

RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE E TOMOGRAFIA DI EMISSIONE DI POSITRONI: POTENZIALITA' DIAGNOSTICHE NELLA CARATTERIZZAZIONE TESSUTALE

F. GIAMMARILE (a), F. PODO (a) e F. IORIO (b)

(a) Laboratorio di Biologia Cellulare, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(b) Dipartimento di Medicina Sperimentale, Servizio di Medicina Nucleare, Università degli Studi "La Sapienza", Roma

Riassunto. - La risonanza magnetica nucleare (NMR) e la tomografia di emissione positronica (PET) si collocano tra le metodologie scientifiche d'avanguardia capaci di fornire, sia pure con procedimenti diversi, immagini del corpo umano a scopo diagnostico. In tale ambito esse sono senza dubbio tra le tecniche oggi più note e presentano, accanto ai risultati odierni già assai significativi, prospettive di ulteriori sviluppi in campo clinico e diagnostico. La caratteristica che accomuna queste due metodologie è la possibilità di raccogliere durante l'esame, oltre all'informazione anatomica, anche informazioni di carattere fisiopatologico e funzionale, associate ad alcune proprietà chimico-fisiche e/o biochimiche dei tessuti. La tomografia a NMR (o MRI, dall'inglese magnetic resonance imaging), infatti, è basata sull'acquisizione di segnali, le cui intensità dipendono indirettamente, ma strettamente, da particolari caratteristiche biofisiche e chimico-fisiche del tessuto in esame. La spettroscopia NMR (o MRS, dall'inglese magnetic resonance spectroscopy) e la PET permettono, d'altra parte, studi quantitativi di processi metabolici tissutali in vivo ed in situ. Questa rassegna è intesa a riassumere i fondamenti fisici della caratterizzazione tissutale mediante NMR e PET, e discuterne alcune possibilità applicative, soprattutto alla luce degli odierni programmi di sviluppo tecnologico, intesi a migliorare l'accuratezza e la precisione dei risultati, a livello quantitativo, oltre che qualitativo.

Summary (Nuclear magnetic resonance and positron emission tomography: diagnostic potentialities in the field of tissue characterization). - Nuclear magnetic resonance (NMR) and positron emission tomography (PET) are among the most advanced methodologies providing, with different physical approaches, diagnostic images of the body. In this framework, NMR and PET are particularly well known, not only for the high quality of their present results, but also for the expectations of further developments at clinical and diagnostic

level. Common feature of NMR and PET is the capability of associating the anatomical image with information on the physico-chemical and/or biochemical properties of tissues. NMR imaging (MRI) is in fact based upon the acquisition of signals, whose intensities indirectly but closely depend upon particular physico-chemical and biophysical properties of biological tissues. NMR spectroscopy (MRS) and PET allow, on the other hand, quantitative studies on metabolic reactions, as they occur in intact tissues, in vivo and in situ. This review is aimed at summarizing the basic principles of tissue characterization by NMR and PET and discussing their perspectives of clinical application. Emphasis will be given to the special requirements of tissue characterization by these methodologies, referring to the need of improving accuracy and precision of measurements, as well as at evaluating, on a quantitative basis, the performance of the equipment.

INTRODUZIONE

L'obiettivo di caratterizzare i tessuti biologici in base ad alcuni parametri sperimentali ben definiti dovrebbe rappresentare il punto di arrivo di tutte le tecniche di formazione di immagini ad uso diagnostico [1]. Scopo della caratterizzazione tissutale mediante immagine è infatti quello di poter differenziare, attraverso l'immagine stessa elaborata con particolari accorgimenti, il sano dal patologico, la neoplasia benigna dalla maligna, il tumore primario dal metastatico, al fine di formulare la diagnosi, stabilire la prognosi e decidere la terapia, i cui effetti dovranno essere poi valutati nel tempo.

Le odierne metodologie di *imaging* e spettroscopia mediante risonanza magnetica nucleare (NMR) e la tomografia di emissione protonica (PET) presentano particolari prerogative per affrontare queste problematiche clinico-diagnostiche.

PROPRIETA' GENERALI DELLA RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE

Principi fisici

Introduzione

Il fenomeno della risonanza magnetica nucleare è legato alla capacità, posseduta da alcuni nuclei atomici dotati di proprietà magnetiche, di assorbire energia sotto forma di radiazione elettromagnetica, quando sono sottoposti all'influenza di un campo magnetico esterno [2-5].

Dal punto di vista fisico, tale fenomeno può essere descritto sia utilizzando le leggi dell'elettromagnetismo e della meccanica classica, sia quelle della meccanica quantistica. Pertanto, sia pure a scapito del rigore formalistico, tenderemo a passare da un modello all'altro, ai fini di una maggiore semplicità di esposizione.

Magnetismo a livello atomico

Il magnetismo è il risultato del moto di particelle subatomiche elettricamente cariche. Il nucleo atomico, massa carica positivamente, il cui movimento può essere schematicamente assimilato ad un moto di rotazione attorno al proprio asse centrale (moto di spin), è costituito da nucleoni, a loro volta composti da particelle subatomiche cariche interagenti tra di loro.

Al protone, formato da particelle elementari cariche positivamente, è associato un momento magnetico (vettore che esprime l'ampiezza e la direzione del campo magnetico risultante dal moto di spin), diretto parallelamente all'asse di rotazione. Nel neutrone, particelle subatomiche cariche positivamente sono situate più vicine all'asse di rotazione rispetto ad altre particelle, cariche negativamente; pertanto, mentre la somma delle cariche del neutrone è nulla, vi è un momento magnetico che risulta dalla differenza esistente tra le orbite delle particelle subatomiche componenti, di ampiezza pari a circa i 2/3 dell'ampiezza del momento magnetico protonico e diretto in senso opposto.

Possiedono pertanto proprietà magnetiche, ossia interagiscono con campi magnetici sia intrinseci alla molecola che applicati dall'esterno, quegli atomi che sono dotati di momento magnetico nucleare $\vec{\mu}$ non nullo, risultante dai momenti magnetici subnucleari ed associato al momento angolare nucleare o spin.

Tale momento magnetico nucleare vale in modulo:

$$\mu = \gamma \cdot s \cdot h/2\pi = \gamma \cdot s \cdot \hbar \quad (1)$$

dove h è la costante di Plank ($h = 6,625 \cdot 10^{-27}$ erg s), e γ ed s sono due parametri caratteristici del nucleo in questione (Tab. 1): γ è detto rapporto giromagnetico (o magnetogirico) e rispecchia le caratteristiche cinematiche e magnetiche del nucleo; s è il numero quantico di spin nucleare (in particolare quando $s = 0$, $\mu = 0$).

Azione di un campo magnetico applicato

In assenza di un campo magnetico esterno, gli spin nucleari sono orientati a caso, cosicché la magnetizzazione totale di un insieme di nuclei dotati di momento magnetico non nullo tende a zero.

