colocación de los roedores dentro del sistema de Resonancia Magnética.	102
Figura A6. Este sistema tiene la característica de que puede introducirse y moverse dentro del sistema de RM por medio de un tornillo sin fin para colocar a las ratas en el isocentro del imán. a) Vista superior del sistema, en b) y c) se puede apreciar la “tapa” de aluminio que se atornillaba en el imán, esta tapa tiene como característica 2 tubos de aluminio (figura c) por medio del cual se permite la entrada de mangueras para poder tener el flujo de entrada y salida de los gases de la anestesia; en d) se ve una imagen lateral de dicho dispositivo.	103

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1.1. Características atómicas de diferentes átomos que pueden ser empleados para RM.	5
Tabla 1.2. Diferentes combinaciones de los parámetros TR y TE para generar contraste en una secuencia SE (* valores para un sistema de 1.5T)	26
Tabla 1.3. Combinación de TE y ángulo de brinco (α) para generar diversos contrastes por medio de una secuencia GE.	27
Tabla 5.1 Diferencia entre los promedios de las señales entre las diversas áreas analizadas, así como el parámetro <i>sig</i> , el cual si muestra el valor de 1 quiere decir que existe diferencia significativa, y en 0 no existe diferencia significativa.	82
Tabla 5.2. Resultados de las áreas bajo la curva por medio de las dos diferentes técnicas de las respuestas promedio provenientes de las cuatro diferentes zonas cerebrales analizadas.	82
Tabla 5.3. Diferencia porcentual menor del área bajo la curva de hipocampo, hipotálamo y corteza somatosensorial con respecto al área bajo la curva proveniente de la señal del cerebelo, mediante los dos diferentes métodos empleados.	83
Tabla B1. Neurotransmisores presentes en el cerebro humano, mostrando su función y ubicación de cada uno de ellos.	105

RESUMEN

La desnutrición es un grave problema de Salud Pública a nivel mundial. Es considerada una enfermedad que llega a producir el desarrollo de patologías más graves, e incluso la muerte. Esta enfermedad es capaz de afectar a todos los sistemas y órganos de los individuos.

De manera sencilla, podríamos decir que la desnutrición es el resultado de la mala asimilación de nutrientes esenciales para la supervivencia del organismo, siendo la causante del desarrollo de diversos estados patológicos de gravedad.

Se han realizado estudios sobre el impacto de esta enfermedad en el SN, los cuales se han basado principalmente en técnicas invasivas para observar la funcionalidad del SN (en el mejor de los casos), así como también estudios en *ex vivo* (*post mortem*) que han demostrado de manera microscópica (por medio de histología principalmente) cambios en las zonas sinápticas y también en la arquitectura celular.

Actualmente, con el avance tecnológico, podemos realizar estudios funcionales en humanos y modelos animales para observar la funcionalidad del cerebro, sin la necesidad de recurrir a métodos *in vitro* o en *ex vivo*.

Gracias a las técnicas de IRM, podemos observar tanto la morfología como la funcionalidad del cerebro en cerebros desnutridos, y así analizar si existen cambios significativos con respecto a cerebros normales. En el presente trabajo, se realizó un estudio de IRMf, para comparar los cambios funcionales que pueden estar presentes en cerebros desnutridos empleando un modelo animal.

Para estudiar las respuestas funcionales del cerebro, se empleó un estímulo eléctrico en los roedores (colocando electrodos en las vibrisas, o bigotes). El objetivo de este tipo de estímulo, fue para poder observar la respuesta del nervio trigémino y así observar su respuesta en el cerebro. Este tipo de estímulo está bien estudiado por diversos grupos de investigación a nivel mundial y relativamente es una respuesta muy sencilla y directa, ya que la respuesta cerebral únicamente se ha apreciado a nivel de corteza somatosensorial.

Se tuvieron dos grupos experimentales: control y desnutrido. Mediante el procesamiento digital de las imágenes funcionales, se apreciaron cambios significativos

entre ambos grupos. Mientras que en el grupo control la respuesta fue únicamente en corteza somatosensorial, en el grupo desnutrido se apreciaron cambios en varias regiones del cerebro, pero se apreció que existió activación cerebral principalmente en cerebelo, hipotálamo e hipocampo, además de corteza somatosensorial.

Además del análisis funcional, también se analizaron las señales de cada una de las regiones de interés y se compararon entre grupos, encontramos que en el grupo desnutrido la señal del cerebelo fue mucho mayor a comparación de la señal de la región de la corteza somatosensorial.

También realizamos un análisis anatómico del cerebro de ambos grupos. Encontramos un cambio morfológico significativo a nivel del cerebelo en el grupo desnutrido en comparación con el grupo control.

Los resultados obtenidos, indicaron que existen diferencias significativas en cuanto a las señales obtenidas entre cerebros normales y desnutridos. Uno de los principales hallazgos encontrados, es que en los cerebros desnutridos existe una respuesta anormal del cerebro, ya que se encontraron activaciones en zonas cerebrales como el hipotálamo, el hipocampo y el cerebelo, además de respuesta en corteza somatosensorial, en comparación con los cerebros normales, los cuales únicamente presentaron activación en corteza somatosensorial.

La morfología cerebral también presentó variaciones significativas a partir de imágenes anatómicas adquiridas. Una estructura cerebral que llamó mucho la atención fue el cerebelo, al realizar una reconstrucción tridimensional, se observó que en los cerebros desnutridos el cerebelo tenía una morfología totalmente irregular en comparación con los cerebros normales, además que el volumen del cerebelo en el caso de los cerebros desnutridos es mayor que en los cerebros normales.

También podríamos pensar que llega a existir una alteración a nivel de neurotransmisores en ciertas zonas cerebrales, los cuales son los causantes de las respuestas observadas a partir del análisis funcional. Probablemente con los resultados encontrados, podemos decir que existe una comunicación neuronal que compensa algunas fallas en lo que sería la comunicación normal a un estímulo sensorial, es decir, existe un mecanismo de plasticidad cerebral principalmente a nivel hipotalámico. Estos resultados pueden ser ocasionados por daño cerebral o cambios plásticos.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente, los efectos detallados de los efectos de la desnutrición en el SN, son estudios *post mortem* y los estudios funcionales *in vivo*, se hacen básicamente por medio de técnicas de EEG. Gracias al desarrollo tecnológico, tenemos herramientas de análisis funcionales como la Medicina Nuclear y la Resonancia Magnética; sin embargo, no se tienen estudios funcionales *in vivo* de los efectos de la desnutrición sobre el SN con estas últimas técnicas, a pesar de brindar mayor información que otras técnicas empleadas a la fecha. Este trabajo pretende llenar ese hueco; esto es, estudiar los efectos de la desnutrición sobre el Sistema Nervioso aplicando técnicas de Imagenología por Resonancia Magnética.

HIPÓTESIS

Es posible por medio de la Imagenología por Resonancia Magnética funcional, evaluar en un modelo animal, las consecuencias de la desnutrición en el SNC y relacionarlo con un cerebro humano que padece desnutrición durante la infancia. Se espera que existan cambios morfológicos y funcionales aún no descritos por la limitación de las técnicas empleadas a la fecha.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar los efectos de la desnutrición calórico-proteínica sobre la estructura y función cerebral en roedores empleando técnicas de Resonancia Magnética.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Construir el hardware necesario (antena de IRM) que nos permita tener un mejor cociente señal a ruido, y de esta forma mejorar la calidad de las imágenes funcionales.
- Obtención de la respuesta del Sistema Nervioso inducida por estímulo del nervio trigémino y evaluarla con técnicas de Imagenología por Resonancia Magnética funcional en ratas bien nutridas (grupo control) y con desnutrición (grupo experimental).
- Procesamiento digital de las imágenes funcionales y anatómicas y así elaborar un templete de las imágenes.
- Realizar un análisis morfológico de las imágenes anatómicas, para observar si existe un impacto de la desnutrición en el cerebro.
- Analizar las señales obtenidas a partir del procesamiento digital de las imágenes funcionales y compararlas entre ambos grupos.
- Realizar el análisis estadístico (señales, mediciones, etc.) entre ambos grupos.

-

CAPÍTULO 1

Introducción

La Imagenología Médica nos proporciona imágenes del interior de diferentes partes del cuerpo humano por medio de diversas técnicas como los rayos X, ultrasonido, Resonancia Magnética, etc. Estas imágenes adquiridas son utilizadas con propósitos clínicos o de investigación médica.

La gran revolución que inició el desarrollo de la Imagenología Médica se dio por medio del descubrimiento accidental de los rayos X por Roentgen en 1895. Con el avance tecnológico a finales de la década de 1970 Hounsfield y Cormack desarrollaron la Tomografía Computarizada (TC). En cuanto a la Medicina Nuclear, la primera cámara gamma fue desarrollada en 1958 por Anger, de forma en que se obtuvo tanto la Tomografía por Emisión de Positrones (PET) y Tomografía Computarizada por Emisión de Positrón Único (SPECT). Desgraciadamente estas técnicas de Imagenología Médica presentan la desventaja de emitir radiación ionizante¹.

El fenómeno de la Resonancia Magnética Nuclear fue descubierto y descrito por Bloch [1] y Purcell en 1946 [2]. No fue sino hasta 1959 que Singer propuso que la RMN podría ser empleada para medir el flujo sanguíneo. Con estos principios de la RMN en 1973 Paul Lauterbur propuso el uso de gradientes magnéticos para poder distinguir las señales originadas de la RMN y de esta forma dar una reconstrucción por proyecciones parecida a lo que ocurre con la TC. Posteriormente en 1974 Sir Peter Mansfield inventó la forma en cómo excitar de forma selectiva los diversos cortes en el sistema de RMN. Con esto se dio paso a la creación y evolución de lo que actualmente conocemos como Imagenología por Resonancia Magnética (IRM), que ha evolucionado a grandes pasos durante los últimos 40 años. Las mayores ventajas que tenemos de la IRM, es que en principio no es una técnica que emplee una radiación ionizante, y además podemos identificar entre los diversos tejidos, gracias a sus propiedades intrínsecas de cada uno de los tejidos. Las diversas técnicas de la IRM, han abierto un gran paso para el avance de la

¹ La radiación ionizante es aquella que presenta una energía suficiente para ionizar (producción de iones) la materia, y de esta forma se llegan a extraer los electrones ligados al átomo.

neuroimagenología², ayudándonos a entender mejor los procesos y patologías que se puedan presentar, principalmente en el cerebro.

1.1 Principios de Resonancia Magnética Nuclear

En esta sección, trataremos de ver los principios de la Resonancia Magnética (RM) partiendo de algunos conceptos físicos básicos, con el fin de poder entender de manera sencilla el fenómeno de la RMN.

La RMN, tiene una historia que data desde finales de los años 40's, cuando Bloch [1] y Purcell [2] detectaron un fenómeno de resonancia en muestras colocadas dentro de un campo magnético. Durante décadas subsecuentes, el fenómeno de la Resonancia Magnética Nuclear (RMN) tuvo su uso principalmente en el campo de la química. El uso de este fenómeno en la imagenología fue demostrado en los 70's, y desde entonces ha sido una gran herramienta para el diagnóstico radiológico [3] [4].

Para comenzar a entender el fenómeno de la RM empecemos por describir el átomo. Éste consiste en tres partículas: protones (carga positiva), neutrones (sin carga) y electrones (carga negativa).

Según el modelo atómico de Bohr, el cual es un modelo clásico del átomo, los electrones giran en órbitas circulares alrededor del núcleo (Figura 1.1), ocupando la órbita de menor energía posible. El electromagnetismo clásico predecía que una partícula cargada moviéndose de forma circular emitiría energía por lo que los electrones deberían colapsar sobre el núcleo en breves instantes de tiempo. Para superar este problema Bohr supuso que los electrones solamente se podían mover en órbitas específicas, cada una de las cuales caracterizada por su nivel energético.

En el modelo atómico sobresalen 4 números cuánticos:

- **Número cuántico principal, n :** Se relaciona con la distancia promedio que va del electrón al núcleo de un orbital en particular. Toma valores de los números enteros positivos y representa los niveles de energía de los electrones de un átomo. Estos niveles aumentan de tamaño a medida que nos alejamos del núcleo. Posee valores $n=1, 2, 3, 4, 5, 6, \dots$

² La neuroimagenología es una disciplina relativamente nueva dentro de los campos de la medicina y la neurociencia que permiten observar de manera directa o indirecta la estructura (anatomía) y función del cerebro.

- **Número cuántico secundario, azimutal o de momento regular, l :** Está relacionado con la forma del orbital y depende del valor del número cuántico principal. Representa la existencia de subniveles de energía dentro de cada nivel. Se calcula considerando $l = 0, 1, 2, 3, 4$. Así, para $n = 1, \dots, l = 0$ ("s") para $n = 2, \dots, l = 0, 1$ ("s", "p"), para $n = 3, \dots, l = 0, 1, 2$ ("s", "p", "d"), para $n = 4, \dots, l = 0, 1, 2, 3, 4$ ("s", "p", "d", "f")

Los subniveles se designan con letras.

- **Número cuántico magnético, m :** Está relacionado con la orientación espacial del orbital y depende del número cuántico de momento angular. Representa la orientación de los orbitales y los valores que puede tomar, se obtienen variando l desde $-l$ hasta $+l$; es decir, $m = +/-$ si $l = 0$, $m = 0$, es decir, un solo tipo de orbital; si $l = 1$, $m = -1, 0, +1$, es decir, 3 tipos de suborbitales p (p_x, p_y y p_z); si $l = 2$, $m = -2, -1, 0, +1, +2$, es decir, 5 tipos de suborbitales d ($d_{xy}, d_{yz}, d_{zx}, d_{x^2-y^2}, d_{z^2}$); si $l = 3$, $m = -3, -2, -1, 0, +1, +2, +3$, es decir, 7 tipos de suborbitales f ($f_{xyz}, f_{yz^2}, f_{zx^2}, f_{xy^2}, f_{x^2z}, f_{y^2z}, f_{x^3}, f_{y^3}, f_{z^3}$). Un orbital puede albergar como máximo dos electrones.
- **Número cuántico de spin electrónico, s :** Determina el spin del electrón, es decir, el sentido en que gira el electrón sobre su propio eje.

Este número cuántico indica la cantidad de electrones presentes en un orbital y el tipo de giro de los electrones, habiendo dos tipos $+1/2$ y $-1/2$. En cada tipo de suborbital cabe máximo 2 electrones y estos deben tener espines o giros opuestos.

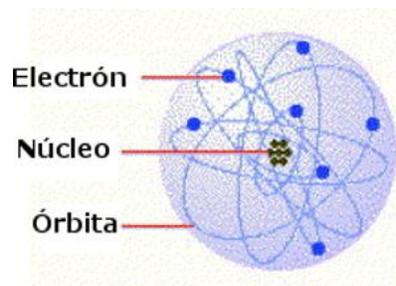


Figura 1.1. El modelo de Bohr 'cuantiza' las órbitas para poder explicar la estabilidad del átomo.

Gracias a estos números cuánticos, es como nosotros podemos obtener señales que posteriormente se pueden transformar para adquirir información de una "muestra"

como es el caso de la Espectroscopia por Resonancia Magnética (ERM) o una imagen (IRM).

Para poder adquirir una imagen por RM, debemos fijarnos en dos propiedades principales, la primera se necesita que el núcleo que deseamos excitar tenga un espín diferente a un entero (s) y la otra es su carga nuclear (se necesita que sea impar).

Cualquier núcleo con espín distinto de cero puede ser representado por un vector, teniendo un eje de rotación con una magnitud y una orientación definidas. En el protón existe una carga eléctrica en la superficie, generándose una pequeña corriente, además como el protón posee una masa, genera un momento angular \mathbf{J} , y al momento de girar se produce un campo magnético orientado en la dirección de su eje de rotación. La orientación del vector del espín nuclear y la forma de cómo cambia debido a las manipulaciones externas determinan las bases físicas de las señales de RM.

Cuando tenemos un volumen de una muestra arbitraria que se encuentre ubicada fuera de un campo magnético como cada protón tendrá un vector de espines de igual magnitud y al encontrarse estos protones orientados de manera aleatoria, entonces el vector de magnetización será cero, ya que, la resultante de la suma vectorial de todos los protones será cero. Sin embargo, cuando los espines de los núcleos son colocados en un campo magnético estático (\vec{B}_0) éstos se alinean en su dirección, como se ilustra en la Figura 1.2.

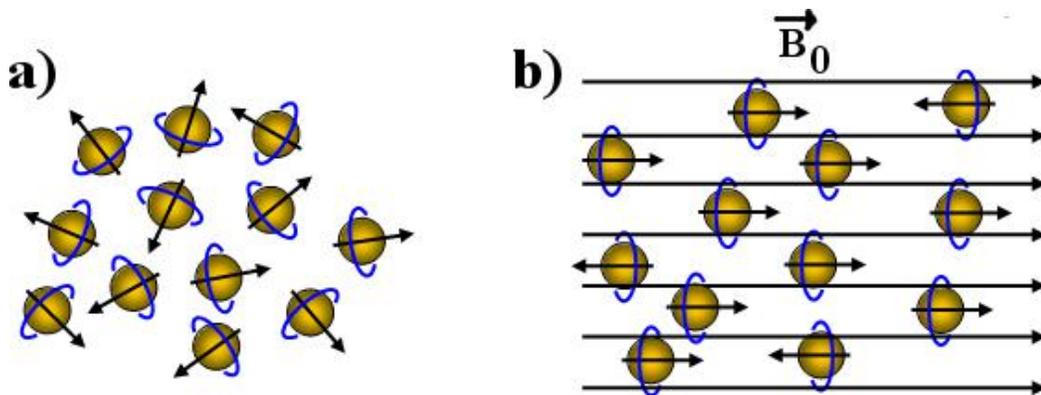


Figura 1.2. Comportamiento de los espines a) fuera de un campo magnético externo, se encuentran orientados aleatoriamente; b) en presencia de un campo magnético externo, los espines se alinean de forma paralela o antiparalela con respecto al campo magnético (Tomado de: <http://www.schoolphysics.co.uk/age16-19/Medical%20physics/text/MRI/index.html>).

El núcleo ^1H es una referencia de elección natural para utilizar las técnicas de resonancia magnética en el cuerpo humano, ya que tiene un espín igual a $1/2$ y es el isótopo de hidrógeno más abundante contenido en el agua y las grasas de nuestro organismo. Esto no quiere decir que únicamente con ^1H podamos obtener alguna señal de RM. En la Tabla 1.1, se muestran otros átomos empleados en RM.

Núcleo	Protones desapareados	Neutrones desapareados	Espín Neto	Constante giromagnética (MHz/T)
^1H	1	0	$1/2$	42.58
^2H	1	1	1	6.54
^{31}P	1	0	$1/2$	17.25
^{23}Na	1	2	$3/2$	11.27
^{14}N	1	1	1	3.08
^{13}C	0	1	$1/2$	10.71
^{19}F	1	0	$1/2$	40.08

Tabla 1.1. Características atómicas de diferentes átomos que pueden ser empleados para RM.

El núcleo generalmente se comporta como un imán al estar girando, orientado en la dirección de su eje de rotación (Figura 1.3). Al tener un volumen arbitrario de una muestra, entonces tendremos un sistema de espines que poseerá un momento magnético ($\vec{\mu}$). Si este momento magnético es expuesto al campo externo, entonces $\vec{\mu}$ es capaz de alinearse en la dirección del campo de manera paralela o antiparalela, como se muestra en la Figura 2b. En el estado de reposo, la diferencia es fija, independientemente de la intensidad del campo, que se debe básicamente a la diferencia entre los espines alineados paralela y antiparalelamente al campo magnético externo, esto simplemente genera una diferencia energética entre los espines, fenómeno que nos da un vector de magnetización neto \vec{M} .

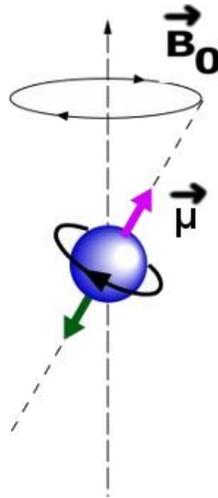


Figura 1.3. Torque producido por la influencia del campo magnético.

Como ya mencionamos, los núcleos están girando, generándose un torque o frecuencia de precesión, haciendo una analogía, es como si viéramos el movimiento de un trompo cuando éste está girando. La frecuencia a la cual está girando cada núcleo está descrita por la ecuación de Larmor:

$$\omega_0 = \gamma |\vec{B}_0| \quad (1.1)$$

donde ω_0 es la frecuencia de Larmor, también conocida como frecuencia de resonancia, y tiene unidades en MHz, y γ es la constante giromagnética que es una propiedad intrínseca para cada núcleo e isótopo. En la Tabla 1.1 podemos observar el valor de la constante giromagnética para diferentes núcleos.

Básicamente, el principio de la RM se basa en el mapeo de la magnetización neta \vec{M} (Figura 1.4) de un tejido biológico o cualquier material apropiado. Esta magnetización es la fuente de señal para los experimentos de resonancia magnética, la cual consiste en la medición de la respuesta de protones expuestos a un campo magnético. Para un volumen de protones a la temperatura del cuerpo (310K) existe normalmente una diferencia de 3 en 1000000 protones en estado de baja energía con respecto a los que se alinean en dirección de alta energía. La orientación de esta magnetización es la misma que el campo magnético \vec{B}_0 , y es constante con respecto al tiempo, siempre y cuando \vec{B}_0 permanezca constante. Si un pulso de radiofrecuencia (RF) es aplicado apropiadamente, los núcleos de la muestra pueden absorber energía. Este pulso de RF debe cumplir con

tres características fundamentales: 1) depende directamente del tipo de núcleo con el cual se trabaja, 2) la frecuencia de precesión del núcleo y 3) de la homogeneidad del campo magnético.

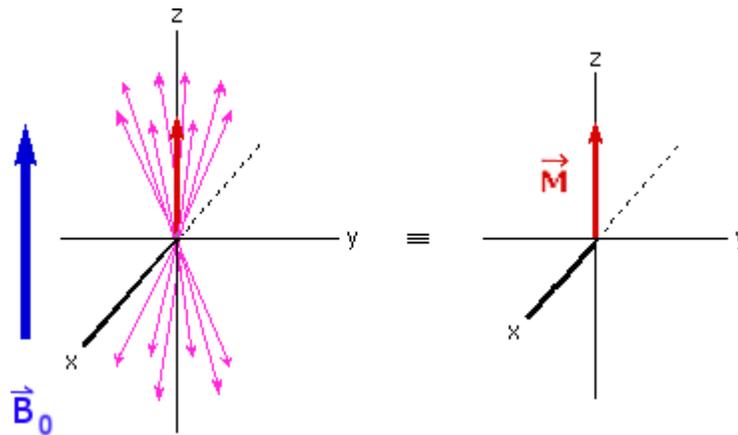


Figura 1.4. Modelo simplificado de la magnetización microscópica (izquierda) y macroscópica (derecha) de un conjunto de espines en presencia de un campo magnético. En el equilibrio hay más espines en la dirección del campo (+z) lo que da lugar a un vector de magnetización neta M de magnitud constante (Tomado de Hornak,JP. **The Basics of MRI**. 2014, <https://www.cis.rit.edu/htbooks/mri/inside.html>).

Podemos notar claramente que el valor de \vec{M} es directamente proporcional a \vec{B}_0 , es decir que cuanto mayor sea el campo magnético externo, mayor será el vector de magnetización neto, y por lo tanto, mayor será la señal de resonancia magnética [5].

De forma sencilla y ya teniendo definidos conceptos básicos, podemos resumir que para poder nosotros obtener una señal de RM, tenemos:

- Los protones están girando a cierta frecuencia (frecuencia de Larmor), y cuando están dentro de un campo magnético externo \vec{B}_0 , los protones se alinean de forma paralela o antiparalela con respecto al campo magnético,
- La diferencia energética entre protones alineados paralela y antiparalelamente produce un vector de magnetización neto,
- Necesitamos enviar una señal de RF que se encuentre exactamente sintonizada a la frecuencia de giro de los protones (ω_0),
- Para el envío de la señal de RF utilizamos una antena de RF transmisora, como resultado de la absorción de esta señal, los protones cambian su dirección de giro, es decir, aumentan su energía,

- e) Posteriormente al momento de eliminar el pulso de RF, los protones tienden a regresar a su estado inicial, liberando energía
- f) La energía liberada es detectada en forma de ondas de radio por medio de antenas receptoras de RF

1.1.2 Fenómeno de relajación

A lo largo de la emisión de dicho pulso, los núcleos de los átomos absorben una porción de la energía de una frecuencia particular. Después del pulso, los núcleos re-emiten la energía a la misma frecuencia. Cuando un núcleo es irradiado con energía de la frecuencia deseada (ω_0), cambiará desde la orientación de baja energía hacia la de alta energía. De manera semejante, un núcleo del nivel de alta energía, será estimulado para liberar su energía y cambiar su orientación para ubicarse en la dirección de baja energía. Sólo la energía suministrada a la frecuencia ω_0 , que es la frecuencia de Larmor, inducirá las transiciones entre los estados de alta y baja energía.

La relajación es resultado de las interacciones entre los diferentes núcleos. Se puede conocer el vector de magnetización por medio de las ecuaciones de Bloch:

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma \vec{M} \times \vec{B}_0 - \frac{M_x \vec{i} + M_y \vec{j}}{T_2} - \frac{(M_z - M_z^0) \vec{k}}{T_1} \quad (1.2)$$

donde \vec{M} es el vector de magnetización neto, M_x y M_y conforman la magnetización transversal, M_z representa la magnetización longitudinal, M_z^0 representa la magnetización longitudinal en el equilibrio térmico, y T_1 y T_2 son los tiempos de relajación longitudinal y transversal respectivamente.

En el equilibrio, el vector de magnetización neto se alinea en dirección del campo magnético \vec{B}_0 , y es llamada la magnetización de equilibrio M_0 (Figura 1.5). En esta configuración, la componente Z de la magnetización M_z es igual a M_0 . M_z es conocida como la magnetización longitudinal y no hay magnetización transversal (M_x o M_y).

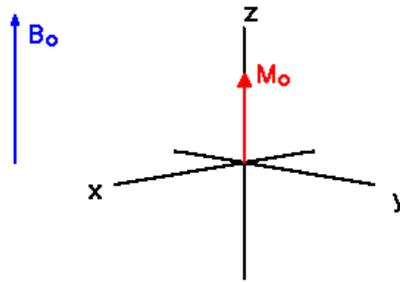


Figura 1.5. Magnetización longitudinal en el equilibrio (Tomado de Hornak,JP. **The Basics of MRI**. 2014, <https://www.cis.rit.edu/htbooks/mri/inside.html>).

Es posible cambiar la magnetización neta, al exponer el sistema de espines, a una energía con una frecuencia igual a la diferencia energética entre los estados de espines. Si la energía es suficiente en el sistema, es posible saturar el sistema de espines y hacer que $M_z=0$, Figura 1.6.

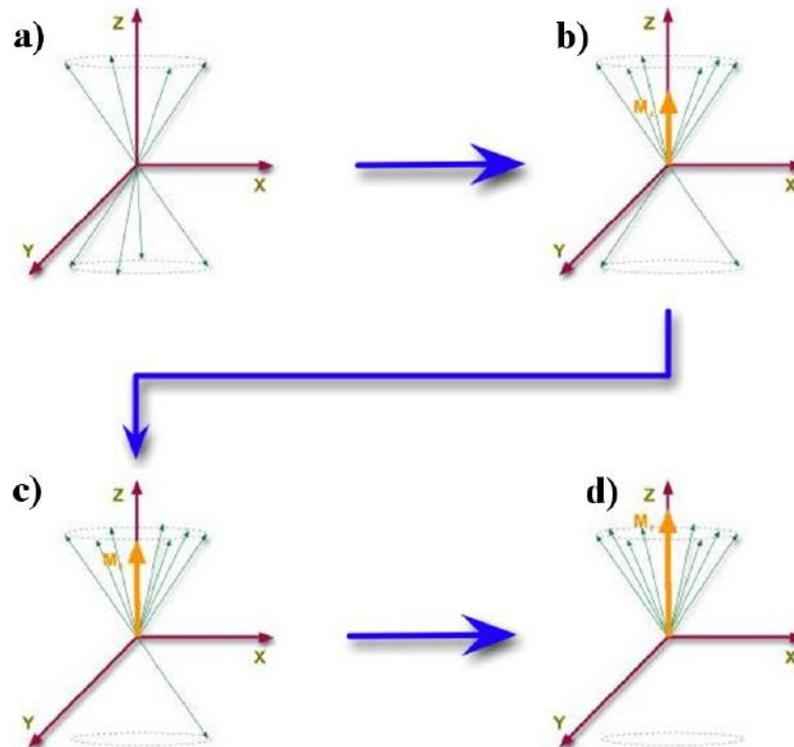


Figura 1.6. Ejemplificación de la relajación longitudinal. a) en el equilibrio se tiene el sistema de espines precesando, generando un vector de magnetización neta sobre el eje z; b) posteriormente al excitar este vector, y retirar la excitación, el vector de magnetización (M_z) comienza a recuperarse; c) el vector M_z se sigue recuperando; d) M_z se recupera totalmente (Tomado de https://en.wikibooks.org/wiki/Basic_Physics_of_Nuclear_Medicine/MRI_%26_Nuclear_Medicine).

La constante de tiempo que describe cómo M_Z regresa a su valor de equilibrio es llamado el tiempo de relajación espín red (en inglés spin lattice relaxation time), también conocido como el tiempo T_1 . La ecuación que describe el comportamiento de este tiempo, la podemos obtener a partir de la ecuación de Bloch (ec. 1.2) en su componente longitudinal, obteniendo:

$$M_Z = M_0 \left(1 - e^{-t/T_1}\right) \quad (1.3)$$

La recuperación de la magnetización longitudinal, como podemos observar en la ecuación 1.3, presenta una curva exponencial, como se observa en la Figura 1.7. La razón de la recuperación está caracterizada por la constante de tiempo T_1 , específico de cada tejido. Después del tiempo T_1 , se dice que la magnetización longitudinal ha regresado al 63% de su valor final [6], ver Figura 1.6a. Después de que ha transcurrido tres veces el tiempo T_1 , se habrá recuperado en un 95% del valor de M_0 . Si normalizamos la ecuación (1.3) con respecto de M_0 , tenemos el comportamiento de la Figura 1.7, donde el valor máximo de la curva será 1.

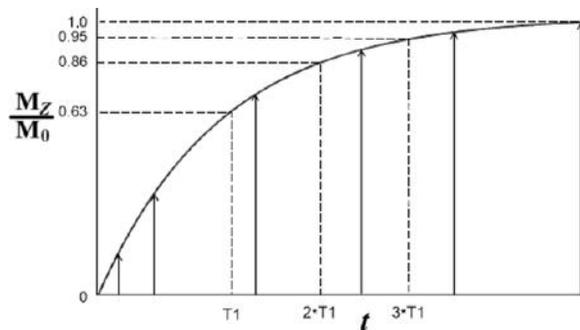


Figura 1.7. Comportamiento de la relajación longitudinal T_1 (Tomado de: <http://www.thno.org/v01p0083.htm>).

Además con la rotación, en la magnetización neta comienza a presentarse un desfase, esto porque los espines comienzan a experimentar un campo magnético diferente y rotan a su propia frecuencia de Larmor. Mientras exista un tiempo mayor, mayor será la diferencia de fase en la magnetización. Las interacciones espín – espín son temporales y aleatorias, por lo tanto, la relajación espín – espín, causan una pérdida acumulativa en fase, dando como resultado un decaimiento en la magnetización transversal (Figura 1.8).

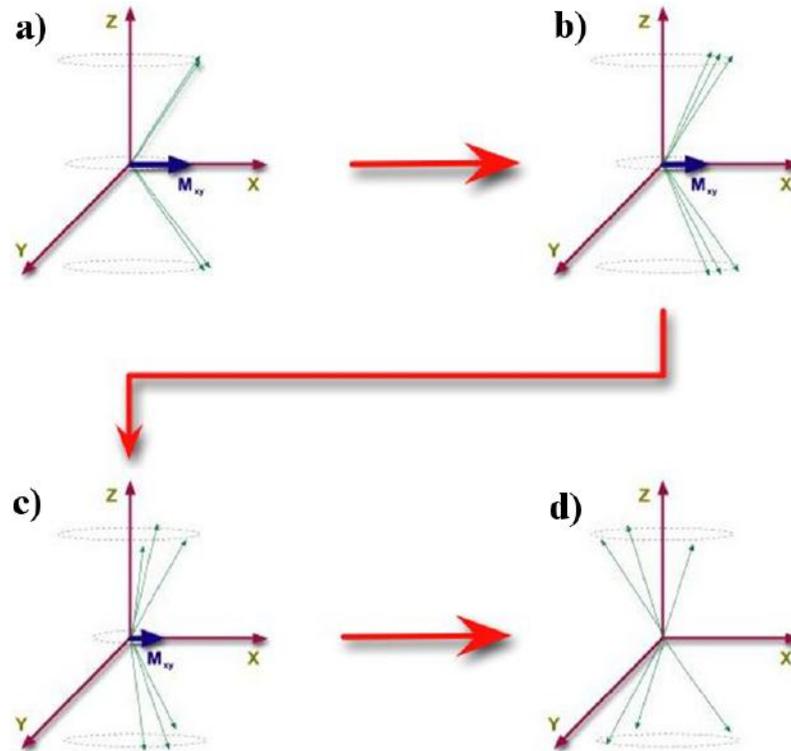


Figura 1.8. Ejemplificación de la relajación transversal. Cuando el vector de magnetización cae al eje transversal (xy), éste empieza a disminuir poco a poco (como se muestra de a – d)) (Tomado de: https://en.wikibooks.org/wiki/Basic_Physics_of_Nuclear_Medicine/MRI_%26_Nuclear_Medicine).

