

# **PROJETO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**

## **QUANTIFICAÇÃO DE SINAIS ESPECTROSCÓPICOS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA DO CÉREBRO HUMANO *IN VIVO* UTILIZANDO O MÉTODO AMARES**

**RELATÓRIO FINAL DE ATIVIDADES  
PERÍODO DE FEVEREIRO DE 2008 A JULHO DE 2008**



**ALUNA: CAROLINE CANZIAN**

**RA: 042540**

**ORIENTADORA: GABRIELA CASTELLANO**

**UNIDADE: DEPTO. DE RAIOS CÓSMICOS E CRONOLOGIA  
IFGW – UNICAMP**

**PROF. RESPONSÁVEL: JOSÉ JOAQUIM LUNAZZI**

## **Resumo**

Este relatório descreve as atividades realizadas referentes ao projeto em questão, durante o período de fevereiro a julho de 2008. Este projeto consistiu num estudo sobre a técnica de espectroscopia por ressonância magnética (MRS), aplicada *in vivo* em um ambiente clínico. Para isso foi realizado um estudo sobre a geração do sinal de ressonância magnética (MR), a formação dos espectros de MR, o conceito e a aplicação da Transformada de Fourier, e iniciou-se o estudo da utilização do método AMARES de quantificação. Além disso, foi realizada uma familiarização com o software jMRUI, de domínio livre, que consiste de uma série de rotinas para pré-processamento e quantificação de sinais de MRS *in vivo*. O software foi então aplicado na prática para o pré-processamento e quantificação de alguns sinais de MRS adquiridos *in vivo* de indivíduos controles (saudáveis).

## **1. Introdução**

Este relatório está organizado da seguinte maneira: a Seção 2 descreve sucintamente o projeto proposto; a Seção 3 lista as tarefas propostas; na Seção 4 são descritas em detalhes as tarefas realizadas; na Seção 5 apresentam-se e discutem-se os resultados experimentais obtidos, a Seção 6 apresenta conclusões e discute uma proposta de trabalho futuro, e a Seção 7 mostra os comentários feitos pela orientadora e por mim (aluna).

## **2. Proposta Inicial**

A técnica de espectroscopia por ressonância magnética (MRS) permite avaliar a presença de compostos químicos específicos na amostra escaneada, assim como estimar suas concentrações na mesma. Por ser uma técnica não-invasiva, pode e tem sido usada no ambiente clínico para o estudo do cérebro humano *in vivo* e suas patologias, já que várias desordens neurológicas têm sido associadas a variações nas concentrações de metabólitos específicos. Para isso, torna-se necessário estimar, ou quantificar, as concentrações relativas dos metabólitos que geraram o sinal de MRS. Isto pode ser feito através da modelagem e análise dos dados de MRS tanto no domínio da frequência (espectros) quanto no próprio domínio temporal de aquisição dos dados (sinais FID, *free induction decay*). O objetivo principal deste projeto foi o estudo teórico sobre conceitos de ressonância magnética (MR) ao pré-processamentos realizados via software e a utilização (aplicação) do método AMARES (*Advanced Method for Accurate, Robust and Efficient Spectral fitting of MRS data*) [Vanhamme97], para a quantificação no domínio temporal de sinais de MRS cerebrais obtidos *in vivo* de indivíduos controles.

Para isso propôs-se realizar um estudo dividido em duas partes: uma parte teórica, onde seriam estudados os princípios físicos da geração do sinal de MRS e a modelagem do mesmo no domínio temporal, e uma parte prática, onde seriam quantificados dados de MRS reais, adquiridos do cérebro humano *in vivo*, através da utilização do software jMRUI. O jMRUI consiste num software de domínio público para pré-processamento e quantificação de sinais de MRS, que engloba diversos métodos de quantificação no domínio temporal, incluindo o AMARES.

Em resumo, utilizando os conceitos estudados e o software jMRUI, a proposta principal do projeto foi identificar nos espectros de MR de indivíduos controle os metabólitos essenciais encontrados no cérebro humano em suas frequências características, observar a incidência desses nos espectros estudados e quantificá-los utilizando o método AMARES, possibilitando uma comparação futura (em outro projeto) de quantidades relativas de cada um dos metabólitos para diversos espectros controle.

Na próxima seção estão listadas as tarefas que foram propostas inicialmente, e a Seção 4 descreve as tarefas realizadas.

### 3. Tarefas Propostas

As tarefas propostas para a realização do projeto foram:

1. Estudo dos princípios físicos da geração do sinal de MR e formação dos espectros de MRS;
2. Familiarização com a transformada de Fourier, particularmente a discreta.
3. Familiarização com espectros de  $^1\text{H}$ -MRS do cérebro *in vivo* de indivíduos normais;
4. Estudo das etapas de pré-processamento necessárias para a limpeza do sinal de MRS a ser quantificado no domínio temporal;
5. Familiarização com o software jMRUI;
6. Aplicação prática das etapas de pré-processamento necessárias para a limpeza do sinal de MRS a ser quantificado no domínio temporal, utilizando o software jMRUI em sinais de MRS *in vivo* do cérebro;
7. Aplicação prática do método AMARES para a quantificação de sinais de MRS do cérebro *in vivo* utilizando o jMRUI.<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> Existem tarefas que foram realizadas, mas que inicialmente não foram propostas e nem descritas no projeto anteriormente, mas que foram de imprescindível conhecimento para o desenvolvimento pleno do tema.

## 4. Tarefas Realizadas

### 1ª Tarefa: Estudo sobre os princípios físicos da geração do sinal de MR e formação dos espectros de MRS.

A Ressonância Magnética Nuclear (NMR) é um fenômeno que se origina da interação entre átomos (especialmente a região do núcleo) e um campo magnético externo aplicado nestes. Esse fenômeno fundamenta-se basicamente na absorção ressonante de energia eletromagnética na faixa de frequências das ondas de rádio (radiofrequência RF). A realização desse fenômeno é possível devido a uma propriedade intrínseca do átomo; o spin nuclear ou momento angular de spin. A característica principal e imprescindível para a geração do sinal de ressonância magnética é que o spin nuclear possui certos valores discretos, ou seja, é quantizado. Tais valores discretos denominados momentos angulares de spin, dependem da natureza específica dos núcleos. Em especial os átomos que possuem momento angular de spin fracionário (1/2, 3/2, 5/2,...), encontrados em núcleos que possuem um número par de prótons e ímpar de nêutrons, como os átomos  $^1\text{H}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{23}\text{Na}$ , são os mais comumente utilizados para a realização da técnica de espectroscopia. Tal fato pode ser explicado fazendo uma analogia do spin nuclear e um ímã em forma de barra. O spin nuclear com uma carga positiva gera um campo magnético que é orientado na direção do eixo de rotação, analogamente, em um ímã em forma de barra o momento de dipolo magnético é orientado ao longo da linha que une seus pólos norte e sul. Tais propriedades fazem com que a manipulação da orientação do spin por um pulso de radiofrequência (RF) e a aplicação de um campo magnético externo, gere medidas do sinal de Ressonância Magnética Nuclear [Salibi98].

Submetendo parte de um tecido humano contendo um grupo idêntico de spins a um campo magnético  $\mathbf{B}_0$ , observa-se a precessão ou rotação desses em torno da direção do campo  $\mathbf{B}_0$  aplicado. A precessão acontece devido à interação entre o campo magnético  $\mathbf{B}_0$  e as cargas positivas do núcleo. A frequência de precessão denominada frequência de Larmor, é proporcional à magnitude do campo magnético, e é dada pela equação de Larmor:

$$\nu_0 = \frac{\gamma}{2\pi} B_0, \quad (1)$$

sendo  $\nu_0$  a frequência de Larmor em megahertz (MHz),  $B_0$  a magnitude do campo magnético em tesla (T) e  $\gamma$  a razão giromagnética – que é uma constante que difere para cada tipo de núcleo. Para o átomo de hidrogênio  $\gamma$  é 42,58MHz/T. A precessão de Larmor representa a rotação do vetor momento angular total  $\mathbf{J}$  (soma vetorial dos momentos angulares de spin  $\mathbf{S}$ , e do momento angular orbital  $\mathbf{L}$ ) em torno do campo magnético externo  $\mathbf{B}_0$  aplicado no tecido.