Applicando a tale insieme l'azione di un campo magnetico esterno di intensità B_0 , omogeneo e costante nel tempo, i nuclei vengono ad essere sottoposti all'azione di una coppia di forze esercitata dal campo esterno stesso sui momenti di spin. Ne risulta una disposizione ordinata degli spin, che si orientano spazialmente secondo direzioni ben definite rispetto a quelle del campo magnetico esterno. Inoltre, a causa del loro moto di rotazione intrinseca nel campo B_0 , ogni spin risente di un'azione di torsione e descrive un moto complesso, paragonabile a quello di una trottola, e cioè di rotazione sia attorno alla direzione del campo esterno, sia attorno al proprio asse (Fig. 1). Tale moto, detto di precessione, è caratterizzato da una frequenza, nota come frequenza di Larmor, che è data dall'espressione

$$\nu_0 = \gamma \cdot B_0/2\pi \quad (2)$$

dove ν_0 è la frequenza di precessione, generalmente espressa in MHz (10^6 Hz) e B_0 è l'intensità del campo magnetico, generalmente espressa in tesla (10^4 gauss, nel sistema cgs). In realtà l'intensità di un campo magnetico nel vuoto, H, si misura in oersted, ma l'effettiva intensità in un punto all'interno della materia magnetizzabile è più propriamente espressa dall'induzione magnetica B (in gauss) correlata ad H da un coefficiente di proporzionalità, detto permeabilità magnetica. Si ricorda che il valore del campo magnetico terrestre è di circa 0,5 gauss.

Livelli energetici

Il numero quantico s determina il numero n dei livelli energetici (livelli Zeeman) sui quali si distribuiscono gli spin nucleari, secondo uno schema quantisticamente determinabile: $n = 2s + 1$.

La differenza energetica tra livelli adiacenti è proporzionale all'intensità del campo magnetico esterno secondo la relazione:

$$\Delta E = \mu \cdot B_0/s \quad (3)$$

e quindi, tenendo conto della (1):

$$\Delta E = \gamma \cdot \hbar \cdot B_0 \quad (4)$$

Il valore di ΔE indica la quantità di energia che i nuclei debbono assorbire o cedere per passare da un livello all'altro, quest'ultimo rispettivamente superiore o inferiore. Sulla base della relazione di Bohr, questa energia può essere fornita da un quanto d'onda di frequenza ν_0 , tale che $h\nu_0 = \Delta E$ e quindi:

$$\nu_0 = \gamma B_0/2\pi \quad (5)$$

Tabella 1. - Principali nuclei utilizzati in NMR

Nucleo	Abbondanza naturale (%)	Spin	Rapporto giromagnetico (MHz/T)
^1H	99,98	1/2	42,57
^2H	0,02	1	6,53
^7Li	92,57	3/2	16,55
^{13}C	1,11	1/2	10,71
^{14}N	99,63	1	3,07
^{15}N	0,36	1/2	10,71
^{17}O	0,04	5/2	5,77
^{19}F	100,00	1/2	40,05
^{23}Na	100,00	3/2	11,26
^{31}P	100,00	1/2	17,23
^{35}Cl	75,53	3/2	4,17
^{37}Cl	24,47	3/2	3,47
^{39}K	93,10	3/2	1,99

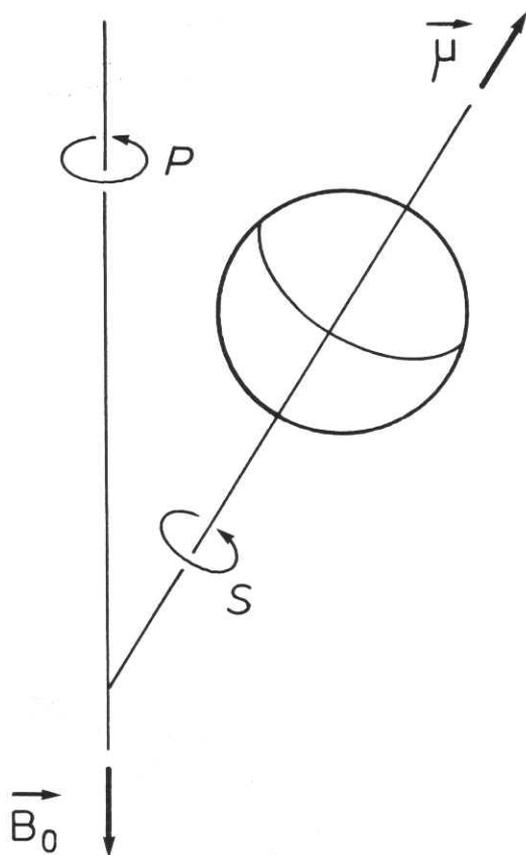


Fig. 1. - Moto schematico del momento magnetico nucleare, risultante dei momenti subnucleari, sottoposto all'azione di un campo magnetico esterno \vec{B}_0 . Sono indicati: il vettore di magnetizzazione $\vec{\mu}$, ed i moti di precessione (P) e di spin (S).

Comportamento del protone

Il comportamento dello spin del protone riveste un particolare interesse, da un lato perché di semplice descrizione e dall'altro perché il protone è il nucleo dell'atomo di idrogeno, l'elemento più diffuso in natura, di primario impiego nelle applicazioni diagnostiche della risonanza magnetica nucleare.

Essendo il numero quantico del protone pari a 1/2, i livelli energetici permessi sono due, corrispondenti alle componenti di spin +1/2 e -1/2, aventi direzioni opposte, rispettivamente parallela ed antiparallela a quella di \vec{B}_0 .

Le popolazioni protoniche si distribuiscono sui due livelli Zeeman in equilibrio dinamico, secondo l'equazione di Boltzmann:

$$N_{\text{sup}}/N_{\text{inf}} = e^{-\Delta E/kT} \quad (6)$$

con N_{sup} , numero di nuclei che si trovano nello stato superiore, instabile, e N_{inf} , numero di nuclei che si trovano nello stato inferiore, stabile; k, costante di Boltzmann e T, temperatura assoluta (in gradi Kelvin).

Lo stato stabile o fondamentale (dotato di energia più bassa), occupato da nuclei con spin parallelo al campo \vec{B}_0 , è allo stesso tempo più probabile, e quindi più popolato; lo stato instabile invece, occupato da nuclei con spin antiparallelo, possiede un valore più alto di energia, ed è meno popolato.

Magnetizzazione macroscopica

Il fenomeno della risonanza magnetica nucleare può essere più semplicemente descritto analizzando il comportamento di un insieme di nuclei paramagnetici attraverso il vettore di magnetizzazione macroscopica \vec{M}_0 .

A temperatura ambiente ed in assenza di campo, \vec{M} sarà nullo, mentre in presenza di campo magnetico \vec{B}_0 , \vec{M} è diretto lungo l'asse di \vec{B}_0 . La sua intensità è proporzionale all'intensità B_0 e decresce con l'aumentare della temperatura, alla quale è associata una energia cinetica ad effetto randomizzante. Pertanto, in condizioni di equilibrio magnetico del campione (corrispondente all'equilibrio dinamico tra le popolazioni di spin), \vec{M} non muterà nel tempo né di intensità (proporzionale all'eccesso di nuclei con spin parallelo) né di direzione rispetto a \vec{B}_0 (Fig. 2).

Il tradizionale sistema di coordinate cartesiane, essendo un sistema di riferimento in cui l'osservatore è fisso, risulta scomodo per poter seguire il comportamento del vettore di magnetizzazione \vec{M} , il quale è in movimento di precessione intorno a \vec{B}_0 . Conviene allora adottare un sistema di coordinate rotanti attorno alla direzione del campo magnetico, alla frequenza di Larmor.

Risonanza

La risonanza è un particolare fenomeno fisico che avviene tra due sistemi quando vi sia assorbimento o cessione di una data quantità di energia.