La constante de tiempo que describe el regreso al equilibrio de la magnetización transversal (M_{xy}), es llamado el tiempo de relajación espín – espín ó T2. El valor de T2 es único para cada tejido y está determinado principalmente por su entorno químico con poca relación con el campo. La pérdida exponencial resulta puramente de las interacciones aleatorias en el plano transversal (XY). La magnetización transversal, está regida por la ecuación:

$$M_{xy} = M_0 \left(e^{-t/T_2} \right) \quad (1.4)$$

El comportamiento de la ecuación anterior, puede observarse más fácilmente mediante la Figura 1.9.

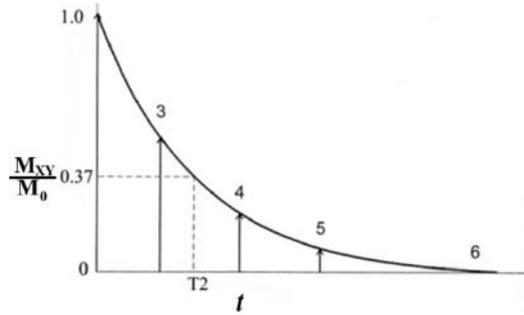


Figura 1.9. Comportamiento de la relajación transversal T2 (Tomado de: <http://www.thno.org/v01p0083.htm>).

El tiempo T2 siempre es menor o igual al tiempo T1. La magnetización neta en el plano XY decae a cero y posteriormente la magnetización longitudinal crece hasta que llega al valor M_0 en el eje Z.

Se considera al tiempo de relajación T2 cuando la magnetización transversal ha perdido el 37% de su valor original. T2 es específico a cada tejido, además, de que la relajación transversal es mucho más rápida que la relajación longitudinal [6].

Existen varias causas para la pérdida de coherencia de la magnetización transversal:

- Una es el movimiento de los espines adyacentes debido a vibraciones moleculares o su rotación.
- Otra causa es que los protones nunca experimentan un campo 100% uniforme u homogéneo, esto porque el protón precesa y experimenta fluctuaciones del campo magnético local, causando variaciones en ω_0 y con ello empieza a perder coherencia de fase en la magnetización transversal.

La combinación de estos dos factores es lo que da como resultado un decaimiento de la magnetización transversal. La constante de tiempo de esta combinación de factores es llamado T2 estrella ($T2^*$). La relación entre el T2 de procesos moleculares y de la inhomogeneidades en el campo magnético se describe por la ecuación:

$$\frac{1}{T2^*} = \frac{1}{T2} + \frac{1}{T2_{SM}} + \frac{1}{T2_{CM}} \quad (1.5)$$

donde $T2_{SM}$ es el tiempo de desfase debido a las diferencias de susceptibilidad magnética y $T2_{CM}$ es el desfase debido a las inhomogeneidades del campo

magnético principal. De forma más sencilla, la ecuación anterior la podemos resumir en la ecuación 1.6 y ver la diferencia con respecto a T2 en la Figura 1.10:

$$\frac{1}{T2^*} = \frac{1}{T2} + \frac{1}{T2_{inhomo}} \quad (1.6)$$

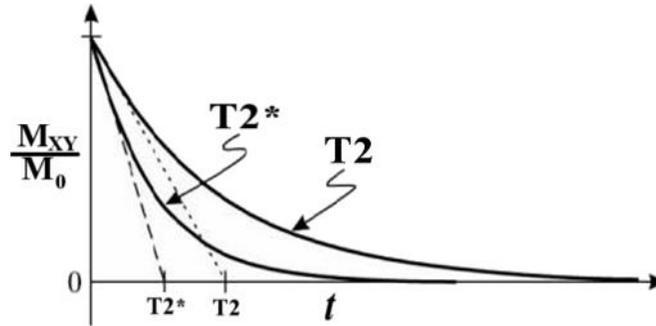


Figura 1.10. Comportamiento y diferencia en los tiempos T2 y T2* (Tomado de: <http://www.thno.org/v01p0083.htm>).

Una diferencia importante entre los tiempos de relajación T1 y T2, está en la influencia de \vec{B}_0 . T1 es muy sensible a \vec{B}_0 , a altos campos magnéticos, es factible medir tiempos T1 largos. T2 en cambio, es relativamente insensible a \vec{B}_0 , sobre todo si se habla de altos campos magnéticos como los que se utilizan en IRM. Solamente a bajas intensidades de campo, existirían cambios significantes en T2. Las otras componentes de T2* ($T2_{CM}$ y $T2_{SM}$) tienen mayor contribución a altos campos. Una buena uniformidad en el campo magnético es más difícil de obtenerse a altos campos magnéticos, de tal forma que $T2_{CM}$ será más corto. Al incrementar \vec{B}_0 también se causan mayores diferencias en M_0 entre dos tejidos con diferente susceptibilidad magnética, produciendo un $T2_{SM}$ más corto. El resultado es que en la técnica de ponderación en T2 existirá poca sensibilidad a \vec{B}_0 , mientras que la técnica de ponderación en T2* presentará mayores diferencias en cuanto a la señal entre más intenso sea \vec{B}_0 .

1.2 Formación y Adquisición de la señal

1.2.1 Señal de Decaimiento Libre Inducido (FID)

Cuando el transmisor de pulso de RF es apagado, los protones empiezan a realinearse y regresan a su orientación en equilibrio, con ello liberan energía a la frecuencia ω_0 . Supongamos que tenemos una antena receptora colocada perpendicularmente al plano transversal, los protones entonces inducen un voltaje (μV) en el alambre durante su

precesión. Este voltaje inducido, es conocido como FID (por sus sigla en inglés *Free Induction Decay*) o también Decaimiento Libre Inducido (Figura 1.11).

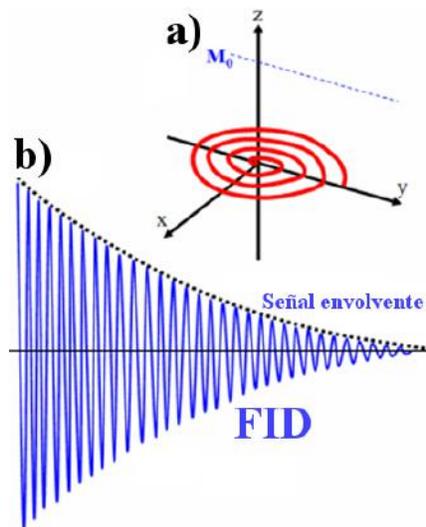


Figura 1.11. a) Efecto de la magnetización transversal, b) comportamiento de la señal de RM (FID) (Tomado de <http://www.revisemri.com/questions/basicphysics/fid>).

La magnitud de la señal del FID dependerá del valor de M_0 , inmediatamente después de la aplicación del pulso de RF. La señal envolvente puede medirse entonces por medio de la siguiente ecuación:

$$\text{Señal envolvente} = M_0 \cdot \sin(\alpha) \cdot e^{-t/T_2} \quad (1.7)$$

donde α es el ángulo de desviación (también llamado ángulo de brinco), que no es más que el ángulo con el que enviamos el pulso de RF para variar o “mover” nuestro vector de magnetización neto. Obtendremos una señal máxima cuando éste ángulo de brinco es de 90° .

En general, 3 aspectos de la señal de RM son de gran interés: la magnitud o amplitud, su frecuencia y la fase relativa del transmisor de RF (Figura 1.12). Como ya lo mencionamos, la magnitud de la señal está directamente relacionada con el valor de M_0 inmediatamente después del pulso de RF que se aplicó. La frecuencia de la señal está relacionada con la influencia del campo magnético con los protones. Si todos los protones experimentan el mismo \vec{B}_0 , entonces una única frecuencia debe estar presente en el FID.

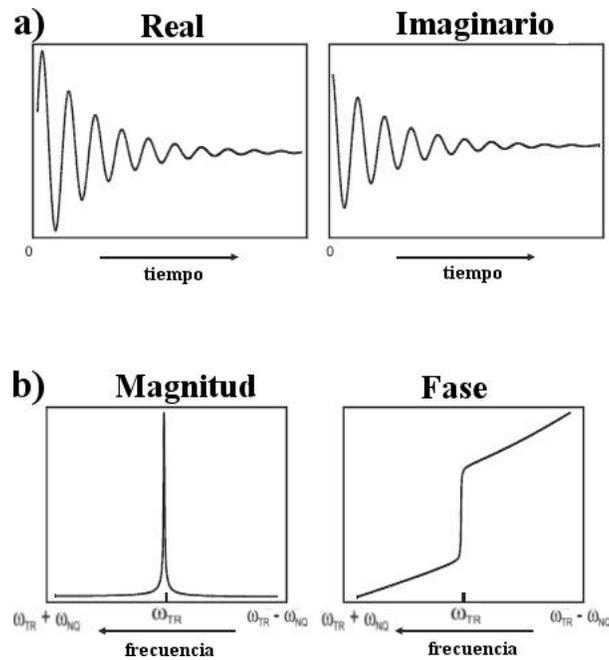


Figura 1.12. a) Componentes real e imaginario de la señal FID, b) transformada de Fourier del FID.

1.2.2 Codificación y ubicación espacial de la señal

Para poder formar una imagen en RM, es necesario tomar y localizar el origen de las señales. La IRM emplea la dependencia del campo magnético para poder localizar las frecuencias de los protones en diferentes regiones espaciales. En IRM, el campo magnético presenta una dependencia espacial a través de la aplicación de gradientes del campo magnético. Estos gradientes son pequeñas perturbaciones superpuestas al campo magnético principal. Un gradiente de IRM típico produce una variación menor al 1% de la magnitud de este campo magnético. También pueden presentarse estos gradientes como perturbaciones lineales a \mathbf{B}_0 , así el campo magnético exacto es linealmente dependiente en la ubicación dentro del imán:

$$\mathbf{B}_i = B_0 + G_T \otimes r_i \quad (1.8)$$

donde \mathbf{B}_i es el campo magnético en la posición r_i , y G_T es la amplitud total del gradiente. Los gradientes, también pueden ser aplicados por cortos periodos de tiempo durante el tiempo en que se hace un estudio, o también llamado tiempo de escaneo, los gradientes cuando actúan así también son relacionados como pulsos de gradientes.

Básicamente existen 3 gradientes físicos que son empleados, cada uno en una diferente dirección (x,y,z), como se muestra en la Figura 1.13. Cada uno de estos gradientes tienen un papel importante para la adquisición y formación de imágenes, como son: selección de corte, codificación en fase y frecuencia (también llamado de lectura), los cuales veremos más adelante.

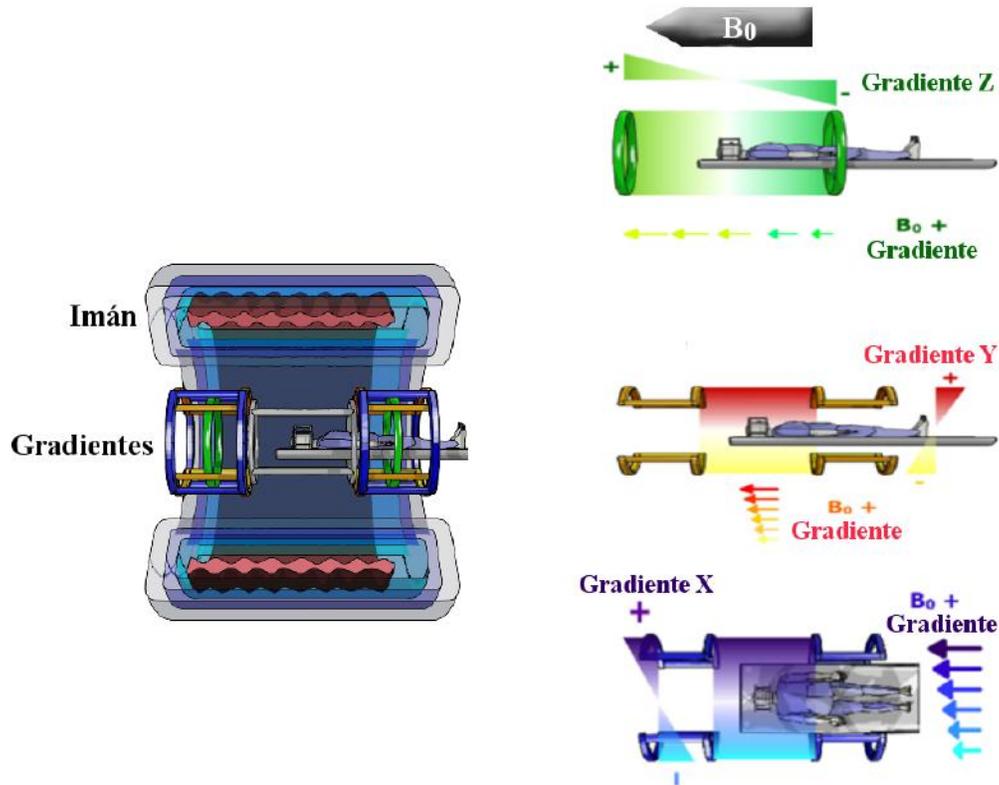


Figura 1.13. Localización de los gradientes dentro de un sistema de IRM (izquierda), observamos los tres diferentes gradientes que se tienen dentro de un sistema de IRM (derecha) (Tomado de <https://www.imaios.com/es/e-Cursos/e-MRI>)

La presencia de gradientes magnéticos requieren entonces una versión expandida de la ecuación de Larmor:

$$\omega_t = \gamma(B_0 + G \cdot r_i) \quad (1.9)$$

donde ω_t es la frecuencia en la posición r_i , y G es un vector representando la amplitud y dirección total del gradiente que se está aplicando. Las dimensiones de G usualmente son

expresado en militesla por metro ($mT m^{-1}$) o gauss³ por centímetro ($G cm^{-1}$). La ecuación anterior nos dice que en presencia de un gradiente de campo, cada protón resonará a una frecuencia única que depende precisamente en su posición dentro del gradiente del campo.

La imagen que se despliega consiste en una representación digital de píxeles⁴ que representan vóxeles⁵ de un tejido. La intensidad del píxel será proporcional al número de protones contenidos dentro de un vóxel ponderado gracias a los tiempos de relajación T1 o T2.

Matemáticamente la intensidad I de la señal, también conocida como señal eco, puede ser aproximada por:

$$I = N(H)(1 - e^{-TR/T1})e^{-TE/T2} \quad (1.10)$$

donde $N(H)$ es la densidad de protones móviles. La ecuación 1.10, indica que la intensidad de la señal de RM aumenta con la densidad de protones de hidrógeno, el aumento en T2 y a medida que disminuye T1. También hay que señalar que los parámetros programables Tiempo de Repetición (TR) y Tiempo Eco (TE) influyen sobre T1 y T2. Así, el efecto de los tiempos de relajación T1 y T2 de la sustancia sobre la intensidad de la señal está sujeta a los valores seleccionados de TR y TE antes de la adquisición de la imagen (estos parámetros serán descritos más adelante).

1.2.2.1 Gradiente selector de corte

El paso inicial en la IRM es la localización de la excitación de los pulsos de RF en una región del espacio, esto es posible por el uso de una excitación selectiva en frecuencia en combinación con un gradiente conocido como gradiente de selección de rebanada (G_{SS} ó G_z). La intensidad del gradiente junto con la excitación por medio de pulsos de RF con ciertas características, determinan el ancho y la posición de la rebanada.

Para que podamos excitar mediante pulsos de RF, necesitamos saber espacialmente dónde está la zona que queremos adquirir. Los pulsos de RF selectivos

³ 1 Gauss es una medida de campo magnético, generalmente en los sistemas de IRM la medida está dada en Tesla. 1 Tesla = 10 000 Gauss, en caso de los gradientes $1G/cm = 10 mT/m$. El campo magnético de la tierra es de $5 \mu T$ (0.05 Gauss).

⁴ Un píxel es la unidad mínima de una imagen, proviene del inglés *picture element*.

⁵ El vóxel (del inglés *volumetric pixel*) es la unidad cúbica que compone un objeto tridimensional.

son empleados para poder excitar, renfocar fases, invertir la magnetización, entre otras técnicas; y para estas aplicaciones se requiere tener un gradiente selector de corte [7][8][9][10].

Un pulso de RF selectivo en frecuencia tiene dos componentes: Una frecuencia central y un intervalo o ancho de banda de frecuencias (típicamente 1-2 KHz). Cuando este pulso es transmitido en presencia de un gradiente de selección de rebanada, una región estrecha del tejido alcanza la condición de resonancia y absorbe la energía de RF. Debido a que la frecuencia central del pulso determina la localización particular de la región, se puede cambiar o elegir diferentes posiciones de la rebanada cambiando la frecuencia central (Figura 1.14). El grosor del corte (Δz) es determinado por la intensidad (o amplitud) del gradiente (G_{SS}) y el ancho de banda de frecuencias incluidas ($\Delta\omega$) en el pulso de RF:

$$\Delta\omega = \gamma \cdot \Delta(G_{SS} * \Delta z) \quad (1.11)$$

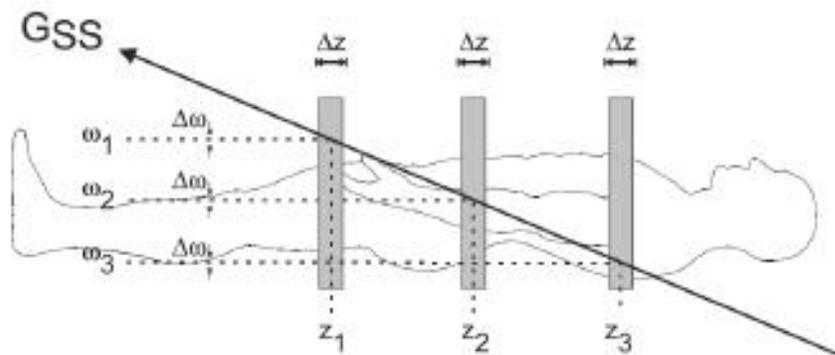


Figura 1.14. Proceso de la selección del corte (Tomado de:
<https://www.projectrhea.org/rhea/index.php/ECE438HonorsContractMRI>).

Con la ecuación 1.11, observamos los factores que nos permiten cambiar el ancho de la rebanada, en la Figura 1.15, se ilustran los cambios obtenidos al modificar tanto los parámetros de $\Delta\omega$ y G_{SS} .

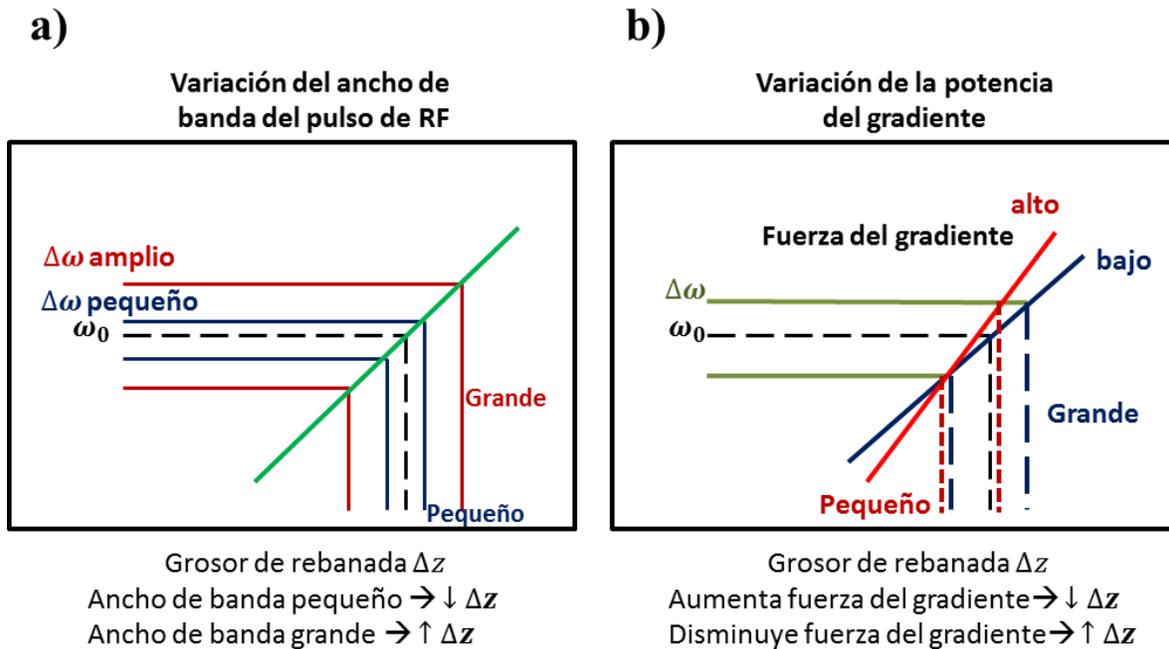


Figura 1.15. Diferentes formas de modificar el grosor del corte seleccionado.

En la Figura 1.15 se muestran dos formas para poder modificar el grosor del corte de selección, una es modificando el ancho de banda del pulso de RF (Figura 1.15a) y también se puede realizar un cambio en el ancho de la rebanada de selección, modificando la intensidad del gradiente que se aplica para la selección de rebanada (Figura 1.15b).

1.2.2.2 Gradiente Codificador en Frecuencia

La codificación espacial es un método empleado en muchas secuencias de pulsos, incluyendo adquisición de proyecciones [3], así como Imagenología de Fourier [11] [12]. Este gradiente, espacialmente codifica las señales de RM asignando una única frecuencia de precesión a cada espín isocromático⁶ a una localización espacial distinta a lo largo de la dirección del gradiente. Bajo la influencia de este gradiente, las señales de RM en el dominio del tiempo, consisten en un intervalo de frecuencias, las cuales corresponden a una localización espacial diferente. Posteriormente una transformada de Fourier de esta señal en el dominio del tiempo, nos revela el contenido en frecuencia.

Supongamos que se tienen tres muestras que contienen agua, en cada una de las posiciones experimentarán un campo magnético diferente debido al gradiente. Si

⁶ Un espín isocromático es un conjunto de espines que tienen una precesión a una sola frecuencia.

excitamos con pulsos de RF a la frecuencia de Larmor, los protones comenzarán a precesar a diferentes frecuencias $\omega_1 \neq \omega_2 \neq \omega_3$ de acuerdo a la ecuación de Larmor. Por lo tanto, se tendrán diferentes señales (Figura 1.16 b). Cada una de las señales es sumada teniendo así una señal total del volumen donde se está excitando con el pulso de RF (Figura 1.16 c). Así, conociendo la relación entre frecuencias y posición, se tiene una representación de una imagen unidimensional.

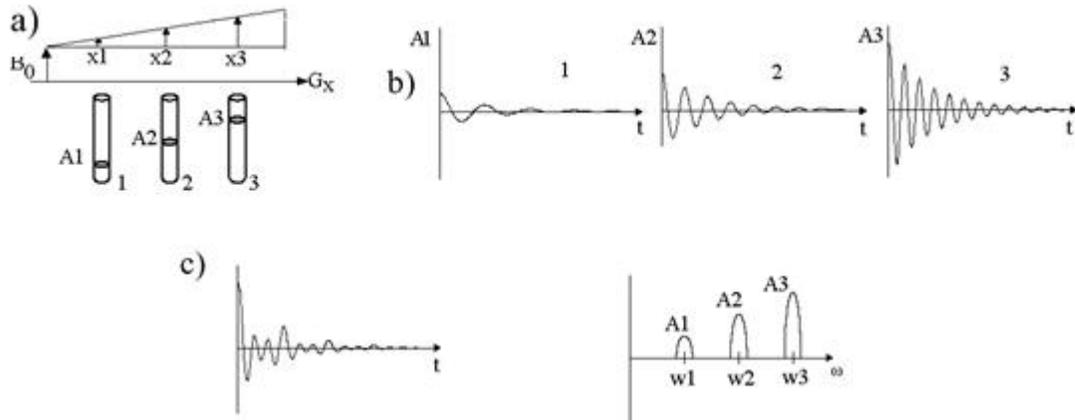


Figura 1.16. a) Debido a la variación lineal del gradiente G_x , las muestras 1, 2 y 3 presentarán cambios en sus frecuencias ω_i , donde i representa las posiciones x_1 , x_2 y x_3 . b) Para cada una de las muestras se presentan diferentes amplitudes y frecuencias debido a sus posiciones. c) Señal total resultante que permite obtener una representación de la imagen unidimensional debido a la frecuencia y posición

1.2.2.3 Gradiente Codificador en Fase

La idea de tener una codificación en fase es crear una variación lineal en la fase de la magnetización, como se muestra en la Figura 1.17. La fase es el ángulo que se produce por el vector de magnetización transversal con respecto a una referencia arbitraria en el plano transversal.

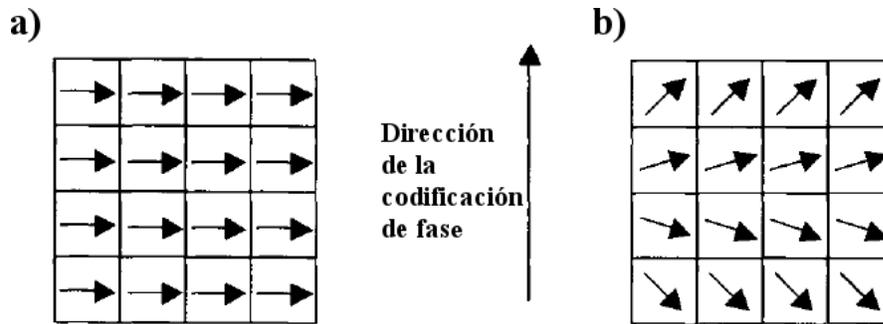


Figura 1.17. Supongamos que tenemos 16 píxeles. a) después del pulso de RF, la magnetización transversal tendrá la misma fase (dirección) en cada píxel. b) posteriormente de que se aplica el gradiente codificador de fase, la fase de la magnetización transversal varía en cada punto a lo largo de la dirección en fase.

La codificación de fase se realiza aplicando un gradiente mientras la magnetización se encuentra en el plano transversal, antes de aplicar el gradiente de frecuencia. Al variar el área del gradiente, se introducen entonces variaciones a la fase lineal. Las señales resultantes pueden ser reconstruidas por medio de transformada de Fourier para recuperar la información espacial del objeto.

1.2.3 El espacio k

Existe un concepto muy importante en RM para entender como los datos son adquiridos, manipulados y reconstruidos para formar una imagen final. El espacio k puede ser definido simplemente como el espacio en que los datos son adquiridos, posicionados y transformados en una imagen. Esto no existe en otra modalidad de imagenología.

El espacio de los datos; lo podemos ver como una matriz de los datos de la imagen. Se puede decir que el espacio de los datos es la versión 'analógica' del espacio k (Figura 1.18), en éste los ejes son referidos como frecuencias espaciales. Podemos observar que en la Figura 1.18, el cero del espacio k se encuentra cuando el gradiente de codificación en fase está apagado, para el caso que se está tratando tenemos 256 pasos de codificación en fase y recorreremos el espacio del -127 al 128, con lo anterior se ve que existen 256 frecuencias diferentes para llenar el espacio k . Tenemos también que el eje Y está determinado por la dirección de la codificación en fase; conforme se avanza en el eje Y , cada bloque de señales es adquirida con una mayor intensidad del gradiente de codificación en fase, con la máxima intensidad en el paso +128 [13]. De manera análoga, conforme se va descendiendo en el eje Y , cada paso tiene señales adquiridas con un

gradiente de codificación en fase más intenso pero con dirección opuesta con la máxima amplitud en el paso -127.

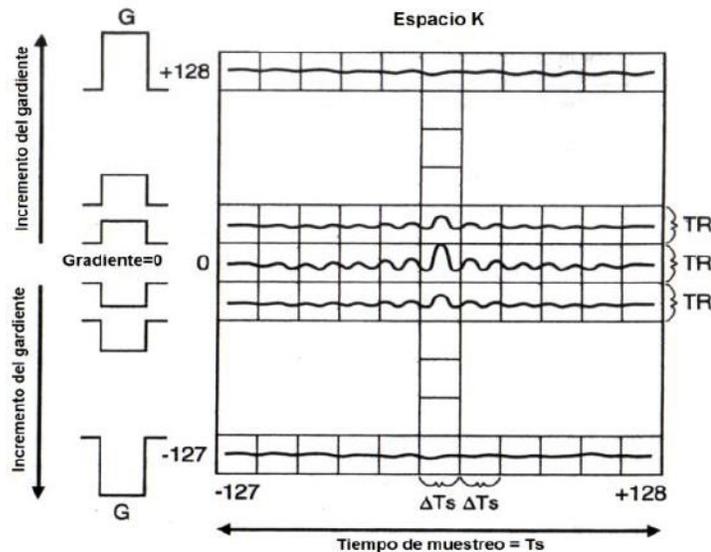


Figura 1.18. Llenado del espacio k, dependiendo de la variación de amplitud y la codificación en fase

Supongamos que se aplica una secuencia de pulsos y obtenemos un 'eco' (o señal); lo que procede es poner una versión muestreada (o digitalizada) del eco en uno de los renglones de la matriz en el espacio k. Consideramos que este eco fue adquirido sin la utilización de un gradiente de codificación en fase en la dirección Y. Una vez muestreada la señal se pone en la línea cero del espacio de los datos. Si decimos, por ejemplo que tenemos una matriz de 256x256 entonces tendremos 256 muestras. Cada una de los 256 puntos en un renglón del espacio de los datos es una muestra del eco [13]. Para el segundo renglón, se hace lo mismo que para el anterior, excepto que en este paso la señal es obtenida usando un gradiente de codificación en fase pequeño en el eje Y. Dado que el gradiente de codificación en fase causa un 'defase' de los espines, la señal para la segunda línea del espacio de los datos tendrá la misma morfología que la primera señal (porque las dos señales son de la misma rebanada del tejido, pero obtenidas a diferentes tiempos) pero con una magnitud menor.

1.3 Secuencias de pulsos

Una secuencia de pulsos es una técnica para obtener una imagen por Resonancia Magnética. Esta técnica contiene las instrucciones necesarias para adquirir los datos de la manera deseada. La intensidad de la señal producida a partir de un elemento volumétrico

de los tejidos, está determinada por la medición de los parámetros seleccionados directamente por el usuario y las variables determinadas por la secuencia de pulsos [13].

Algunos parámetros ligados con una secuencia de pulsos (por ejemplo el campo de visión [FOV], el tiempo de repetición [TR] mínimo) dependerán de la forma en cómo el fabricante programa la técnica (por ejemplo la duración del pulso gradiente), mientras que otros (como la amplitud máxima del gradiente, o el tiempo de subida del gradiente) son determinados por las limitaciones del hardware.

Uno de los aspectos más confusos en IRM es la variedad de las secuencias de pulsos presentes en los diferentes sistemas. Las secuencias presentes en diferentes equipos de IRM, aunque sean las mismas, presentan nombres diferentes dependiendo de la marca del equipo. La comparación entre las secuencias de pulsos se facilita empleando diagramas de tiempo.

Los diagramas de tiempo son representaciones esquemáticas de los pasos básicos realizados por los diferentes componentes del hardware durante la ejecución de la secuencia. Aunque existan diferencias en el estilo de los diagramas, representados por diversos autores, en general existen características similares en todos los diagramas. El tiempo de duración se representa de izquierda a derecha a través del eje horizontal. La separación vertical entre líneas se emplea únicamente para fines de visualización. Cada línea corresponde a componentes diferentes de hardware. Por lo menos, se emplean cuatro líneas para describir la secuencia de pulsos: uno representa el pulso de radio frecuencia (RF), otro representando cada gradiente (G_z - gradiente selector de corte, G_x - gradiente de lectura (o frecuencia) y G_y - gradiente de fase), y finalmente se representa el momento en que se recibirá el Eco (señal) al relajarse el sistema, como se puede apreciar en la Figura 1.19.

