

Imagens de Ressonância Magnética Ponderadas por Difusão e Mapas de ADC Aplicados ao Estudo de Tumores Cerebrais: Atualidades e Perspectivas

1,2,3,4 Edna Marina de Souza, 3,4 Gabriela Castellano, 5Maurício Martins Baldissin,
1,2Eduardo Tavares Costa

1Centro de Engenharia Biomédica, UNICAMP.

2Departamento de Engenharia Biomédica, Faculdade de Engenharia Elétrica e de Computação, UNICAMP.

3Grupo de Neurofísica, Departamento de Raios Cósmicos e Cronologia, IFGW, UNICAMP.

4Programa CInAPCe (Cooperação Interinstitucional de Apoio à Pesquisa Sobre o Cérebro)

5Departamento de Neurologia, Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP.

Difusão é um processo de transporte de matéria no qual um soluto é transportado de uma região de elevada concentração para uma região de menor concentração devido ao movimento térmico randômico (movimento browniano) de todas as partículas a temperaturas superiores ao zero absoluto (-273°C). Trata-se de um fenômeno tridimensional observado na natureza, descrito pela concentração e pelo fluxo de partículas e cuja magnitude depende da direção de observação. As bases físicas para a compreensão do movimento browniano das partículas foram dadas por Einstein (1), que computou a magnitude esperada do movimento de pequenas partículas de soluto em um líquido.

No Sistema Nervoso Central (SNC), a manutenção da homeostasia está intimamente relacionada aos processos de difusão. Quando uma região específica do cérebro necessita de uma maior demanda energética, mitocôndrias são enviadas a ela por difusão através de microtúbulos localizados no interior do axônio. Vesículas contendo neurotransmissores também são transportadas em direção às fendas sinápticas por difusão. Estes processos sofrem influência de fatores físico-químicos como o peso molecular, interações intermoleculares e temperatura do meio, além da presença de barreiras e compartimentos (intra e extracelulares, neurônios, axônios, células gliais etc) criados pela própria microestrutura celular dos tecidos (2). A presença destas estruturas faz com que o coeficiente de difusão medido através de imagens de Ressonância Magnética (RM) não seja uma medida absoluta, dada a dependência com interações

entre moléculas que se difundem em estruturas vizinhas em determinado intervalo de tempo. Em função disso, o coeficiente de difusão obtido através de imagens de RM é denominado Coeficiente Aparente de Difusão (ADC).

No SNC a difusão pode ocorrer de forma isotrópica (homogênea em todas as direções) ou anisotrópica (seguindo uma direção preferencial). Inicialmente acreditava-se que a difusão anisotrópica ocorria somente em tractos e fibras axonais revestidos por mielina, na substância branca do cérebro. No entanto, atualmente sabe-se que a substância cinzenta também apresenta estruturas nas quais a difusão de moléculas de água ocorre de forma anisotrópica, sendo exemplo destas a célula piramidal (2).

Imagens de RM ponderadas por difusão (DWI) pertencem à categoria de imagens funcionais por revelarem aspectos microscópicos relacionados à fisiologia dos tecidos, com base nas características de difusão das moléculas de água através deles. Toma-se como base a molécula de água em função de sua abundância no organismo humano e o fato de o hidrogênio apresentar momento magnético spin diferente de zero, condição esta necessária para a obtenção de imagens de RM. Estas imagens podem ser obtidas com o emprego de sequências de pulsos comumente utilizadas para a aquisição de imagens de RM estruturais, sendo a elas adicionados gradientes que introduzam variações de fase em spins que estejam em movimento (se difundindo). A Figura 1 apresenta uma sequência de pulsos Spin-Echo (SE) utilizada para aquisição de imagens DW. Esta sequência de pulsos também é conhecida como sequência Stejskal-Tanner (3) em homenagem aos seus desenvolvedores.