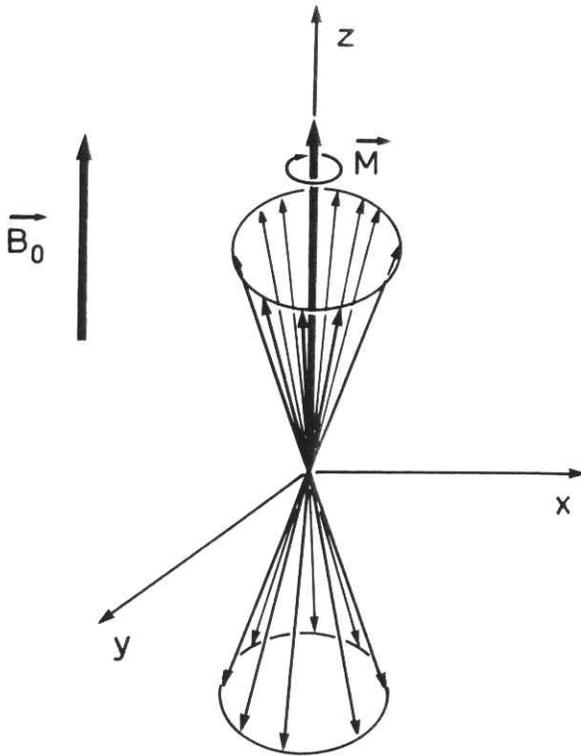


Fig. 2. - Un insieme di nuclei aventi spin $s = 1/2$, animati da moto di precessione e ripartiti sui livelli stabile ed instabile di energia magnetica, dà luogo ad un vettore di magnetizzazione macroscopica, dovuto all'eccesso di nuclei con spin parallelo.

Per realizzare la risonanza di un insieme di spin nucleari in un campo magnetico esterno \vec{B}_0 , il sistema di spin viene eccitato da un campo magnetico perturbatore \vec{B}_1 , oscillante alla frequenza della precessione di Larmor (nel sistema di coordinate rotanti, \vec{B}_1 è stazionario ed allineato lungo l'asse x oppure y). Comunemente, il campo \vec{B}_1 viene applicato per un tempo finito sotto forma di un impulso a radiofrequenza (RF) di ampiezza data.

Ne risulterà una rotazione del vettore di magnetizzazione macroscopica, il quale sarà animato da un moto di precessione sia attorno a \vec{B}_0 che attorno a \vec{B}_1 (nel sistema rotante però, \vec{M} si muove esclusivamente attorno a \vec{B}_1 , nel piano zy o zx) (Fig. 3).

L'angolo di rotazione α tra \vec{M} e \vec{B}_1 potrà essere calcolato a partire dall'equazione di Larmor che descrive il moto di precessione attorno al campo \vec{B}_1 :

$$v_1 = \gamma \cdot B_1 / 2\pi \quad (2)$$

Il numero di giri al secondo, N , effettuati nel tempo t di durata dell'impulso sarà allora:

$$N = \gamma \cdot B_1 \cdot t / 2\pi \quad (7)$$

e l'angolo di rotazione è dato da:

$$\alpha = \gamma \cdot B_1 \cdot t \quad (8)$$

Questa equazione descrive la dipendenza di α dalla durata dell'impulso, e spiega perché comunemente si parli di impulso a 15° , 90° , ecc.

Nella descrizione quantistica, la risonanza magnetica nucleare avviene quando il sistema di spin assorbe una energia pari alla differenza energetica tra livelli Zeeman adiacenti. Ciò si realizza irradiando gli spin nucleari con fotoni (onde elettromagnetiche) aventi l'energia (la frequenza) specificata dalla relazione 4 (5). In queste condizioni, il numero di nuclei con spin antiparallelo, ovvero la popolazione di spin nello stato a più alto livello energetico, aumenterà a spese della popolazione di nuclei con spin parallelo al campo magnetico (Fig. 4). La frequenza dell'onda elettromagnetica perturbatrice (situata nell'intervallo delle onde radio) deve essere pari alla frequenza di Larmor. In queste condizioni ne consegue, dal punto di vista classico, una alterazione della magnetizzazione macroscopica \vec{M} , la cui componente lungo l'asse z decrescerà, fino a scomparire quando le due popolazioni divengono uguali, rimanendo in equilibrio dinamico tra loro.

Fenomeni di rilassamento

Principi generali. - In condizioni di equilibrio dinamico, nel sistema di spin i nuclei possono subire transizioni tra livelli energetici adiacenti, sia scambiandosi tra loro la propria energia magnetica (interazione spin-spin), sia scambiando l'energia magnetica con l'energia termica dell'ambiente circostante (interazione spin-reticolo).

Pertanto, una volta cessato l'impulso perturbatore, il sistema torna allo stato di equilibrio dinamico iniziale, cedendo l'energia assorbita durante l'eccitazione, con due modalità ben definite dal punto di vista temporale: da un

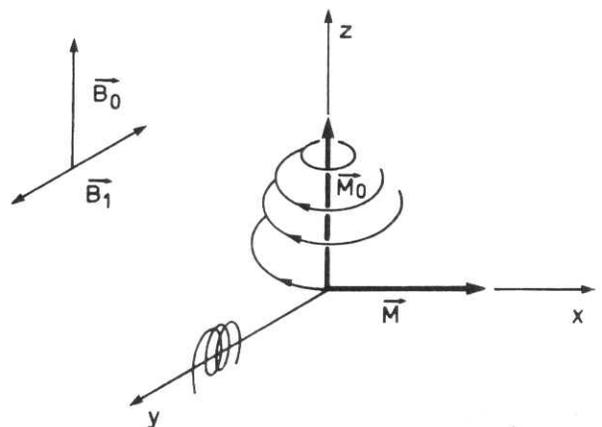


Fig. 3. - Effetti sul vettore di magnetizzazione macroscopica \vec{M} , di un campo magnetico oscillante \vec{B}_1 applicato, lungo l'asse y , ad un sistema di spin immerso in un campo magnetico statico \vec{B}_0 . \vec{M}_0 indica il vettore di magnetizzazione all'equilibrio, prima dell'applicazione del campo perturbatore \vec{B}_1 . Quest'ultimo imprime alla magnetizzazione un complesso moto di precessione che, se la perturbazione ha durata sufficientemente lunga, porta il vettore \vec{M} a giacere sull'asse x (come indicato).

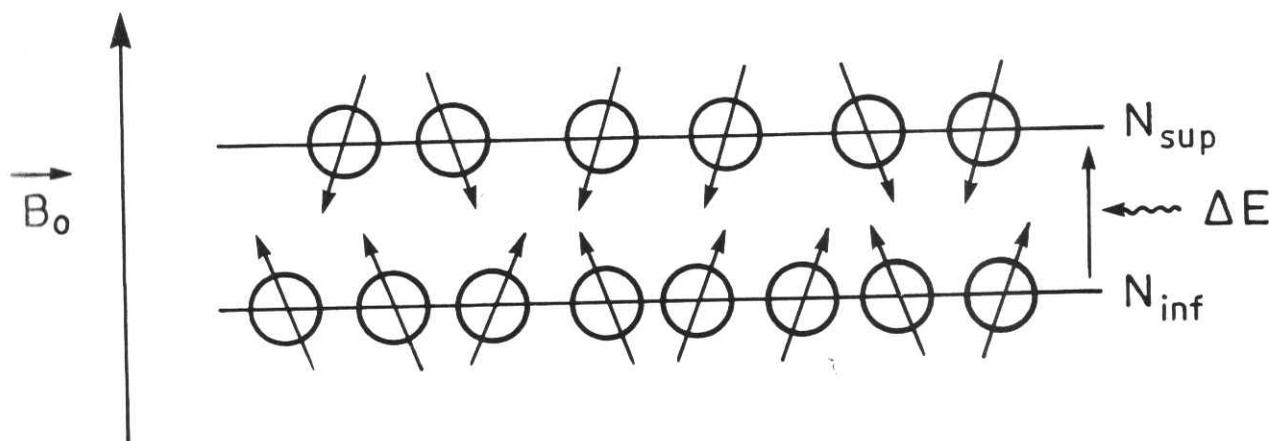


Fig. 4. - Modello quantico dell'assorbimento di energia tra i due livelli Zeeman di un insieme di nuclei aventi spin $s = 1/2$, in un campo magnetico statico \vec{B}_0 . La differenza di energia, ΔE , tra le popolazioni aventi lo spin rispettivamente antiparallelo (N_{sup} , livello superiore) e parallelo a \vec{B}_0 (N_{inf} , livello inferiore) è data dall'equazione di Planck.

lato mediante meccanismi di cessione dell'energia in eccesso all'ambiente circostante (rilassamento spin-reticolo) e dall'altro mediante scambi interni di onde elettromagnetiche (rilassamento spin-spin), i cui effetti caratterizzano la risposta del sistema di spin all'impulso iniziale.