Quando um átomo é colocado na presença de um campo magnético externo  $\mathbf{B}_0$ , os níveis de energia do núcleo são deslocados, produzindo um efeito denominado de interação Zeeman (Figura 1). A natureza desse efeito depende criticamente da intensidade do campo magnético externo aplicado em comparação com o campo magnético interno gerado pelo acoplamento spin-órbita do átomo. Se o campo magnético externo é muito maior que o campo magnético interno gerado pelo acoplamento spin-órbita (da ordem de 1T) o efeito Zeeman é predominante, caso contrário, o acoplamento spin-órbita predomina. [Griffiths05]. Aprofundar o estudo na teoria quântica não é o foco principal deste trabalho, mas alguns conceitos teóricos foram estudados e estão descritos sucintamente abaixo de maneira que o assunto descrito neste parágrafo possa ser compreendido.

O acoplamento spin-órbita está associado à interação entre o momento de dipolo magnético de spin do núcleo e o campo magnético interno do próprio átomo, que é uma consequência do movimento de rotação de elétrons que circundam a eletrosfera ao redor do núcleo, também relacionado ao momento angular orbital do elétron. Essa interação introduz uma estrutura fina nos estados degenerados (estados que apresentam funções de onda distintas mas níveis com energias idênticas) desdobrando os níveis de energia do núcleo em multipletos de estados com energias ligeiramente diferentes.

O efeito Zeeman consiste no desdobramento de linhas espectrais de átomos devido à aplicação de campo magnético externo, provocando a quantização da componente z do spin nuclear e dos estados de energia para um dado spin. Por exemplo, tendo um núcleo com spin  $1/2$ , os valores possíveis para a componente z são  $+1/2$  e  $-1/2$ , denominados respectivamente *spin up* (paralelo) e *spin down* (antiparalelo). Na totalidade são  $2L + 1$  níveis de energia possíveis, sendo L o valor do spin nuclear [Salibi98].

O acoplamento de spin faz com que a resposta em radiofrequência (RF) emitida na deexcitação seja diferente da resposta (em RF) da deexcitação individual de spins desacoplados, implicando na formação de espectros característicos para diferentes regiões, no caso, cerebrais, quando submetidas a ressonância magnética MR.

A relação entre o efeito Zeeman e interação spin-órbita é importante, pois do ponto de vista quântico, quando o efeito Zeeman é dominante, a interação spin-órbita funciona como uma perturbação no sistema; já, quando a interação spin-órbita (estrutura fina) predomina, o efeito Zeeman é a perturbação no sistema. Tal classificação faz com que essas 2 situações sejam analisadas e bem descritas por funções de números quânticos diferentes, pois grandezas que são conservadas e bem definidas em uma situação podem não ser na outra. Por exemplo, o momento

angular total  $J$  é conservado na situação em que  $\mathbf{B}_{\text{ext}} \ll \mathbf{B}_{\text{int}}$ , mas não é na situação em que  $\mathbf{B}_{\text{ext}} \gg \mathbf{B}_{\text{int}}$ .

O efeito Zeeman quantiza os estados de spin nucleares, em particular do núcleo de hidrogênio, átomo utilizado. Isso faz com que haja estados discretos de spin com energias bem definidas ao aplicarmos um campo magnético sobre a amostra, de modo que a frequência emitida em RF para excitação do núcleo de  $^1\text{H}$  é a mesma frequência emitida (ressonância) na deexcitação do spin para um nível de energia mais baixo.

Os efeitos descritos acima são importantes e agem em conjunto para a formação do sinal de MR.

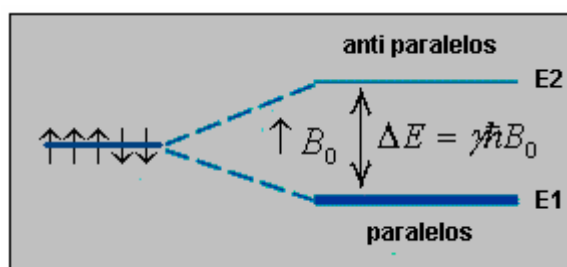


Figura 1: Diagrama de Zeeman.

A energia de dois níveis energéticos de spin pode ser representada pelo diagrama mostrado na Figura 2.

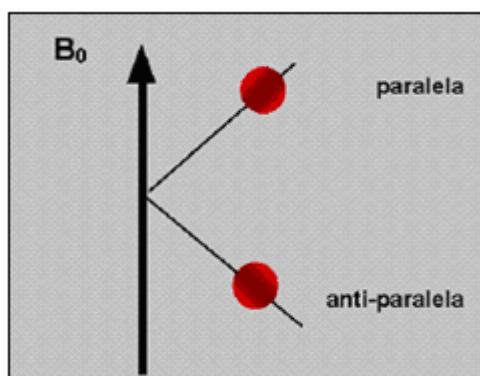


Figura 2: Diagrama de energia do spin.

No caso de dois níveis de energia, a irradiação dos spins por um sinal de RF com fótons de energia igual à diferença entre os estados provoca a transição de um certo número de spins para o estado anti-paralelo (maior energia). À volta ao estado paralelo (menor energia), processo conhecido como relaxação, é acompanhado da emissão de energia equivalente à diferença entre os dois níveis.

Para que ocorra uma transição do spin para outros níveis energéticos necessita-se de fótons com energia correspondente à equação abaixo:

$$E = \frac{h}{2\pi} \omega, \quad (2)$$

com

$$\omega = \gamma B_0, \quad (3)$$

onde  $h$  é a constante de Planck,  $\gamma$  é a razão giromagnética,  $B_0$  é o campo magnético aplicado no tecido ou em uma amostra e  $\omega$  é a frequência de ressonância. A equação (3) mostra que a frequência correspondente a essa diferença de energia é igual à frequência de Larmor  $\omega_0 = 2\pi\nu_0$  de precessão do spin, com  $\nu_0$  dada pela equação (1). Aplicando-se um sinal de RF na frequência de ressonância (frequência de Larmor) em uma amostra ocorre a transição do spin para outros níveis energéticos.

Na técnica de MRS usando o núcleo  $^1\text{H}$ , são analisados tecidos que possuem inúmeros spins, por exemplo, estima-se que existem  $10^{24}$  átomos de hidrogênio por mL de tecido. Os inúmeros spins estão distribuídos entre os vários níveis de energia permitidos; tal distribuição é desigual e descrita pela equação de Boltzman:

$$N_i = N_{total} e^{(-E_i / kT)}, \quad (4)$$

onde  $N_i$  é o número de spins em um estado  $i$ ,  $E_i$  é a energia do estado  $i$  medida em Joules (J),  $N_{total}$  é o número total de spins no volume da amostra,  $k$  é a constante de Boltzman, e  $T$  é a temperatura absoluta da amostra em Kelvin (K).

Usualmente utiliza-se a equação abaixo que compara os números de spins entre dois estados  $i$  e  $j$  possuindo diferença de energia  $\Delta E$ :

$$N_i / N_j = e^{(-\Delta E / kT)}. \quad (5)$$

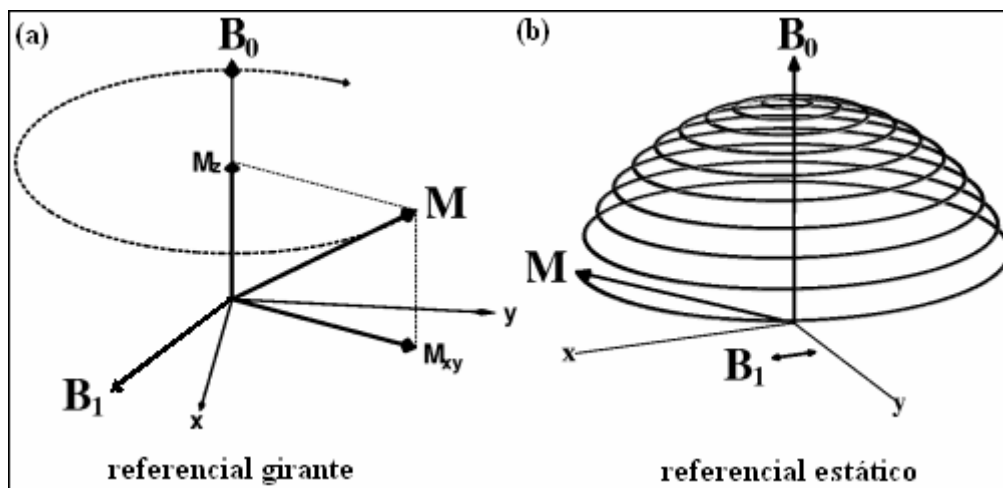
A equação de Boltzman mostra que o maior número de spins deve estar em estados de menor energia, com redução gradativa desse número nos estados de maior energia [Salibi98].