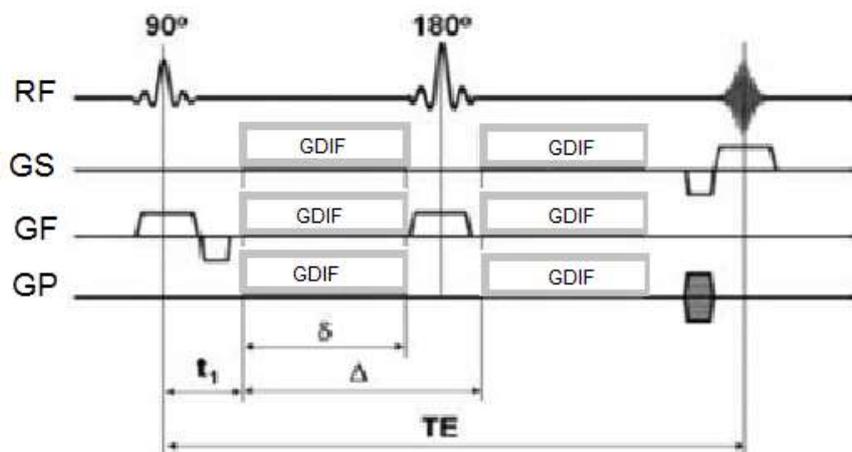


Figura 1: Sequência de pulsos Stejskal-Tanner para aquisição de imagens DWI. RF: Pulsos de Radiofrequência. GS: gradiente de seleção da fatia. GF: gradiente de codificação de frequência. GP:

gradiente de codificação de fase. GDIF: gradiente de ponderação por difusão. t_1 : tempo entre a aplicação do pulso de RF de excitação da amostra e aplicação do primeiro gradiente de ponderação por difusão. TE: tempo ao eco. Δ tempo entre a aplicação de dois gradientes de ponderação por difusão (anterior e posterior ao pulso de RF de refocalização de 180°). δ : tempo de aplicação do gradiente de ponderação por difusão.

A sequência de pulsos apresentadas na Figura 1 tem início com a aplicação de um pulso de excitação de 90° no mesmo instante de aplicação do gradiente de seleção da fatia (GM). Antes e após a aplicação do pulso de refocalização de 180° , são aplicados dois gradientes retangulares de difusão. Estes gradientes apresentam mesma amplitude e duração. Para um dado spin se movendo em determinado meio, o acúmulo de fase mediante a aplicação dos gradientes de difusão é proporcional ao seu deslocamento na direção dos mesmos. Na ocorrência de difusão, os spins da fatia selecionada acumulam diferentes fases após a aplicação destes gradientes, gerando uma atenuação de sinal que caracteriza a ponderação por difusão (4). Na ausência de movimento dos spins, a variação de fase gerada pelos gradientes de difusão é nula. Para a construção de mapas de ADC é necessária a obtenção de imagens DW e imagens ponderadas por T1, T2 ou densidade de prótons. Com base nestas imagens, os valores de ADC para cada voxel são dados por:

$$ADC = (1/b) \times \ln(SI_0/SI) \quad (1)$$

Onde SI_0 é a intensidade da imagem ponderada por T1, T2 ou densidade de prótons na ausência de aplicação de gradientes de difusão, SI é a intensidade da imagem mediante a aplicação de gradientes de difusão e b é o fator de sensibilização à difusão em unidades de s/mm^2 .

Na aquisição de imagens ponderadas por difusão a maior dificuldade técnica é encontrada no processo de eliminação dos efeitos de movimentos macroscópicos do paciente na manutenção da sensibilidade da sequência de pulsos aos movimentos microscópicos. Deslocamentos de centésimos de milímetros durante a codificação de fase geram grandes variações de intensidade nos sinais correspondentes aos ecos. Como movimentos macroscópicos (movimento involuntário da cabeça ou outra parte do corpo, movimento pulsátil do cérebro) não apresentam padrões bem definidos, os ecos gerados sofrem diversos tipos de perturbações. Atribui-se a causa do movimento fisiológico do cérebro à compressão sistólica dos ventrículos e à movimentação caudal das estruturas

da linha média. Estes efeitos são minimizados mediante o emprego de gradientes de difusão bipolares (4).