Rilassamento spin-reticolo. - Nella terminologia NMR si intende per reticolo (in inglese *lattice*) l'ambiente molecolare circostante, che esercita su un dato nucleo campi magnetici locali generati dai nuclei e/o dagli elettroni circostanti.

Nei liquidi, il reticolo è costituito essenzialmente da nuclei animati da movimenti di tipo browniano, a cui sono associati campi magnetici fluttuanti. Quando la frequenza di un campo magnetico fluttuante del reticolo si avvicina alla frequenza di Larmor, la condizione di risonanza sarà verificata e vi sarà scambio di energia tra il sistema degli spin e l'intorno chimico-fisico. Il rilassamento spin-reticolo che ne consegue è caratterizzato da una costante di tempo indicata come T_1 e detta anche tempo di rilassamento termico, energetico o longitudinale, in quanto interessa l'andamento della magnetizzazione macroscopica lungo l'asse z (direzione di \vec{B}_0), M_z .

Rilassamento spin-spin. - Allo stato eccitato, i nuclei idealmente animati da un'identica frequenza di Larmor, scambiano vicendevolmente energia magnetica in una situazione di equilibrio dinamico.

In realtà però, essendo gli spin sottoposti all'azione di campi magnetici locali leggermente diversi, avviene uno sfasamento nei rispettivi moti di precessione di Larmor, cioè una perdita della coerenza di fase tra le componenti microscopiche di \vec{M} , che si traduce in una progressiva diminuzione della magnetizzazione macroscopica sul piano trasversale (Fig. 5). Questa decresce con una costante di tempo detta T_2 o tempo di rilassamento spin-

spin, entropico, di fase o trasversale, in quanto segue l'andamento di M_{xy} .

Il valore del tempo T_2 è inferiore o al massimo pari a quello di T_1 .

Due fenomeni sono responsabili delle variazioni locali del campo magnetico sentito dai nuclei: 1) la presenza di campi locali dovuti a momenti magnetici vicini (associati ad altri nuclei o ad elettroni spaiati), che causano nel sistema le interazioni spin-spin anzidette; 2) le disomogeneità locali del campo statico esterno, $\Delta\vec{B}_0$. La velocità con cui la componente trasversale del vettore di magnetizzazione M_{xy} decade a zero, rappresenta quindi la somma delle velocità di decadimento dovute rispettivamente alle interazioni spin-spin da una parte, e alle disomogeneità del campo esterno dall'altra:

$$1/T_2^* = 1/T_2 + \gamma \cdot B_0/2\pi \quad (9)$$

dove T_2^* è il tempo di rilassamento trasversale totale apparente (osservato).

Equazioni di Bloch. - L'ampiezza della magnetizzazione M è definita in funzione del tempo e rispetto alle sue tre componenti spaziali mediante le equazioni di Bloch, le cui espressioni semplificate sono le seguenti:

$$M_{xy}(t) = M_0 \cdot e^{-t/T_2} \quad (10)$$

$$M_z(t) = M_0 (1 - e^{-t/T_1}) \quad (11)$$

dove M_0 è il valore della magnetizzazione macroscopica prima dell'impulso perturbatore. Per t tendente all'infinito, M_z tende a M_0 ; quindi M_0 è anche indicato come M_∞ , valore finale della magnetizzazione. In pratica M_z tende a M_∞ per $t > 5 \cdot T_1$.

Gli andamenti temporali di M_{xy} , M_z e \vec{M}_0 , in funzione del tempo t , sono schematicamente riportati in Fig 6a, 6b.