Em resumo, o sinal na técnica de MRS resulta de uma diferença de energia entre os spins que, após excitação por um pulso de RF (transição para um estado de maior energia), decaem (voltam para o estado de menor energia), liberando o excesso de energia na forma de um sinal de RF. O sinal produzido é proporcional à diferença de população de spins entre níveis energéticos. A MRS é mais sensível quanto maior for a possibilidade de detectar diferenças pequenas entre populações de spins.

Uma consequência da distribuição desigual dos spins entre os níveis de energia é que o vetor soma de todos os spins não é nulo implicando em uma magnetização  $\mathbf{M}$  da amostra na presença de um campo magnético  $\mathbf{B}_0$ , que é paralela a  $\mathbf{B}_0$ . A aplicação de um pulso de RF com frequência igual à frequência dos spins faz com que estes precessionem em fase (o que resulta no aparecimento de uma componente transversal, isto é, perpendicular a  $\mathbf{B}_0$ , da magnetização), produzindo um sinal magnético coerente que pode ser medido. Por convenção, o campo  $\mathbf{B}_1$  da radiação de radiofrequência é aplicado no plano x-y perpendicular ao campo magnético  $\mathbf{B}_0$  na direção z (ilustrado pela Figura 3), e é dado por [Huettel04]:

$$\mathbf{B}_1 = B_1 \cos \omega t \mathbf{x} - B_1 \sin \omega t \mathbf{y} , \quad (6)$$

onde  $\mathbf{x}$  e  $\mathbf{y}$  são respectivamente vetores unitários que apontam nessas direções.  $\mathbf{B}_1$  é um campo magnético fraco de magnitude em torno de 50mT, enquanto que  $\mathbf{B}_0$  é o campo magnético externo aplicado na amostra de magnitude aproximada de 1,5-3,0T.



**Figura 3:** (a) No referencial “girante”, a magnetização rota do eixo z para o plano x-y com a aplicação do pulso de RF. (b) Mas o movimento “real” da magnetização (no referencial estático, ou do laboratório), consiste em seguir uma trajetória espiral do eixo z ao plano x-y.

Para melhor visualizar o que acontece com a magnetização quando  $\mathbf{B}_1$  é aplicado, tomamos um referencial  $(x', y')$  que gira com a frequência de Larmor: nesse caso, o campo  $\mathbf{B}_1$  é simplesmente:

$$\mathbf{B}_1 = B_1 \mathbf{x}' \quad (7)$$

e o movimento do vetor magnetização é simples e corresponde à sua rotação em torno de  $\mathbf{x}'$  (ou  $\mathbf{B}_1$ ). Este movimento de rotação de  $\mathbf{M}$  ao redor de  $\mathbf{B}_1$  tem frequência angular:

$$\omega_1 = \gamma B_1 \quad (8)$$



Se o pulso de RF for aplicado por um tempo  $t$ ,  $\mathbf{M}$  vai sofrer uma rotação de um ângulo  $\alpha$  dado por:

$$\alpha = \omega_1 t = \gamma B_1 t \quad (9)$$

Após a aplicação de um pulso de  $90^\circ$  ( $\alpha = \pi/2$ ), o vetor de magnetização localiza-se no plano x-y e precessiona ao redor do eixo z. A sua frequência de precessão é a frequência de Larmor. Se uma bobina de detecção for colocada, a variação temporal do campo magnético gerado pela magnetização induzirá uma corrente alternada, com frequência igual à frequência de Larmor. Esse sinal detectado é conhecido como "free induction decay (FID)".

“Free” refere-se ao fato de que o sinal é obtido sem a presença do campo magnético  $B_1$ .

"Induction" indica que a corrente foi produzida utilizando-se o princípio de que um campo magnético variável dentro de uma bobina induzindo corrente elétrica, ou uma voltagem também variável nessa bobina (lei da indução de Faraday).

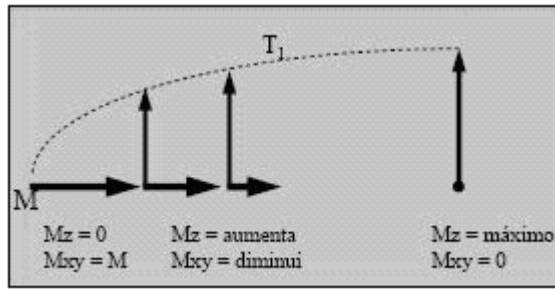
“Decay” significa que o sinal decresce exponencialmente com o tempo em um processo conhecido como relaxação.

A análise do sinal de ressonância magnética no domínio do tempo (FID) é utilizada em casos específicos de sinais que contêm apenas um valor único de frequência. No caso da espectroscopia, onde o sinal é composto por várias frequências provenientes de diferentes metabólitos, é mais comum a análise do sinal de RM no domínio da frequência (espectro). Para isso é necessária a transformação do sinal no domínio do tempo (FID) para o domínio da frequência (espectro), o que é feito através da Transformada de Fourier, uma operação matemática que será descrita em mais detalhes na 4ª tarefa.

Relaxação é o processo em que os spins liberam energia de excitação e retornam às suas configurações originais. A magnetização  $\mathbf{M}_0$  perturbada em seu equilíbrio por um pulso de RF de  $90^\circ$  rotaciona no plano x-y, com todos os prótons precessionando em fase. Ao fim da aplicação do pulso de RF, dois processos distintos ocorrem com os prótons individuais:

- Voltarão ao estado de menor energia,
- Seu movimento de precessão será defasado.

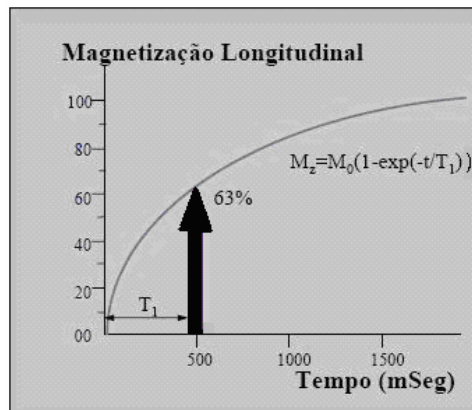
Esses eventos provocam dois processos simultâneos que acontecem separadamente; a componente perpendicular ( $M_{xy}$ ) do vetor magnetização diminui muito rapidamente; sua componente paralela ( $M_z$ ) se recupera lentamente.



**Figura 4:** O retorno ao equilíbrio.

Em equilíbrio térmico existe um excesso de prótons precessionando na orientação paralela. Após a aplicação de um pulso de RF de  $90^\circ$ , um número de prótons aproximadamente igual à metade do excesso passa a precessionar na orientação antiparalela. A magnetização fica com componente longitudinal nula. Após o fim da aplicação da RF, o mesmo número de prótons volta a precessionar na orientação paralela, e restabelece as condições iniciais:

- Transição de um estado de maior energia para um estado de menor energia,
- O sistema deve liberar energia equivalente à diferença entre os dois estados,
- Esse excesso de energia é fornecido ao meio (rede) que rodeia o próton, principalmente sob a forma de agitação térmica.