Imagens ponderadas por difusão e mapas de ADC tiveram sua consagração na prática clínica para o diagnóstico de Acidentes Vasculares Cerebrais (AVCs) na fase aguda, na qual é possível a realização de intervenções terapêuticas como a trombólise, caso não haja focos hemorrágicos significativos (5). Estas intervenções têm por objetivo evitar ou minimizar seqüelas da doença. Imagens de Tomografia Computadorizada (CT) ou mesmo imagens de RM estruturais só são capazes de detectar o AVC várias horas após a sua ocorrência, quando a chance de sucesso das intervenções mencionadas é extremamente baixa ou as mesmas passam a ser de alto risco para o paciente. Além desta aplicação, mapas de ADC mostram sua importância no diagnóstico e caracterização de tumores cerebrais, possibilitando a distinção entre esta e outras patologias, bem como a distinção entre diferentes tipos de tumores, sendo esta aplicação descrita nos parágrafos seguintes, com base em informações contidas na literatura atual. Para o diagnóstico de gliomas, valores de ADC médios dos tumores calculados anteriormente à realização de intervenções cirúrgicas foram correlacionados com a densidade de células neoplásicas extraídas por meio de biópsia estereotáxica. Os resultados obtidos mostram que a densidade de células tumorais é inversamente proporcional ao valor de ADC médio no tumor. A sensibilidade média calculada, considerando-se um intervalo de confiança de 95%, foi de $1.01 \times 10^{-7} \text{ mm}^2/\text{s}/\text{nucleo}/\text{mm}^2$ (6).

Em imagens de RM e CT estruturais, glioblastomas multiformes podem apresentar aspectos semelhantes às lesões metastáticas solitárias. Contudo, em DWI observa-se no caso destes gliomas, a ocorrência de infiltração de células malignas na região peritumoral, concomitantemente à ocorrência de edema vasogênico. No caso das metástases, a região peritumoral é constituída somente por edema vasogênico. Dadas as características destes tumores, foi realizado um estudo com o objetivo de determinar um valor mínimo de ADC que pudesse ser empregado para diferenciação entre eles, com base nos níveis de celularidade e realce das imagens na região peritumoral. Foram adquiridas imagens de RM estruturais e de difusão de 17 pacientes (10 glioblastomas e 7 metástases) anteriormente à realização de qualquer modalidade de terapia. Para verificar a existência de diferenças significativas entre os valores de ADC da região peritumoral destes 2 grupos utilizou-se o valor mínimo e a razão entre os valores de

ADC médios obtidos para cada um dos grupos, sendo determinado um valor de corte do ADC com melhor sensibilidade e especificidade para distinção entre estes tumores. Obteve-se o valor mínimo de ADC igual a $1.302 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, com 82.9% de sensibilidade e 78.9% de especificidade, possibilitando a distinção entre metástases solitárias e glioblastomas (7).

O cálculo dos mapas de ADC pode também ser realizado com a utilização de máscaras obtidas a partir de imagens de RM de outras modalidades, tais como imagens ponderadas por T1 com aplicação de contraste. O realce dos efeitos de suscetibilidade magnética pode ser associado aos mapas de ADC para distinção entre tumores cerebrais primários, necrose e outras lesões causadas por radioterapia e quimioterapia. A suscetibilidade magnética fornece informações clínicas bastante úteis sobre alterações microvasculares que ocorrem na periferia do tumor, o grau de necrose intratumoral e a ocorrência de danos à barreira hemato-encefálica. Um estudo analisou 17 pacientes com diagnóstico de glioma de alto grau e que apresentavam novas lesões hiperintensas nas imagens ponderadas por T1 realçadas por contraste, realizadas durante e após o tratamento. Todas as imagens foram normalizadas no espaço-padrão e a partir das imagens ponderadas por T1 contrastadas obteve-se, para cada paciente, uma máscara correspondente à lesão detectada visualmente. As imagens de RM ponderadas por difusão foram então corregistradas nas imagens T1 contrastadas e a máscara obtida aplicada à imagem resultante do corregristo, de maneira a se obter o ADC médio na lesão. Dos 17 pacientes acompanhados, 11 apresentavam sintomatologia que sugeria recorrência do tumor. Destes 11 pacientes, 10 apresentaram redução significativa nos valores de ADC na região de aplicação da máscara, ainda que não tenha sido constatado aumento de volume tumoral na volumetria baseada em voxels. Destes 10 pacientes, 5 apresentavam tumor recorrente. Os 6 pacientes que não apresentavam sintomatologia condizente com a recorrência do tumor apresentaram aumento de volume na região de aplicação da máscara e valores de ADC um pouco superiores aos obtidos anteriormente ao tratamento, caracterizando a presença de edema peritumoral. Estes pacientes tiveram confirmação de danos causados pelo tratamento radioterápico e quimioterápico. A recorrência do tumor ou a presença de uma lesão causada pela radioterapia foi posteriormente confirmada por meio de análises histológicas, quando possível a realização de biópsia, ou em longo prazo, pelo acompanhamento do paciente (8).