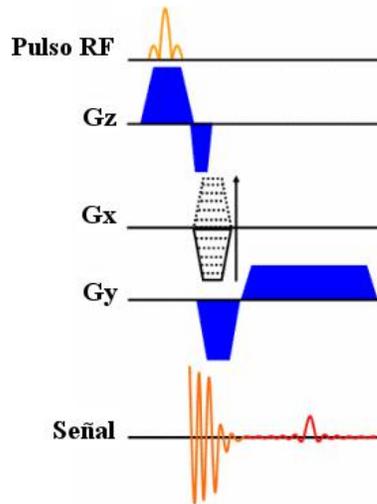


Figura 1.19. Ejemplo de un diagrama de pulsos (Tomado de: http://www.revisemri.com/questions/creating_an_image/simplest_psd).

Los parámetros que se deben considerar en una secuencia de pulsos para poder adquirir una imagen son principalmente el Tiempo Eco (TE) que es el tiempo que transcurre desde que se presenta de la excitación por un pulso de RF hasta el centro del eco que se recibe, y el Tiempo de Repetición (TR) que se define como el tiempo entre una adquisición y la siguiente, como se muestra en la Figura 1.20.

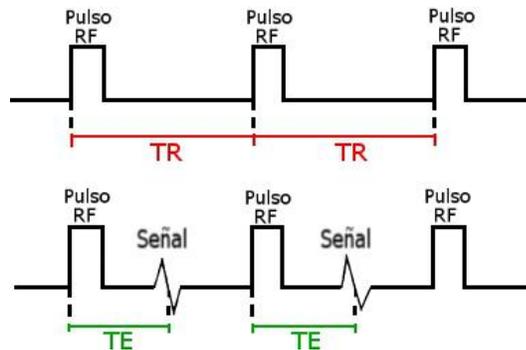


Figura 1.20. Diferenciación entre el Tiempo de Repetición (TR) y el Tiempo Eco (TE).

1.3.1 Secuencia Espín Eco (SE)

Es una secuencia fundamental en IRM. Se caracteriza por la aplicación de un pulso de RF y uno o más pulsos de re-enfocamiento o re-enfasamiento. Por lo regular se utilizan pulsos de 90° y 180° respectivamente (Figura 1.21). Se utiliza para obtener

imágenes en 2D aunque existen modificaciones de la técnica para obtener imágenes en 3D. La principal ventaja de la secuencia Espín-eco (SE) es que se pueden obtener imágenes ponderadas tanto en T1 como en T2 y densidad de protones (PD), con la modificación de los parámetros TE y TR.

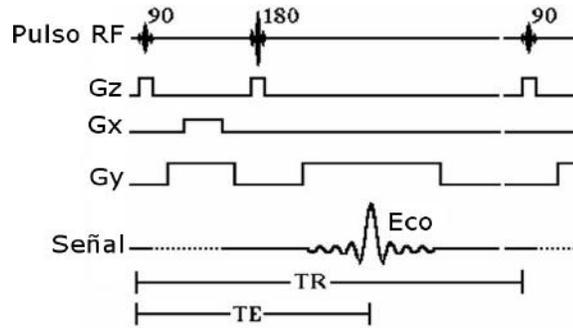


Figura 1.21. Diagrama de pulsos de una secuencia SE (Tomado de Hornak,JP. **The Basics of MRI**. 2014, <https://www.cis.rit.edu/htbooks/mri/inside.htm>).

En la Figura 1.22 se explica con un poco más de detalle lo que ocurre con la magnetización en esta secuencia.

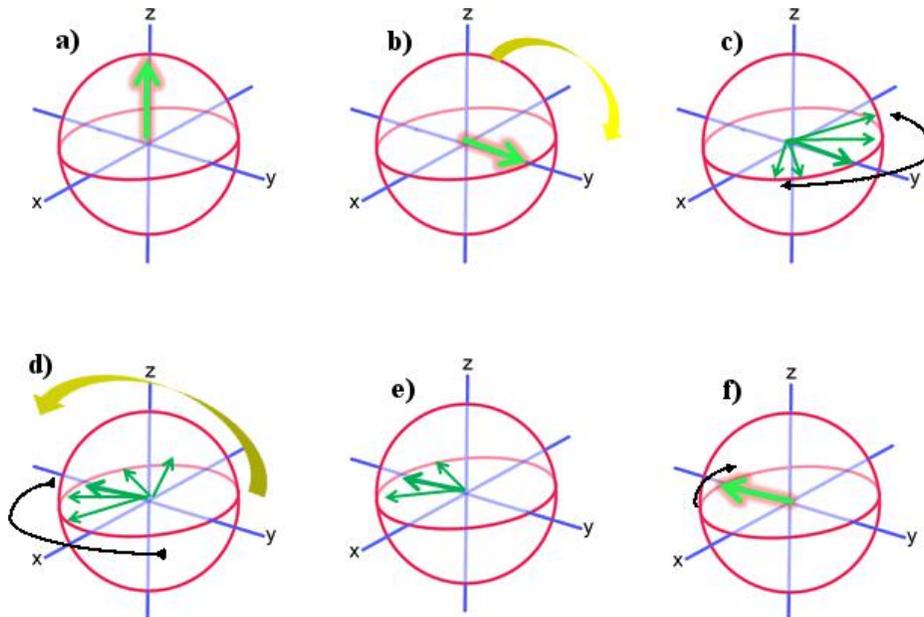


Figura 1.22. a) El vector de magnetización se encuentra en equilibrio, posteriormente b) se manda el pulso de RF de 90° que manda al vector de magnetización al plano transversal, c) comienza a haber un desfase de espines, d) se manda un pulso de 180°, e) con este pulso, los espines comienzan a tener la misma fase (pulso de reenfaseamiento), f) todos los espines se reenfasean, y finalmente los espines al tener la misma fase tendrán un valor máximo de M_0 (Tomado de: http://www.snipview.com/q/Spin_echo).

Recordemos la ecuación (1.10) sobre intensidad de la imagen, en la Tabla 1.2, se muestran algunas combinaciones de los parámetros de la secuencia.

	TE Corto (menos de 20ms)*	TE Largo (más de 80ms)*
TR Corto (menos de 700ms)*	Ponderación en T1	No aplica
TR Largo (más de 2000ms) *	Ponderación en DP	Ponderación en T2

Tabla 1.2. Diferentes combinaciones de los parámetros TR y TE para generar contraste en una secuencia SE
(* valores para un sistema de 1.5T)

1.3.2 Secuencia Gradiente Eco (GE)

Esta secuencia ha sido diseñada y empleada para reducir el tiempo de escaneo de imágenes de IRM, como imágenes en 3D, imágenes vasculares, cardíacas, etc. Esta secuencia se caracteriza principalmente por la ausencia de la aplicación de un pulso de radio frecuencia (RF) de 180°, Figura 1.23.

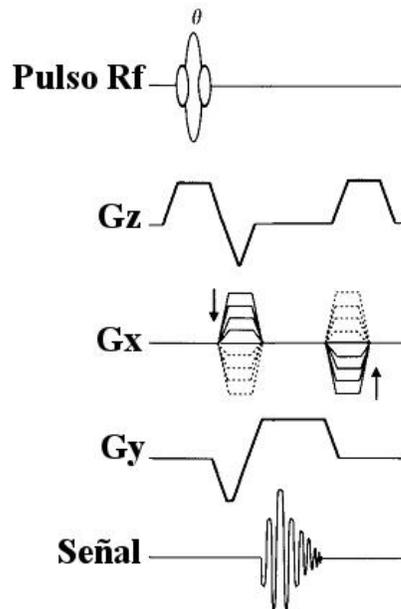


Figura 1.23. Diagrama de pulsos de una secuencia GE.

Primero un gradiente de lectura desfasa los espines, entonces se requiere de un gradiente de lectura con polaridad opuesta para reenfasear los espines. Las adquisiciones con GE son más rápidas porque el ángulo de brinco del pulso de excitación es menor a los 90° [13].

De la misma forma que en una secuencia SE, podemos obtener imágenes ponderadas modificando los parámetros, como se muestra en la Tabla 1.3.

	TE Corto (menor a 15ms)*	TE Largo (mayor a 30ms)*
α Menor a 40°	Ponderación en DP	Ponderación en T2
α Grande (mayor a 50°)	Ponderación en T1	No aplica

Tabla 1.3. Combinación de TE y ángulo de brinco (α) para generar diversos contrastes por medio de una secuencia GE.

1.3.3 Inversión-Recuperación

En IRM, las diferencias en los diferentes tiempos de relajación de los tejidos son empleados para generar contrastes. Pongamos el caso de un tejido que tiene un T1 grande, éste se recupera lentamente antes de que el siguiente pulso de RF sea aplicado, y la señal aparecería con baja intensidad en comparación con tejidos que tengan un T1 corto cuya magnetización longitudinal se recupera completamente antes de la siguiente excitación. Es por eso, que se ha realizado un método alternativo para la generación de contraste, que es el empleo de un pulso de inversión, que tiene como finalidad el cambiar la magnetización longitudinal. Antes de aplicar el pulso de RF que inicia la secuencia de pulsos, se deja un tiempo para permitir que la magnetización invertida se recupere hacia su estado de equilibrio.

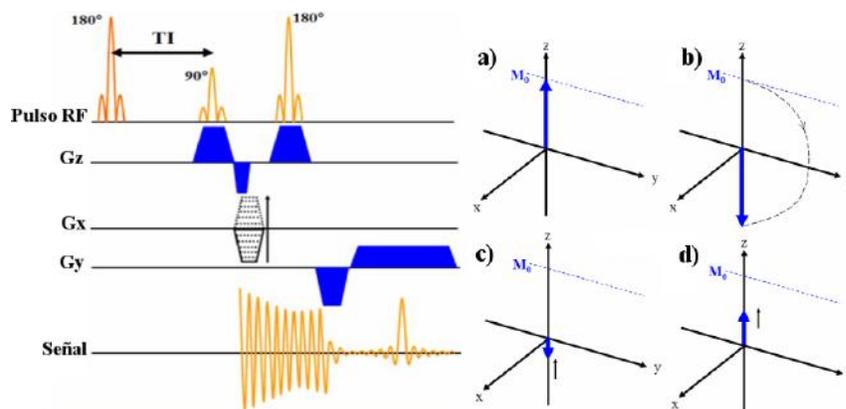


Figura 1.24. (Izquierda) Secuencia de pulsos para el método de Inversión-Recuperación. (Derecha) a) el vector de magnetización se encuentra en el equilibrio, b) se manda el pulso de RF de 180° que invierte la magnetización, c) y d) la magnetización se empieza a recuperar al estado de equilibrio si es que no se manda el pulso de 90° siguiente (Tomado de: http://www.revisemri.com/questions/pulse_sequences/stir).

Esta secuencia incorpora una excitación para invertir la magnetización, el tiempo que transcurre entre el pulso de inversión y el siguiente pulso de excitación se conoce como tiempo de inversión (TI). Así en nuestro caso, los tejidos con diferentes T1 se recuperan a diferentes velocidades, creando un mayor contraste en T1 entre ellos, como se ilustra en la Figura 1.25.

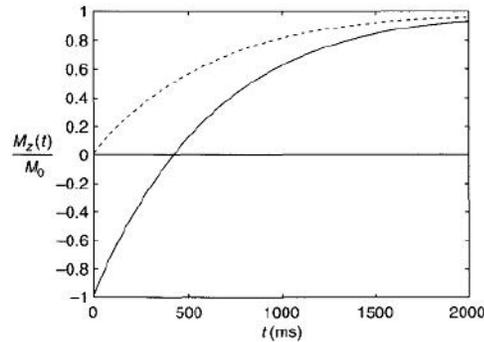


Figura 1.25. Contraste entre dos tejidos debido a sus diferencias en valor de T1 (Tomado de: <http://www.thno.org/v01p0083.htm>).

1.3.4 Imagenología Eco-Planar (EPI)

Esta es la primera técnica de imagenología ultra rápida propuesta por Mansfield en 1977 [4]. Su principal ventaja es el bajo tiempo de adquisición (4-40 ms), reduciéndose así diversos artefactos durante la adquisición de la imagen. Esta técnica ha sido empleada de manera fundamental para adquisiciones de imágenes de difusión, perfusión, mapeo neuronal y funcional, imágenes cardíacas, estudios dinámicos e imágenes en tiempo real.

A diferencia de las secuencias convencionales como Espín Eco (SE) y Gradiente Eco (GE), la secuencia EPI emplea una serie de gradientes bipolares de lectura para poder generar un tren de ecos. El gradiente inicial de lectura se utiliza para desfasar los espines que fueron excitados por el pulso de RF; el proceso de defasamiento puede ser invertido aplicando un gradiente de lectura con polaridad opuesta, dando como resultado una señal. Al repetir el procedimiento, se obtendrá un tren de ecos. La señal decaerá gradualmente a cero debido a los efectos de T2 y T2* [14].

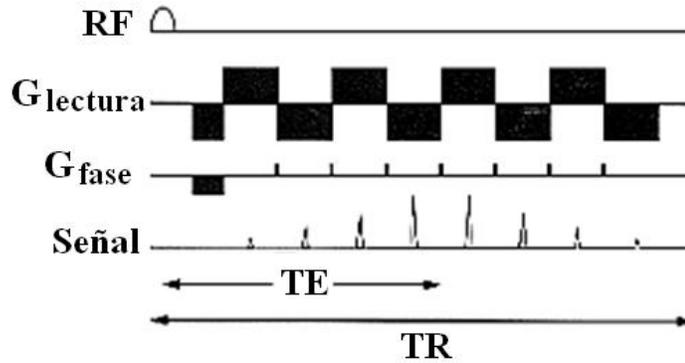


Figura 1.26. Diagrama de una secuencia EPI típica (Tomado de: <http://www.iisc.ernet.in/currsci/mar25/articles24.htm>).

Cada eco es codificado espacialmente de tal forma que se pueden ir adquiriendo diversas líneas del espacio k con una sola señal FID. Esta secuencia nos permite tener varias combinaciones con otras secuencias básicas como SE o GE, teniendo así un pulso de preparación opcional.

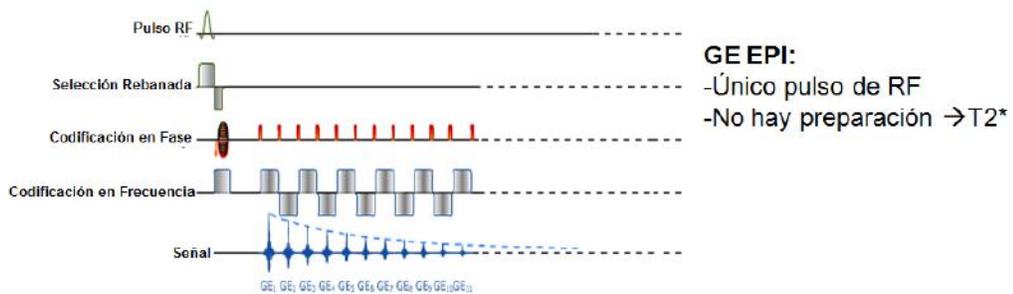


Figura 1.27. Diagrama Secuencia Gradiente Eco - EPI.

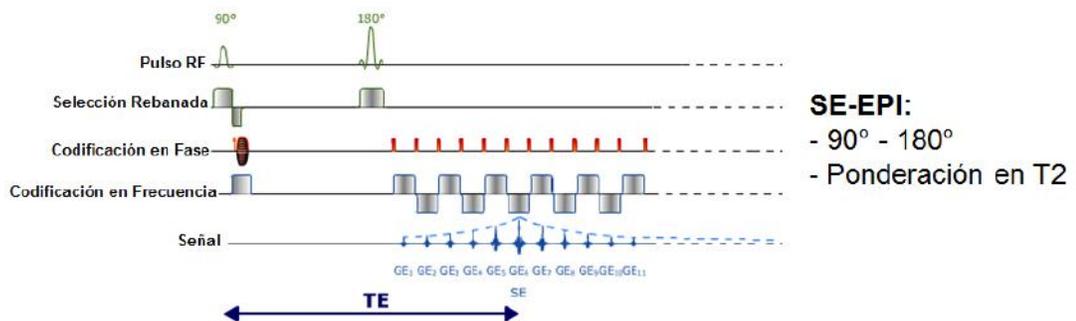


Figura 1.28. Diagrama Secuencia Spin Eco - EPI.

En las Figuras 1.27 y 1.28, se observa una combinación de la secuencia EPI con GE y SE respectivamente, podemos apreciar que en ambos casos existe un pulso de RF característico de la secuencia Gradiente Eco y Espín Eco, que nos permite tener una imagen en tiempo reducido, debido a la rápida actuación en la codificación espacial y en frecuencia.

Existen otras secuencias de pulsos que se pueden emplear para la obtención de imágenes en estudios de IRMf, estas secuencias deben cumplir con la característica de obtener imágenes en un corto lapso de tiempo como son la secuencia Fast Low Angle Shot Magnetic Resonance Imaging (FLASH), Fast Imaging Employing Steady-State Acquisition (FIESTA), Gradiend Recalled Acquisition in the Steady State (GRASS), etc.

1.4 Contraste en la imagen de IRM

Los diversos tejidos en el cuerpo humano, presentan intensidades de la señal diferentes, esta intensidad la podemos manejar o interpretar como el brillo dentro de las imágenes de RM. Estas diferencias en la intensidad son descritas como el contraste de la imagen, y nos permiten poder observar los bordes entre tejidos. La IRM nos permite producir un amplio rango de contrastes por medio del empleo de diferentes técnicas de imágenes (descritas en el capítulo anterior como secuencias de pulsos) y de esta manera poder controlar el tiempo de adquisición.

Uno de los propósitos del diagnóstico por imagen es ser capaz de distinguir tejidos enfermos y sanos vecinos. La IRM ofrece importantes ventajas cuando se compara con otras modalidades de imagen debido a su excelente discriminación de tejidos blandos. La IRM tiene una gran cantidad de mecanismos de manipulación de la señal, así como la señal depende de una amplia variedad de parámetros de los tejidos [15]. Pueden ser creados diferentes tipos de contraste en la imagen para satisfacer diferentes demandas. El contraste en la imagen es definido en términos de diferencias en intensidad de la imagen como se muestra a continuación:

$$C_{AB} = \frac{|I_A - I_B|}{I_{ref}} \quad (1.12)$$

donde I_A e I_B son la intensidad de la imagen de los tejidos A y B, e I_{ref} es un valor normalizado.

Las secuencias de pulsos, como ya se comentó en el capítulo anterior, contienen parámetros que el usuario puede modificar, sobre todo los que controlan el tiempo de adquisición, como lo son el Tiempo de Repetición (TR) y el Tiempo Eco (TE). Con las curvas de decaimiento para agua y grasa, podemos darnos una idea de cómo poder modificar estos parámetros para dar el diferente contraste en las imágenes, Figura 1.29. Si recordamos las Tablas 2 y 3, observamos que al manejar estos parámetros en las dos secuencias básicas (SE y GE), obtenemos las diversas ponderaciones de las imágenes en T1, T2 y Densidad de protones (DP).

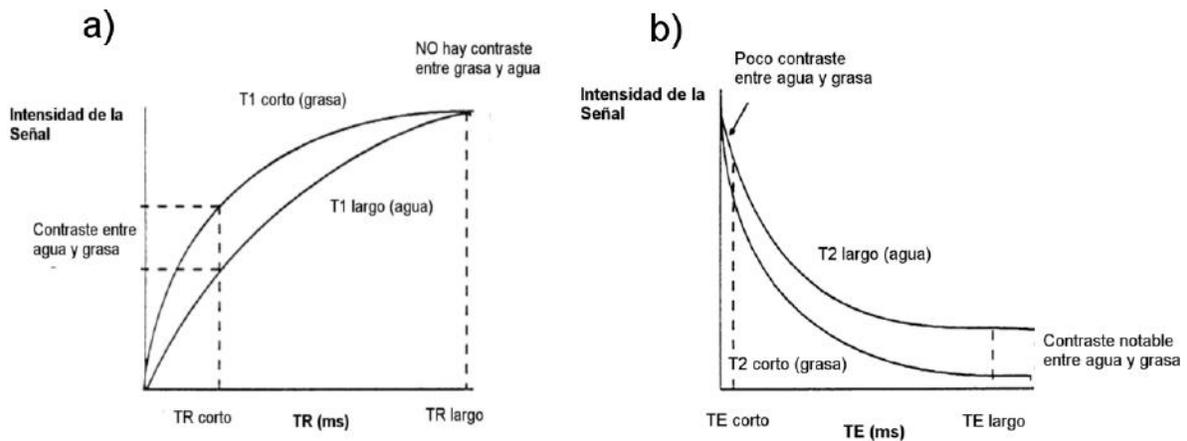


Figura 1.29. Curvas representativas de T1 (a) y T2 (b), que ejemplifican el cambio en la intensidad de la señal para generar contrastes en base a estos tiempos de relajación.

1.4.1 Ponderación en T1

Las imágenes ponderadas en T1 pueden ser producidas empleando secuencias tanto GE como SE, esto lo podemos observar por medio de las Tablas 2 y 3. Estas imágenes usualmente presentan un excelente contraste, ya que los fluidos se aprecian muy oscuros, los tejidos a base de agua presentan una tonalidad grisácea media y los tejidos a base de grasas se aprecian muy claros. Este tipo de imágenes generalmente se conocen como imágenes anatómicas, ya que muestran con mayor claridad los límites entre diferentes tejidos.

1.4.2 Ponderación en T2

Al igual que con las imágenes ponderadas o contrastadas en T1, éstas pueden ser obtenidas por medio de secuencias GE y SE. Las imágenes ponderadas en T2 por lo general requieren un TR largo y un TE largo. En estas imágenes, los fluidos tienen la

mayor intensidad de señal, los tejidos a base de agua se aprecian de tonalidades más grisáceas y tejidos a base de grasa presentan ya tonalidades más oscuras. Las imágenes ponderadas en T2 usualmente se han usado para el diagnóstico de patologías, debido a que nos permiten observar el contraste entre fluido anormal en tejido sano, esto debido a las diferencias de alta intensidad (fluido) y de intensidades más bajas u oscuros (tejido normal).

1.4.3 Ponderación en Densidad de Protones

Una imagen ponderada en Densidad de Protones, si lo observamos de forma muy sencilla, depende del número de protones que se encuentren precesando en el volumen de adquisición. Si observamos la Figura 1.29, podemos deducir que esta ponderación de la imagen, la podemos obtener con un TR muy largo, de esta forma estamos minimizando los efectos de T1 y un TE muy corto para reducir el T2 de los tejidos. La diferencia que se obtiene en la imagen depende únicamente en el número o densidad de átomos de hidrógeno presentes en los diferentes tejidos.

La Figura 1.30, muestra las diferencias en los contrastes en cada una de las diferentes ponderaciones (T1, T2 y DP).

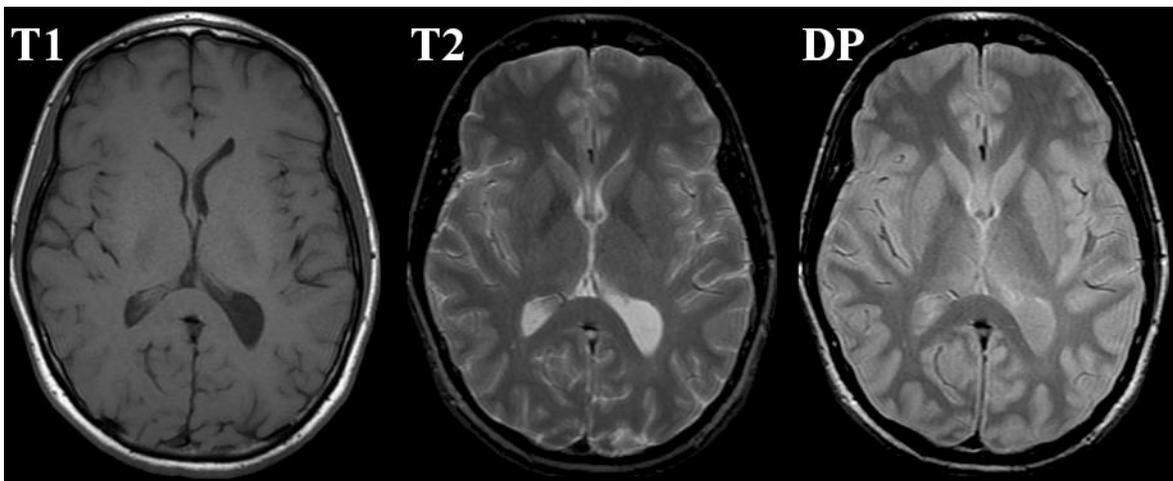


Figura 1.30. Ejemplo de cómo se observan las diferencias de contraste en una imagen ponderada en T1, T2 y Densidad de Protones (DP).

2.3.4 Ponderación en T2*

Las imágenes ponderadas en T2 obtenidas por medio de una secuencia GE, generalmente deben ser imágenes ponderadas en T2*, esto debido a los efectos

producidos por un campo magnético imperfecto, siendo estrictos, un campo magnético perfecto no se puede producir esto debido a los efectos de susceptibilidad que se presenta.

Recordemos que las inhomogeneidades del campo afectan la relajación de los tejidos después un pulso de RF, acelerando la relajación espín espín (ecuación 1.5). Este tipo de imágenes son más comunes al momento de obtenerlas por medio de una secuencia GE. De manera general, podemos decir que el tiempo $T2^*$ está estrechamente relacionado al tiempo $T2$ (Figura 1.31), así que veríamos un mismo efecto en las diferencias de contraste que en una imagen ponderada en $T2$.

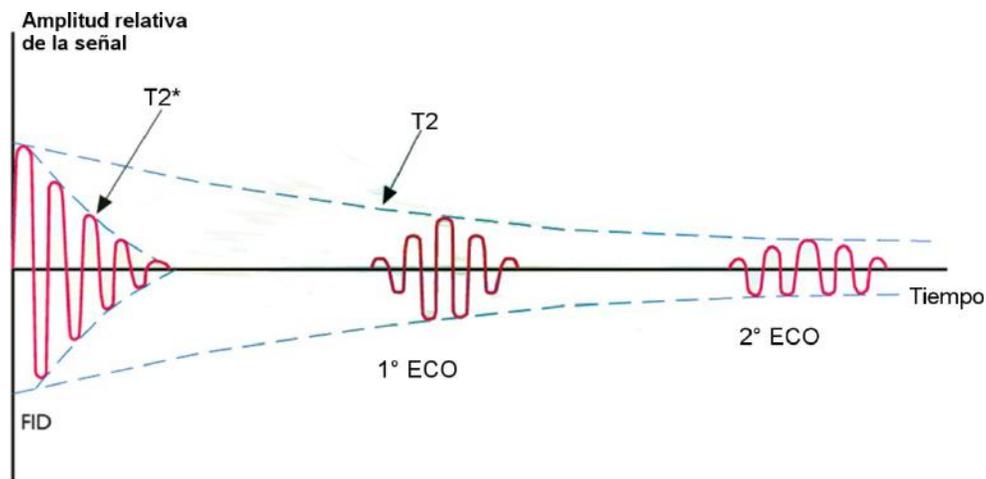


Figura 1.31. Relación entre los tiempos de relajación $T2$ y $T2^*$.

CAPÍTULO 2

Imagenología por Resonancia Magnética Funcional

Introducción

El ser humano siempre ha sentido curiosidad por la naturaleza, una de las principales curiosidades del hombre ha sido saber cómo funciona el cerebro humano. Como se ha mencionado, con el descubrimiento de los Rayos X, se revolucionó por completo la forma de estudiar el cerebro humano. A partir del desarrollo de la TC, se resolvió el problema técnico sobre el estudio y localización de lesiones cerebrales, esto evitando estudios *post-mortem* para establecer una correlación clínico-patológica. Con el desarrollo de la TC y la IRM de cráneo, se facilitó el estudio de lesiones cerebrales, pero había un inconveniente, ya que sólo dan imágenes anatómicas y no funcionales del cerebro. En la actualidad se han desarrollado varias tecnologías que permiten obtener imágenes funcionales, como por ejemplo PET, SPECT, IRMf, magnetoencefalografía y la electroencefalografía cuantitativa (EEG). Fue precisamente esta última técnica la primera que apareció para poder obtener un mapeo no invasivo de la función cerebral, y que todavía desde hace casi un siglo (1924) se sigue empleando como una herramienta para ver la funcionalidad cerebral.

Las imágenes funcionales no sólo confirman una patología, sino que permiten descubrir áreas disfuncionales alrededor o a distancia de una lesión anatómica. Además, se puede llegar a hacer una combinación entre diferentes técnicas (por ejemplo, IRMf con EEG o ERM) para poder obtener un diagnóstico más certero.

El reto tecnológico que presentan las diversas técnicas de imágenes funcionales, está en obtener imágenes específicas con mejor resolución temporal y espacial. En este capítulo abordaremos el tema de IRMf.

2.1 Fisiología de la actividad cerebral

Bajo condiciones normales, el cerebro obtiene casi toda su energía a partir de la oxidación de glucosa, es por esto que necesita un suministro casi constante de glucosa y oxígeno, proporcionado por una importante y compleja red vascular. Aun cuando el cerebro representa aproximadamente el dos por ciento de la masa total del cuerpo, éste consume aproximadamente el veinte por ciento de glucosa y oxígeno total del cuerpo, obtenido mediante el suministro sanguíneo.

Una característica notable del metabolismo cerebral, y fundamental para diversas técnicas de Imagenología, es que el flujo sanguíneo y el metabolismo energético están íntimamente ligados a la actividad neuronal. Esto implica que los mapas de consumo local de glucosa o el flujo sanguíneo local, proveen información de la actividad neuronal.

Para comprender mejor las cuestiones relacionadas con la respuesta local hemodinámica cerebral local, el incremento en el metabolismo energético neuronal, y el trabajo asociado con la actividad eléctrica neuronal, es útil tener en cuenta:

- el tipo de trabajo realizado a nivel cerebral,
- las células que realizan el trabajo,
- el metabolismo energético y los mecanismos que determinan el balance en las células cerebrales,
- los mecanismos que relacionan los cambios en el flujo sanguíneo local con el metabolismo cerebral.

La idea de que el flujo sanguíneo cerebral (Cerebral Blood Flow, *CBF*), pueda reflejar actividad neuronal, comenzó a finales del siglo XIX con experimentos de Roy y Sherrington [16]. Actualmente este concepto es la base para cualquier técnica que use la respuesta hemodinámica cerebral. Debido a que los cambios de la tasa metabólica de glucosa y el *CBF* están acoplados, se asume que los cambios en la tasa de consumo metabólico cerebral de oxígeno y el *CBF* también están acoplados. Sin embargo, basados en mediciones reportadas de *CBF* y la tasa de consumo metabólico cerebral de oxígeno por medio de Tomografía por Emisión de Positrones (PET) en humanos durante estimulación somatosensorial y visual, Fox y sus colegas [17] reportaron un incremento del *CBF* que superó la tasa de consumo metabólico cerebral de oxígeno. En consecuencia, un desajuste en los cambios de *CBF* y la tasa de consumo metabólico cerebral de oxígeno, dan como resultado un incremento en los niveles de oxigenación

venosa y capilar, esto dio lugar a un nuevo parámetro fisiológico para el mapeo cerebral. En 1990, basados en estudios realizados en cerebros de ratas, empleando un sistema de 7 Tesla (T), Ogawa y colaboradores en los laboratorios AT&T Bell, reportaron que el mapeo cerebral funcional es posible empleando el nivel de dependencia de oxigenación sanguínea venosa (blood oxygenation level-dependent - BOLD) como un agente de contraste para la Imagenología por Resonancia Magnética (IRM) [18].

Los métodos para obtener imágenes funcionales, se basan en los cambios dinámicos cerebrales, cambios que pueden considerarse simultáneos y asociados a actividades sensoriales, motoras o cognitivas. Análisis más específicos demandan métodos que también pueden definir localizaciones neuro-anatómicas para estos cambios dinámicos.

2.2 Imagenología por Resonancia Magnética funcional (IRMf)

La Imagenología por Resonancia Magnética funcional (IRMf) es una especialización de la IRM. Podemos medir la respuesta hemodinámica (el cambio en el flujo sanguíneo) relacionado con la actividad neuronal del cerebro o de la médula espinal en humanos y otros animales. Esta técnica es relativamente nueva y se ha desarrollado para el campo de la neuroimagenología. Desde principios de los años 90's, la IRMf se ha convertido en una técnica dominante en el campo del mapeo cerebral debido a que es una técnica no invasiva, además de que no existe una exposición a radiación tanto nuclear (proveniente del decaimiento radioactivo de isótopos), así como ionizante (radiación electromagnética que al interactuar con la materia genera partículas con carga).

Desde que se desarrolló la técnica de IRMf en 1990, ésta ha sido una herramienta de visualización de actividad neuronal cerebral por excelencia. La IRMf ha sido empleada extensivamente para la investigación de varias funciones cerebrales, por ejemplo visuales, motoras, lenguaje y cognitivas. El principio en el cual radica esta técnica es la denominada BOLD, por sus siglas en inglés Blood Oxygenation Level-Dependent.