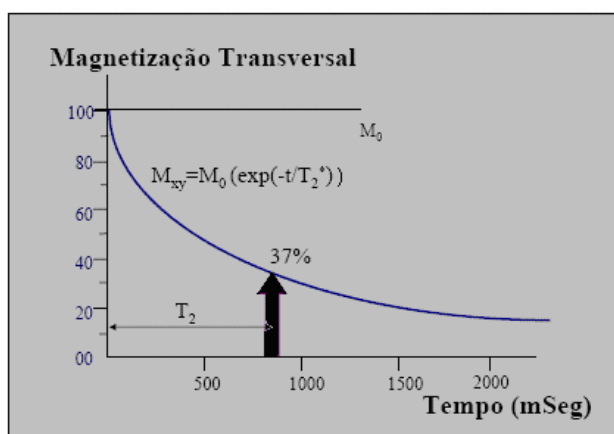


**Figura 5:** Tempo de relaxamento  $T_1$  representado como o tempo de retorno ao equilíbrio da componente longitudinal da magnetização.

O processo descrito acima é conhecido como relaxação longitudinal: corresponde à recuperação da componente  $M_z$ , que se dá de forma exponencial. A constante de tempo dessa exponencial é chamada de  $T_1$ , também conhecida como tempo de relaxação spin-rede ou tempo de relaxação longitudinal.

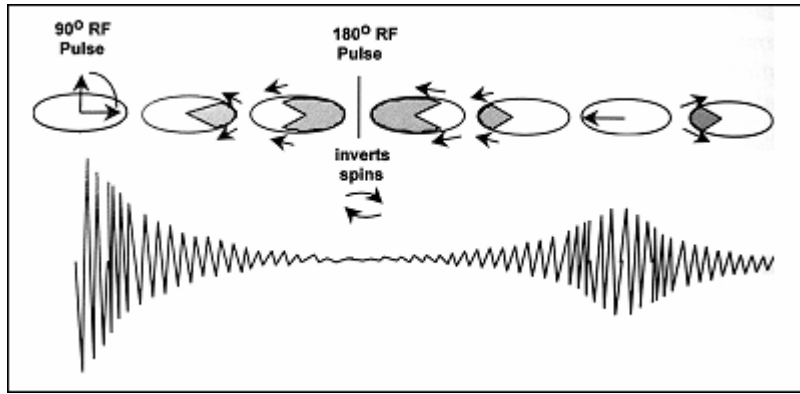
Imediatamente após a aplicação do pulso de  $90^\circ$ , os spins precessionam em fase e a magnetização transversal é máxima. Com o fim do pulso de RF, os spins começam a experimentar campos magnéticos ligeiramente diferentes. Alguns precessionam ligeiramente mais rápido (outros mais devagar) do que a frequência de Larmor. O conjunto de spins começa a precessionar em fases

diferentes e a magnetização transversal diminui. Após um certo tempo, toda a coerência de fase é perdida e a magnetização efetiva no plano transversal é nula. A pequena diferença no campo magnético estático em cada spin é ocasionada por dois fatores: a presença de inhomogeneidades no campo magnético  $B_0$  e os campos magnéticos gerados pelos outros spins. A magnetização transversal  $M_{xy}$  decai exponencialmente com a constante de tempo  $T_2^*$ , num processo conhecido como relaxação transversal, que engloba os dois efeitos mencionados (spin-spin e inhomogeneidades de campo). O tempo que reflete a perda de coerência devido apenas à presença de outros spins é conhecido como  $T_2$ , ou tempo de relaxação spin-spin ou tempo de relaxação transversal. O tempo  $T_2$  depende do meio em que o spin está inserido, variando de acordo com o órgão e se o tecido é normal ou patológico. O FID reflete a diminuição da magnetização transversal causada pela perda progressiva de fase do spin (spin dephasing), e é função de  $T_2^*$ . O tempo  $T_2^*$  é da ordem de poucos milissegundos e muito menor que  $T_2$ . A defasagem devido a  $T_2^*$  pode ser contornada pela geração de ecos, enquanto que a perda de sinal devido à verdadeira relaxação  $T_2$  é irreversível. Para todos os tecidos  $T_2^* \leq T_2 \leq T_1$ .



**Figura 6:** Tempo de relaxação  $T_2$  representado como um decréscimo na componente transversal da magnetização devido à perda de fase.

A geração de ecos pode ser feita aplicando um outro pulso de RF de  $180^\circ$  (seqüência spin-eco, Figura 7). O efeito deste é inverter a direção de precessão dos spins, portanto, spins que estariam se afastando (defasando) passam a se aproximar (entram em fase), recuperando uma parte de  $M_{xy}$  e, portanto voltando a produzir um sinal de MR mensurável [Salibi98].



**Figura 7:** Seqüência spin-eco.

Um conceito fundamental para a MRS é o conceito de deslocamento químico (em inglês, chemical shift). Quando a amostra é colocada no campo magnético, núcleos de átomos de mesmo tipo porém imersos em diferentes ambientes químicos (p.ex., diferentes moléculas), experimentam valores distintos de campo magnético devido à blindagem química dos elétrons do meio envolvido. Com isso, a frequência de Larmor não é a mesma para esses núcleos, e sim fica um pouco deslocada da frequência de Larmor para um átomo puro. Essa frequência é dada pela seguinte equação:

$$\omega = \gamma B_0 (1 - \sigma) \quad (10)$$

onde  $\sigma$  é o fator de blindagem química. Portanto, a medida da frequência de ressonância dos prótons em um metabólito é a medida de seu deslocamento químico, que identifica a posição única do pico do metabólito no espectro [Salibi 98].

Outro fator importante em MRS é que as frequências de ressonância costumam ser medidas em unidades relativas, que são as ppm (partes por milhão), ao invés de em unidades absolutas como Hz. Isso é feito para que os deslocamentos químicos fiquem independentes do campo magnético estático aplicado, e dados medidos com diferentes campos possam ser comparados entre si. Em ppm, o deslocamento químico  $\delta_{cs}$  para o caso de dados in vivo é:

$$\delta_{cs} = \frac{f_m}{f_{transmissor}} \times 10^{-6} + f_{ref}, \quad (11)$$

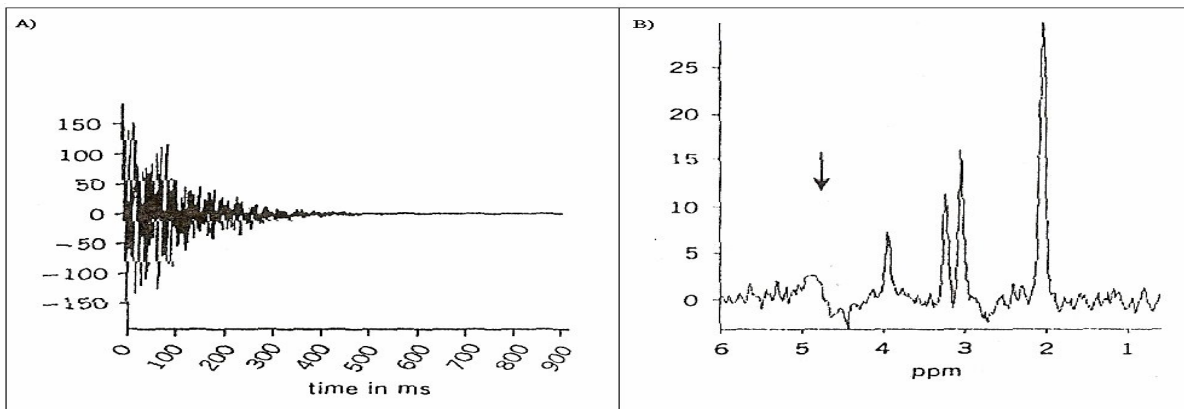
onde  $f_m$  é a frequência do metabólito,  $f_{transmissor}$  é a frequência do transmissor, e  $f_{ref}$  é uma frequência de referência com relação a um padrão in vivo. No caso da  $^1\text{H}$ -MRS, este padrão é o pico do CH<sub>3</sub> do N-Acetil-aspartato centrado em 2,01 ppm [Graaf98].