Além dos scanners para aquisições de imagens de RM pré e pós-operatórias, atualmente estão sendo desenvolvidos scanners de neuronavegação, com intensidades de campo magnético entre 0.12 e 3T, que possibilitam a aquisição de imagens de RM intra-operatórias (9). A neuronavegação era até então realizada com a utilização de CT ou ultra-som. No entanto, tais técnicas apresentam limitações em função da exposição à radiação ionizante no primeiro caso e ao pouco detalhamento das estruturas anatômicas no segundo caso. Com os scanners de RM é possível a obtenção em ambiente cirúrgico de imagens ponderadas por T1, T2, FLAIR e difusão, além de espectros de metabólitos e imagens angiográficas. Apesar do custo elevado de adaptação do centro cirúrgico para a utilização de neuronavegadores baseados em RM, estes sistemas melhoram a exatidão na definição da porção de tecido tumoral a ser extraída para biópsia, permitindo a acomodação posicional do cérebro pelo neurocirurgião após a abertura do crânio e perda do fluido cefalorraquidiano (líquor). Outra grande vantagem é a visualização, em tempo real, da posição do tumor em três dimensões, sem a influência da caixa craniana. Isso possibilita a definição do caminho cirúrgico mais seguro para a ressecção da lesão, maximizando-a e verificando se hemorragias intra-operatórias decorrem do procedimento cirúrgico ou da própria doença. Em todos os procedimentos neurocirúrgicos, imagens angiográficas adquiridas em ambiente cirúrgico se mostraram uma importante ferramenta para a minimização de injúrias durante o ato cirúrgico. No caso dos gliomas, estudos mostram que esta técnica possibilita uma maior precisão na definição das bordas do tumor, aprimorando a indicação da extensão a ser ressecada e minimizando os efeitos de deslocamento do cérebro ao longo do procedimento. Para a ressecção de tumores localizados próximos a áreas funcionais do cérebro, o correto registro de imagens de RM funcional (fMRI) adquiridas previamente à cirurgia e imagens estruturais intra-operatórias permite uma melhor localização de áreas funcionais em relação ao tumor, aumentando a precisão da ressecção e diminuindo o risco de seqüelas para o paciente.

Além das aplicações clínicas mencionadas, imagens DW também estão sendo utilizadas como input inicial para a modelagem matemático-computacional da proliferação de tumores cerebrais. A vantagem na utilização destas imagens em relação às imagens estruturais está na possibilidade de consideração de parâmetros como a taxa líquida de invasão dos tecidos arredores, hipóxia e impacto mecânico do crescimento do tumor sobre as células vizinhas. Com a inserção em modelos matemáticos de desenvolvimento do tumor dos dados obtidos através das imagens DWI no início de seu

ciclo de vida é possível fazer inferências com relação ao comportamento da doença em suas diferentes fases. Dois exemplos de modelos da proliferação de células de tumores cerebrais atualmente em desenvolvimento são o Modelo Logístico Modificado (MLM) e o Modelo Migração-Proliferação-Apoptose (MPA). O MLM considera a existência de três camadas de células tumorais: um anel de proliferação celular, um anel de células quiescentes e uma porção central necrótica. De acordo com ele, à medida que o tumor se desenvolve, boa parte dele passa a ser constituída por células necróticas, o que é observado, por exemplo, em gliomas de alto grau. O MPA além de imagens DW também pode ter como input inicial parâmetros obtidos a partir de imagens de PET (Tomografia por Emissão de Pósitrons), das quais o mais relevante é o SUV (Valor Padrão de Captação). Este parâmetro descreve o nível de atividade celular em determinado ponto em relação ao restante do organismo, sendo bastante utilizado para estadiamento e restadiamento de tumores. No MPA admite-se que as células tumorais podem ser quiescentes ou necróticas dependendo de sua posição e do número de células que a circundam. Um tumor de dimensões pequenas (tipicamente 5 x 5 voxels de uma imagem de RM) inicializa a simulação de acordo com um mapa de parâmetros gerado com base nas informações obtidas através de imagens DW e PET do paciente. Calcula-se então a carga de hipóxia do tumor, sucedendo-se a partir daí várias iterações computacionais nas quais as células tumorais podem crescer, morrer ou dispersar para outros voxels.