2.2.1 Efecto BOLD

Debido a que la IRMf mide la respuesta hemodinámica vascular inducida por el incremento de la actividad neuronal, es importante entender la cadena de eventos que se originan desde un estímulo hasta la obtención del resultado (Figura 2.1). La estimulación o la tarea, inducen actividades sinápticas y eléctricas en regiones localizadas, que disparan un incremento en el CBF, el volumen sanguíneo cerebral (CBV), la tasa de consumo metabólico cerebral de oxígeno (CMRO₂) y la tasa metabólica de glucosa cerebral (CMR_{glu}). Aunque los mecanismos exactos de la hemodinámica en la actividad neuronal no están totalmente bien conocidos, son aceptados para poder explicar la relación existente entre el cambio en el consumo metabólico de glucosa y el cambio en la actividad neuronal [19].

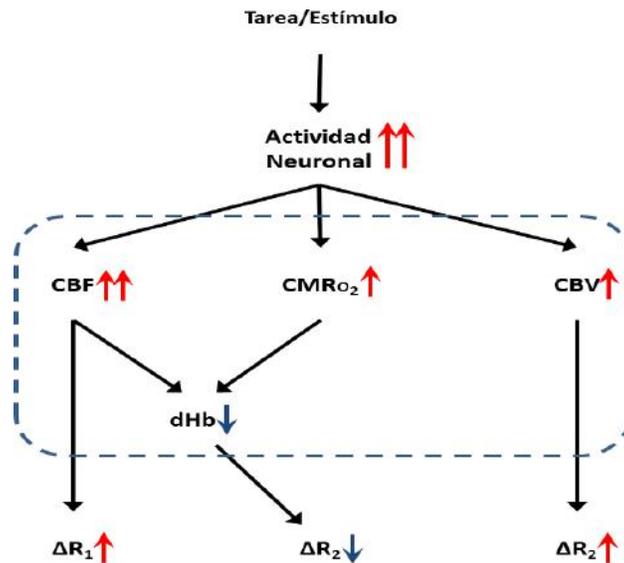


Figura 2.1. Representación de los mecanismos involucrados cuando existe un incremento en la actividad neuronal debido a un estímulo.

Los cambios de CBF y CBV están correlacionados, debido a que existe un cambio en la velocidad y cierta proporcionalidad. Esta relación ha sido obtenida a partir de la modulación del cambio en el CO₂ en experimentos con primates [20], dicha modulación puede ser descrita como:

$$\frac{\Delta CBV}{CBV} = \left(\frac{\Delta CBF}{CBF+1} \right)^{0.38} - 1 \quad (2.1)$$

donde $\frac{\Delta CBV}{CBV}$ y $\frac{\Delta CBF}{CBF}$ son cambios relativos totales del CBV y el CBF. Una relación similar fue observada durante la hipercapnia⁷ en ratas [21]. En cuanto a estudios en humanos, Ito y colegas midieron los cambios relativos al CBF y CBV en corteza visual durante la estimulación visual y encontraron que la relación descrita anteriormente es razonablemente aplicable en estudios con estimulación a humanos [22]. Así, el cambio total en el CBV puede ser un buen índice que indique el cambio en el CBF. El cambio en el CBV puede ser medido mediante el uso de agentes de contraste, ya que éstos se distribuyen en todo el sistema vascular.

El volumen de sangre venosa, constituye aproximadamente el 75% del volumen sanguíneo total [21], es por eso que es concebible que el cambio en el volumen sanguíneo venoso es dominante.

En el contexto del efecto BOLD, únicamente la sangre venosa puede contribuir a los cambios de susceptibilidad inducidos por la activación, ya que la sangre venosa contiene deoxihemoglobina. El nivel de oxigenación venosa es dependiente del desajuste entre el suministro de oxígeno por en el CBF y el consumo de oxígeno por el tejido. Asumiendo una saturación de oxígeno arterial de 1.0, el cambio relativo en el nivel de oxigenación venoso (Υ) puede ser determinado a partir de los cambios relativos tanto en el CBF y el CMRO₂ de la siguiente manera [23]:

$$\frac{\Delta \Upsilon}{1-\Upsilon} = 1 - \frac{(\Delta CMRO_2 / CMRO_2 + 1)}{(\Delta CBF / CBF + 1)} \quad (2.2)$$

A partir de la ecuación (2.2), un cambio relativo en el CMRO₂ puede ser obtenido a partir de la información de los cambios relativos del CBF y de Υ . También es importante reconocer que la relación entre el cambio de oxigenación y del cambio en el flujo sanguíneo es lineal a cambios pequeños del CBF [22][23], pero no es lineal a cambios muy altos del CBF [25][26].

La sangre puede considerarse como un sistema de compartimiento de dos elementos fundamentales, el plasma (compuesto principalmente de agua, iones y proteínas) y los glóbulos rojos (también llamados células rojas o eritrocitos). El porcentaje del volumen de la sangre que ocupan los glóbulos rojos, es llamado hematocrito (Hct), los

⁷ La hipercapnia se define como el aumento de la presión parcial de dióxido de carbono (CO₂), medida en la sangre arterial. Se produce una disminución del pH debido al aumento de la concentración plasmática de dióxido de carbono.

valores del Hct oscilan en un 40%, dependiendo de factores fisiológicos, como género, edad y condición física. El Hct puede variar a nivel capilar por donde las células atraviesan en los tejidos [27].

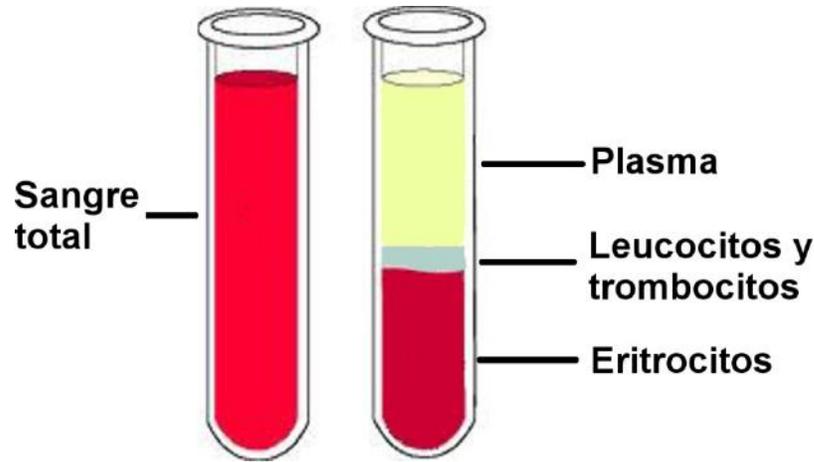


Figura 2.2. Composición sanguínea.

2.2.1.1 Hemoglobina

La hemoglobina (Hb) es una proteína globular, que está presente en altas concentraciones en los glóbulos rojos y se encarga del transporte de O_2 del aparato respiratorio hacia todos los tejidos. Además la Hb se encarga también del transporte del CO_2 y protones (H^+) de los tejidos hasta los pulmones para poder ser excretados [27].

En condiciones normales, aproximadamente el 97% del oxígeno que se transporta desde los pulmones a los tejidos es transportado en combinación química con la Hb. El 3% restante se transporta en estado disuelto en el plasma y de las células de la sangre. Así, en condiciones normales el oxígeno es transportado hacia los tejidos casi totalmente por la Hb [28].

La Hb es una proteína de estructura que consta de cuatro subunidades. Esta proteína hace parte de la familia de las hemoproteínas, ya que posee un grupo hemo⁸ (también llamado grupo heme).

⁸ El grupo hemo es un grupo prostético que forma parte de diversas proteínas, entre las que destaca la Hb, presente en los eritrocitos de la sangre, donde su función principal es la de almacenar y transportar oxígeno molecular de los pulmones hacia los tejidos y dióxido de carbono desde los tejidos periféricos hacia los pulmones. El grupo hemo está formado por el ligando cuadridentado de protoporfirina IX y un átomo hierro ferroso.

Existen diversas variaciones ligeras en las diferentes cadenas de las subunidades de Hb, dependiendo de la composición en aminoácidos de la porción polipeptídica. Los diferentes tipos de cadenas se denominan cadenas *alfa*, *beta*, *gamma* y *delta*. La forma más común de Hb en el ser humano adulto, la Hb-A, es una combinación de dos cadenas alfa y dos cadenas beta [27].

Debido a que cada cadena de Hb tiene un grupo prostético hemo que contiene un átomo de hierro, y debido a que hay cuatro cadenas de Hb en cada molécula de Hb, encontramos cuatro átomos de hierro en cada molécula de Hb; cada uno de ellos une una molécula de oxígeno mediante enlaces, lo que supone un total de cuatro moléculas de oxígeno (u ocho átomos de oxígeno) que puede transportar cada molécula de Hb, Figura 2.3.

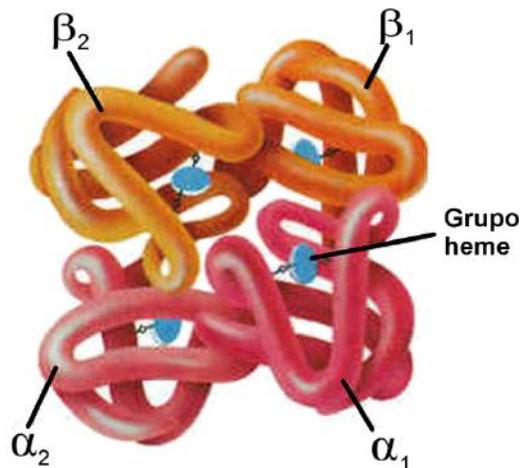


Figura 2.3. Esquematización de una molécula de Hb, donde se muestran las cadenas alfa, beta y los grupos heme (Tomad de: <http://hannongen677s11.weebly.com/>).

La característica más importante de la molécula de Hb es su capacidad para combinarse mediante enlaces débiles y reversibles con el oxígeno. La principal función de la Hb en el organismo es combinarse con el oxígeno en los capilares pulmonares y después liberar este oxígeno fácilmente en los capilares de los tejidos donde la tensión gaseosa del oxígeno es mucho menor que en los pulmones.

Existen dos estados fundamentales de la Hb que son la base por la cual podemos obtener el efecto BOLD, uno es la oxihemoglobina y el otro la deoxihemoglobina (Figura 2.4).

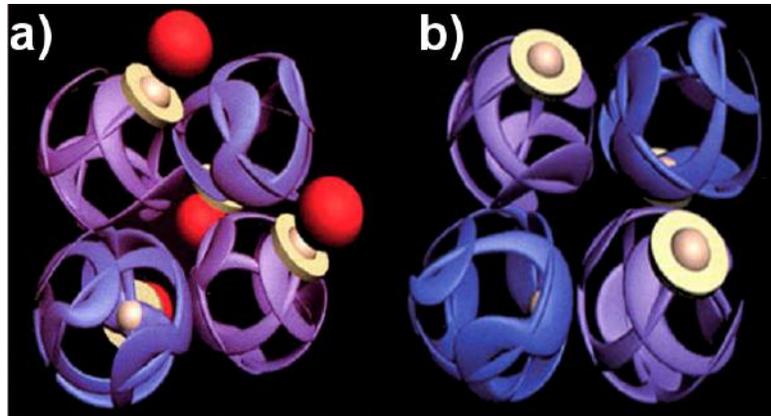


Figura 2.4. Esquematización de la Hb en su estado como oxihemoglobina (a), y en deoxihemoglobina (b). La diferencia se ilustra por la presencia o ausencia del oxígeno ligado a un grupo heme (Tomado de: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-93082007000100005&script=sci_arttext).

2.2.1.2 Hemoglobina y efecto BOLD

Los dos estados fundamentales de la Hb descritos en la sección anterior, se diferencian entre sí por sus propiedades magnéticas. La oxihemoglobina es una sustancia diamagnética, esto quiere decir, que es una sustancia que al ser sometida a un campo magnético produce un campo muy débil o nulo. La deoxihemoglobina, en cambio, es una molécula que presenta un “hueco” en su estructura, que evita que se tenga un “blindaje” de la molécula de hierro, por lo tanto, existen electrones impares, lo cual hace que la molécula de deoxihemoglobina sea una sustancia paramagnética, esto quiere decir, que es débilmente atraída por el campo magnético (véase Figura 2.5).

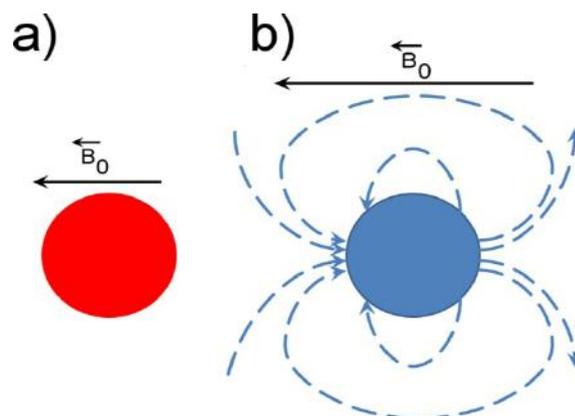


Figura 2.5. Representación del comportamiento de una sustancia diamagnética (a) como es el caso de la oxihemoglobina, y una sustancia paramagnética (b) como es el caso de la deoxihemoglobina.

La sangre desoxigenada, presenta un 20% más de susceptibilidad magnética a comparación con la sangre oxigenada. La susceptibilidad magnética es una medida de la intensidad de magnetización de una sustancia cuando es colocado en un campo magnético externo. El efecto en introducir una sustancia con susceptibilidad magnética en un campo magnético, es un decaimiento en la magnetización transversal, que está ligado con los tiempos T_2 y T_2^* como se observa en la Figura 2.6. Este efecto en el cambio en la señal de RM debido al efecto BOLD, presenta un cambio en el contraste debido a los cambios en la oxigenación en la sangre.

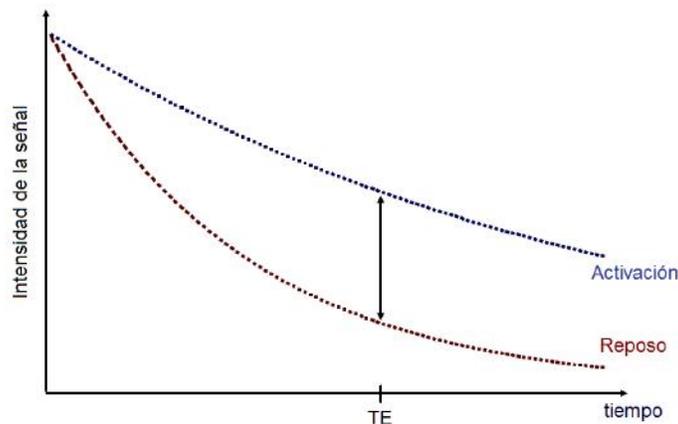


Figura 2.6. Cambio en la intensidad de la señal T_2^* , debida al consumo de oxígeno durante la activación neuronal, principio BOLD.

2.3 Diseño experimental y análisis de datos para IRMf

Los métodos que envuelven la IRMf han evolucionado rápidamente desde que ésta técnica fue desarrollada. Los diseños experimentales y el análisis de datos se han tenido que ir perfeccionando de tal forma que se pueda detectar cambios evocados debido a la actividad neuronal.

Los cambios en la actividad neural dan lugar a una serie de cambios vasculares y hemodinámicos que en última instancia resultan en cambios en la señal BOLD. Mientras que muchos de los detalles de esta relación entre la actividad neural y cambios hemodinámicos son todavía objeto de estudio, se puede decir que la transformación de la actividad neural a la señal BOLD es casi lineal. Esto implica, por ejemplo, que una duplicación de la actividad neural produce una duplicación de la amplitud de la señal BOLD, y así sucesivamente. Una propiedad importante de la señal BOLD como un sistema lineal es que puede ser bien caracterizada por la función de respuesta

hemodinámica (HRF), mostrada en la Figura 2.7. Esta es la señal BOLD que resulta de un breve (menos de un segundo) pero intenso período de actividad neural [29]. Teniendo en cuenta la forma de la HRF, se puede predecir el cambio de la señal BOLD que resultaría de cualquier patrón arbitrario de la actividad neural.

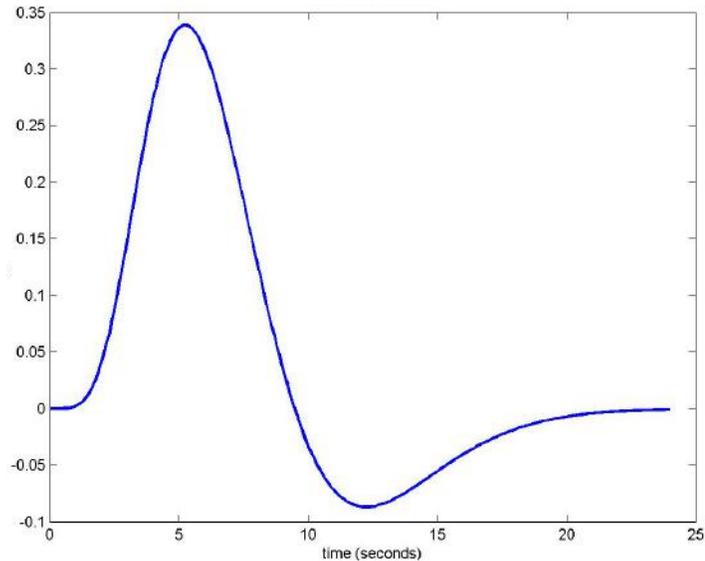


Figura 2.7. Curva característica que representa a la respuesta hemodinámica (HRF) (Tomado de: <http://www.math.mcgill.ca/keith/fmristat/>).

La estabilidad y confiabilidad con respecto a la respuesta hemodinámica ha sido demostrada a partir de varios estudios realizados desde mediados de los 90's. Sin embargo, se ha tenido evidencia de que existe variabilidad en la respuesta hemodinámica entre sujetos, así como entre zonas cerebrales. Por ejemplo, Miezin y colaboradores [30] revelaron diferencias en cuanto a la temporalidad y amplitud de la respuesta hemodinámica proveniente de la corteza visual primaria entre sujetos. Además se han descubierto otras diferencias en cuanto a la respuesta hemodinámica, es por esto, que se necesita realizar una buena estadística para obtener una respuesta hemodinámica media cuando se realiza un experimento de IRMf. Una forma de poder reducir las variaciones temporales y morfológicas de la respuesta hemodinámica que pueden contribuir a errores en los resultados, es estableciendo el diseño del estímulo o paradigma que se presentará para el estudio de IRMf.

2.3.1 Paradigma por bloques (Diseño por bloques)

Es la forma más simple y común que se emplea en estudios de IRMf, donde una serie de estímulos se presentan durante un tiempo discreto.

En un diseño por bloques, las diferentes condiciones experimentales se presentan de manera separada dentro de intervalos de tiempo extendidos, o por “bloques”, así como se ejemplifica en la Figura 2.8.

En general, si se incrementara el tiempo de cada bloque, esto llevaría a una respuesta evocada mayor durante un estímulo [31].

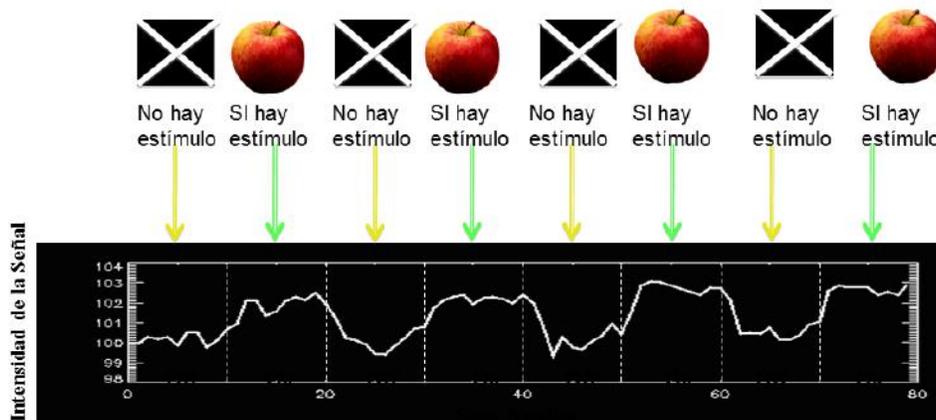


Figura 2.8. Ejemplo de un diseño de bloques, para un estímulo visual a diferentes intervalos de tiempo, ejemplo en el que podríamos observar a este estímulo como un tipo “on-off”.

Una de las principales ventajas de este tipo de diseños, es que se ofrece una ventaja estadística mayor para poder detectar puntos de activación, además de que son más robustos para reducir la incertidumbre en la forma de la HRF. Además, estos experimentos son menos sensibles a variaciones en estímulos individuales. Mientras que una de sus desventajas es que estos diseños otorgan una información imprecisa sobre procesos particulares que activan regiones cerebrales y no pueden estimar directamente aspectos importantes de la HRF, como el ancho de la respuesta o el comienzo de la misma; sólo nos da una aproximación de estas propiedades [31].

2.3.2 Paradigma por Eventos Relacionados (Diseño por eventos relacionados)

En un diseño por eventos relacionados, los estímulos consisten en eventos discretos cortos (imaginemos por ejemplo un tablero que cambia de iluminación), y cuyo tiempo puede variar aleatoriamente. Este tipo de diseños llegan a ser atractivos, debido a la flexibilidad que pueda llegar a presentar, además que permiten una mejor aproximación en algunas características de la HRF, como el comienzo y el periodo de esta señal. Para ejemplificar este tipo de diseño, observemos la Figura 2.9.

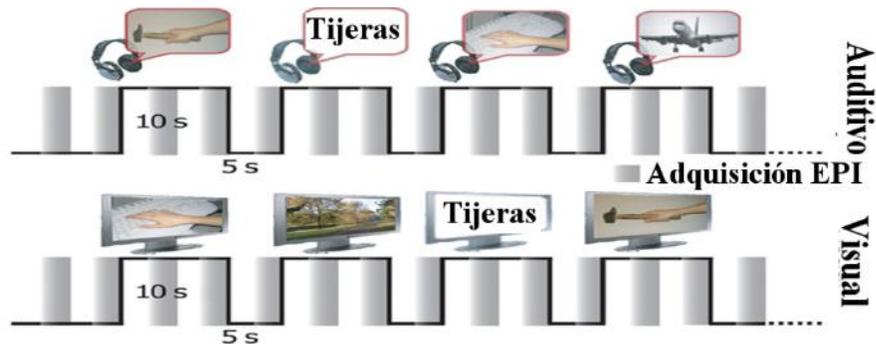


Figura 2.9. Ejemplificación de un diseño experimental por eventos relacionados, aquí se presentan 2 tipos de estímulos, uno visual y otro auditivo, donde se le pide al sujeto que correlacione ambos estímulos, cuando coinciden entonces decir si son correctos o no.

Los experimentos con diseño por eventos relacionados permiten discriminar entre los efectos de diferentes condiciones incluso si estos se presentan de manera mezclada, o si son estímulos de diferentes orígenes (como en la Figura 2.9); esto ha hecho precisamente a este tipo de diseño de experimentos una herramienta muy atractiva para estudios relacionados con áreas cerebrales relacionadas con el aprendizaje y cognición. Dentro de las ventajas que podríamos considerar en este tipo de experimentos es que para el paciente se hace menos tedioso y aburrido el realizar las pruebas. Dentro de las principales desventajas que podemos encontrar, es que la intensidad detectada de la activación es menor que en diseños por bloques [31].

2.3.3 Preprocesamiento de las imágenes

Antes de realizar el análisis estadístico, los datos obtenidos en IRMf deben de llevar toda una serie de pasos de preprocesamiento que tiene como objetivo reducir y

eliminar los artefactos de las imágenes, originadas tanto de la adquisición de las imágenes, así como de artefactos fisiológicos.

Para realizar un análisis de los datos de IRMf, debemos considerar que se adquiere toda una serie de imágenes. Estas series de imágenes, comúnmente las conocemos como volúmenes, cada volumen tendrá una serie de imágenes o “cortes” que consideramos como constantes, como se muestra en la Figura 2.10. Por consecuencia de estos volúmenes de imágenes, se tienen muchos datos, lo cual requeriría de un gran tiempo de adquisición de imágenes, es por ello que necesitamos sacrificar la calidad de imágenes para adquirir en menor tiempo mediante diferentes técnicas, utilizando secuencias rápidas o herramientas de adquisición en paralelo.

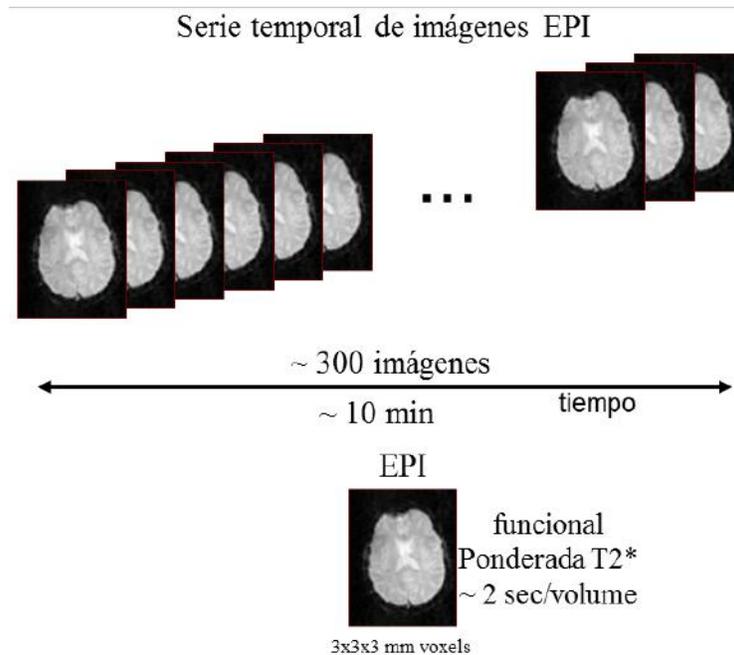


Figura 2.10. Un experimento funcional consta de una serie de imágenes (más de 300), que se adquieren en un tiempo relativamente corto. Cada volumen de imágenes (serie de imágenes que hacen un barrido del cerebro) llegan a adquirirse en un tiempo aproximado de 2 segundos.

Para el análisis estadístico, es indispensable considerar que cada punto en las imágenes dentro de un vóxel específico dentro de la serie temporal de las imágenes fueron adquiridos de tal forma que no hubo movimiento entre las mediciones. Además, se debe considerar al momento del análisis estadístico que cada vóxel, ha sido registrado dentro de un espacio “estándar”, lo cual quiere decir que tendríamos una misma localización anatómica de las respuestas finales. Sin el preprocesamiento de los datos, no

se podría asumir precisamente ninguna de estas consideraciones y el análisis estadístico sería incorrecto.

A continuación, explicaremos de forma muy breve los pasos principales dentro del preprocesamiento de los datos de IRMf.

2.3.3.1 Corrección Espacio-Temporal

Cuando se analizan los datos de IRMf típicamente se asume que el cerebro ha sido muestreado simultáneamente. Sabemos que el volumen de adquisición consiste en varios cortes que son obtenidos secuencialmente y por ende han sido adquiridos a diferentes tiempos. La corrección espacio-temporal implica asumir que el desplazamiento en el curso temporal de los vóxeles, se corrige de tal forma que se considera que éstos fueron adquiridos de forma simultánea. De manera sencilla, este proceso se ilustra en la Figura 2.11.

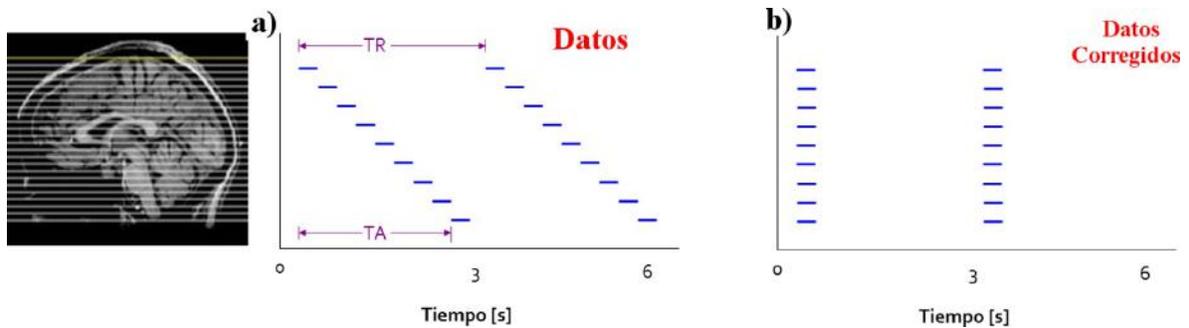


Figura 2.11. Los datos de cada imagen que pertenece a cada volumen de imágenes, en realidad se obtienen en tiempos diferentes (a), el proceso de corrección espacio-tiempo hace una corrección en la que asume que los datos fueron adquiridos en un mismo tiempo para cada imagen de cada volumen (b).

Este proceso puede realizarse mediante interpolación o por el teorema de desplazamiento de Fourier para poder corregir las diferencias en los tiempos de adquisición.

2.3.3.2 Corrección de Movimiento

Este paso es de gran ayuda, ya que cualquier movimiento que pueda presentar el individuo al momento de realizarse la adquisición de los datos, es una fuente de error que se ve reflejada al momento de realizar el análisis estadístico.

Generalmente, lo que se hace, es ajustar cada una de las imágenes de cada volumen a una imagen promedio, de esta forma se calculan 6 variables para poder ajustar las imágenes a una referencia en común. Estas variables se dividen en dos grupos, el primero calcula el movimiento de traslación o desplazamiento en cada uno de los tres ejes coordenados (x, y, z) y el segundo grupo calcula el movimiento de rotación en tres ejes también (Figura 2.12).

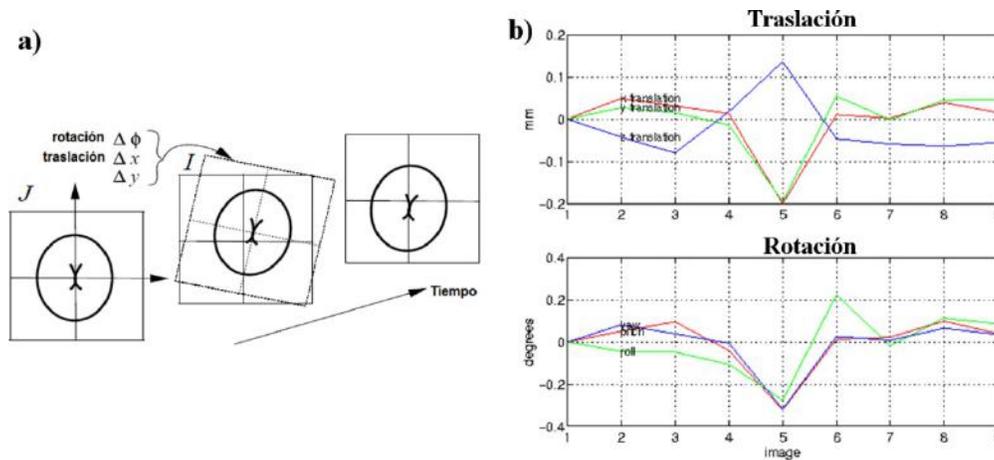


Figura 2.12. Las imágenes son realineadas con respecto a una imagen promedio (J), para tener las mismas coordenadas de origen como se muestra en (a). Además, se calculan vectores de rotación y traslación (b) que serán empleados posteriormente como covariables en el análisis estadístico

Para reducir el tiempo de computación en este proceso, generalmente se emplea un algoritmo de suma de diferencia de cuadrados para poder obtener los vectores adecuados que contendrán la información para poder realinear las imágenes. Esta realineación de imágenes, no es más que una transformación en la cual se incluyen los parámetros del movimiento para poder “remuestrear” la información y así tener la misma orientación y orígenes de las mismas (Figura 2.13).

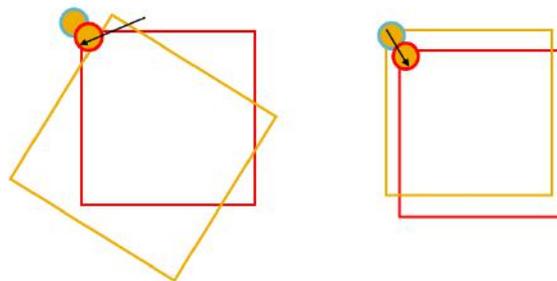


Figura 2.13. Posteriormente las imágenes se realinean para tener los mismos orígenes y orientaciones para su posterior análisis.

2.3.3.3 Corregistro y Normalización

Debido a que las imágenes de IRMf presentan una resolución espacial baja y además que no presentan un detalle anatómico de buena calidad, es necesario mapear los resultados y las imágenes de IRMf a una imagen de alta resolución estructural, como se ilustra en la Figura 2.14.