**2ª Tarefa:** Familiarização com a Transformada de Fourier, particularmente a discreta.

A FT é uma técnica matemática que converte um sinal no domínio do tempo para o domínio da frequência – muito útil em MRS já que o sinal é medido no domínio do tempo (FID) e sua conversão para o domínio da frequência (espectro) é imprescindível, pois conhecemos as frequências (em ppm) típicas dos metabólitos apenas através de sua identificação no espectro. A transformada de Fourier discreta é definida pela seguinte equação:

$$f(\omega) = \sum_{-\infty}^{+\infty} f(t)[\cos(\omega t) - i \sin(\omega t)], \quad (12)$$

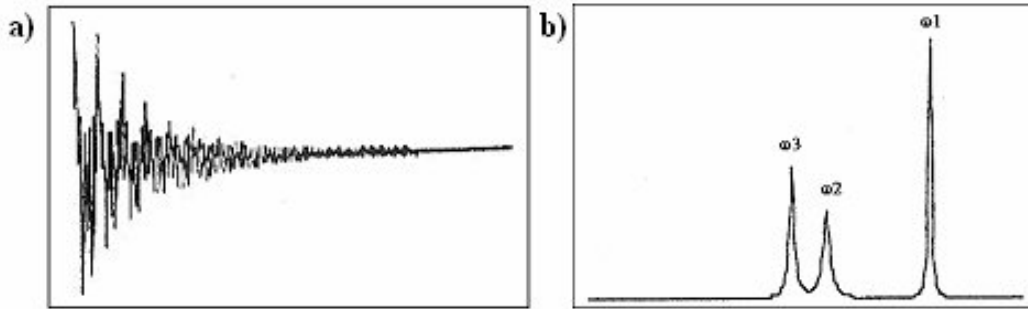
sendo  $\omega$  a frequência e  $t$  o tempo de cada ponto que compõe o FID coletado durante a MR [Hornak08].



**Figura 8:** A) FID com vários sinais de metabólitos; B) Espectro do FID ao lado obtido por meio da Transformada de Fourier.

Se o sinal de MR possui uma frequência  $\omega_0$  e se o sistema de spins não experimenta perda de energia, o movimento da magnetização resultante pode ser representado como uma função senoidal de amplitude constante e o seu espectro correspondente consiste de uma função delta posicionada em  $\omega_0$ . Se o mesmo sinal decai com uma constante de tempo  $T2^*$  devido a perda de energia, o espectro correspondente consiste de um pico Lorentziano posicionado em  $\omega_0$  e com largura proporcional ao inverso de  $T2^*$ . Ainda, se o sinal contém muitos componentes, cada um possuindo frequências de ressonância e amplitudes distintas e decaindo com um tempo constante, a Transformada de Fourier gera um espectro com muitos picos (Figura 8).

Em sinais de  $^1\text{H}$  de tecidos cerebrais humanos, o FID é formado por um grande sinal para a água e muitos pequenos sinais para vários metabólitos do cérebro. Devido a uma supressão O FID possui a forma de um decaimento senoidal consistindo do sinal residual da água e de pequenas “flutuações” representando a soma dos pequenos sinais dos metabólitos, como ilustra a Figura 8 [Salibi98].



**Figura 9:** a) FID composto por 3 componentes com diferentes frequências e amplitudes. b) FT do FID correspondente com 3 picos distintos nas frequências  $\omega_1$ ,  $\omega_2$ ,  $\omega_3$ .

A FT produz um espectro complexo, com componentes real e imaginária. Podemos considerar a componente na direção x do vetor magnetização ( $M_x$ ) como sendo a entrada real e a componente na direção y do vetor magnetização ( $M_y$ ) a entrada imaginária, resultando, portanto, em uma saída da FT com componentes real e imaginária. Utilizam-se duas componentes (real e imaginária) para poder distinguir frequências de mesmo valor e sinal oposto [Hornak08].

Em particular, na MRS a saída real da Transformada de Fourier corresponde ao espectro no domínio da frequência, e para a identificação e quantificação dos metabólitos utiliza-se apenas a parte real do espectro [Hornak08].

A parte real é definida como:

$$f(\omega) = \sum_{-\infty}^{+\infty} f(t) \cos(\omega t) . \quad (13)$$

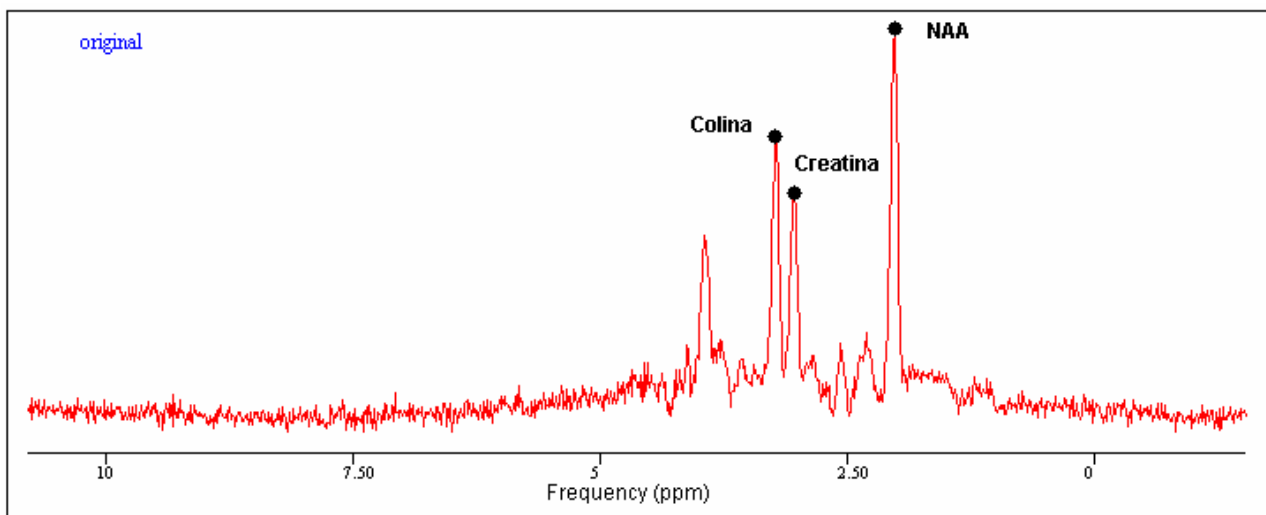
A Transformada de Fourier é periódica no domínio da frequência com período  $1/T$  e uma consequência dessa periodicidade é o fenômeno de *aliasing*. Esse fenômeno diz que frequências diferindo por múltiplos de  $1/T$  são completamente indistinguíveis umas das outras, ou seja, sinais com frequências além dos limites do espectro desejado, que nada mais são que ruídos de alta frequência, aparecem ‘disfarçadas’ como sinais com frequências dentro dos limites desse espectro [Hoch96]. Esse problema pode ser solucionado filtrando esses sinais com filtros de áudio (radiofrequência).

Durante a aquisição dos dados, o sinal analógico do FID é filtrado utilizando um filtro passa baixa para eliminar ruído de alta frequência; então por meio de um conversor ADC produz-se uma versão digital do sinal (FID), composto de  $N$  pontos e com uma duração de tempo  $T$  (tempo de repetição da sequência de pulsos). O tempo medido entre dois pontos da amostra é dado por  $t = T / N$ . A FT desse FID consiste em um espectro que possui  $N$  pontos separados em intervalos de frequência de  $1/T$ , que é a resolução espectral. O limite para o tempo  $T$  é o tempo de decaimento do sinal ( $T2^*$ ).