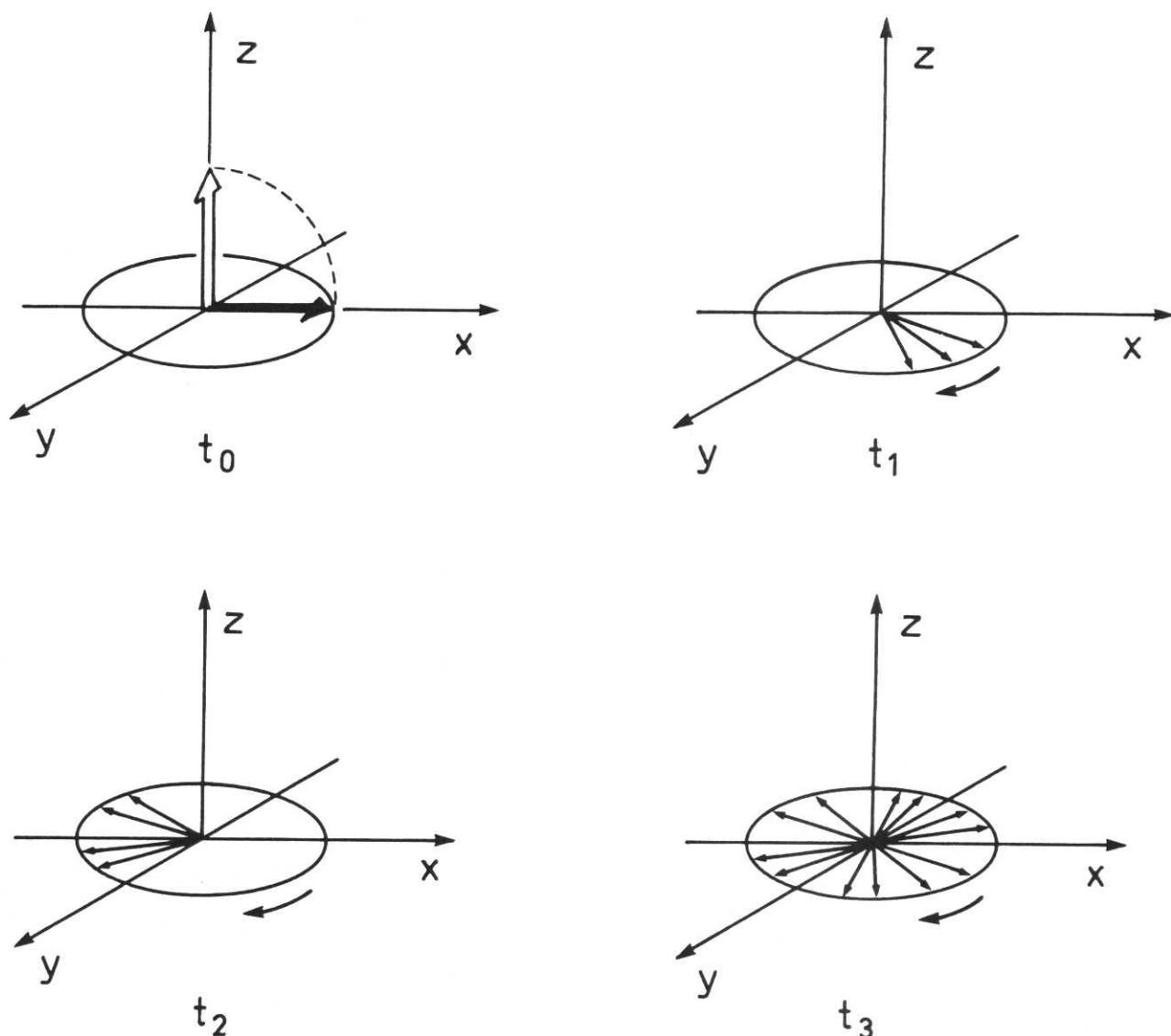


Fig. 5. - Progressivo sfasamento in un sistema di spin (rappresentato in quattro tempi successivi), causato dal rilassamento trasversale, dopo un impulso a radiofrequenza di 90° , applicato al vettore di magnetizzazione \vec{M} del sistema stesso, in un campo magnetico statico \vec{B}_0 .

Segnale NMR

Funzione del tempo (FID). - Il ritorno all'equilibrio della magnetizzazione macroscopica può essere rivelato utilizzando una bobina a induzione elettromagnetica, situata nel piano trasversale, xy . Il segnale, indotto nella bobina sotto forma di tensione elettrica, è detto segnale di decadimento libero (o FID, dall'inglese *free induction decay*). Il segnale di una data specie nucleare, in un campo magnetico omogeneo, si presenta sotto forma di un'oscillazione avente la frequenza di Larmor, di ampiezza proporzionale al valore della componente M_{xy} , che decade quindi nel tempo secondo la costante di tempo T_2^* .

Nel caso di una o più specie nucleari sottoposte a campi locali differenti, il FID è una funzione più com-

plexa, risultante dalla somma dei FID di ciascun insieme di nuclei sottoposti alle diverse condizioni di risonanza, associate ai rispettivi campi magnetici locali.

Funzione della frequenza. - Il segnale oscillante ricevuto dalla bobina, digitalizzato mediante convertitore analogico-digitale e memorizzato mediante calcolatore, può essere analizzato in frequenza, applicando l'algoritmo di trasformata di Fourier, che permette di determinare le intensità del segnale in corrispondenza delle diverse frequenze presenti nel segnale raccolto [6] (Fig. 7).

Nei moderni calcolatori, questa operazione viene eseguita generalmente utilizzando la cosiddetta trasformata veloce di Fourier (*fast fourier transform*, FFT) la quale, eliminando le operazioni ridondanti permette una notevole riduzione di tempo.

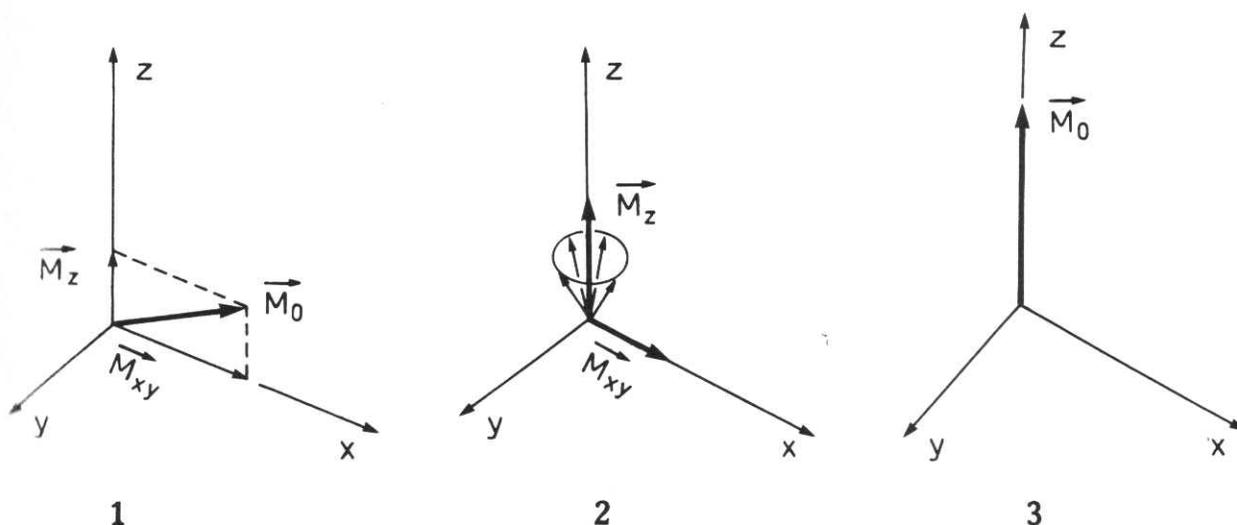


Fig. 6a. - Andamento della magnetizzazione dopo un impulso a 45°: il componente di \vec{M} sul piano xy (su cui viene rivelato il segnale) (1) va gradualmente attenuandosi a causa del rilassamento (2), mentre M_z ricresce fino a tornare al valore di equilibrio M_0 (3).

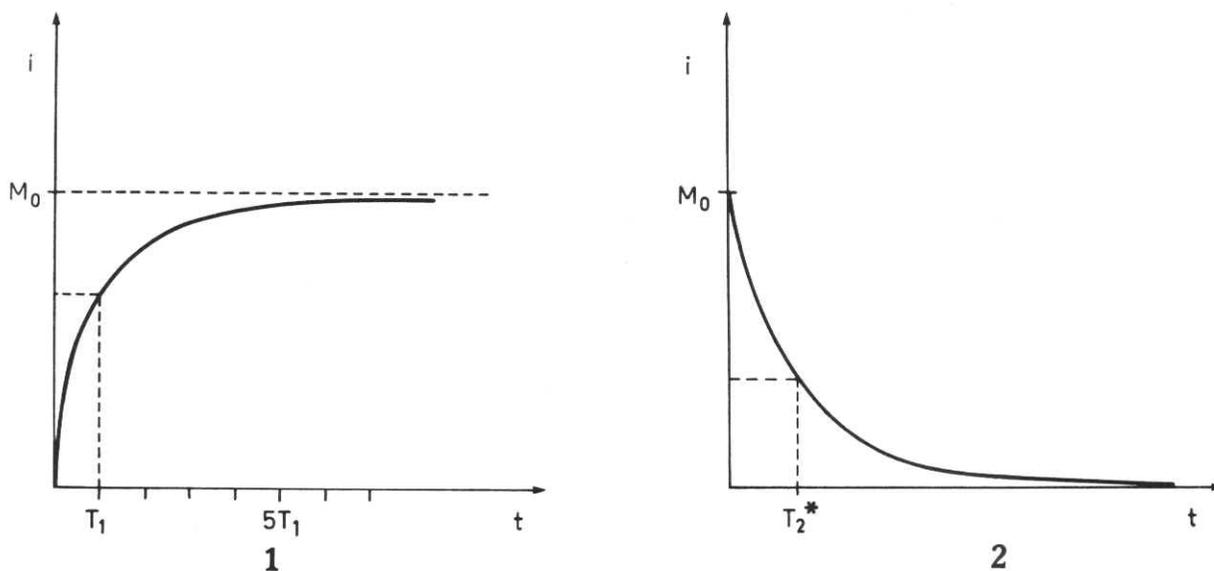


Fig. 6b. - Andamento temporale delle intensità (i) della magnetizzazione longitudinale (1) e trasversale (2) dopo un impulso perturbatore a 90°.