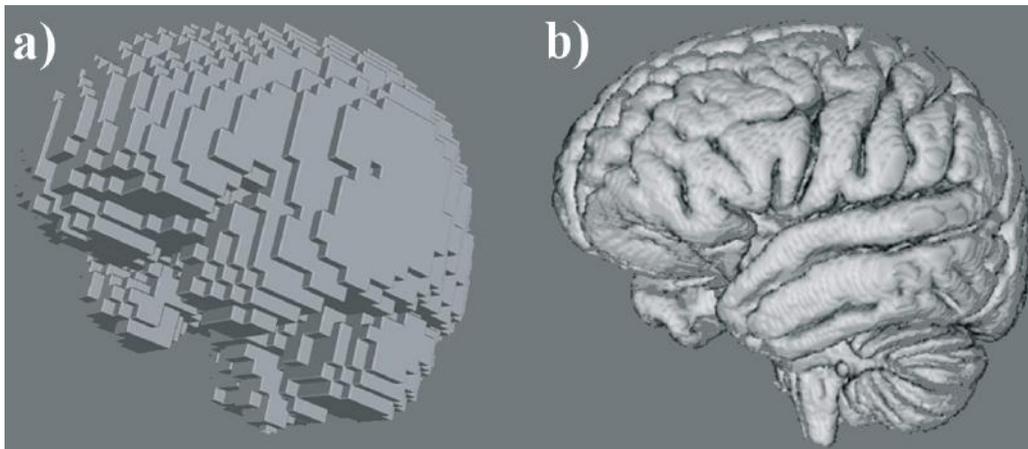


Figura 2.14. Una imagen funcional volumétrica tiene una resolución espacial pobre (a), el objetivo del corregistro, es extrapolar estas imágenes funcionales, hacia una imagen estructural (b) de mejor calidad en su resolución espacial.

En el caso del corregistro de las imágenes, el objetivo principal es alinear las imágenes funcionales en una imagen estructural o anatómica. Cabe señalar que el corregistro también es un paso que se llega a emplear para poder alinear imágenes entre diferentes tipos de imágenes médicas, como imágenes de PET con IRM.

Posteriormente a que las imágenes fueron realineadas y corregistradas, se realiza una normalización que tiene como fin poder hacer comparaciones entre diferentes eventos (estímulos o tareas) y así compararlas con respecto a un atlas de referencia, esto para poder tener coordenadas espaciales que faciliten la localización de zonas cerebrales. En el caso de imágenes de cerebro humano, lo que más se emplea es el espacio de Talairach [32] [33] y en caso de cerebros de ratas, se ajusta a un espacio descrito por el atlas de Paxinos [34]. Esto lo podemos observar en la Figura 2.15.

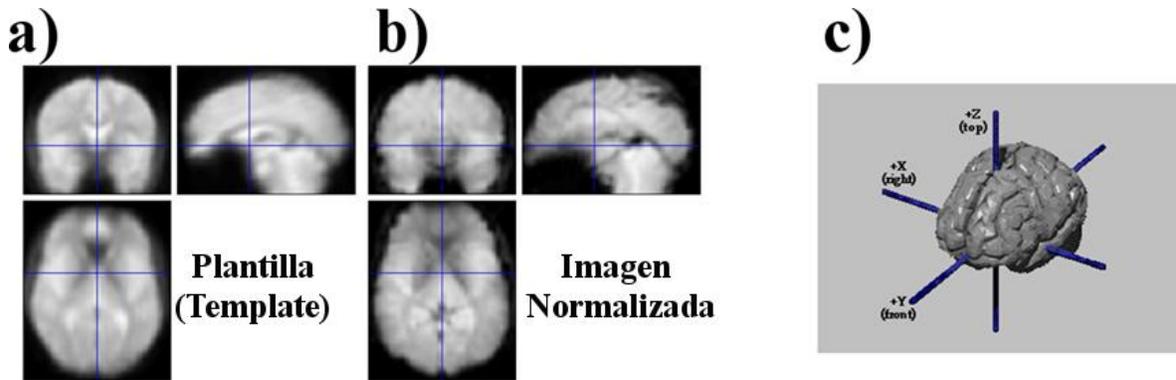


Figura 2.15. En la normalización, se tiene una imagen tipo plantilla (conocida también como “template”) (a) que es una imagen estandarizada y caracterizada que contiene la información necesaria para que las imágenes funcionales se puedan llevar a este espacio caracterizado (b) y de esta forma tener un mismo espacio de coordenadas (c) para una mejor localización de las zonas donde se visualiza(n) la(s) activación(es).

Como hemos mencionado, estos pasos únicamente nos permiten una aproximación en los resultados. La alineación estructural no necesariamente significa alineación funcional. Las diferencias en la anatomía y fisiología conllevan a un ajuste no muy exacto. Algunas patologías cerebrales, pueden confundir durante el proceso de normalización [31].

2.3.3.4 Filtrado espacial

Este paso se realiza de forma común antes de comenzar un análisis estadístico. El filtrado espacial tiene como objetivos mejorar el registro entre sujetos reduciendo algunas diferencias anatómicas “sobrantes” que puedan existir. Además, el filtrado espacial, nos permite reducir el ruido y de esta forma elevar el cociente señal a ruido de las imágenes reduciendo un poco el error que pueda existir debido al ruido presente en las imágenes.

La forma en como se realiza este filtrado se hace generalmente a través de algoritmos que permiten eliminar el ruido de fondo de las imágenes de IRMf, entre los filtros más comunes, están los filtros pasa bajas y por medio de la convolución de una función Gaussiana.

2.3.4 Análisis estadístico de los datos

Existen diversos métodos estadísticos que se emplean para el análisis de la información de IRMf, el más común, y el que describiremos de manera sencilla, es el método GLM (de sus siglas en inglés General Linear Model)

El GLM, si lo vemos de forma sencilla, es un modelo que examina vóxel a vóxel cada una de las imágenes para poder detectar las variaciones en el tiempo que se asocian a diferentes tareas (estímulos) dentro de una secuencia. Los vóxeles que se consideran estadísticamente significantes, pueden ser representados por la superposición con una imagen de mejor calidad para obtener una mejor localización espacial de estos cambios.

Para esto, el GLM considera un modelo en el que las series temporales son una relación lineal de las diferentes componentes de la señal y las tareas o estímulos, para determinar si están relacionados a una región cerebral debido al estímulo o tarea dada [35] [36].

El GLM de forma vectorial, se expresa como:

$$y_i = x_i\beta + \varepsilon_i \quad (2.3)$$

donde y_i es el valor del punto observado, x_i representa un valor de predicción que está relacionado con el diseño experimental, β es un factor de ponderación y ε_i es un error. En esta ecuación (2.3), se observa que existe una relación lineal entre el valor observado, además de una estimación de error.

Si el modelo incluye más variables, entonces es conveniente pasarlo a formas matriciales, que es lo que ocurre cuando manejamos precisamente las imágenes de IRMf, entonces la ecuación (2.3) se puede replantear de la siguiente manera:

$$Y = X\beta + \varepsilon \quad (2.4)$$

donde Y es el vector de píxeles observados, X representa al vector de predictores, β es el vector de parámetros de ponderación y ε es el vector de error estimado.

Podemos obtener el valor de la matriz β :

$$X^T Y = (X^T X) \hat{\beta} \quad (2.5)$$

donde $\hat{\beta}$ es la mejor estimación lineal de β , y por lo tanto tiene una solución:

$$\hat{\beta} = (X^T X)^{-1} X^T Y \quad (2.6)$$

Esto lo podemos ver ejemplificado por medio de la Figura 2.16.

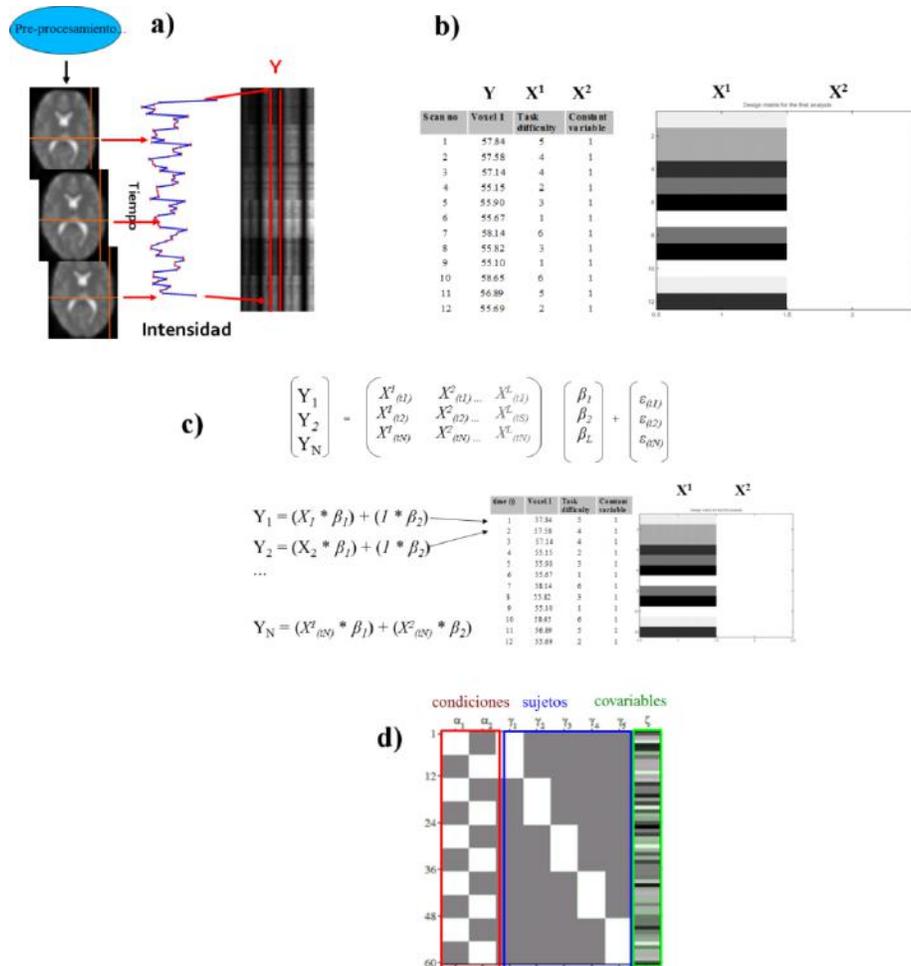


Figura 2.16. (a) Y es la matriz de señales de BOLD, cada columna representa un solo vóxel muestreado a tiempos sucesivos. (b) Se empieza a formar la matriz de datos, ésta representa los valores de X, esto quiere decir que diferentes columnas representan igual número de predictores, que se derivan a partir del diseño experimental, definimos las variables de experimentación que darán los diversos contrastes. (c) Formulación de la matriz que se ha de resolver, como vimos a partir de las ecuaciones 2.5 a 2.7. (d) Finalmente así observamos la matriz de diseño para obtener los vóxeles que representan una diferencia significativa, observamos las condiciones (recuadro rojo), estudio entre sujetos (recuadro azul) y las covariables (recuadro verde), éstas últimas provienen del análisis de movimiento de las imágenes para descartar activación por movimiento.

De esta manera, es como se estiman los vóxeles que presentan una señal con diferencia significativa y son los que vemos mostrados en una imagen de IRMf.

CAPÍTULO 3

DESNUTRICIÓN Y SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Introducción

La desnutrición representa un gran desafío en cuanto a Salud Pública se refiere en países en vías de desarrollo [37], y es responsable (según datos globales), de aproximadamente el 54% de las muertes en la infancia [38].

Esta enfermedad, afecta a todos los sistemas y órganos de quien la padece, debido a que no existen los nutrientes necesarios en el organismo y por ende existe una muy alta probabilidad de que existan repercusiones a nivel sistémico.

En el presente capítulo definiremos aspectos fundamentales sobre la desnutrición, así como sus diferentes orígenes y patologías originadas por esta enfermedad. Además, nos centraremos en los efectos de la desnutrición a nivel del Sistema Nervioso Central (SNC), así como algunos resultados previos que se han encontrado en la literatura sobre este problema enfocándose en el SNC.

Se verá la desnutrición de manera general, y se tratará la desnutrición un poco más enfocado hacia las primeras etapas de vida, para darnos una idea más global, veremos las consecuencias de la desnutrición infantil y las repercusiones que tiene esta enfermedad durante los primeros años de vida, ya que se considera que el SNC madura en su mayoría cuando se cumplen los 5 años de vida.

3.1 Desnutrición

La nutrición, es la ingesta de alimentos en relación las necesidades dietéticas del organismo. Al tener una buena nutrición, se tiene entonces un elemento fundamental para llevar una buena salud [39]. Una mala nutrición, puede reducir la inmunidad, aumentar la vulnerabilidad de enfermedades, así como alterar el desarrollo físico y mental [40]. La desnutrición, es un término general para una condición médica causada por una inapropiada o insuficiente dieta.

Según el Dr. Gómez [41], la desnutrición se puede definir como la asimilación deficiente de alimentos por el organismo, lo cual conduce a un estado patológico de distintos grados de gravedad, con distintas manifestaciones clínicas.

La desnutrición señala toda pérdida anormal de peso del organismo, desde la más ligera hasta la más grave, ya que podemos llamar desnutrido, a un sujeto que ha perdido el 15% de su peso de igual forma que al sujeto que ha perdido un 60% o más, relacionando los datos con datos que podríamos llamar “estándares” para una cierta población en una región.

A lo largo de los años, se ha podido clasificar a la desnutrición para poder denotar la severidad de ésta. Una forma un tanto simple, se describe por medio de tres diferentes etapas que existen durante el desarrollo de esta enfermedad; es así que podemos clasificar la desnutrición en:

- Desnutrición leve (antes llamada también de primer grado), la cual ocurre cuando el individuo presenta una pérdida de peso menor al 25% con respecto a la media local (generalmente nacional) con respecto a la edad y sexo.
- Desnutrición moderada (antes llamada también de segundo grado), la cual se caracteriza cuando existe una pérdida de peso entre el 25 y 40%.
- Desnutrición grave (antes llamada de tercer grado), que se caracteriza cuando el individuo presenta una pérdida mayor al 40% con respecto a la media.

Cuando hablamos de desnutrición infantil, también se consideran las anomalías en el crecimiento de la talla (estatura).

Se estima que en 2008 había una población aproximada de 350 millones de niños desnutridos, y el 55% de esa población entre los cero y cinco años (13 millones de niños), prevalecía una desnutrición de tipo aguda, por lo tanto, el riesgo de muerte latente es proporcional al tipo de desnutrición [42].

La desnutrición, podemos decir que se puede originar debido a las deficiencias en la ingesta y absorción de proteínas y calorías (desnutrición Proteínico – Calórica [PEM por sus siglas en inglés de Protein-Energy Malnutrition]) o por deficiencias en la absorción e ingesta de micronutrientes. La principal diferencia entre estas dos, es que en el caso de la PEM, no se consumen la cantidad necesaria que requiere el organismo de proteínas y

calorías que si lo vemos de forma análoga, éstas sirven como material estructural, funcional (enzimas) y el combustible necesario para poder echar a andar la maquinaria que serían todas las funciones orgánicas. En cambio, la deficiencia de micronutrientes, se debe a la falta de consumo o incluso en deficiencias metabólicas de algunos micronutrientes esenciales para el funcionamiento del organismo; generalmente estos micronutrientes se refieren en mucho al caso de las diversas vitaminas.

Se puede decir que el 90% de los casos de desnutrición, se originan debido a una causa principal, la cual es la sub-alimentación del sujeto. Esta sub-alimentación puede darse debido a la deficiencia en la calidad o por la deficiencia en la cantidad de alimentos consumidos [41].

El 10% restante de las causas que originan la desnutrición se deben a otros factores que podemos llamar “externos” al consumo de alimentos, como son diferentes patologías (como pueden ser infecciones), algún defecto congénito, el nacimiento prematuro, además de otros factores como el hospitalismo, es decir cuando el individuo se encuentra en estancia hospitalaria por un largo tiempo [41].

La desnutrición puede ser un trastorno único, con todo el variado cortejo sintomático de sus distintos grados o puede aparecer secundariamente como un síndrome injertado a lo largo de padecimientos infecciosos o de otra índole y, entonces sus síntomas y manifestaciones son más localizados y precisos.

3.2 Cuadros clínicos de la desnutrición en la etapa infantil

Cuando se presenta una desnutrición de primer grado, no hay signos físicos muy perceptibles, ya que la mayoría de los principales cambios que existen son a nivel del humor y ánimo del infante. El principal dato que debe observarse entonces es el estacionamiento en el peso o ligero descenso de él que persiste a través de las semanas, es decir que el niño avanza en edad, pero el peso se va quedando rezagado o avanza muy poco [41].

En el caso de una desnutrición de segundo grado, existen cambios físicos notables que llaman la atención, como es el caso del hundimiento de la fontanela, hundimiento de los ojos y flacidez muscular. Al empezar a existir una baja de anticuerpos, es probable que exista una gran propensión a enfermedades infecciosas como catarras y resfriados principalmente, además la presencia de diarreas constantes. Esta etapa es muy delicada,

ya que al momento de tratarse, es muy probable que se ataquen las infecciones, pero no el problema nutricional que presenta el paciente y de esta forma es más probable que se lleve un mal tratamiento y la desnutrición continúa avanzando [41].

Finalmente en el caso de una desnutrición de tercer grado, existe una notable evolución de los síntomas presentes en las dos etapas anteriores. Los ojos se hundén, la cara se ve desproporcionada con respecto al cuerpo, el niño presenta “cara de viejo”, los huesos de la cara son muy remarcados y la bola grasosa de Bichat⁹ hace su aparición como última reserva grasosa del organismo. Además, los huesos de los miembros superiores, del dorso y del tórax se ven forrados de piel escamosa, arrugada y sin elasticidad. Se presenta un proceso de catabolismo celular, produciendo un efecto destructor de los órganos. Cuando se llega a este tipo de desnutrición, son pacientes que deben permanecer hospitalizado [41].

Afortunadamente, existen tratamientos de rehabilitación nutricional que pueden contrarrestar los efectos de la desnutrición, pero siempre y cuando se actúe en un tiempo adecuado, ya que si esta enfermedad no es atendida adecuadamente, existen consecuencias irreversibles como veremos más adelante.

La desnutrición grave, además puede presentar dos síndromes bien caracterizados como lo son: el **marasmo** y **Kwashiorkor**.

En general, el marasmo se presenta en menores de un año, el déficit proteínico-energético es lento y progresivo, propia de una desnutrición crónica, dentro de sus manifestaciones clínicas se observa una marcada hipotrofia muscular e hipotonía, piel seca, pelo seco fino desprendible y ausencia de pánículo adiposo, etc [43] [44].

El Kwashiorkor o forma “húmeda” o con edema, es un proceso más agudo, se presenta más frecuentemente en la edad preescolar, existe un déficit proteínico importante y en muchas ocasiones su ingesta energética es adecuada e incluso elevada, en muchos casos es precipitado por episodios infecciosos en el niño. El edema es el signo central (el principal edema notorio, es la zona abdominal inflamada), pero además pueden presentar signos de dermatitis denominada pelagroide, irritabilidad, hígado graso entre otras manifestaciones clínicas [44].

⁹ Las **bolas de Bichat** son un acumulo graso localizado en el interior de la mejilla que sirve como zona de deslizamiento de la apófisis coronoides del maxilar inferior en el espacio que queda por dentro del hueso cigomático.

El Kwashiorkor es una forma edematosa de desnutrición que se caracteriza por un ingreso muy deficitario de proteínas en un aporte de energía en forma de carbohidratos proporcionalmente más adecuados. Es una afección grave que desencadena diversas infecciones como gastroenteritis, enfermedades respiratorias e incluso se ha visto que sarampión. Por lo tanto, se considera que el Kwashiorkor es una forma clínica severa de desnutrición aguda que si se presenta en la infancia, prevalecen altas probabilidades de fallecimiento por esta causa [38].

Se puede presentar además un síndrome marasmo-Kwashiorkor, el cual presenta tanto signos de marasmo como de Kwashiorkor.

Las consecuencias de la desnutrición, si no son atendidas antes de que el niño cumpla los 5 años de edad, llegan a ser irreversibles [45]. Algunos de estos efectos son:

- Subdesarrollo de la capacidad intelectual
- Mayor propensión a enfermedades
- Bajos niveles energéticos
- Bajo desarrollo de talla (estatura) y peso
- Enfermedades que llegan a ser crónico-degenerativas como la diabetes, la ceguera e hipertensión

Se ha visto que un niño con desnutrición grave, presenta disfunciones en la respuesta inmune, lo cual aumenta de manera significativa la morbilidad y mortalidad por infecciones. Se ha visto que con una rehabilitación nutricional durante 2 meses, los niños presentan una recuperación clínica y también en el sistema inmunitario [46].

Estudios han confirmado que en la recuperación nutricional el papel de proteínas, lípidos, vitaminas y minerales tienen un papel muy importante la capacidad del sistema inmunitario para poder movilizar y desplegar los anticuerpos necesarios y otros tipos de respuesta (inmunocompetencia), tras la estimulación de algún antígeno [46].

3.3 Desnutrición y Sistema Nervioso

3.3.1 Desarrollo Cerebral

El desarrollo neurológico normal entre la concepción y la madurez, está caracterizado en primera instancia, por un proceso progresivo que resulta de una

proliferación neuronal de la migración y mielinización de las células; en segunda por un proceso regresivo que surge de la muerte de las células y de la pérdida de conexiones sinápticas [47], ejemplificado en la Figura 3.1.

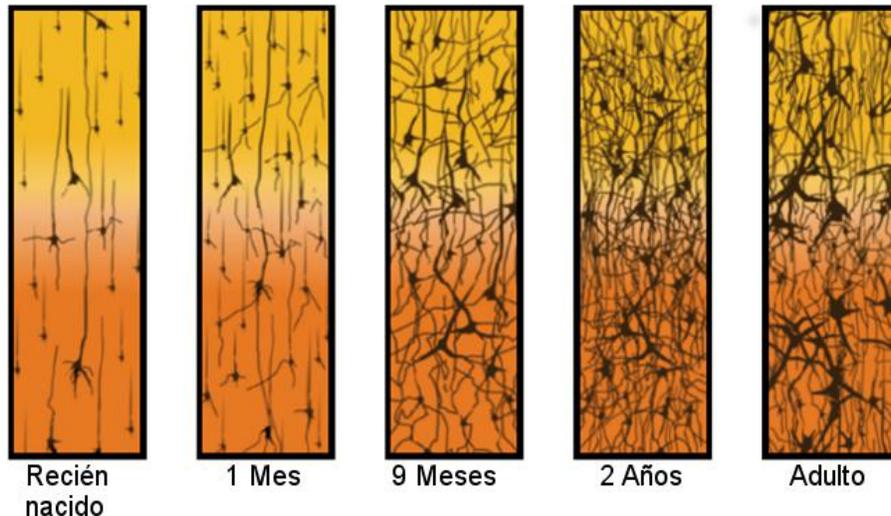


Figura 3.1. Comparación de la densidad neuronal a lo largo del tiempo (edad).

El cerebro no se desarrolla uniformemente durante la etapa fetal ni en la vida neonatal. Tiene etapas características de desarrollo y crecimiento, tanto anatómica como bioquímicamente. El desarrollo de cualquier parte del cerebro, sucede en etapas: inducción del revestimiento neural, proliferación localizada de células en distintas regiones, migración celular, formación de estructuras por adición de células, diferenciación de neuronas inmaduras, formación de conexiones, selectividad de células y modificaciones en las conexiones restantes. La mayoría de estos cambios ocurren de la parte caudal a la rostral [45].

Desde el periodo de concepción, hasta los primeros dos o tres años de la vida postnatal, el cerebro crece a una velocidad más rápida que en cualquier etapa de desarrollo [48], como podemos ver ejemplificado en la Figura 3.2. Aunque gran parte de este efecto se debe al efecto de los genes, el desarrollo temprano cerebral no sólo representa rígidamente la evolución determinística de un programa genético. También el ambiente dentro del cual se desenvuelve el niño, juega un papel importante en las etapas tempranas del desarrollo, con el potencial de promover o retrasar este proceso. El desarrollo normal cerebral depende de un periodo de gestación adecuado y el suministro de oxígeno, proteínas, calorías y micronutrientes, después del nacimiento la estimulación sensorial, actividad y la interacción social son importantes.

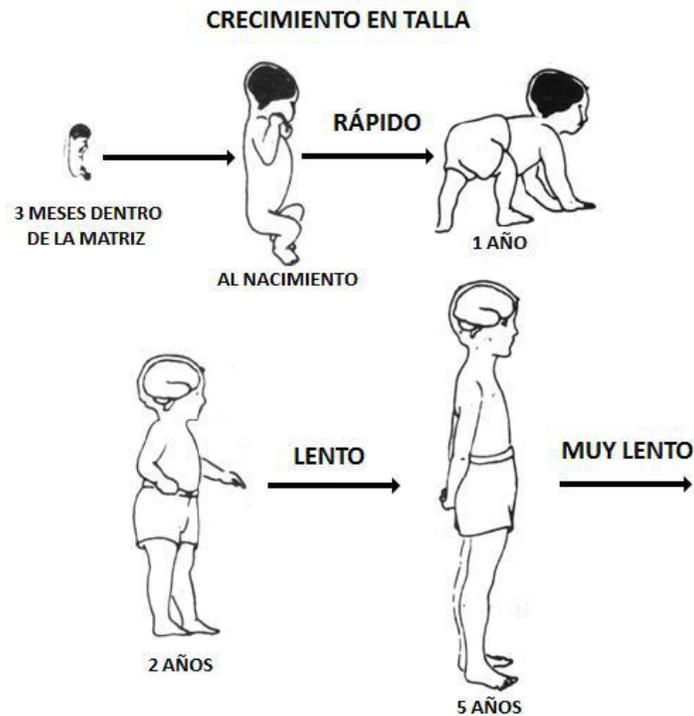


Figura 3.2. Comparación del desarrollo cerebral con el crecimiento en talla durante hasta los primeros 5 años de vida. Posteriormente a esta edad, el crecimiento es más lento y se considera que el cerebro ha madurado en más del 80%.

Al cuarto mes de gestación, se observa una diferenciación de células; de igual manera, las neuronas y las células gliales¹⁰ se producen a un ritmo importante. Por medio de un proceso de migración, esas células forman las primeras regiones cerebrales que asegurarán las funciones más elementales, como el movimiento reflejo, los comportamientos físicos y el equilibrio. Las áreas a cargo de los estímulos sensoriales, la memoria y las emociones son formadas más tarde. Dichas estructuras neurológicas básicas permanecerán poco flexibles comparadas con otras más plásticas o maleables que serán formadas sobre las primeras; es decir, la neocorteza y la corteza cerebrales [49]. Esta es la parte del cerebro que se asocia con las actividades cognitivas superiores como la atención, la síntesis, la planificación, el razonamiento, la imaginación espacial y el lenguaje.

¹⁰ Las células gliales apoyan el desarrollo del sistema nervioso y ayudan a la actividad funcional de las neuronas, facilitando la mielinización del sistema nervioso, y por ende, la transmisión de señales entre neuronas.

3.3.2 Efectos de la desnutrición en el Sistema Nervioso

Los efectos de la desnutrición grave (severa) en el SN son diversos, la mayoría de los cuales causan retraso en el desarrollo nervioso. Por poner algunos ejemplos, la deficiencia en vitamina A puede producir ceguera; epilepsias intratables pueden ser originadas debido a deficiencias en vitamina B6; las deficiencias en iodo y hierro pueden producir deterioros en la cognición, entre otros [37].

Las deficiencias nutricionales, pueden producir una gran variedad de desórdenes que afectan tanto al Sistema Nervioso Periférico (SNP) como al Sistema Nervioso Central (SNC). Lo más común es que ambos sean afectados al mismo tiempo. Como hemos visto, la desnutrición es una enfermedad devastadora que va produciendo efectos dañinos a diferentes órganos y sistemas. Podríamos decir que uno de los sistemas que son dañados de forma más lenta es el SNC, esto debido a que al ser un sistema de gran importancia vital digamos que es el que más se protege para la supervivencia del individuo. Aun así, se han visto a lo largo de diversas investigaciones los efectos que produce la desnutrición a nivel del SNC [49], mismos que describiremos a continuación.

Los efectos de la desnutrición se han podido observar desde aspectos que resultan a simple vista, como es el caso de Silva y colaboradores [50], donde se realizaron diversas mediciones en roedores. A comparación de un grupo control, el grupo desnutrido presenta cambios en tamaño de cráneo (obviamente cerebro), tronco e incluso la cola. Además, diversos estudios sobre los efectos de la exposición materna a la desnutrición se han estudiado y se ha visto que el cerebro, junto con otros órganos como el hígado, riñones, intestinos, corazón y pulmones mantienen un tamaño y peso bajo en los fetos (podemos definirlo como un efecto prenatal) con respecto a lo normal, estudio también realizado en ratas [51].

Algunos estudios se han enfocado a estudiar la asociación existente entre el tamaño del cerebro y la forma del cráneo cuando se presenta una desnutrición (estudio realizado en ratones). El estudio realizado por Berbeito-Andrés y colaboradores fue realizado por medio de CT, determinaron que la desnutrición proteínica severa durante la gestación, reduce significativamente tanto el crecimiento y desarrollo morfológico del cerebro y del cráneo desde el desarrollo fetal. Todavía no se sabe muy bien si estos cambios en el desarrollo del cráneo afecta considerablemente la forma del cerebro y su desarrollo [52].

También se han descubierto diversas consecuencias morfológicas a nivel estructural. Desde finales de los años 70's, se descubrió que un gran efecto que produce la desnutrición en las primeras etapas de vida, es la reducción drástica de mielina en las neuronas. Este estudio se realizó mediante la experimentación con animales, donde los niveles de mielina se vieron reducidos hasta en un 27% con respecto a lo normal [53]. Con este descubrimiento, también se sabe actualmente que existe una falla en la función de los oligodendrocitos¹¹ y/o un retraso en la síntesis proteínica de mielina [54].

Otro efecto de la desnutrición que se conoce a nivel del SNC, es que existe un decremento considerable en la formación del cerebelo, principalmente con la relación entre las células granulares y las células de Purkinje [55]. Esta diferencia ocasiona principalmente una malformación de las diferentes capas celulares que presenta el cerebelo. Al existir una disminución de estas células, también se ve afectada la formación de las capas cerebelares. Además, con estos descubrimientos, también dio pauta a descubrir que al existir diferencias en las densidades neuronales, también existen deficiencias en la sinapsis de las espinas dendríticas de las células de Purkinje [56]. Estos estudios se han realizado en animales nuevamente, pero se ha podido demostrar también que en el caso de humanos también existe este problema, las espinas dendríticas se han observado anormales, además de su tamaño, también la morfología de las diferentes ramas dendríticas neuronales [57].

Así como se ha visto que el cerebelo tiene problemas de formación en las capas celulares que lo conforman, también se ha observado que existe una formación atípica en las células que conforman las diferentes capas del hipocampo [58]. Esto se ha podido observar por medio de estudios en roedores. Se ha observado que existe una reducción en cuanto al número de neuronas que conforman esta estructura cerebral, así como una formación anormal de dicha estructura cerebral.

Además se han encontrado consecuencias más específicas en cuanto a la función cerebral, principalmente alteraciones involucradas con neurotransmisores, por mencionar algunas:

- Reducción en los niveles de serotonina [59]; la serotonina tiene un papel fundamental en la regulación del desarrollo y maduración cerebral. La

¹¹ Los oligodendrocitos,(oligodendritas) son células gliales, ricas en mielina, que tienen la particularidad de envolver a las neuronas para proveer a ésta de la mielina necesaria para la conducción de información a través de la neurona.

serotonina es una monoamina que actúa como neurotransmisor inhibitorio principalmente en el SNC. Al existir una baja en los niveles de este neurotransmisor, entonces existe una altísima probabilidad de que el desarrollo cerebral sea lento, así como la maduración del mismo cerebro. En general, se ha observado que el contenido de monoaminas varía de forma dinámica después del nacimiento, aunque se puede llegar a tener un nivel normal posteriormente a rehabilitación nutricional [60].

- Incremento en las concentraciones de GABA (principal neurotransmisor inhibitorio) en el hipocampo. Estudios electroencefalográficos han revelado el incremento de agentes inhibidores en el hipocampo. Esto ha conllevado a determinar que las propiedades de membrana de las interneuronas en el hipocampo no se alteran considerablemente, pero existe un mecanismo que a ciertos niveles altos de estimulación neuronal, se produzca una alta probabilidad que se libere GABA cuando existe una desnutrición prenatal [61].
- Incremento de Acetil Colinesterasa (AChE) en el hipocampo [62], así como la reducción en las células colinérgicas. Estas neuronas colinérgicas son células que liberan acetilcolina (ACh), la cual es un neurotransmisor que puede transmitir, amplificar y modular las señales celulares (entre neuronas o entre neuronas y células) Este efecto se ha relacionado con los déficits de memoria [63].
- Reducción en la segregación de dopaminas [64] [65]. Se ha observado que con las deficiencias de ácidos grasos, se afectan las vesículas neuronales que contienen dopamina. Además, las deficiencias de estos ácidos grasos pueden afectar la composición de fosfolípidos de membrana celulares en el SNC. En los cambios con respecto a la densidad de vesículas que contienen estas dopaminas se ha notado una reducción aproximadamente del 40%.