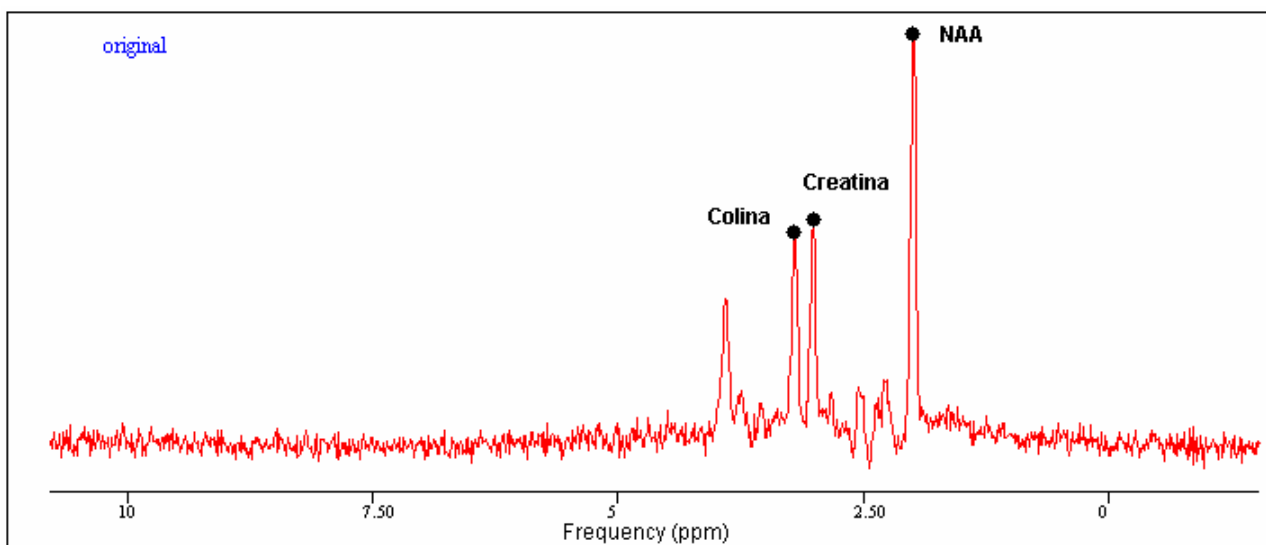
Quando T ultrapassa T2\* o resultado é uma coleção de ruído de fundo degradando o SNR e aumentando o tempo de medida do FID [Salibi98].

**3ª Tarefa:** Familiarização com espectros de  $^1\text{H}$ -MRS do cérebro *in vivo* de indivíduos normais.

Esta tarefa proporcionou um contato inicial com espectros de MRS *in vivo* de indivíduos controle (saudáveis). Foram analisados 24 espectros distintos e em cada um deles identificados os metabólitos de interesse, que foram o NAA (N-acetil aspartato), Creatina e Colina. Além desses metabólitos foi verificada também a presença de Glutamato e Glutamina (ambos do grupo Gln) e myo-inositol, mas geralmente seus picos característicos embora sejam detectáveis aparecem sobrepostos a outros picos. As Figuras 10 e 11 mostram dois exemplos de espectros controles com seus picos identificados, que representam bem o padrão de espectros encontrados em tecido cerebral saudável.



**Figura 10:** Exemplo de espectro controle comum com identificação dos metabólitos analisados.

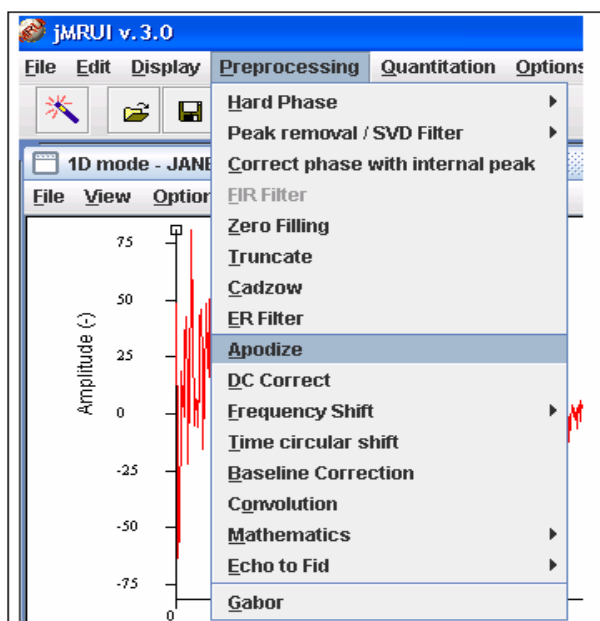


**Figura 11:** Exemplo de espectro controle comum com identificação dos metabólitos analisados.

Os metabólitos identificados acima possuem características imprescindíveis que facilitam a detecção deles no cérebro humano. O metabólito NAA localiza-se exclusivamente na região central e periférica do sistema nervoso. Para  $^1\text{H}$ -MRS esse metabólito pode ser utilizado como um marcador neuronal. A creatina no cérebro humano é encontrada em células gliais e neuronais. Tal metabólito possui função importante no metabolismo energético dos tecidos. Em espectros de  $^1\text{H}$ -MRS a ressonância da creatina com a fosfocreatina costuma ser usada como referência, já que a soma da creatina e fosfocreatina é bastante constante na idade adulta exceto para algumas patologias. A colina medida em  $^1\text{H}$ -MRS *in vivo* é a colina total, que inclui contribuições da colina livre, glicerosforilcolina e fosforilcolina. A colina livre não pode ser separada de seus componentes devido à pequena diferença nos deslocamentos químicos e à largura dos picos. A colina é necessária para a síntese do neurotransmissor acetilcolina e da fosfadilcolina, o maior constituinte das membranas [Graaf98].

**4ª, 5ª e 6ª Tarefas:** Estudo das etapas de pré-processamento necessárias para a limpeza do sinal de MRS a ser quantificado no domínio temporal. Familiarização com o software jMRUI. Aplicação prática das etapas de pré-processamento necessárias para a limpeza do sinal de MRS a ser quantificado no domínio temporal, utilizando o software jMRUI em sinais de MRS *in vivo* do cérebro.

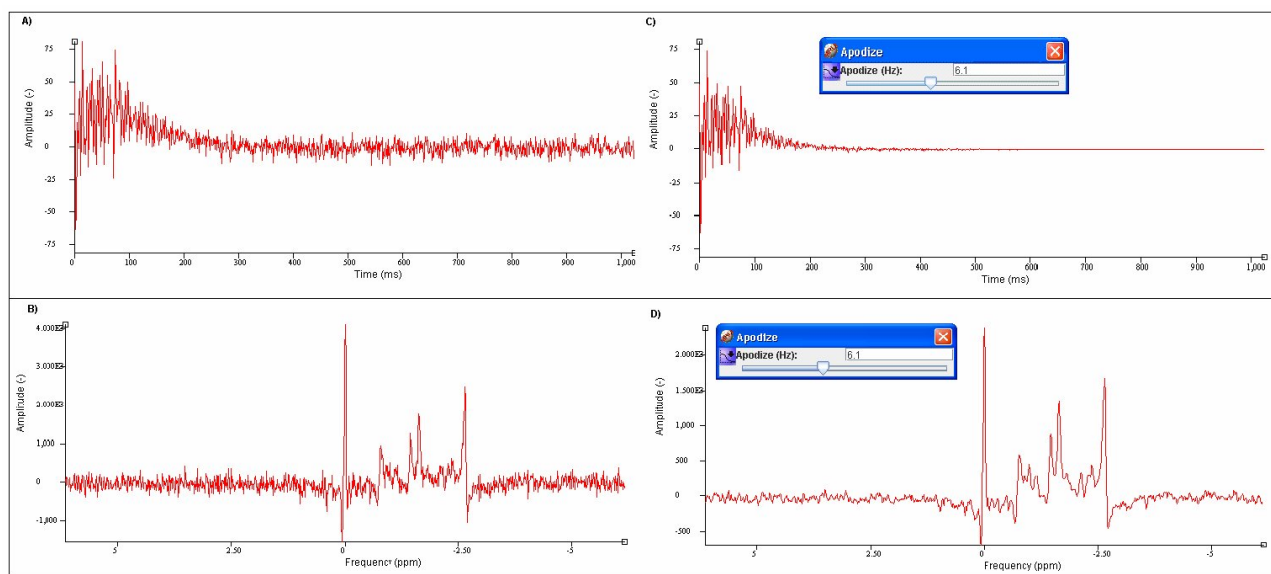
O software jMRUI oferece uma série de operações para o pré-processamento do sinal, como mostrado na Figura 12. Aqui descreveremos apenas algumas delas, que foram utilizadas nesta etapa do trabalho.



**Figura 12:** Parte da janela visualizada no software jMRUI e os pré-processamentos oferecidos por este – inclusive o recurso de apodização.