Strumentazione NMR

Introduzione

Un'apparecchiatura NMR è tipicamente costituita dai seguenti componenti (Fig. 8):

- magneti, con i relativi circuiti di alimentazione e di raffreddamento;
- trasmettitore di impulsi a RF;
- antenna;
- ricevitore di impulsi a RF;
- sistema di acquisizione e di elaborazione dei dati.

Magnete

Magnete permanente. - I magneti di tipo permanente sfruttano le proprietà ferromagnetiche di leghe note. Essi

presentano il vantaggio di non consumare potenza e di non richiedere un sistema di raffreddamento per il mantenimento del loro campo magnetico.

Il peso di questi magneti è considerevole (tipicamente circa 100 tonnellate) e il valore del campo limitato. Le odierne tecnologie, in fase di rapido sviluppo, stanno spostando questi limiti verso valori più favorevoli sia in termini di intensità di campo ottenibile (oltre 0,2 tesla), sia di riduzione del peso.

Magnete resistivo. - I magneti resistivi sono costituiti da spire di materiale conduttivo in cui viene fatta circolare una corrente continua di forte intensità. Se la geometria delle spire è opportuna, il campo magnetico prodotto per induzione sarà soddisfacentemente omogeneo. Rispetto ai precedenti magneti, il peso è più contenuto (dell'ordine di qualche tonnellata), tuttavia il con-

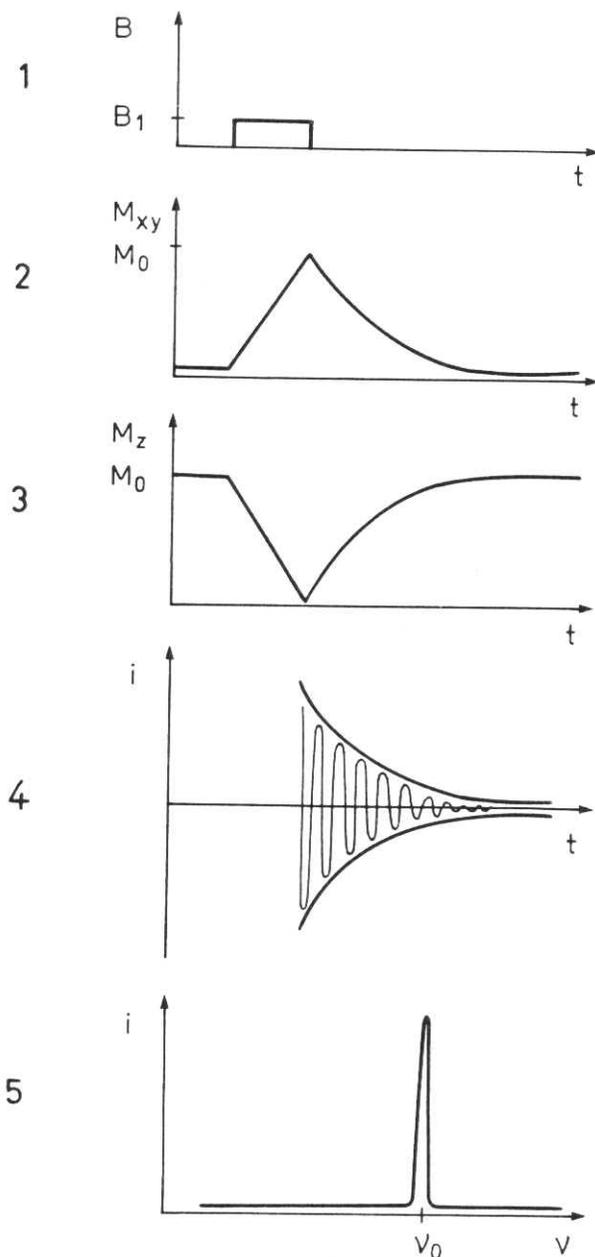


Fig. 7. - Riepilogo di un esperimento di NMR (impulso a 90°). 1) impulso perturbatore a radiofrequenza; 2) andamento di M_{xy} rispetto al tempo; 3) andamento di M_z rispetto al tempo; 4) segnale di FID (*free induction decay* o decadimento libero); 5) segnale ottenuto dalla trasformata di Fourier del FID.

sumo di corrente elettrica è elevato, ed è necessario disporre di un sistema di raffreddamento di grandi capacità.

Magnete ibrido. - Tutt'ora in fase di studio, i magneti ibridi si situano tra i permanenti ed i resistivi. Questi magneti possono produrre campi di intensità di valore intermedio, anche superiore a quello ottenibile da magneti resistivi semplici, con un minore consumo di energia elettrica.

Magnete superconduttore. - Particolari leghe, dette superconduttrici, se raffreddate a temperature vicine allo

zero assoluto presentano valori della resistenza elettrica tendenti allo zero. Ciò consente di instaurare in esse correnti permanenti di elevata intensità, senza ulteriori forniture di energia elettrica, oltre quella necessaria per l'energizzazione originaria. Tali leghe, che possono essere lavorate nella forma di fili adatti ad essere avvolti in bobine di opportuna geometria, vengono utilizzate per costruire magneti superconduttori orizzontali o verticali operanti sia a campi intermedi che elevati (tipicamente superiori a 0,3 tesla) e con *bore* di vari diametri (da pochi centimetri al metro). Un magnete superconduttore o crioscopico implica elevati costi di gestione sotto forma di fornitura continua di liquidi criogenici. Tale magnete comprende generalmente un doppio sistema di raffreddamento: il primo, all'azoto liquido (97 K) che avvolge il secondo, all'elio liquido (4 K), nel quale è immersa la bobina superconduttrice. Altri sistemi utilizzano esclusivamente elio per il mantenimento della bobina alla temperatura di superconduzione.

I limiti superiori del campo dipendono dal tipo di lega usata, ma sono comunque piuttosto elevati (oltre 100 kgauss).

Campi magnetici di correzione. - Particolari bobine aggiuntive, dette *shim coils* permettono di ridurre le disomogeneità di campo inerenti al magnete. Simili correzioni sono operate anche mediante una opportuna distribuzione di frammenti di materiale ferromagnetico, inseriti all'interno del magnete.

Sistema di rice-trasmissione

Trasmittitore. - Sorgente a radiofrequenza, il trasmettitore emette impulsi di frequenza vicini alla frequenza di Larmor, tipicamente della durata dell'ordine dei microsecondi.

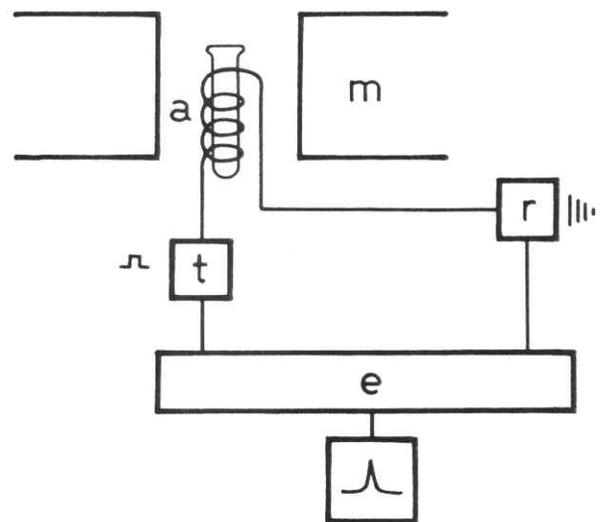


Fig. 8. - Schema di apparecchiatura NMR. m = magnete; a = antenna; t = trasmettitore; r = ricevitore; e = elaboratore.