El cerebelo, es una de las estructuras del SN más vulnerable cuando existe una desnutrición en una edad temprana. Existen grandes anomalías en actividad electrofisiológica de las células de Purkinje y una baja velocidad de la sinapsis neuronal, todo esto se ha sabido por estudios en animales. Algunas anomalías parecen irreversibles, como la proporción reducida entre las células de Purkinje y granulares, pero el significado funcional de estos hallazgos no está totalmente claro. Sin embargo, algunas

de las alteraciones son reversibles con rehabilitación nutricional. Las pruebas psicomotoras generalmente fallan al momento de revelar efectos a largo plazo de la desnutrición tanto en animales como en seres humanos, pero pruebas más sensibles de la coordinación psicomotora, han demostrado diferencias sutiles a nivel motor. Se ha pensado que algunos cambios secundarios provocados por la desnutrición afectan la liberación de neurotransmisores y/o la sensibilidad de los receptores, los cuales darían lugar a cambios en el comportamiento y la función. Sin embargo, los datos definitivos sobre la influencia de la nutrición en esta zona y del desarrollo neurológico en humanos son difíciles de encontrar [45].

Se ha asociado mucho a la desnutrición con déficits de memoria y aprendizaje, y es porque muchos de los resultados como los comentados anteriormente, se dan principalmente en dos zonas que están relacionadas a esto, como lo son el hipocampo y el hipotálamo.

Además, por ejemplo Mazer y colaboradores [54], además de hacer estudios histológicos sobre el hipocampo, realizaron una correlación con el grupo experimental al momento de resolver un laberinto, el grupo experimental llevó más tiempo en realizar la tarea con éxito. Es de esta forma que se ha podido relacionar tanto las deficiencias morfológicas y neuroquímicas con déficits que se pueden presentar para realizar una tarea dada.

La desnutrición se ha visto que no sólo tiene causas neurológicas graves en las primeras etapas de la vida. Se ha demostrado en ratas adultas, que la desnutrición llega a ocasionar problemas en las funciones motoras [66].

A nivel del SNP, se ha observado que uno de los efectos de la desnutrición es una falla en la conducción de los potenciales de acción neuronales. Estos estudios han sugerido que debido de a la desnutrición, existen cambios en la estructura de las capas de mielina en las neuronas, lo cual se refleja en alteraciones en la generación y propagación de potenciales de acción [67].

Existen factores externos relacionados con la desnutrición que influyen también en el desarrollo neurológico de los infantes. La salud nutricional de la madre también juega un papel importante en el desarrollo neurológico del bebé, como por ejemplo, defectos en el

tubo neural, disfunciones cognitivas, asfixia al momento del nacimiento, parálisis cerebral, etc, los cuales conllevan a discapacidades de por vida. [37].

Se ha visto que la desnutrición materna se ha asociado con un síndrome metabólico, así como con autismo y retrasos en el desarrollo del niño. Si una madre está desnutrida durante el embarazo, el feto en desarrollo recibe señales de un ambiente hostil, y éste responde desarrollando metabolismos de control que esperan poco alimento después de nacer [68].

Se han realizado estudios para analizar la función del SNP en ratas con desnutrición, pero que tienen una particularidad, ya que son ratas que provienen de madres desnutridas. Ahí se observó que la transmisión de los potenciales de acción son muy bajos a comparación a los de ratas controles. En este estudio para ver la funcionalidad de la propagación del potencial de acción, se midieron éstos sobre la médula a diferentes alturas (desde L3 a S2), donde en el grupo control, se observó una variación del potencial de acción durante la transmisión, teniendo amplitudes relativamente altas (mayores a los 100 μV), mientras que en el grupo desnutrido, la respuesta fue muy baja y no variaba prácticamente. Adicionalmente, haciendo un estudio también en el que se indujo desnutrición por parte de la madre y desnutrición posterior al nacimiento, se observó que en los casos en que las ratas nacieron de madres desnutridas, los potenciales de acción prácticamente no cambiaban posteriormente a una rehabilitación nutricional, mientras que en ratas con desnutrición posterior al nacimiento, los potenciales de acción llegaban a recuperarse un poco después de rehabilitación nutricional [69].

CAPÍTULO 4

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Como se ha visto, en el capítulo 3, la mayoría de los experimentos que se han realizado para el estudio de la desnutrición, han sido por medio de histología y microscopía, con el “inconveniente” de que son técnicas que se realizan de manera *ex-vivo*. Lo que más se ha realizado es por medio de mediciones eléctricas (EEG) *in-vivo*. Estas últimas técnicas son las que más se acercan a mostrarnos la forma funcional del cerebro cuando se presenta una desnutrición. Es por eso que en nuestro caso proponemos hacer un estudio por medio de IRMf para observar cómo está funcionando el cerebro desnutrido debido a un sencillo estímulo.

4.1 Estudio en un modelo animal.

Como podemos darnos cuenta, la mayoría de los estudios que se han realizado en cuanto a desnutrición han sido en modelos animales, específicamente en roedores.

¿Pero por qué se ha hecho esto? Existen varias razones por las cuales se ha tomado esto en consideración. Una de las principales razones, es porque tanto el cerebro humano, como el de roedores presentan una gran similitud, es decir, que ambos cerebros presentan bien definidas diversas estructuras que conservan la misma función, estas estructuras podemos ilustrarlas por medio de la Figura 4.1.

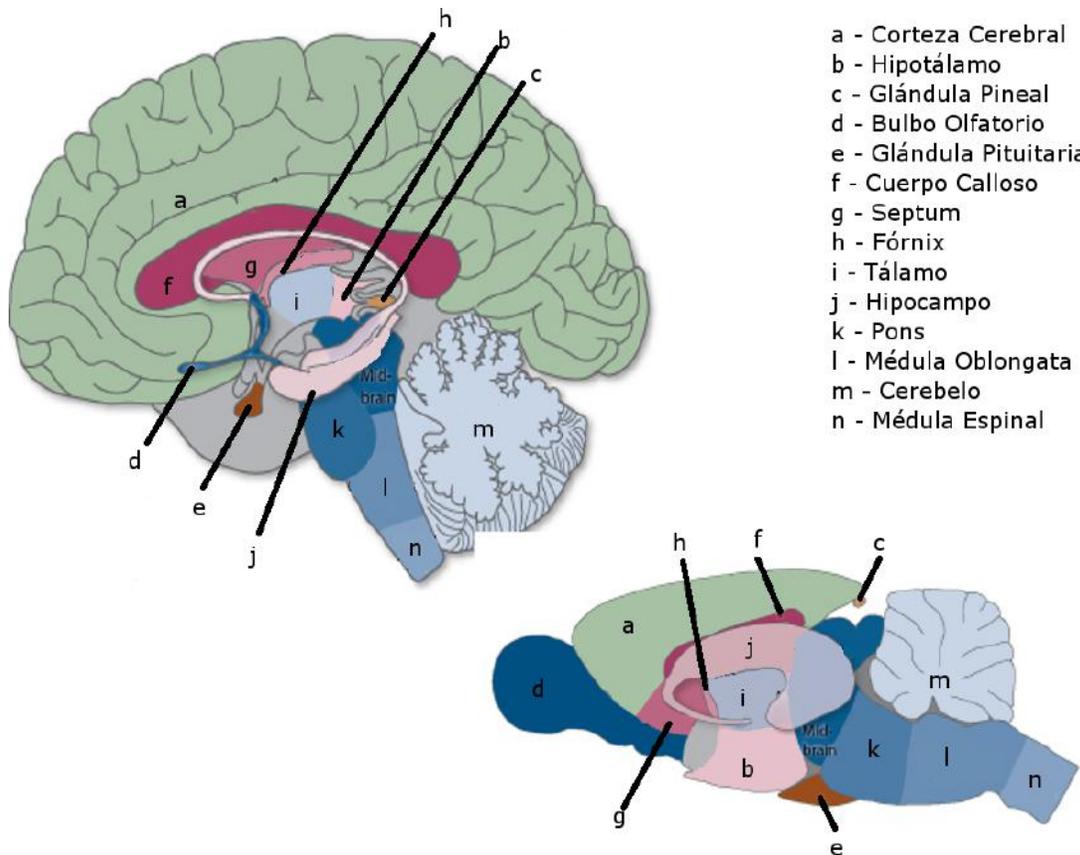


Figura 4.1. Comparación entre un cerebro humano y uno de rata, claramente se aprecia que se tienen bien localizadas diversas estructuras cerebrales que cumplen las mismas funciones en ambas especies (Tomado de: https://danavanderford.files.wordpress.com/2011/02/brains_compared.jpg).

Las principales razones, por las cuales se emplean modelos animales para distintos tipos de estudios y extrapolación de los resultados a niveles de los humanos, son [70] [71]:

- Alta resistencia a enfermedades e infecciones, como se mencionó en el capítulo anterior, cuando se presenta un alto grado de desnutrición, los pacientes son más propensos a enfermedades de tipo infeccioso y generalmente son pacientes que deben ser hospitalizados
- Existen diversas cepas (razas) de ratas y ratones, lo cual permiten un mayor estudio y extrapolación en cuanto a resultados entre diversos tipos de animales que nos ayudan a darnos una mejor idea en cuanto a semejanzas funcionales y estructurales
- Tienen un tamaño ideal para su manejo

4.2 Protocolo de desnutrición.

Existen dos tipos principales de inducción de desnutrición en los modelos animales: desnutrición por competencia y desnutrición por calidad del alimento.

Generalmente con el protocolo por desnutrición en la calidad del alimento, se le da a la madre preñada una alimentación reducida en proteínas [50]. De esta forma se le induce a las crías una desnutrición debido a que la calidad de la leche con la cual serán alimentadas presentará también una baja cantidad proteínica.

El otro caso, en la desnutrición por competencia, esencialmente lo que se hace es que se tengan programadas una serie de ratas que tengan crías en un tiempo prácticamente idéntico. Al momento de nacer, las crías de una rata son colocadas dentro de otra camada (generalmente una camada de ratas consta de 8 a 12 en la cepa Wistar), es así como una rata “nodriza” alimenta a una camada por lo menos del doble al normal que tendría. De esta forma se pretende que las crías “luchen” por el alimento, y las ratas más fuertes serán las que tengan un peso normal, mientras que las que se alimenten menos presentarán una desnutrición. Muchos estudios han demostrado la importancia del periodo de lactancia, el cual es crítico en el proceso de crecimiento y desarrollo [72].

En la Figura 4.2 se ilustran los resultados con ambos protocolos de desnutrición.

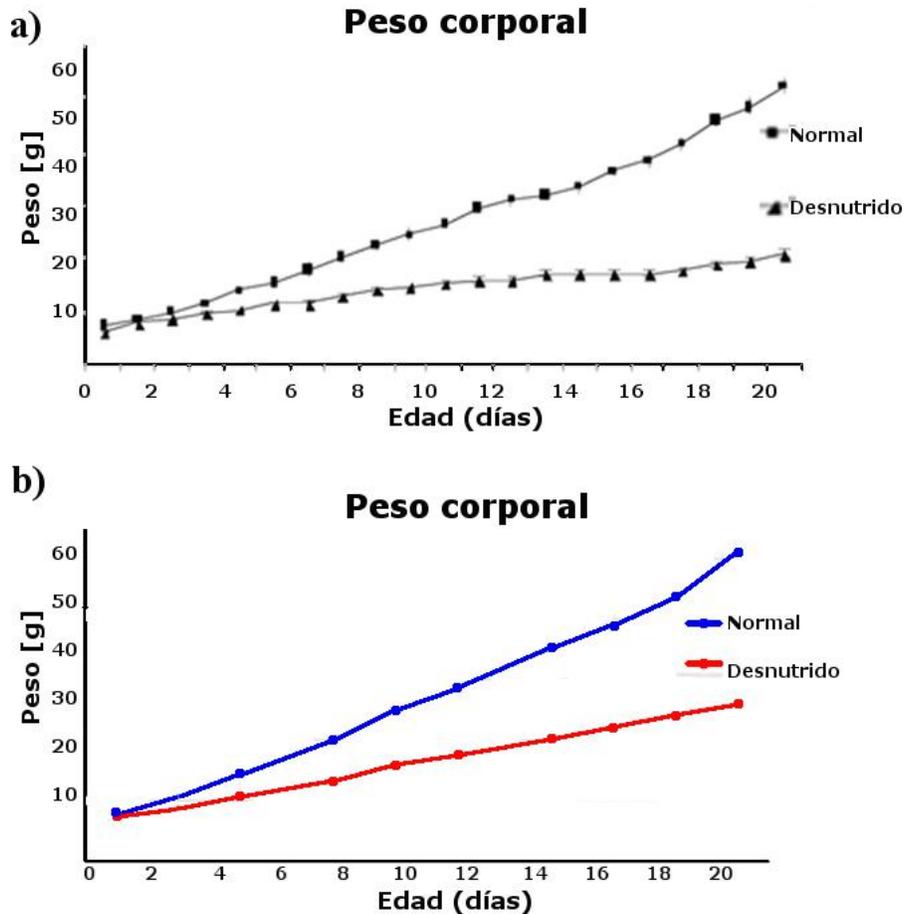


Figura 4.2. Comparación entre los dos diferentes tipos de protocolos de desnutrición, por calidad del alimento (a) [46] y por competencia (b) [63]. Claramente se observa una tendencia similar de ambos protocolos.

De la Figura 4.2 observamos que los resultados por medio de ambos protocolos es prácticamente el mismo. En nuestro caso, utilizamos el protocolo de desnutrición por medio de competencia, proporcionado por el Bioterio de la Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa.

Lo complicado de trabajar con niños desnutridos, es que muchas veces la desnutrición es consecuencia de alguna enfermedad, generalmente de una enfermedad de largo plazo que por lo general son tratadas de forma hospitalaria. Lo que hace difícil manejar de forma adecuada un grupo dentro de un estudio de desnutrición, ya que se llega a confundir si la desnutrición es causa de una enfermedad o una enfermedad es derivada de la desnutrición [73].

4.3 Preparación de los animales

Todos los procedimientos fueron realizados de acuerdo a las guías internacionales de Cuidado y Manejo de Animales. Se emplearon doce ratas de la cepa Wistar. Los animales fueron mantenidos en un ambiente controlado con una temperatura entre 22 y 25 °C, con una humedad relativa del 45%. Los animales fueron mantenidos bajo condiciones controladas de ciclos de luz, es decir, 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

Para nuestro experimento, se dividieron en dos grupos el total de las ratas dependiendo del protocolo de desnutrición, es decir, se tuvo un grupo desnutrido (experimental) y un grupo de condiciones normales (control). Ambos grupos consistieron por lo tanto de 6 ratas cada uno y su edad fue de 18 a 21 días. Es importante resaltar que se emplearon ratas de esta edad, ya que posteriormente al día 21 se les desteta y comienzan su alimentación sólida y es más probable que puedan recuperarse de la desnutrición provocada en el caso del grupo experimental. Las ratas del grupo control tuvieron un peso de 41.94 ± 4.9 g, mientras que las del grupo experimental presentaron un peso de 29.09 ± 3.3 g. De acuerdo con el peso obtenido en el grupo experimental y refiriéndonos a [72], este peso equivale a una desnutrición de segundo grado (desnutrición moderada).

Los animales fueron preparados como se ilustra en la Figura 4.3 para ser introducidos dentro del sistema de IRM.

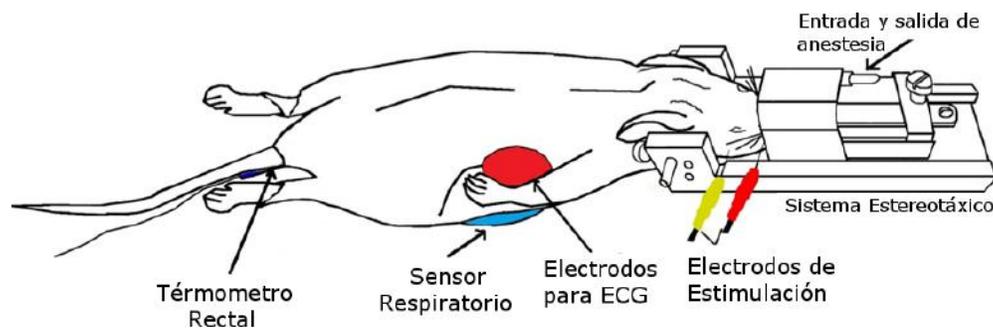


Figura 4.3. “Setup” para la preparación de las ratas. Para cada experimento, se colocaba a la rata en un sistema estereotáxico plástico para reducir el movimiento de la cabeza. Además se colocaron sensores (temperatura, presión y electrocardiograma) para monitorizar los signos vitales. El sistema estereotáxico además cuenta con un sistema de tubos para la entrada y salida de aire por el cual se les administraba la anestesia. Los electrodos de estimulación fueron colocados las vibrisas (“bigotes”) de cada animal para estimular el nervio trigémino.

A partir de esta preparación de los animales y con el empleo de un sistema de monitoreo (Model 1025, SA Instruments), se observaban los signos vitales del animal.

4.4 Protocolo de estimulación

Se eligió estimular el nervio trigémino (también llamado nervio craneal, quinto nervio o por su abreviación NC-V). Este nervio es responsable de la sensación facial y de funciones motoras como el morder, masticar, parpadear y tragar. La información sensorial del rostro y del cuerpo es procesado mediante vías paralelas en el SNC. En los modelos animales, principalmente como es nuestro caso en ratas, es un modelo muy atractivo que permite estudiar y comprender la estructura, función, desarrollo y plasticidad dentro de la corteza somatosensorial [74]. La Figura 4.4 ilustra de manera sencilla estas vías.

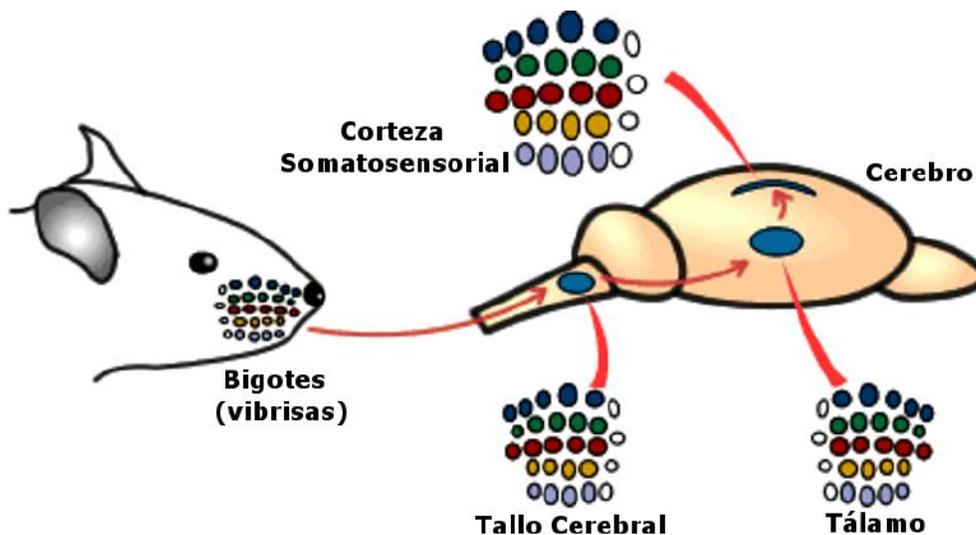


Figura 4.4. Descripción gráfica de los relevos encefálicos por los cuales viaja la información sensorial desde las vibrisas hasta la corteza somatosensorial. La información del nervio trigémino viaja hacia el tallo cerebral, de donde va hacia el tálamo y de ahí hace su último relevo hacia corteza somatosensorial.

Además, una de las razones por las cuales se escogió la estimulación en esta zona, es que las vibrisas (bigotes) de los roedores, están bien definidas y caracterizadas en la corteza somatosensorial. Otro aspecto muy importante, es que a través de las vibrisas las ratas (y otros roedores), mapean y se hacen una idea espacial sobre su entorno, es por eso que presentan una gran área somatosensorial en la corteza cerebral, como se puede observar en la Figura 4.5.

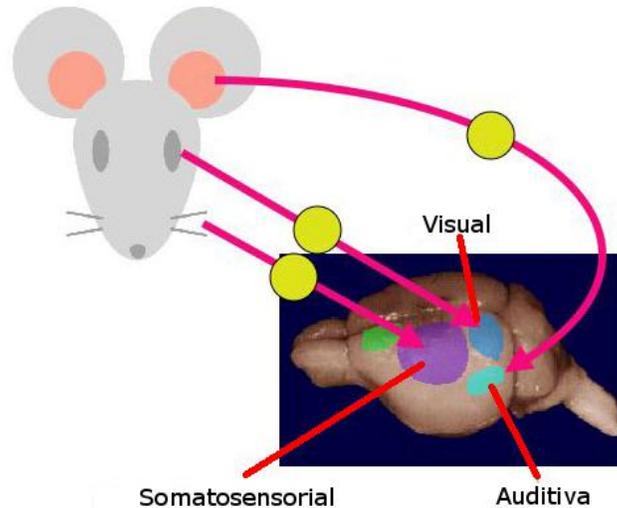


Figura 4.5. El cerebro de los roedores está bien caracterizado. Se tiene bien localizadas las áreas de la corteza cerebral donde se recibe la información visual, somatosensorial y auditiva.

La estimulación eléctrica del nervio trigémino que se empleó fue por medio de un sistema estimulador GRASS S48. Por medio de este aparato, se mandaban pulsos de 500 mV y 2 mA, a una frecuencia de 1 Hz, es decir, se mandaba un pulso cada segundo como lo podemos observar en la Figura 4.6 b).

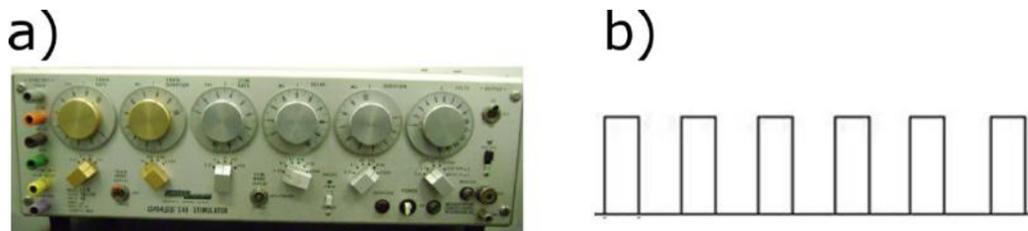


Figura 4.6. a) Estimulador GRASS-S48, por medio del cual se mandaban los pulsos de estimulación, por medio de éste dispositivo se puede controlar la duración y amplitud de los pulsos. b) Ejemplo del tipo del tren de pulsos que se emplearon para el protocolo de estimulación, cada pulso se caracterizaba por tener una amplitud de 500mV y una corriente de 2mA, cada pulso se mandó a 1Hz, cada segundo y un ancho de banda de 100 μ s.

4.5 Adquisición y procesamiento de las imágenes

Todas las ratas fueron colocadas en un sistema estereotáxico como el mostrado en la Figura 4.3 para reducir lo más que se pudiera el movimiento de la cabeza de las ratas. Además, las ratas eran colocadas dentro de un instrumento que permite fijar dicho estereotáxico (instrumento fue diseño propio, mostrado en la Figura 4.7), que nosotros llamaremos posicionador, y de esta forma colocarlas en el isocentro del equipo. Se deben

colocar en el isocentro, porque es ahí donde se mantiene la mayor homogeneidad del campo magnético y de esta forma aseguramos obtener la mayor señal posible y por ende también la mejor calidad de imagen.



Figura 4.7. Sistema “posicionador” que se diseñó y se construyó. Este sistema tiene la característica de que puede introducirse y moverse dentro del sistema de RM por medio de un tornillo sin fin para colocar a las ratas en el isocentro del imán.

Junto con el posicionador se colocó una manguera que permitía la circulación de aire caliente para poder mantener la temperatura adecuada para que las ratas no sufrieran de hipotermia y de esta forma evitar que fallecieran. Esto lo podemos observar en la Figura 4.8.

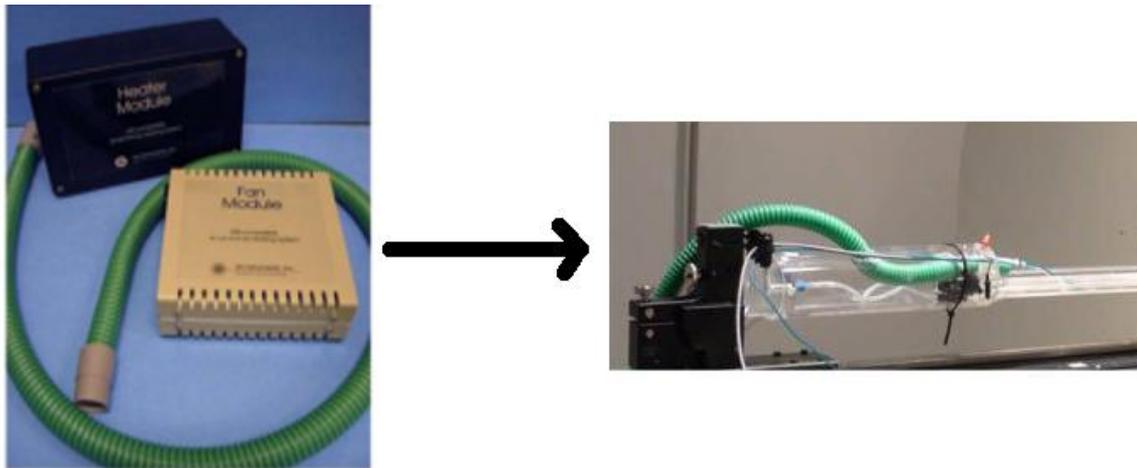


Figura 4.8. Se contaba además con un módulo que calentaba el aire, dicho aire es enviado por una manguera hacia el animal por medio de un ventilador, para poder mantener una temperatura adecuada del animal. Recordemos que el sistema de RM es muy frío debido a los criogénicos que mantienen la superconductividad del imán, por lo tanto se necesita controlar la temperatura de los animales para evitar que murieran.

Ya que se tenía a la rata fijada, se utilizó Isoflurano al 2% en O_2 para anestesiadas y de esta forma poderles colocar los electrodos en la zona de las vibras (como se muestra en la Figura 4.3) y de esta forma poder obtener las imágenes.

Todos los experimentos fueron realizados con un sistema de 7 Tesla (Agilent Technologies), equipado con tecnología Direct Drive, y una antena transceptora estilo jaula de pájaro de 16 piernas (antena elaborada en el laboratorio), cuyas dimensiones son de 5 cm de diámetro y 11 de largo, además es una antena en cuadratura (Figura 4.9).

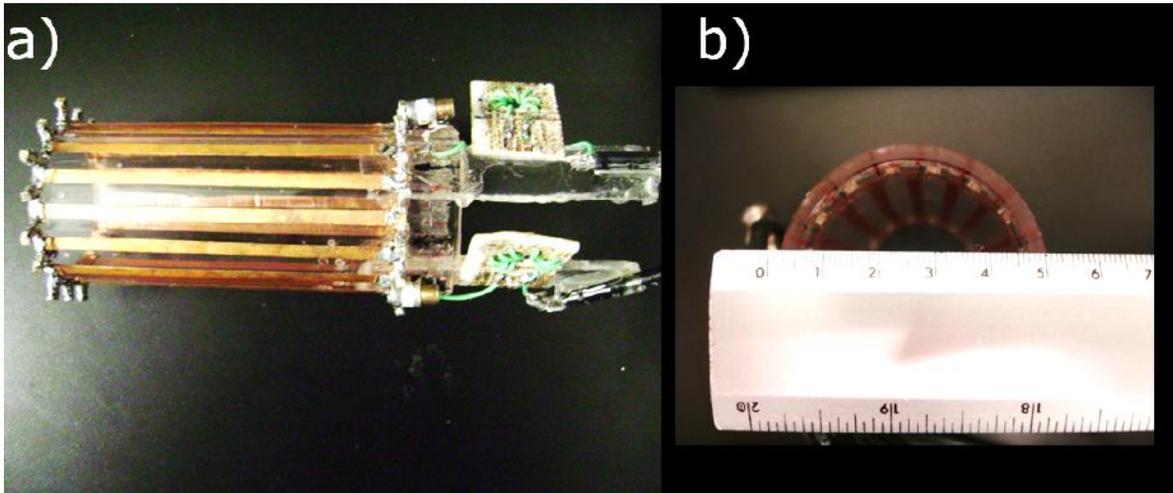


Figura 4.9. Antena de jaula de perico de 16 piernas. a) Vista superior de la antena, donde claramente se observan los dos canales (antena en cuadratura), y b) el diámetro de la antena fue de 5 cm. Esta antena fue diseñada especialmente para animales pequeños (ratas de 1-30 días de edad y ratones).

Los parámetros de adquisición que se emplearon fueron: Secuencia GEMS (Gradiente Eco Multi-Eco) con $TR/TE=107.82/3.8$ ms, Flip Angle = 20° , $FOV=30 \times 30$ mm², tamaño de matriz de reconstrucción= 128×128 , grosor= 0.3 mm, espacio entre cortes= 0.3 mm, y número de adquisiciones (NEX)=1, esto nos indica que se adquirió un volumen (15 cortes) en un segundo aproximadamente. Por lo tanto, obtuvimos una resolución espacial de $0.23 \times 0.23 \times 0.3$ mm³, obteniendo un total de 15 imágenes funcionales por experimento. Como vimos en el capítulo 2, la secuencia GE es una buena secuencia que se puede emplear para este tipo de experimentos, ya que nos da una resolución espacio-temporal adecuada. Durante todo el tiempo que duraba el experimento, las ratas estuvieron bajo anestesia entre 1.5 y 2% de isoflurano en O₂.

Las imágenes funcionales tienen que ser montadas en una imagen de alta resolución espacial, por lo cual además de las imágenes funcionales, se obtuvieron imágenes anatómicas de cada rata con una secuencia SE con los parámetros:

TR/TE=3000/25 ms, FOV=30x30, Matriz de reconstrucción=128x128, grosor de corte=0.3mm, espacio entre cortes=0.2 mm y con un promedio de 4.

Se empleó el diseño de un experimento por bloques. Esto quiere decir, que nuestro experimento constó de bloques de estimulación y reposo. En total, se adquirieron 120 volúmenes, de los cuales 60 fueron de reposo y 60 de estimulación. En cada bloque se adquirieron 4 volúmenes de 15 imágenes cada uno (adquisición de 4 volúmenes por minuto).

Ya que se obtuvieron todas las imágenes, se procedió a la parte de procesamiento de las imágenes para poder determinar qué zonas son las que presentaban activación significativa. El procesamiento de las imágenes se realizó con ayuda del software SPM-5 (Statistical Parametric Mapping) [75]. El problema con este software es que está diseñado para análisis de cerebros humanos, donde generalmente se tiene una resolución espacial de $3 \times 3 \times 3 \text{ mm}^3$, si notamos nosotros tenemos una resolución espacial de $.23 \times .23 \times .3 \text{ mm}^3$, lo cual es un problema al momento de procesar las imágenes debido a que hay una diferencia 10 veces entre las resoluciones espaciales. Para esto, afortunadamente se cuenta con el "toolbox" SPMMouse [76], que tiene modificaciones que nos permiten manejar estas imágenes de resolución espacial más pequeña, que aunque se ve reflejado en el tiempo de computación, nos es de gran ayuda para poder procesar las imágenes y obtener resultados adecuados.

CAPÍTULO 5

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Para determinar las regiones de interés en la corteza somatosensorial, donde se esperaba la principal actividad cerebral, todas las imágenes fueron procesadas mediante la ayuda del software SPM5 y SPMMouse como se mencionó. Todos los datos fueron superpuestos a imágenes anatómicas de cada rata, así se pudieron hacer las comparaciones de mejor forma. Para la comparación entre ambos grupos, se empleó una $p < 0.05$, y de igual forma para el análisis dentro del grupo experimental, esto para las estimaciones dentro del SPM.

Para estudiar las posibles áreas de activación, se obtuvieron mapas de activación para cada rata en cada grupo. En la Figura 5.1 se muestran mapas promedio obtenidos tanto del grupo control y del grupo experimental a partir de la estimulación del nervio trigémino como se mencionó anteriormente, se aprecian diferentes áreas que van desde el bulbo olfatorio hasta el cerebelo. Los diagramas esquemáticos que se añadieron en la figura, fueron obtenidos del atlas de Paxinos [34] en cortes coronales para poder facilitar la localización de las zonas de activación.