Durante a realização de identificação de metabólitos, a análise espectral e posterior quantificação de metabólitos, foi observado em todos os espectros de controles um background ruidoso. Para se obter uma análise e identificação mais precisa utilizamos a operação de apodização do software jMRUI. A apodização corresponde a uma filtragem do sinal no domínio temporal. Trata-se de uma multiplicação do FID por uma função filtro que melhora o SNR ou a resolução do sinal. O filtro de apodização é diferente do filtro passa-baixa, pois este último é um filtro de hardware aplicado ao sinal analógico, já o filtro de apodização é uma multiplicação numérica do sinal digitalizado no domínio do tempo realizada por um software.

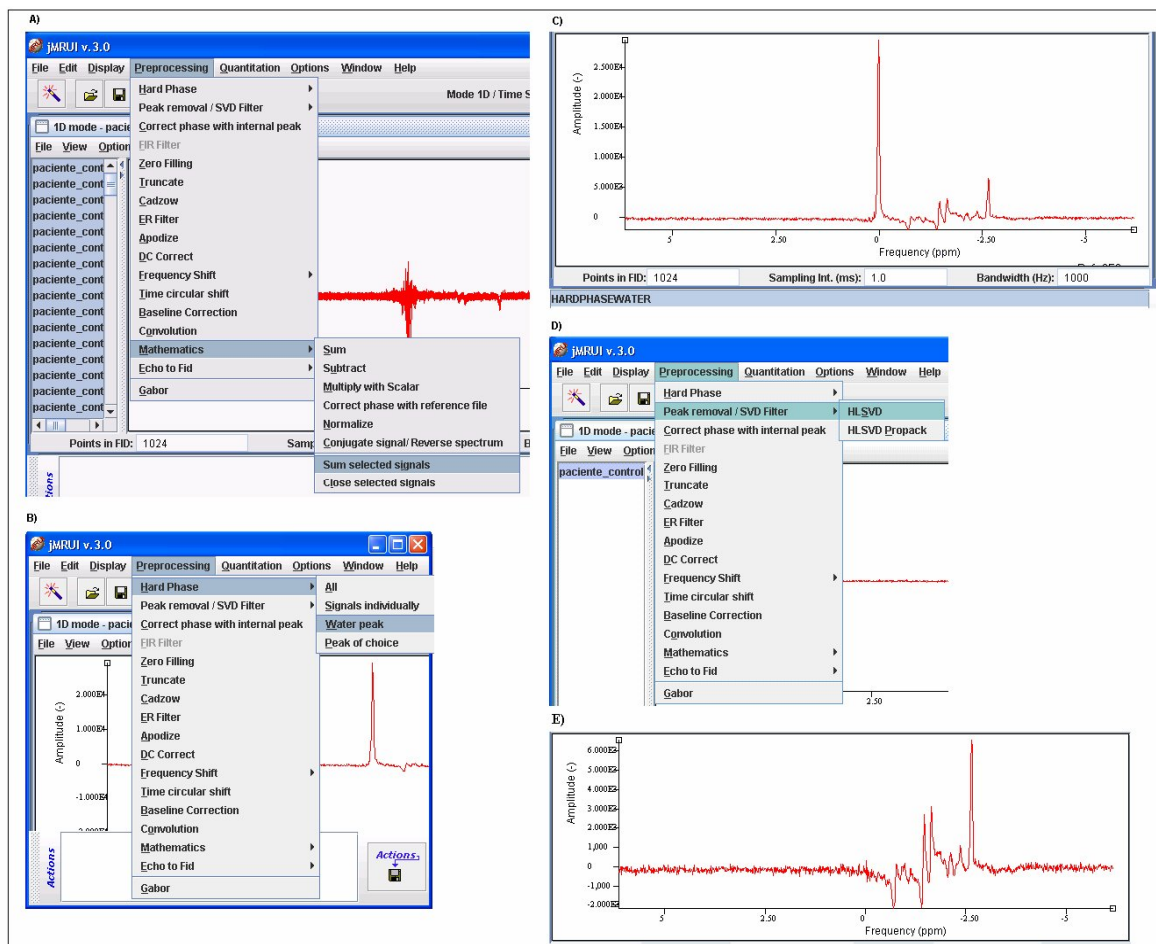


**Figura 13:** A) FID ruidoso; B) Espectro correspondente; C) FID apodizado; D) Espectro apodizado.

As funções filtro mais comuns são as que decaem com o tempo, de forma que o sinal seja aumentado no início do período de aquisição de dados e seja suprimido ao fim – desse modo, o ruído do final do FID é suprimido, o que resulta num espectro mais suave (menos ruído) e picos mais largos. As funções mais comumente usadas na MRS são as exponenciais (Lorentzianas) e as funções Gaussianas [Salibi98].

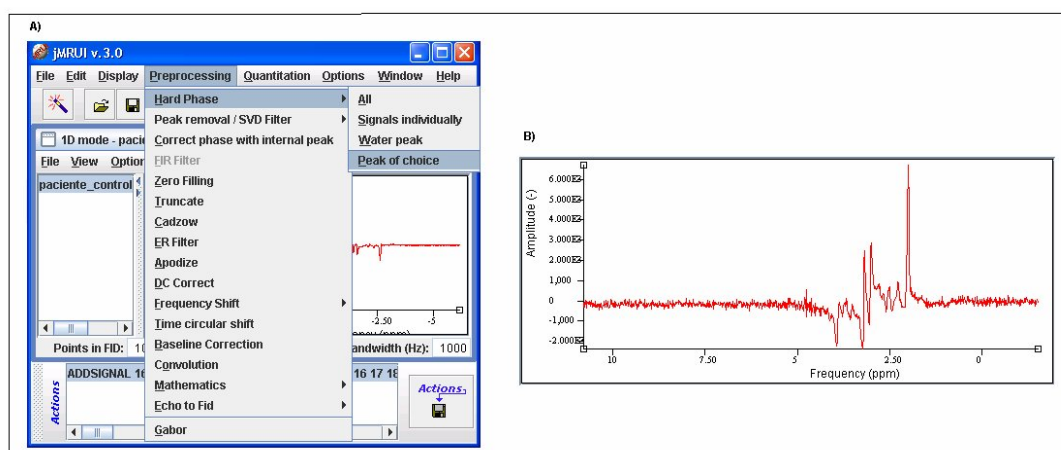
A Figura 13 mostra um FID de um indivíduo controle com um background muito ruidoso e abaixo seu espectro correspondente. Nessa mesma figura, vemos o FID apodizado com uma função que decai no tempo, e abaixo, vemos o espectro apodizado correspondente.

É importante ressaltar que a apodização da Figura 13 está exagerada (6,1 Hz) justamente para mostrar realmente o efeito que esse recurso é capaz de gerar. Na prática, para o processamento dos sinais no domínio do tempo geralmente não se ultrapassa uma frequência de apodização de 2 Hz, pois a apodização modifica a amplitude dos sinais no FID (e equivalentemente, a largura dos picos no espectro), o que pode levar a quantificações errôneas, e também pode remover informações de dados adquiridos, pois gera pontos de informações com amplitude zero.



**Figura 14:** A) Operação de soma de todos sinais obtidos via MR; B) Faseamento do espectro com relação ao pico da água ; C) Espectro faseado; D) Recurso de filtragem do pico da água; E) Espectro obtido após a filtragem do pico da água.