Antenna. - Una bobina ad induzione elettromagnetica posta lungo la direttrice dell'asse x o y viene utilizzata come antenna, che trasforma la variazione di flusso magnetico nel tempo in corrente elettrica.

La geometria di tale bobina, all'interno della quale è posto il campione, è cruciale per la qualità del segnale prodotto.

Ricevitore. - Il ricevitore trasmette il segnale captato dall'antenna al convertitore analogico-digitale, mediante il quale il FID viene digitalizzato e successivamente elaborato e registrato.

Spettroscopia NMR

Introduzione

Sottoposti alla stessa intensità di campo magnetico, nuclei con lo stesso rapporto giromagnetico dovrebbero in teoria assorbire energia in un intervallo di frequenze infinitamente stretto, dando così luogo ad un segnale formato da una singola linea di risonanza. In pratica però il segnale si distribuisce in un intervallo di frequenze relativamente ampio. Lo spettro di frequenze così ottenuto è dovuto all'azione combinata di numerosi fattori, dall'analisi dei quali è possibile ricavare importanti informazioni circa la natura del nucleo e dell'intorno chimico-fisico. Tale analisi è alla base delle applicazioni chimiche, biochimiche ed in particolare anche biologiche e cliniche, della risonanza magnetica nucleare [5, 7-15].

Condizioni sperimentali della spettroscopia NMR in alta risoluzione

La spettroscopia NMR si realizza utilizzando campi magnetici stabili ed omogenei. Esistono particolari dispositivi che minimizzano le fluttuazioni del campo statico durante le misure. Tipicamente, nella spettrometria NMR analitica, ciò viene realizzato mediante circuiti di stabilizzazione, il più sensibile dei quali consiste in un sistema di *feedback*, che mantiene la condizione di risonanza per un dato nucleo di una particolare sostanza (ad es. per i nuclei del deuterio dell'acqua deuterata), posta all'interno od all'esterno del campione in esame.

L'omogeneità del campo magnetico viene corretta da particolari bobine di *shim*. Inoltre, negli spettrometri NMR analitici, la provetta (cilindrica) contenente il campione viene fatta ruotare, allo scopo di mediare i valori assunti dal campo magnetico nel piano ove si trova il nucleo in risonanza, riducendo così gli effetti della residua disomogeneità di campo.

I tradizionali studi NMR analitici vengono eseguiti su soluzioni o sospensioni in solventi liquidi, in cui i moti molecolari sono sufficientemente rapidi da mediare le interazioni dipolo-dipolo. E' stato comunque dimostrato che le tecniche spettroscopiche NMR possono essere efficacemente estese all'analisi di cellule in sospen-

sione e di sistemi tissutali intatti, sia *in vitro* che *in vivo* [16-18].

Allo scopo di migliorare la sensibilità spettrale, specialmente per lo studio dei nuclei naturalmente poco abbondanti e/o con basso valore di rapporto giromagnetico, il valore del campo magnetico esterno deve essere il più elevato possibile.

L'introduzione negli anni '70 di metodologie NMR impulsive e in trasformata di Fourier (FT) ha inoltre notevolmente migliorato la sensibilità ottenibile operando ad un dato valore del campo e in un dato intervallo di tempo. A questo scopo viene inviato al campione un impulso a RF di forte intensità e tale da coprire un'ampia banda di frequenze, capace di indurre la risonanza su tutti i nuclei che posseggono uno stesso valore del rapporto giromagnetico; ciascun FID acquisito viene digitalizzato, sommato al precedente e la somma memorizzata mediante calcolatore. Lo spettro finale viene ottenuto applicando l'algoritmo di FT alla somma dei FID così accumulati. Il rapporto segnale/rumore aumenta con la radice quadrata del numero di accumuli.

Meccanismi di formazione dello spettro

Principi generali. - La distribuzione spettrale del segnale NMR è dovuta al fatto che i campi magnetici effettivamente sentiti dai nuclei nei diversi sistemi molecolari differiscono tra loro, sia pur lievemente.

In riferimento ai tempi di rilassamento, si è detto come all'interno del campione si generino campi magnetici locali di natura sia nucleare che elettronica. In tal modo, ogni nucleo avrà attorno un particolare campo magnetico, \vec{B}_{eff} , determinato dalla somma vettoriale del campo magnetico esterno applicato (\vec{B}_0) e del campo magnetico locale (\vec{B}_{loc}), generato dal particolare intorno chimico intra- ed intermolecolare:

$$\vec{B}_{\text{eff}} = \vec{B}_0 + \vec{B}_{\text{loc}} \quad (12)$$

La frequenza di risonanza di tale nucleo sarà quindi

$$\nu_{\text{eff}} = \gamma \cdot B_{\text{eff}}/2\pi \quad (13)$$

Spostamento chimico (chemical shift). - Il moto degli elettroni responsabili dei legami chimici all'interno di una molecola genera un campo magnetico locale, che scherma parzialmente il campo magnetico esterno visto da un dato nucleo. Ne consegue uno spostamento della frequenza di risonanza del nucleo osservato, il cui valore dipende dalla natura del particolare intorno chimico che circonda il nucleo stesso (legami chimici con altri atomi nel particolare gruppo chimico di appartenenza, legami di questo con gruppi adiacenti, conformazione e configurazione molecolare, interazioni con il solvente ed altre molecole):

$$\nu' = \gamma \cdot B_0 (1 - \sigma)/2\pi \quad (14)$$

dove σ è un fattore di schermo elettronico.

Ne risulterà uno spostamento "chimico" della frequenza di risonanza di nuclei della stessa specie posti in diversi intorni chimici (e quindi anche nell'ambito di una stessa molecola).

Essendo più agevole determinare (con una accuratezza dell'hertz o sue frazioni) la posizione relativa di due segnali che non la loro frequenza assoluta, lo spostamento chimico è generalmente misurato rispetto a quello di un altro segnale assunto come riferimento. Dal momento che la differenza tra le frequenze di risonanza dipende dal valore del campo magnetico esterno, si usa esprimere lo spostamento chimico (in inglese, *chemical shift*) in una unità adimensionale e cioè in parti per milione (ppm):

$$\delta = (v_r - v_c) \cdot 10^6/v_s \quad (15)$$

dove $(v_r - v_c)$ è la differenza tra le rispettive frequenze di risonanza della sostanza di riferimento e del campione (in Hz) e v_s è la frequenza operativa dello strumento (in MHz).

Accoppiamento spin-spin. - Gli spin di nuclei vicini interagiscono tra loro attraverso i legami intramolecolari esistenti tra i rispettivi atomi. Ciò provoca un'ulteriore suddivisione del segnale di risonanza in multipletti di righe il cui numero, m , dipenderà dal numero quantico di spin, s , e dal numero degli altri nuclei interagenti, n , cioè $m = 2 \cdot n \cdot s + 1$. Le intensità relative dei singoli picchi componenti sono date dai coefficienti binomiali, mentre la distanza tra le righe spettrali è indipendente dal valore del campo esterno e prende il nome di costante di accoppiamento spin-spin, j , espressa in Hz.

Caratteristiche del segnale NMR. - La larghezza del segnale a metà altezza dipende dal tempo di rilassamento T_2 del gruppo chimico corrispondente, nonché dall'inomogeneità di campo magnetico e dalla velocità di un eventuale scambio chimico del nucleo in risonanza tra due posizioni non equivalenti.