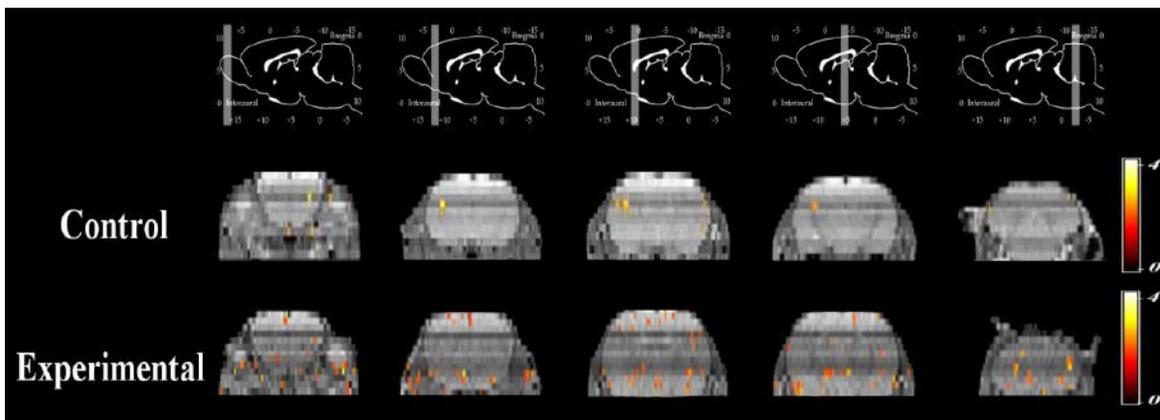


Figura 5.1. Mapas representativos promedio del grupo control y del grupo experimental, para poder facilitar las zonas de activación, se añadieron diagramas del atlas de Paxinos. Se muestra un barrido desde bulbo olfatorio, hasta el cerebelo. Claramente se observan las diferencias entre grupo control y grupo experimental, cada imagen fue corregistrada con su cerebro individual, debido a la gran diferencia entre cerebros.

De la Figura 5.1 se observa claramente que existe una mayor activación en la rata del grupo experimental, de hecho, lo que se esperaba era precisamente que únicamente existiera activación o cambios significativos a nivel de la corteza somatosensorial, sin

embargo, esto abrió la pauta para hacer un análisis sobre las zonas donde existía mayor cambios en el grupo experimental. Podemos decir que se realizaron los análisis de la siguiente manera: análisis de corteza somatosensorial entre grupo control y grupo experimental y análisis de las áreas de activación dentro del grupo experimental.

Todos los análisis siguientes de la señal BOLD, se relizaron mediante la resta de la señal de activación menos la línea de base, además, se obtuvieron mediante una región de interés (ROI) cúbica de 1x1x1 mm en las zonas de interés del cerebro.

5.1 Análisis entre grupo control y grupo experimental.

Como podemos apreciar de la Figura 5.1, en el grupo control únicamente se aprecia una activación considerable en corteza somatosensorial. En el grupo experimental, también se observó esta activación.

Para analizar las diferencias entre ambos grupos, se obtuvieron las respuestas BOLD para cada una de las ratas, tanto del grupo control y experimental. Obtenidas las respuestas BOLD de cada una de las ratas se obtuvieron las respuestas promedio de cada uno de los grupos. Estos resultados los podemos observar en la Figura 5.2.

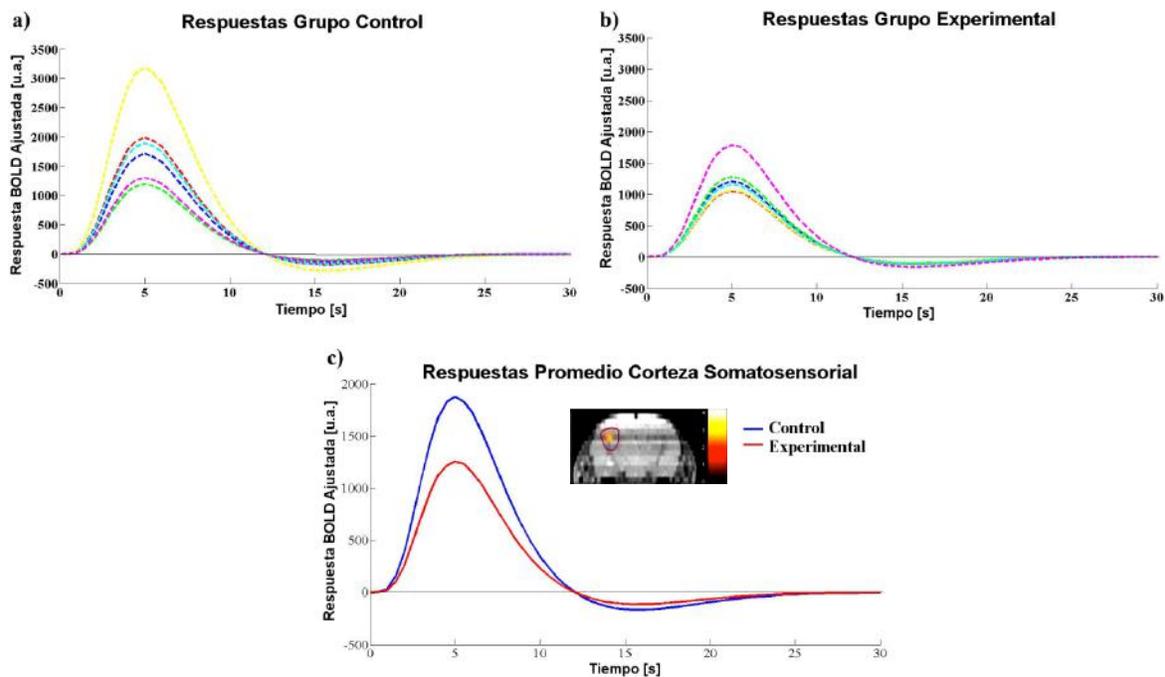


Figura 5.2. a) Respuestas BOLD del grupo control en corteza somatosensorial, b) respuesta BOLD del grupo experimental en la corteza somatosensorial, c) repuestas promedio para cada uno de los grupos. Para ilustrar la zona donde se tomaron estas respuestas se tiene una imagen de la zona somatosensorial.

De la Figura 5.2, observamos que el comportamiento (curso temporal) es el mismo para ambos casos del grupo experimental y control. Estos muestran gran concordancia con los resultados ya reportados por Aguirre [29], así como por Silva y Koretsky [77].

De la Figura 5.2 c) observamos la respuesta BOLD promedio para cada grupo. Debido a que se observa que aproximadamente a los 5 segundos tenemos la mayor intensidad de la señal hemodinámica, es ahí donde se realizó un análisis estadístico de la señal, ya que es en este punto donde se infiere que existe un mayor consumo de oxígeno.

La respuesta promedio del grupo control fue de 1879.30 (u.a.) y del grupo experimental fue de 1254.34 (u.a.). Se aplicó una prueba ANOVA entre ambos casos, con un nivel de 0.05, y la diferencia entre las dos poblaciones fue estadísticamente significativa. Lo cual nos indicaría un cambio aproximado del 33.26% del grupo experimental con respecto al grupo control.

Además, se realizó también un análisis sobre el área de las curvas positivas resultantes de las respuestas promedio de cada grupo. Este análisis se realizó por medio de dos métodos:

- Integración simple bajo la curva. Se tomó la curva que va desde los 0 hasta los 12 segundos aproximadamente y mediante una integración bajo esta curva se obtuvieron los siguientes resultados
 - o Control: 20460.15 (u.a.)
 - o Experimental: 13708.85 (u.a.)

Lo cual refleja un cambio del 33% entre ambos grupos.

- Obteniendo el área por medio de la técnica FWHM (Full Width Half Maximum). El cual no es más que aproximar el área, al área de un rectángulo. Se toma el ancho de banda donde se encuentra la mitad de la amplitud máxima, y se multiplica por la amplitud máxima. Por medio de esta técnica se obtuvieron
 - o Control: 5638.18 (u.a.)
 - o Experimental: 3763.01 (u.a.)

El cambio entre ambos grupos es del 33.26%

Claramente se aprecia que hay un cambio muy significativo en el área bajo la curva entre ambos grupos. En el grupo experimental, a comparación con el grupo control, esto nos puede indicar que existe un menor consumo de oxígeno en corteza somatosensorial.

5.2 Análisis del grupo experimental.

Para analizar el grupo experimental, se observaron primero las zonas donde había una activación constante en cada una de las ratas de este grupo. Si observamos la Figura 5.1 en la imagen de la rata del grupo experimental, claramente se observa una activación “aleatoria”, no se observa una única zona de activación, para ello se observó en cada rata qué zonas eran las que mostraban una activación al igual que el resto de las demás ratas pertenecientes de este grupo.

Se observó que las activaciones en todas las ratas de este grupo fueron: cerebelo, hipocampo, hipotálamo y obviamente corteza somatosensorial.

Nuevamente se obtuvieron las respuestas BOLD de cada una de estas zonas para cada rata. Estas respuestas son mostradas en la Figura 5.3.

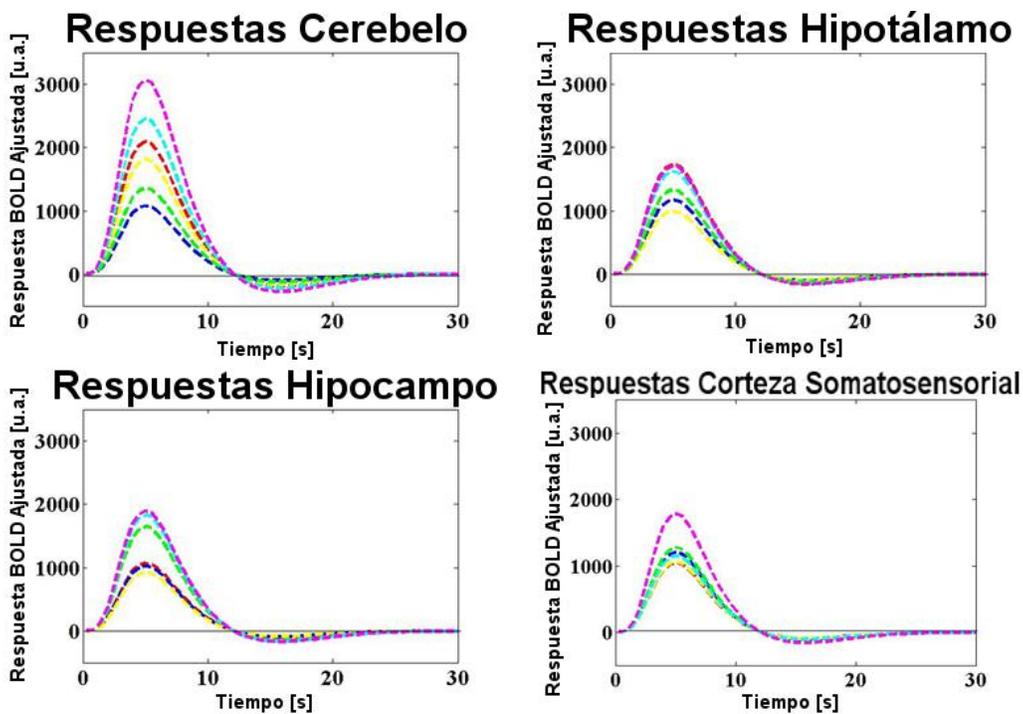


Figura 5.3. Respuestas de la señal BOLD ajustada para las cuatro diferentes áreas analizadas en el grupo experimental.

De igual forma que como se hizo en el análisis entre grupos (comparación entre control y experimental), se obtuvo la respuesta promedio para cada una de estas zonas, como se muestra en la Figura 5.4, donde además, se incluye un diagrama que nos permite observar las áreas de donde provienen las activaciones.

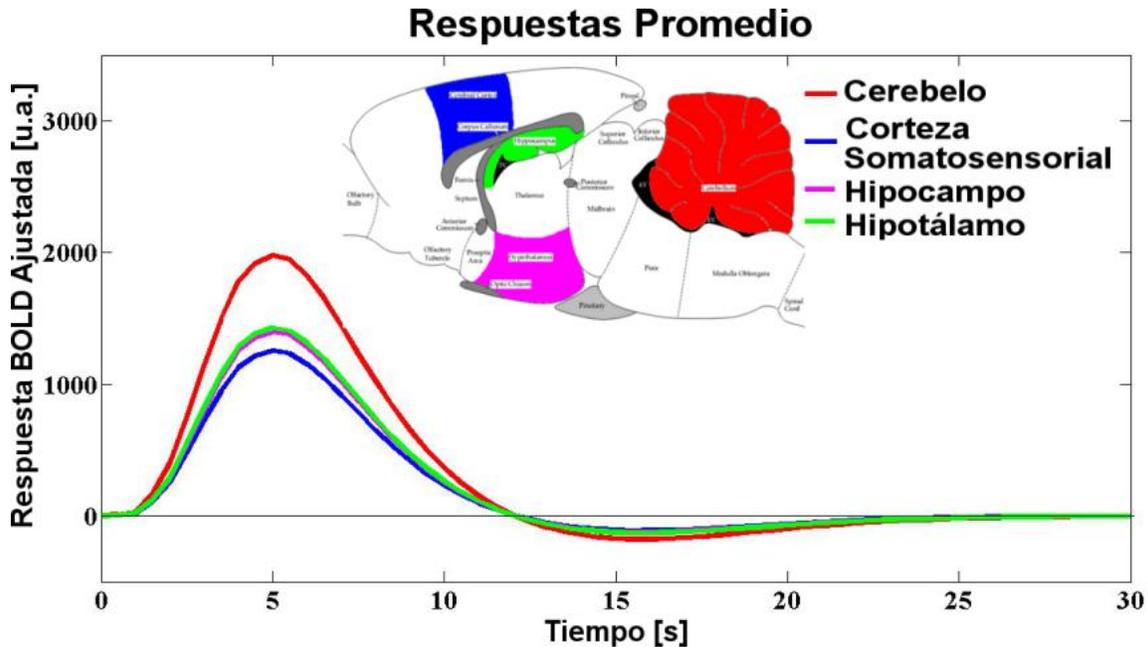


Figura 5.4. Respuestas promedio para cada una de las áreas analizadas en el grupo experimental. Se muestra una imagen representativa que nos permite ver de dónde provienen dichas señales.

Claramente se observa un cambio en las intensidades de la señal obtenida. Se aprecia que la señal promedio de hipotálamo e hipocampo son prácticamente iguales. En cambio, la señal del cerebelo es la que más intensidad nos muestra y la señal de corteza somatosensorial es más baja en comparación a las demás áreas.

Se realizó entonces un análisis de estas señales de la misma forma que en caso de la comparación entre cortezas somatosensoriales entre los dos diferentes grupos. La máxima intensidad de señal promedio de cada zona fue: cerebelo = 1978.70 (u.a.), hipocampo = 1397.44 (u.a.) representando un cambio aproximado del 29.38% con respecto al cerebelo, hipotálamo = 1427.97 (u.a.) representando un cambio aproximado del 27.83% con respecto al cerebelo y corteza somatosensorial = 1254.34 (u.a.) representando un cambio aproximado del 36.61% con respecto al cerebelo. Al igual que en el caso del análisis entre cortezas somatosensoriales entre ambos grupos, se

determinó estadísticamente por medio de ANOVA ($p < 0.05$) si existía alguna diferencia significativa entre estas 4 estructuras

	Diferencia Promedios	Sig
Cerebelo – Cort. Somat.	724.36	1
Hipocampo – Cort. Somat.	143.1	0
Hipocampo – Cerebelo	-581.26	1
Hipotálamo – Cort. Somat.	173.63	0
Hipotálamo – Cerebelo	-550.73	1
Hipotálamo – Hipocampo	30.52	0

Tabla 5.1 Diferencia entre los promedios de las señales entre las diversas áreas analizadas, así como el parámetro *sig*, el cual si muestra el valor de 1 quiere decir que existe diferencia significativa, y en 0 no existe diferencia significativa.

A partir de los resultados obtenidos y mostrados en la Tabla 5.1, claramente se observa que existe una diferencia significativa al comparar la intensidad de la señal promedio proveniente del cerebelo a comparación a las demás estructuras.

También se calcularon las áreas bajo la curva en cuanto a las respuestas promedio también por las mismas técnicas empleadas en el análisis entre corteza somatosensorial entre ambos grupos, teniendo la siguiente tabla de resultados.

	Controles		Desnutridas		
	Corteza Somatosensorial	Corteza Somatosensorial	Hipotálamo	Hipocampo	Cerebelo
FWHM	5638.18	3763.01	4283.9	4192.33	5936.09
Integral bajo la curva	20460.15	13708.85	15606.45	15272.86	21625.49

Tabla 5.2. Resultados de las áreas bajo la curva por medio de las dos diferentes técnicas de las respuestas promedio provenientes de las cuatro diferentes zonas cerebrales analizadas.

Si observamos los resultados, la actividad en el cerebelo de las ratas desnutridas es muy parecida a la actividad presentada en corteza somatosensorial de ratas del grupo control. Estos resultados nos sugieren que existe una falla por así llamarla, en cuanto a la comunicación neuronal en un cerebro desnutrido. El porcentaje del cambio del área bajo

la curva de la señal promedio de las otras señales promedio de las demás áreas cerebrales con respecto al cerebelo es:

	Hipotálamo	Hipocampo	Corteza Somatosensorial
FWHM	27.83%	29.38%	36.6%
Integral bajo la curva	27.83%	29.38%	36.61%

Tabla 5.3. Diferencia porcentual menor del área bajo la curva de hipocampo, hipotálamo y corteza somatosensorial con respecto al área bajo la curva proveniente de la señal del cerebelo, mediante los dos diferentes métodos empleados.

A partir de la Tabla 5.3, podemos observar que existe un cambio en el área bajo la curva de las señales promedio obtenidas de las demás estructuras cerebrales con respecto a la señal obtenida del cerebelo, siendo esta última la que mayor intensidad de la señal presentó.

Comparando todas estas señales BOLD promedio entre ambos grupos, podemos obtener la gráfica que se muestra en la Figura 5.5.

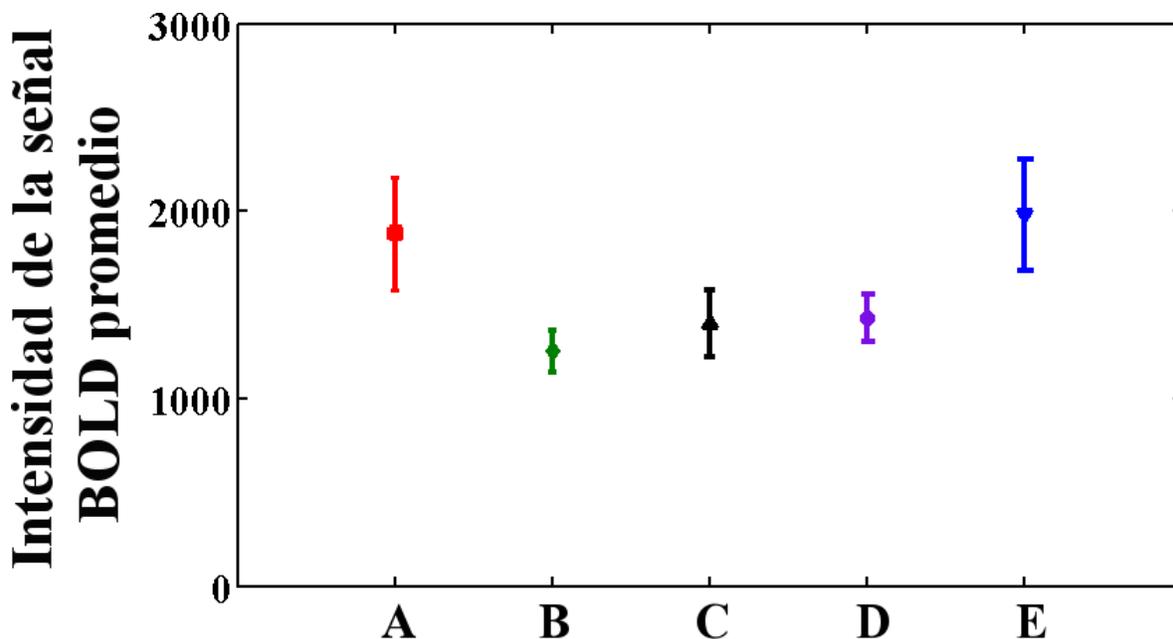


Figura 5.5. Comparación de las intensidades de la señal BOLD promedio obtenidas con su error en las diferentes regiones de interés. A – Corteza Somatosensorial del grupo control; mientras que B – Corteza Somatosensorial, C – Hipocampo, D – Hipotálamo y E – Cerebelo representan los resultados del grupo experimental.

Se observa una variación total de las señales. Principalmente se esperaría que la señal obtenida en corteza somatosensorial del grupo experimental fuera prácticamente la misma que en el grupo control, pero no es así. Si vemos la Figura 5.5, la corteza somatosensorial del grupo control tiene prácticamente la misma intensidad que la señal del cerebelo del grupo experimental, mientras que la señal de la corteza somatosensorial del grupo experimental es muy baja con respecto a la señal del grupo control. Esto también se pudo observar en el análisis bajo la curva mencionado anteriormente.

5.3 Análisis morfológico

También se hizo una comparación morfológica entre ratas del grupo control y ratas del grupo experimental. Para esto, aprovechando las imágenes anatómicas para cada rata, se realizó una reconstrucción tridimensional del cerebro de las ratas.

Para realizar la reconstrucción tridimensional de los cerebros, se utilizó como herramienta el software Amira Visage Imaging (versión 5.2.0) para la segmentación de cada imagen y posteriormente la formación de un volumen.

Se notó que no todos los cerebros que presentan una desnutrición se desarrollan de la misma forma, a continuación se presenta un ejemplo comparativo en el desarrollo de un cerebro del grupo control (peso corporal de 45.5 g) y uno experimental (peso corporal de 23.3 g).

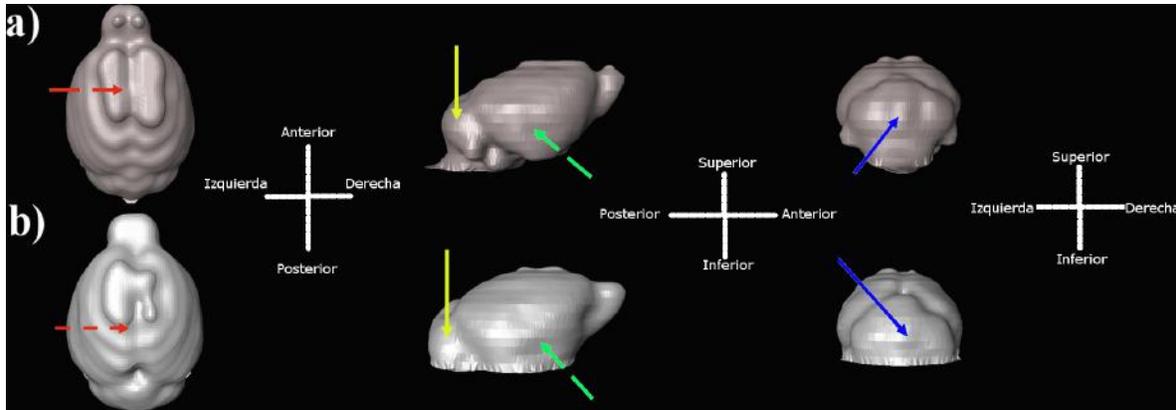


Figura 5.6. a) Cerebro en 3D de una rata del grupo control, b) reconstrucción en 3D de un cerebro de una rata del grupo experimental. Se muestran flechas en diferentes colores que indican las zonas donde se observan diferencias morfológicas entre los dos cerebros. En rojo apreciamos una irregularidad notoria en cuanto a la división de los hemisferios cerebrales, en amarillo se muestra en orientación sagital una diferencia notable en el cerebelo, en verde apreciamos una formación irregular de un hemisferio cerebral y en azul se señala una notoria irregularidad en la formación del cerebelo.

Claramente a partir de la comparación mostrada en la Figura 5.6, se observa un desarrollo del cerebro “desnutrido” de una forma muy irregular (flecha amarilla y azul del inciso b). Además en el desarrollo de los hemisferios se observa también un crecimiento un poco deforme si lo comparamos con respecto al cerebro control (flecha roja y verde), ya que si nos fijamos en la figura (flecha roja) en el caso de la rata desnutrida no nos permite una adecuada segmentación que nos deje visualizar la división de los hemisferios en su totalidad.

Además, debido a las diferencias funcionales observadas en el cerebelo entre ambos grupos, se hizo una segmentación de esta estructura como se puede apreciar en la Figura 5.7.

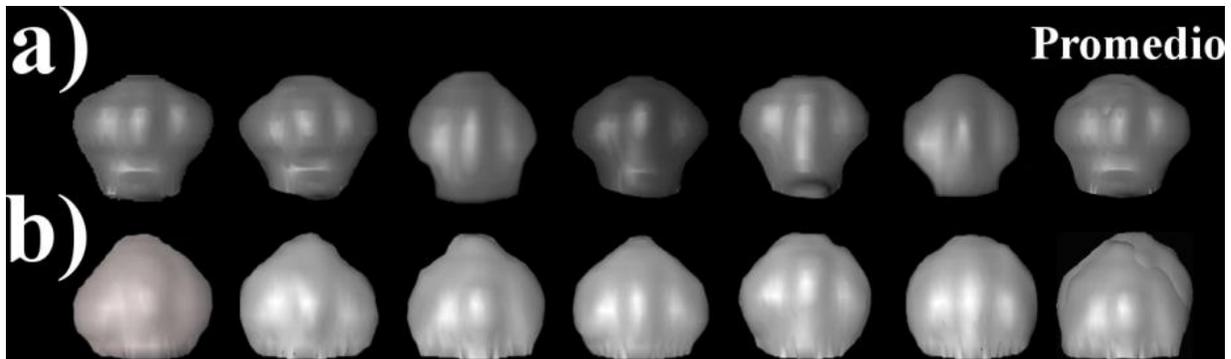


Figura 5.7. Se muestran los cerebelos segmentados para cada uno de los grupos (6 para cada uno), tanto el control (a), como el experimental (b). Además, en la última columna se muestra el resultado del cerebelo promedio de cada uno de los grupos.

Claramente de la Figura 5.7 se observa una diferencia entre ambos grupos. Mientras que en el grupo control se observa una morfología que se presenta muy parecida, en el grupo experimental la morfología difiere mucho. Esto se puede comprobar también en la última columna de la figura, la cual representa el promedio de los cerebelos para ambos grupos.

CAPÍTULO 6

CONCLUSIONES

Hasta donde es de nuestro conocimiento y por medio de la revisión bibliográfica, éste es el primer estudio sobre los efectos de la desnutrición a nivel funcional empleando la técnica de IRM.

Los resultados obtenidos no eran los esperados, ya que sólo se esperaban en primera instancia cambios en corteza somatosensorial y no cambios significativos en otras áreas, como los mostrados en hipotálamo, hipocampo y cerebelo.

Los cambios observados pueden implicar que algunos mecanismos reguladores de neurotransmisores se encuentran afectados. Podríamos inferir que principalmente los mecanismos reguladores de GABA (neurotransmisor inhibitorio) o glutamato (neurotransmisor excitatorio) son los más afectados, debido a lo que observamos de tanta activación presente en el cerebro desnutrido, pero no podemos descartar que otros mecanismos como el de la acetil-colina (ACh), dopamina o noradrenalina también estén afectados.

Debido al estímulo dado y los resultados obtenidos, también esto puede implicar la existencia de problemas en la comunicación hipotalámica, es decir entre las aferencias y eferencias¹² sobre esta estructura. Estas comunicaciones las podemos observar mediante la Figura 6.1.

¹² Podemos ver al cerebro y sus diversas estructuras como una entrada y salida de información o señales. Las aferencias son el "sistema de entrada" y las eferencias son el "sistema de salida". Así una aferencia es una vía que envía señales al sistema nervioso central o a un centro de procesamiento. Una eferencia quiere decir que una vía envía señales desde el sistema nervioso central hasta la periferia o a otro centro de procesamiento.

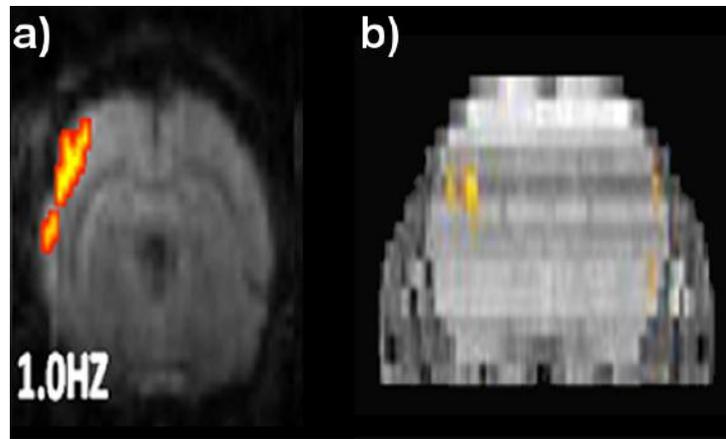


Figura 6.2. a) Resultado obtenido por Just y colaboradores [74], b) resultado obtenido por nosotros, estimulando el nervio trigémino con un pulso de 2 mA a 1 Hz.

Este resultado nos dio el indicio de que estábamos realizando de manera correcta los experimentos de estimulación. En el trabajo de referencia para la estimulación del nervio trigémino, Just y colaboradores realizaron la estimulación directamente sobre el nervio, es decir, ellos colocaron electrodos directamente sobre una rama del nervio trigémino (mediante una incisión en las ratas) colocando un electrodo en el nervio infraorbital en un principio, y posteriormente insertaron de manera percutánea electrodos en el hiato infraorbital y en el músculo masticador. Sus resultados indicaron que a una estimulación eléctrica con trenes de pulso a 1 Hz y con corrientes entre 1.5 y 3 mA obtenían una mayor respuesta BOLD. Esto se puede observar en la Figura 6.2a. Nuestros resultados en el grupo control fueron muy parecidos a los reportados anteriormente, esto es, una mayor respuesta en corteza somatosensorial primaria y secundaria, así como en corteza motora.

Nuestros resultados obtenidos nos dan la pauta para continuar el estudio de la desnutrición y sus consecuencias en el funcionamiento cerebral, por medio de otras técnicas no invasivas, ya que todavía no podemos determinar si los cambios observados en el cerebro corresponden totalmente a un daño cerebral o si éstos se deben a un proceso adaptativo y/o de plasticidad neuronal, ya que como se comentó en la introducción, la acción de la corteza somatosensorial es muy importante para los roedores con una área de corteza mayor que la de cualquier otro órgano sensorial; sin embargo, la respuesta de ésta fue menor en el grupo experimental con respecto al grupo control, es tentador pensar que en cerebros desnutridos hay reclutamiento de otras áreas cerebrales para sustituir la menor actividad de la corteza somatosensorial. Es precisamente este

punto el que nos indica que el cerebro no es un órgano “estático” como antes se creía, ya que debido a los procesos adaptativos y de plasticidad el cerebro tiene la capacidad de “reorganizarse” neuronalmente de forma que el mismo cerebro busca y trata de compensar las formas de transmisión de la información para ejecutar diferentes tareas.

Hemos empleado la técnica de IRMf y estimulación del nervio trigémino para poder analizar los cambios de la respuesta hemodinámica debida a la estimulación sensorial en ratas sometidas a un protocolo de desnutrición. A pesar que las ratas presentaban una desnutrición que cabe dentro de una clasificación de desnutrición de segundo grado (o moderada), pudimos observar cambios significativos, especialmente cambios en las señales provenientes del cerebelo.

Sin lugar a dudas se necesita mayor investigación sobre el tema para determinar las causas que originan este tipo de comportamiento. Se ha propuesto hacer estudios en animales mediante la técnica de ERM, pero para esto se necesita un sistema de alto campo magnético para poder determinar y observar de mejor manera los metabolitos involucrados y la diferencia que pueda existir en estos [ver Apéndice B]. Nuestros resultados pueden ser tomados en cuenta para poder mejorar los tratamientos de rehabilitación nutricional y funcional del cerebro en las primeras etapas de la vida.