Imagens DW apresentaram-se na última década como uma poderosa ferramenta diagnóstica para patologias do SNC, em especial para detecção de AVCs na fase aguda, o que não é possível por outros métodos. Atualmente, o método vem sendo utilizado com sucesso para o estudo de tumores cerebrais, tanto na prática clínica quanto em pesquisas, sendo seu emprego também estendido a outros ramos da medicina tais como a urologia, reumatologia e ginecologia (principalmente na avaliação de tumores de mama). No entanto, esta técnica ainda apresenta diversos desafios referentes à resolução espacial, correntes elétricas parasitárias (especialmente no caso de aquisições EPI), sensibilidade ao movimento microscópico das moléculas de água nos tecidos, ocorrência de movimentos macroscópicos durante a aquisição das imagens e utilização de campos magnéticos elevados (superiores a 3T) (11). Desafios estes que podem ser solucionados à medida que os conhecimentos dos princípios físicos envolvidos nas técnicas de aquisição de imagens de RM e no fenômeno de difusão vão sendo cada vez mais correlacionados com a fisiologia do organismo.

Referências Bibliográficas

- [1] Einstein A. Investigations on the Theory of the Brownian Movement. *Dover Publications, 1956, USA.*
- [2] Beaulieu C, Allen PS. Determinants of Anisotropic Water Diffusion in Nerves. *Magnetic Resonance Medicine, 1994; 1:394-400.*
- [3] Stejskal EO, Tanner JE. Spin Diffusion Measurements: Spin Echoes in the Presence of a Time-Dependent Field Gradient. *J. Chem Phys, 1965; 42:288-292.*
- [4] Bammer R. Basic Principles of Diffusion-Weighted Imaging. *European Journal of Neuroradiology, 2003; 45:169-184.*
- [5] Mori S. Diffusion Magnetic Resonance Imaging: Its Principle and Applications. *The Anatomical Record (New Anat.), 1999; 257: 102-109.*
- [6] Ellingson B, Malkin MG, Rand S et al. Validation of Diffusion Maps as a Biomarker for Human Glioma Cellularity. *Journal of Magnetic Resonance Imaging, 2010; 31:538-548.*
- [7] Lee EJ, Terbrugge K, Mikulis D et al. Diagnostic Value of Peritumoral Minimum Apparent Diffusion Coefficient for Differentiation of Glioblastoma Multiforme From Solitary Metastatic Lesions. *American Journal of Roentgenology, 2011; 196:71-76.*
- [8] Sayyari AA, Buckley R, McHenry et al. Distinguishing Recurrent Primary Brain Tumor from Radiation Injury: A Preliminary Study Using a Susceptibility-Weighted MR Imaging – Guided Apparent Diffusion Coefficient Analysis Strategy. *American Journal of Neuroradiology, 2010; 31:1049-1054.*
- [9] Senft C, Franz K, Ulrich CT et al. Low Field Intraoperative MRI-Guided Surgery of Gliomas: A Single Center Experience. *Clinical Neurology and Neurosurgery, 2010; 112: 237-243.*
- [10] Atuegwu NC, Gore JC, Yankeelov TE. The Integration of Quantitative Multi-Modality Imaging Data into Mathematical Models of Tumors. *Phys Med Biol, 2010; 55:2429-2449.*
- [11] Bihan DL, Poupon C, Amadon A et al. Artifacts and Pitfalls in Diffusion MRI. *Journal of Magnetic Resonance Imaging, 2006; 24:478-488.*