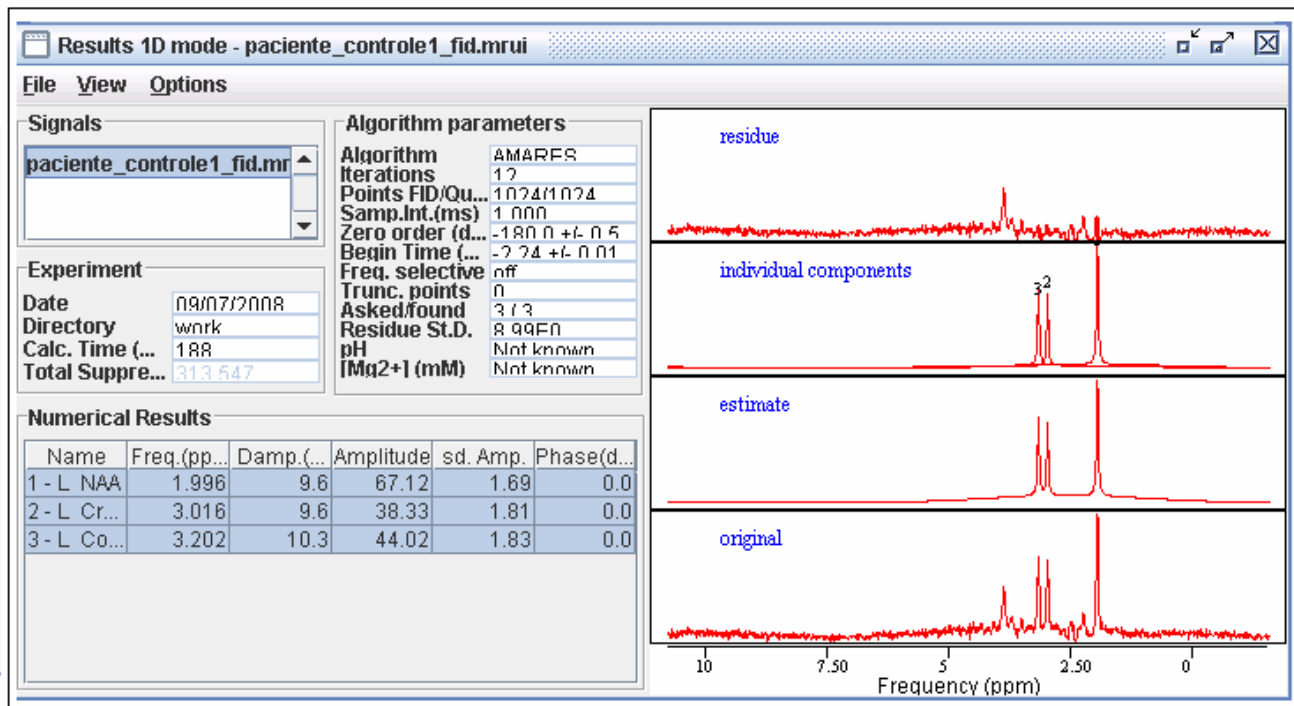
As Figuras 14 e 15 ilustram outras opções de pré-processamento oferecidas pelo jMRUI, e que foram utilizadas neste trabalho. Na Figura 14 vêm-se as operações de somar todos os espectros para o aumento do SNR, faseamento do espectro com relação ao pico da água e filtragem do pico da água que garante maior precisão na identificação e quantificação dos espectros. Na Figura 15 o espectro foi faseado tomando como referência o pico do NAA e depois colocada referência em 2,01 ppm deste mesmo pico (frequência de ressonância do NAA em 2,01 ppm).



**Figura 15:** A) Faseamento do sinal com relação ao pico do NAA; B) Espectro faseado e colocada referência em 2,01ppm ao pico do NAA.

**7ª Tarefa:** Aplicação do método AMARES (através do software jMRUI) para a quantificação de metabólitos a partir de sinais de  $^1\text{H}$ -MRS do cérebro *in vivo*.

A Figura 16 mostra o faseamento do espectro original realizado pelo método AMARES, além das quantificações dos metabólitos NAA, Creatina e Colina mostradas como componentes individuais do espectro. Além disso o método fornece ainda, a parte residual do espectro e a estimativa dos picos quantificados.



**Figura 16:** Janela de resultados de quantificação de espectro de indivíduo controle pelo método AMARES.

## 5. Resultados e discussão

Neste projeto foram analisados 24 espectros de indivíduos controle. Neles foram identificados os picos dos metabólitos NAA, Creatina e Colina, que foram posteriormente quantificados utilizando o método AMARES do software jMRUI. A Figura 16 mostra um exemplo de quantificação dos metabólitos de apenas um dos indivíduos controles (saudáveis) analisados. Pode-se observar nesse espectro o faseamento realizado pelo método AMARES e o respectivo espectro com identificação dos metabólitos quantificados. Em alguns espectros de indivíduos não foi possível identificar os metabólitos esperados. Isso se deve a que poucos espectros foram adquiridos para esses indivíduos, resultando num baixíssimo SNR (razão sinal-ruído).

## 6. Conclusões e perspectivas de continuidade do projeto

A técnica conhecida como espectroscopia de ressonância magnética (MRS) tem se tornado desde sua descoberta uma das mais utilizadas na química e em laboratórios de Física para a análise de interações moleculares e identificação de componentes químicos. Estudos podem ser feitos utilizando amostras com poucos miligramas do material (no estado sólido ou em solução). A MRS é uma ferramenta poderosa e importante para se entender as interações moleculares, mas geralmente é restrita para o estudo de moléculas únicas ou sistemas bem caracterizados.

A técnica de MRS *in vivo* é uma técnica nova que vem sendo aprimorada para facilitar análises patológicas em ambiente clínico. Nas amostras *in vivo* são utilizados campos magnéticos de menor intensidade (entre 1,5T e 7T) – já que ainda não se conhecem bem os efeitos de campos de alta intensidade (9T a 14T), e portanto estes não foram aprovados para uso em seres humanos.

Neste projeto utilizamos a técnica de MRS para quantificar metabólitos cerebrais em indivíduos controles (saudáveis). Este estudo servirá de base para a etapa seguinte deste projeto, no qual compararemos os espectros de indivíduos controles com os espectros de indivíduos que apresentam algum tipo de patologia. Dessa forma, poderemos comparar as concentrações dos metabólitos analisados em ambos grupos e ainda verificar se há existência de outros metabólitos nos espectros de indivíduos patológicos.

## 7. Comentários

**Caroline Canzian (Aluna):** antes de iniciar esse projeto, comentei com minha orientadora o interesse que tinha na área em que ela trabalha, especialmente com as técnicas vinculadas com ressonância magnética. Resolvemos então escrever esse projeto que trata de uma técnica que vem sendo bastante utilizada em ambiente clínico por ser não invasiva e capaz de detectar indícios de muitas patologias, como por exemplo, a epilepsia. A realização desse projeto me permitiu adquirir um conhecimento teórico bem fundamentado e a prática de reconhecer metabólitos ressonantes em certas frequências características em espectros de indivíduos controles, o que futuramente será de muita importância, caso possa analisar espectros de indivíduos que estejam acometidos por alguma patologia. O apoio e a atenção do orientador também conta muito. Sempre que tive dúvidas minha orientadora e eu conversávamos, e nunca fiquei sequer sem nenhum retorno dela. Acredito que meu progresso e minha satisfação de ter realizado bem as tarefas e de ter gostado muito do tema desenvolvido, não se deve apenas a minha dedicação ao estudo, mas também, com certeza, a atenção que a Gabriela dedica a cada aluno.

**Gabriela Castellano (Orientadora):** O relatório da aluna está bem completo, dado que o tema escolhido para este projeto abrange conhecimentos que envolvem desde física básica (quântica) a conceitos da área de processamento de sinais, além da manipulação de um software específico para a aplicação prática desses conceitos em dados de MRS reais de indivíduos controle. Além disso, o relatório está bem escrito, e reflete o entendimento da aluna sobre os diversos conceitos abordados. No geral, a Caroline mostrou-se como uma aluna extremamente dedicada e capaz no trabalho aqui desenvolvido. Considero seu desempenho neste trabalho como sendo muito bom.

## Referências

[Graaf98] de Graaf RA. In vivo NMR spectroscopy. John Wiley & Sons, Chichester, 1998.

[Griffiths05] Griffiths, D.J. Introduction to Quantum Mechanics. Pearson Prentice Hall, United States of America, 2005.

[Hoch96] Hoch JC. Stern AS. NMR Data Processing. Wiley-Liss, New York, 1996.

[Hornak08] Hornak JP. The Basics of NMR. <http://www.cis.rit.edu/htbooks/nmr/>. Acessado em 06/07/2008.

[Huettel04] Huettel SA, Song AW, McCarthy G. Functional Magnetic Resonance Imaging. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, 2004.

[Salibi98] Salibi N, Brown M. Clinical MR Spectroscopy, First Principles. Wiley-Liss, New York, 1998.

[Vanhamme97] Vanhamme L, van den Boogaart A, Van Huffel S. Improved Method for Accurate and Efficient Quantification of MRS Data with Use of Prior Knowledge. *Journal of Magnetic Resonance* 129: 35–43, 1997.