BIBLIOGRAFÍA:

- [1] F. Bloch. **Nuclear Induction**. Physical Review. (1946) 70:460.
- [2] E. M. Purcell, H. C. Torrey & R. V. Pound. **Resonance absorption by nuclear magnetic moments in solid**. Physical Review. (1946) 69:37.
- [3] P. C. Lauterbur. **Image Formation by Induced Local Interactions: Examples Employing Nuclear Magnetic Resonance**. Nature. (1973) 242:190-191.
- [4] P. Mansfield & A. A. Maudsley. **Planar Spin Imaging by NMR**. Journal of Magnetic Resonance. (1977) 27:101-119.
- [5] D. M. P. Mingos. **Magnetic Parameters and Magnetic Functions in Mononuclear Complexes Beyond the Spin-Hamiltonian**. Springer. (2006)
- [6] D. McRobbie, E. Moore, M. Graves, M. Prince. **MRI from Picture to Proton**. Cambridge University Press. (2007) p. 148-160.
- [7] M. L. Wood, and E. W. Wehrli. 1999. **Principles of MRI. In Magnetic resonance imaging**, Vol. 1, 3rd ed., edited by D. D. Stark and W. G. Bradley, pp. 5-6. St. Louis: Mosby.
- [8] E. C. Lauterbur, D. M. Kramer, W. V. House, and C-N. Chen. **Zeugmatographic highresolutionnuclear magnetic-resonance spectroscopy--images of chemical inhomogeneity within macroscopic objects**. *J. Am. Chem. Soc.* (1975) 97: 6866-6868
- [9] P. Mansfield, A. A. Maudsley, and T. Baines. **Fast scan proton density imaging by NMR**. *J. Phys. E* (1976) 9:271-278
- [10] D. I. Hoult. **Zeugmatography--criticism of concept of a selective pulse in presence of a field gradient**. *J. Magn. Reson.* (1977) 26(1): 165-167.
- [11] A. Kumar, D. Welte, R. R. Ernst. **Imaging of macroscopic objects by NMR Fourier zeugmatography**. *Naturwissenschaften* (1975) 62(1) p 34.
- [12] W. A. Edelstein, J. M. S. Hutchinson, T. Redpath. **Spin-warp NMR imaging and applications to human whole body imaging**. *Phys in Med and Biol*, (1980) 25, 751-756.

[13] M. A. Bernstein, K. F. King, X. J. Zhou. **Handbook of MRI Pulse Sequences.** Elseiver, 2004.

[14] J. M. S. Hutchinson, R. J. Sutherland, and J. R. Mallard. **NMR imaging: Image recovery under magnetic fields with large non-uniformities.** *J. Phys. E* (1978) 11:217-221.

[15] A. O. Rodríguez. **Principles of magnetic resonance imaging.** *Revista Mexicana de Física* 50 (3) 272–286, 2004.

[16] S. Roy & C. S. Sherrington. **On the Regulation of the Blood-Supply of the Brain.** *J Physiol.* (1890) 11:85-108.

[17] P. T. Fox & M. A. Mintun. **Noninvasive Functional Brain Mapping by Change-Distribution Analysis of Averaged PET Images of H₂¹⁵O Tissue Activity.** *Clinical Sciences.* (1989) 30(2):141-149.

[18] S. Ogawa, et al. **Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation.** *Proc. Natl. Acad. Sci.* (1990) 87:9868-9872.

[19] S. Ogawa, D. W. Tank, R. Menon, et al. **Intrinsic signal changes accompanying sensory stimulation: Functional brain mapping with magnetic resonance imaging.** *Proc Natl Acad Sci.* (1992) 89:5951–5955.

[20] R. L. Grubb, M. E. Raichle, J. O. Eichling, M. M. Ter-Pogossian. **The effects of changes in PaCO₂ on cerebral blood volume, blood flow, and vascular mean transit time.** *Stroke.* (1974) 5:630–639.

[21] S-P. Lee, T. Duong, G. Yang, C. Iadecola, S-G. Kim. **Relative changes of cerebral arterial and venous blood volumes during increased cerebral blood flow: Implications for BOLD fMRI.** *Magn Reson Med.* (2001) 45:791–800.

[22] H. Ito, K. Takahashi, J. Hatazawa, S-G. Kim, I. Kanno. **Changes in human regional cerebral blood flow and cerebral blood volume during visual stimulation measured by positron emission tomography.** *J Cereb Blood Flow Metab.* (2001) 21:608–612.

[23] R. D. Hoge, J. Atkinson, B. Gill, G. R. Crelier, S. Marrett. **Linear coupling between cerebral blood flow and oxygen consumption in activated human cortex.** Proc Natl Acad Sci. (1999) 96:9403–9408.

[24] S-G. Kim, E. Rostrup, H. B. W. Larsson, S. Ogawa, O. B. Paulson. **Simultaneous measurements of CBF and CMRO2 changes by fMRI: Significant increase of oxygen consumption rate during visual stimulation.** Magn Reson Med. (1999) 41:1152–1161.

[25] A. Silva, S-P. Lee, C. Yang, C. Iadecola, S-G. Kim. **Simultaneous BOLD and perfusion functional MRI during forepaw stimulation in rats.** J Cereb Blood Flow Metab. (1999) 19:871–879.

[26] S-P. Lee, A. C. Silva, S-G. Kim. **Comparison of diffusion-weighted high-resolution CBF and spin-echo BOLD fMRI at 9.4 T.** Magn Reson (Med. 2002) 47:736–741.

[27] N. Brandan, M. V. Aguirre, C. E. Giménez. **Hemoglobina.** Cátedra de Bioquímica, Facultad de Medicina – UNNE. (2008).

[28] A. C. Guyton & J. E. Hall. **Tratado de Fisiología Médica.** Elsevier Science. (2006).

[29] G. K. Aguirre, E. Zarahn & M. D'Esposito. **The Variability of Human, BOLD Hemodynamic Responses.** NeuroImage (1998) 8:360-369.

[30] F. M. Miezin, L. Maccotta, J. M. Ollinger, S. E. Petersen, and R. L. Buckner. **Characterizing the hemodynamic response: effects of presentation rate, sampling procedure, and the possibility of ordering brain activity based on relative timing.** NeuroImage, (2000) 11, 735–59

[31] M. A. Lindquist. **The Statistical Analysis of fMRI Data.** Statistical Science. (2008) 23:No. 4, 439–464.

[32] J. Talairach and P. Tournoux, **Co-planar Stereotaxic Atlas of the Human Brain: 3-Dimensional Proportional System - an Approach to Cerebral Imaging.** Thieme Medical Publishers, New York (1988).

[33] J. Talairach and P. Tournoux, **Referentially Oriented Cerebral MRI Anatomy: An Atlas of Stereotaxic Anatomical Correlations for Gray and White Matter**. Thieme Medical Publishers, New York (1993).

[34] G. Paxinos, Ch. Watson. **The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates**. 4th. Ed. Academic Press. (1998).

[35] K. J. Friston, A. P. Holmes, K. J. Worsley, J. B. Poline, C. D. Frith, & R. S. J. Frackowiak. **Statistical Parametric Maps in Functional Imaging - A General Linear Approach**. Human Brain Mapping 2. (1995) p. 189-210.

[36] K. J. Friston, J. T. Ashburner, S. J. Kiebel, T. E. Nichols, W. D. Penny. **Statistical Parametric Mapping – The Analysis of Functional Brain Images**. Academic Press (2007).

[37] A. Ahmad, S. Komai. **Malnutrition and Neurologic Problems Among Children in the Developing World**. Seminars in Pediatric Neurology (2015) 22(2):73-74.

[38] M. Rivero Batista, T. Peña Abeleira. **Malnutrición proteica energética aguda o kwashiorkor en niños menores de cinco años**. Revista Electrónica Zoilo E. Marinello Vidaurreta. (2013) 38(2)

[39] **Nutrición**, Organización Mundial de la Salud.
<http://www.who.int/topics/nutrition/es/>

[40] L. W. Vesler. **Malnutrition in the 21st Century**. Nova Biomedical. (2007).

[41] F. Gómez. **Desnutrición**. Salud pública de México vol.45, suplemento 4 de 2003.

[42] R.E. Black, L.H. Allen, Z.A. Bhutta, L.E. Caulfield, M. de Onis, M. Ezzati. **Maternal and Child Undernutrition Study Group. Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences**. Lancet. (2008) 371(9608):243-260

[43] G. Toussaint, J.A. García-Aranda. **Desnutrición Energético-Proteínica**.
<http://www.oda-alc.org/documentos/1341931828.pdf>

[44] M. Hernández-Rodríguez, A. Sastre-Gallego, et al. **Tratado de Nutrición**. Ediciones Díaz de Santos. 1999. Pp. 913-922.

[45] M. Medina, C. Amador, R. Hernández-Toranzo, H. Hesse, K. Holden, A. Morales-Ortíz, L. C. Rodríguez-Salinas. **Neurologic Consequences of Malnutrition**. World Federation of Neurology. Seminars in Clinical Neurology. (2008) Volume 6.

[46] N. Pereira, M. Echeverría-Velasquez, J.R. Nuñez-Gonzalez, N. Molano, T. Atencio, A. Amel, L. Gil, M. Álvarez de Mon. **Efecto biológico de la recuperación nutricional en las concentraciones séricas de citosinas inflamatorias en el niño desnutrido grave**. Invest Clin (2015) 56(4):356-366.

[47] E. Sowell, P. Thompson, C. Holmes, T. Jernigan, & A. Toga. **In vivo evidence for post-adolescent brain maturation in frontal and striatal regions**. Nature Neuroscience (1999) 2(10):859-861.

[48] J.F. Cantlon, E.M. Brannon, E. J. Carter, & K. A. Pelphrey. **Functional imaging of numerical processing in adults and 4-y-old children**. PLOS Biology (2006). 4(5):844-854.

[49] A. Prochiantz. **La construction du cerveau**.(1989) Paris, France: Hachette.

[50] H. J. da Silva, K. M. Ferraz-Teixeira de Barros, D. Andrade da Cunha, F. A. da Silva Santos, E. Barros-Soares, C. N. de Siqueira da Silva, S. R. Arrunda de Moraes & R. Manhães de Castro. **Malnutrition and Somatic Development: Application of Protocol of Mensuration to Evaluation of Indicators of Wistar Rats**. Int. J. Morphol. (2006) 24(3):469-474.

[51] F. Zeman, J. Heng, E. R. Hoogenboom, R. J. Kavlock and S. Mahboob. **Cell Number and Size in Selected Organs of Fetuses of Rats Malnourished and Exposed to Nitrofen**. Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis. (1986) 6(4):339-347.

[52]] J. Barbeito-Andrés, P.N. Gonzalez, B. Hallgrimsson. **Prenatal Development of Skull and Brain in a Mouse Model of Growth Restriction**. Revista Argentina de Antropología Biológica. (2016) 18(1):1-13.

[53] P. V. Reddy, A. Das, P. S. Sastry. **Quantitative and compositional changes in myelin of undernourished and protein malnourished rat brains**. Brain Res, (1979) 161: 227-235.

[54] E. A. Montanha-Rojas, A. A. Ferrerira, F. Tenório and P. C. Barradas. **Myelin Basic Protein Accumulation is Impaired in a Model of Protein Deficiency During Development.** Nutr. Neursosci. (2005) 8(1):49-56.

[55] D. E. Hillman and S. Chen. **Vulnerability of cerebellar development in malnutrition – I. Quantitation of layer volume and neuron numbers.** Neurosc. (1981) 6(7):1249-1262.

[56] D. E. Hillman and S. Chen. **Vulnerability of cerebellar development in malnutrition – II. Intrinsic determination of total synaptic area on Purkinje cell spines.** Neurosc. (1981) 6(7):1263-1275.

[57] L. Benítez-Bribiesca, I. De la Rosa-Alvarez and A. Mansilla-Olivares. **Dendritic Spine Pathology in Infants With Severe Protein-Calorie Malnutrition.** Pediatrics. (1999) 104; e21.

[58] J. P. Liester, G. J. Blat, W. A. DeBassio, T. L. Kemper, J. Tonkiss, J. R. Galler and D. L. Rosene. **Effect of Prenatal Protein Malnutrition on Numbers of Neurons in the Principal Cell Layers of the Adult Rat Hippocampal Formation.** Hippocampus (2005) 15:393-403.

[59] C. Mazer, J. Muneyyirci, K. Taheny, N. Raio, A. Borella and P. Whitaker-Azmitia. **Serotonin depletion during synaptogenesis leads to decreased synaptic density and learning deficits in the adult rat: a possible model of neurodevelopmental disorders with cognitive deficits.** Brain Research. (1997) 760:68-73.

[60] J-C. Chen, G. Turiak, J. Galler and L. Volicer. **Postnatal changes of brain monoamine levels in prenatally malnourished and control rats.** Int. J. Devl. Nueroscience. (1997) 15(2):257-263.

[61] Y. M. Chang, J. R. Galler, J. I. Luebke. **Prenatal protein malnutrition results in increased frecuency of miniature inhibitory postsynaptic currents in rat CA3 interneurons.** Nutr. Neurosci. (2003) 6(4):263-267.

[62] J. M. Cermak, T. Holler, D. A. Jackson and J. K. Blusztajn. **Prenatal availability of choline modifies development of the hippocampal cholinergic system.** The FASEB Journal. (1998) 12(3):349-357.

[63] O. Nakagawasai. **Behavioral and Neurochemical Alterations Following Thiamine Deficiency in Rodents: Relationship to Functions of Cholinergic Neurons.** The Pharmaceutical Society of Japan. Yakugaku Zasshi. (2005) 125(7):549-554.

[64] L. Zimmer, S. Delpal, D. Guilloteau, J. Aioun, G. Durand, S. Chalon. **Chronic n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency alters dopamine vesicle density in the rat frontal cortex.** Neurosci Lett, (2000) 284: 25-28.

[65] S. Chalon, S. Vancassel, L. Zimmer, D. Guilloteau, G. Durand. **Polyunsaturated fatty acids and cerebral function: focus on monoaminergic neurotransmission.** Lipids, (2001) 36: 937-944.

[66] M. Alaverdashvili, X. Li, P.G. Paterson. **Protein-Energy Malnutrition Causes Deficits in Motor Function in Adult Male Rats.** J Nutr. (2015); 145(11):2503-2511.

[67] B. Segura, J.C. Guadarrama, G. Pratz, V. Mercado, H. Merchant, L. Cintra, I. Jiménez. **Conduction failure of action potentials in sensory sural nerves of undernourished rats.** Neuroscience Letters (2004); 354:181-184

[68] J.L. Michaud. **Neurodevelopmental consequences of maternal distress: what do we really know?** Clin Genet (2013); 83:108-117

[69] S. Quiróz-González, B. Segura-Alegría, J.C. Guadarrama Olmos, I. Jiménez-Estrada. **Effect of chronic undernourishment on the cord dorsum potentials and the primary afferent depolarization evoked by cutaneous nerves in the rat spinal cord.** Brain Research Bulletin (2011); 85:68-74.

[70] M. A. Suckow, S. H. Weisbroth, C. L. Franklin. **The Laboratory Rat.** American College of Laboratory. Animal Medicine Series. Second Edition. 2006.

[71] G. Paxinos. **The Rat Nervous System.** Elsevier Academic Press. Third Edition. 2004.

[72] R. Ortiz, et. al. **Assessment of an experimental method to induce malnutrition by food competition during lactation.** Med. Sci. Rev. (1996) 24:843 – 846.

[73] A. Westwood. **Nutrition in children with long-term health conditions.** SAMJ (2015); 105(7):606

[74] N. Just, C. Petersen, R. Gruetter. **BOLD responses to trigeminal nerve stimulation.** Mag. Res. Im. (2010) 28:1143-1151.

[75] SPM – Statistical Parametric Mapping. <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>

[76] S. J. Sawiak, N. I. Wood, G. B. Williams, A. J. Morton, and T. A. Carpenter. **SPMmouse: A new toolbox for SPM in animal brain.** Proc. Int'l. Soc. Mag. Res. Med. (2009) 1086

[77] A.C. Silva and A. P. Koretsky. **Laminar specificity of fMRI onset times during somatosensory stimulation in rat.** Proc. Natl. Acad. Sci. (2002) 99(23):15182-15187.

ARTÍCULOS GENERADOS CON ESTA TESIS:

[78] R. Martin, F. Vazquez, S.E. Solis-Najera, O. Marrufo, R. Godinez, A.O. Rodriguez. **Functional Magnetic Resonance Study of Non-conventional Morphological Brains: malnourished rats.** Measurement Science Review (2015); 15(4):176-183.

[79] R. Martin, J.F. Vazquez, O. Marrufo, S.E. Solis, A. Osorio, A.O. Rodriguez. **SAR of a birdcage coil with variable number of rungs at 300 MHz.** Measurement (2016) In press.

APÉNDICE A

DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE ANTENA VOLUMÉTRICA Y SISTEMA DE POSICIONAMIENTO PARA LOS ROEDORES

A1. ANTENA VOLUMÉTRICA

Se decidió construir una antena volumétrica tipo jaula de pájaro (también llamada jaula de perico) transceptora, es decir, que nos permite mandar y recibir los pulsos de RF. Tomando en cuenta que el tamaño de las ratas empleadas en este trabajo de investigación es más pequeño a comparación de las ratas comúnmente empleadas, de tal forma que a partir de las dimensiones anatómicas de las ratas, se diseñó y construyó una antena con las dimensiones adecuadas para que se evitaran pérdidas de señal y obtuviéramos mejor Cociente Señal a Ruido (SNR) de las imágenes y por ende tener menos pérdidas de información al realizar los experimentos de IRMf.

El tipo de antena diseñada fue de tipo pasa altas, de 16 “piernas”, de tal forma que se mantuviera un campo B1 óptimo de acuerdo a Doty [68]. El diseño se muestra en la Figura A1, teniendo un diámetro externo de 5 cm, un largo de 10.5 cm y una anchura de los strips de 0.45 cm.

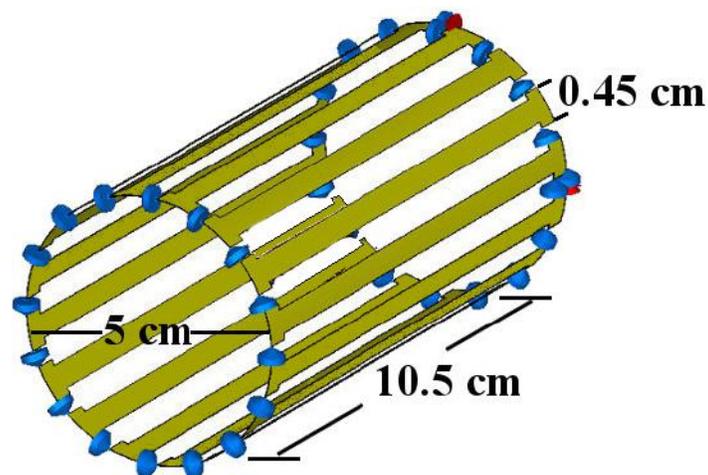


Figura A1. Prototipo de antena que se construyó. Modelado y simulado en el programa CST Microwave.

Para construir la antena, se utilizó un cilindro de acrílico, de 5 cm de diámetro, sobre el cual se colocaron tiras de cobre para formar el anillo superior e inferior de la antena, las cuales unen las piernas que fueron colocadas de forma equidistante entre

ellas. Para tener la antena sintonizada a la frecuencia requerida (en este caso 300 MHz), se colocaron capacitores que nos permitieran llegar a dicha frecuencia de resonancia. Los valores aproximados de capacitores colocados entre cada pierna (como se aprecia en la Figura A1), tanto en el anillo superior como inferior, fueron de 18 pF. La antena se diseñó de tal forma que funcionara como una antena de cuadratura, los dos canales (0° y 90°) tuvieron una impedancia aproximada de 52Ω . Para poder realizar el desacople y sintonización de los dos canales, se utilizaron dos capacitores variables a la entrada de los puertos (para el tuning y matching), adicionalmente se construyeron una trampas o mejor conocidas como baluns para ayudar a eliminar el ruido de los cables. En la Figura A2 se muestra la antena construida, así como los parámetros de lazo de retorno de cada uno de los canales.

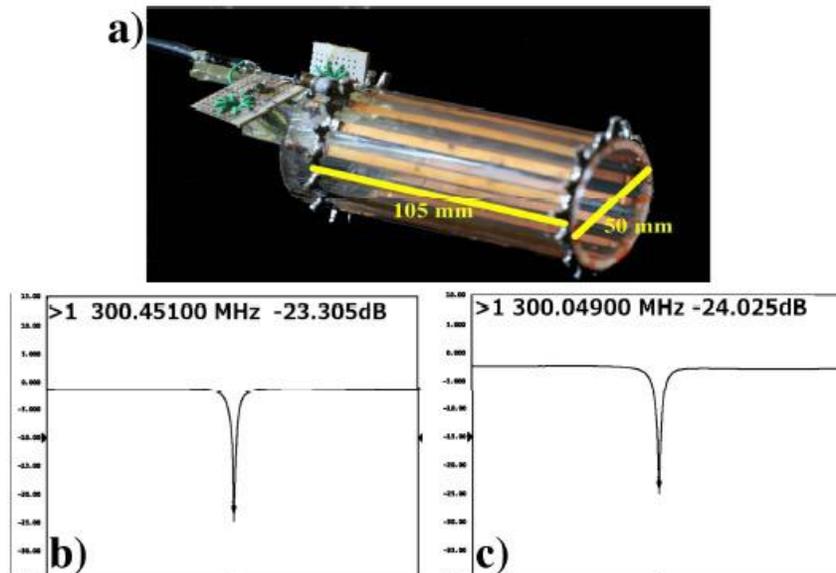


Figura A2. a) Antena tipo jaula de perico construida, mostrando las dimensiones, la antena se hizo en cuadratura, b) y c) muestran los parámetros S12 y S21 de cada uno de los canales (0° y 90°).

De la Figura A2, incisos b y c, podemos apreciar que cada uno de los canales (0° y 90°) se sintonizaron a una frecuencia aproximada de los 300 MHz, además de que la amplitud en dB nos indica que existe una buena transferencia energética dentro de la antena.

Para probar el desempeño de la antena, se realizaron pruebas de fantasmas para demostrar la viabilidad de utilizarla para los experimentos propuestos de IRMf. Para esto, se utilizó una esfera de 2 cm de diámetro, cuyo contenido era de solución salina.

Empleando una secuencia Gradiente Eco: TR/TE = 1000/10 ms; FOV = 50 x 50 mm²; tamaño de matriz = 256 x 256, grosor de corte = 1 mm, NEX = 3 y un flip angle de 20°, se obtuvieron imágenes como las mostradas en la Figura A3.

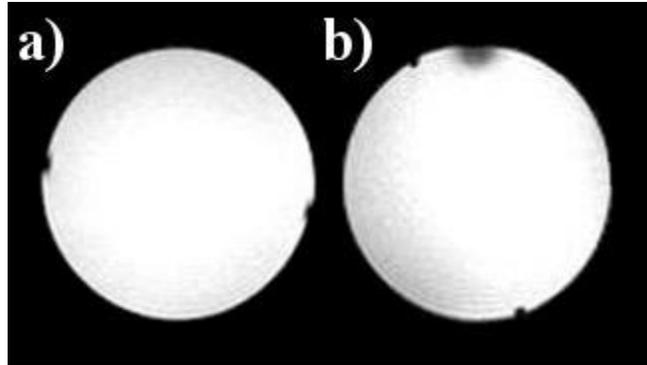


Figura A3. Imágenes obtenidas de una esfera que contiene solución salina, con la antena construida.

Al observar las imágenes, se aprecia un buen Cociente Señal a Ruido. Para observar si existía alguna variación en la intensidad de la imagen, se obtuvo un análisis de la misma intensidad dentro del fantoma para detectar si existían cambios significativos (Figura A4).

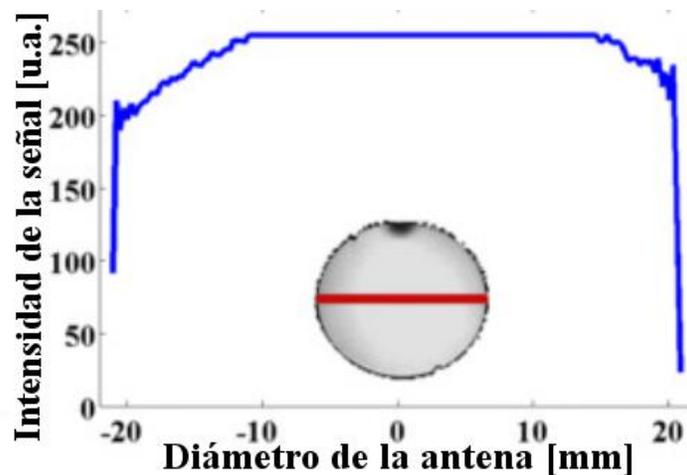


Figura A4. Perfil de línea obtenido de la imagen adquirida con la antena jaula de perico.

El perfil de línea obtenido, nos indica que al centro de la antena se mantiene una buena señal y se ve reflejado en la imagen, la cual mantiene una buena homogeneidad dentro de la misma imagen. Esto dio pauta a que se utilizara la antena para realizar los experimentos de IRMf.

A2. DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE SISTEMA DE POSICIONAMIENTO

También para poder evitar alguna interferencia que pudiera existir con el sistema de posicionamiento que consta el sistema de IRM, se decidió diseñar y construir uno adicional, ya que se observó durante otros experimentos, que el mismo sistema de posicionamiento estaba generando la aparición de artefactos dentro de las imágenes, esto por el uso que tenía. Se diseñó y fabricó un sistema muy parecido con materiales que no fueran magnéticos. Primero el diseño completo se realizó con un programa de CAD donde se incluyen el posicionador, la antena y la mascarilla para la administración de la anestesia, Figura A5.

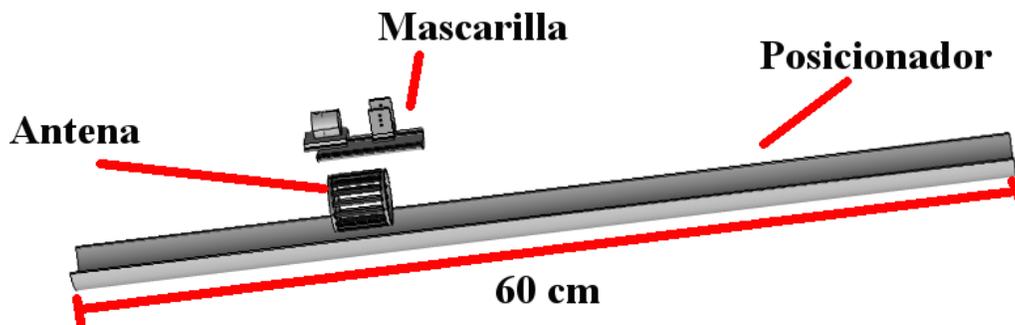


Figura A5. Diseño del sistema para la colocación de los roedores dentro del sistema de Resonancia Magnética.

Para realizar el sistema en físico, se hizo un medio cilindro de 60 cm de largo y 2 $\frac{1}{2}$ pulgadas de radio externo y un radio interno aproximado de 2 pulgadas. Este medio cilindro fue colocado sobre un medio cilindro de menor longitud (40 cm) para que sirviera de base para el sistema. El cilindro interno se podía mover gracias que está sobre un eje que le permite desplazarse por medio de un tornillo sin fin, el cual nos ayuda para colocar la muestra (en nuestro caso a las ratas) en el isocentro del imán.

Estos medios cilindros fueron hechos en un torno y el material empleado fue nylamid. El tornillo sin fin, fue hecho con una barra de bronce de aproximadamente 50 cm de largo. Adicionalmente se construyeron dos anillos del mismo nylamid para permitir que corriera el dispositivo por el bore (túnel del resonador).

Para ayudarnos a sujetar mejor el dispositivo, se construyó una tapa hecha con aluminio para poderla atornillar al sistema por medio de unos tornillos de bronce, de esta

forma se evita el posible movimiento del sistema derivado de posibles vibraciones ocasionados por el resonador. El sistema completo ya construido lo podemos observar en la Figura A6.

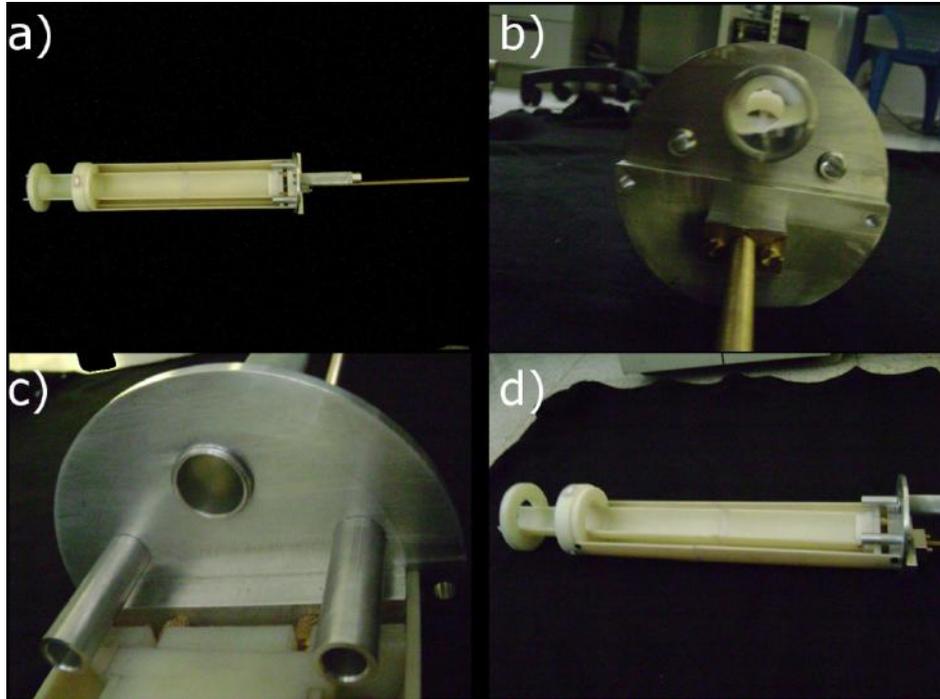


Figura A6. Este sistema tiene la característica de que puede introducirse y moverse dentro del sistema de RM por medio de un tornillo sin fin para colocar a las ratas en el isocentro del imán. a) Vista superior del sistema, en b) y c) se puede apreciar la “tapa” de aluminio que se atornillaba en el imán, esta tapa tiene como característica 2 tubos de aluminio (figura c) por medio del cual se permite la entrada de mangueras para poder tener el flujo de entrada y salida de los gases de la anestesia; en d) se ve una imagen lateral de dicho dispositivo.

APÉNDICE B.

NEUROTRANSMISORES

Los neurotransmisores, los podemos ver como los mensajeros químicos que llevan, modulan y encienden las señales entre neuronas y otras células dentro del cuerpo. En la mayoría de los casos, los neurotransmisores son liberados desde la terminal del axón de la sinapsis.

Existe una diversa clasificación de los neurotransmisores. La forma más sencilla de clasificarlos es como excitatorios e inhibitorios, aunque también puede haber una clasificación según su grupo funcional.

En la Tabla B1, se muestran varios neurotransmisores. Se resumen tanto los grupos funcionales a los cuales corresponden, así como su principal mecanismo y la principal localización dentro del cerebro.

Neurotransmisor	Localización	Función
Acetilcolina	Sinapsis con músculos y glándulas; muchas partes del SNC	Excitatorio o inhibitorio. Incluida en la memoria
Aminas		
Serotonina	Varias regiones del SNC	Mayormente inhibitorio; sueño, incluida en estados de ánimo y emociones
Histamina	Encéfalo	Mayormente excitatorio; incluida en emociones, regulación de temperatura y balance de agua
Dopamina	Encéfalo; SNA	Mayormente inhibitorio; incluida en emociones/ánimo; regulación del control motor
Epinefrina	Areas del SNC y división	Excitatorio o inhibitorio; hormona cuando

	simpática del SNA	es producido por la glándula adrenal
Norepinefrina	Áreas del SNC y división simpática del SNA	Excitatorio o inhibitorio; regula efectores simpáticos; en el encéfalo incluyendo respuestas emocionales
Aminoácidos		
Glutamato	SNC	El neurotransmisor excitatorio más abundante (75%) del SNC
GABA	Encéfalo	El neurotransmisor inhibitorio más común del encéfalo
Glicina	Médula espinal	El neurotransmisor inhibitorio más común de la médula espinal
Otras moléculas pequeñas		
Óxido Nítrico	Incierto	Pudiera ser una señal de la membrana postsináptica para la presináptica
Neuropéptidos		
Péptido vaso-activo intestinal	Encéfalo; algunas fibras del SNA y sensoriales, retina, tracto gastrointestinal	Incierto
Colecistoquinina	Encéfalo; retina	Incierto
Sustancia P	Encéfalo; médula espinal, rutas sensoriales de dolor, tracto	Mayormente excitatorio; sensaciones de dolor

	gastrointestinal	
Encefalinas	Varias regiones del SNC; retina; tracto intestinal	Mayormente inhibitorias; actúan como opiáceos para bloquear el dolor
Endorfinas	Varias regiones del SNC; retina; tracto intestinal	Mayormente inhibitorias, actúan como opiáceos para bloquear el dolor

Tabla B1. Neurotransmisores presentes en el cerebro humano, mostrando su función y ubicación de cada uno de ellos.