L'area compresa sotto il segnale è proporzionale al numero di nuclei che contribuiscono al segnale. Conseguentemente, una concentrazione nota di nuclei potrà essere presa come standard di riferimento per la determinazione quantitativa dei livelli di concentrazione di un dato gruppo chimico (Fig. 9).

Tomografia NMR

Introduzione

La tomografia a risonanza magnetica nucleare è una moderna ed interessante tecnica che associa l'uso della NMR ai principi di ricostruzione tomografica dell'immagine.

Nata nel 1973 da un'idea di Lauterbur [19], ma definitivamente impostasi nel campo della diagnostica medica per immagini solo a partire dal 1980 [20-30] essa

viene generalmente applicata alla risonanza magnetica protonica in maniera da visualizzare la struttura interna di un corpo, in base alla diversa concentrazione dell'atomo di idrogeno (in pratica delle molecole di acqua e grassi) nei tessuti.

L'importanza dell'*imaging* a risonanza magnetica (MRI) è dovuta al fatto che essa raccoglie i vantaggi di altre metodologie di ottenimento dell'immagine, senza però presentare alcuni dei loro inconvenienti. Analogamente alla tomografia computerizzata di trasmissione (TC), la MRI permette oggi di ottenere immagini dotate di una eccellente risoluzione spaziale. Analogamente alle tecniche di medicina nucleare, la MRI presenta affascinanti potenzialità nel seguire processi metabolici e morfo-funzionali dei tessuti; come l'ecografia infine, essa fornisce un gran numero di informazioni circa la natura del tessuto visualizzato, senza ricorrere all'impiego di radiazioni ionizzanti.

Principi generali

Per costruire un'immagine a partire dai nuclei in risonanza, è necessario localizzare nello spazio tali nuclei, che sono unicamente caratterizzati dalla loro frequenza di Larmor. Ciò è realizzabile irradiandoli selettivamente, senza effettuare spostamenti meccanici per selezionare lo strato o la regione di interesse, ma semplicemente facendo variare elettronicamente nelle tre dimensioni il valore del campo magnetico esterno. L'unica condizione che si impone è rappresentata dal fatto che la variazione imposta a B_0 sia sufficientemente intensa da rendere trascurabili le differenze tra i campi magnetici locali sperimentati dagli spin, le quali sono invece alla base della spettroscopia NMR, come abbiamo testé osservato.

A tale scopo viene generalmente sovrapposto al campo magnetico statico un debole campo che varia linearmente nello spazio, cioè un gradiente di campo magnetico lineare \vec{G} , con componenti nelle tre dimensioni dello spazio.

Acquisizione dei dati mediante codificazione in frequenza

Tramite la relazione fondamentale della risonanza magnetica, la variazione del campo esterno prodotta dal gradiente \vec{G} applicato, implica una proporzionale variazione della frequenza di Larmor; per \vec{G} diretto lungo l'asse x , per ogni punto, il campo magnetico assumerà il seguente valore:

$$B = B_0 + G_x \cdot x \quad (16)$$

cui corrisponderà la frequenza:

$$v_0 = \gamma (B_0 + G_x \cdot x)/2\pi \quad (17)$$

L'intensità del segnale in funzione della frequenza fornirà dunque la distribuzione delle densità protoniche lungo l'asse x ed alle frequenze dello spettro potranno attribuirsi così le coordinate spaziali (Fig. 10a).

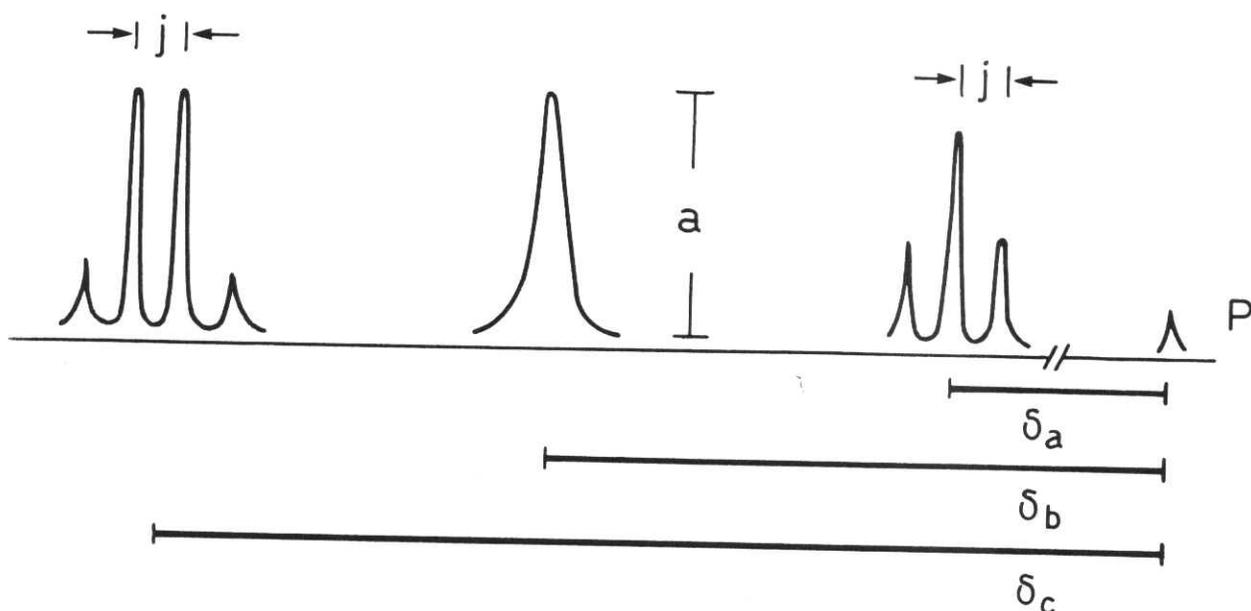


Fig. 9. - Segnali (schematici) di risonanza magnetica protonica di un gruppo chimico. P = segnale della sostanza di riferimento; a = altezza del picco; j = costante di accoppiamento; δ = spostamento chimico.

Ricostruzione dell'immagine mediante codificazione in frequenza

La zeugmatografia proposta inizialmente da Lauterbur [19] ricalca essenzialmente il procedimento ricostruttivo assunto per la tomografia di trasmissione, chiamato *filtered back-projection* (vedi il capitolo "Proprietà generali della PET").

Lo spettro delle frequenze, raccolto per una data direzione è detto "proiezione" e rappresenta il profilo della densità protonica per quell'angolo. Variando poi la direzione del gradiente e ricombinando le diverse proiezioni ottenute, è possibile ricostruire la distribuzione degli spin risonanti nello spazio, con l'ausilio di un calcolatore.

Tale procedimento è del tutto analogo nella versione bidimensionale, ove il gradiente è ruotato solo in un piano, limitando l'eccitazione ad uno strato di spessore predeterminato (Fig. 10b) e nella versione tridimensionale, ove l'immagine ottenuta viene raccolta in memoria e potrà essere esaminata, strato per strato, in qualsiasi direzione [31].

Il vantaggio di questa metodica è dato dalla sua relativa semplicità e dall'uso di algoritmi ricostruttivi ben noti; gli inconvenienti sono invece dovuti all'elevata sensibilità agli artefatti associati al movimento, nonché alle disomogeneità di campo.

Altre tecniche di ricostruzione dell'immagine mediante la codificazione in frequenza

Metodo del gradiente oscillante. - Hinshaw *et al.* [32, 33] hanno proposto l'uso di un gradiente di campo a cui viene impresso un andamento sinusoidale. La frequenza di risonanza che caratterizza ogni elemento del campione

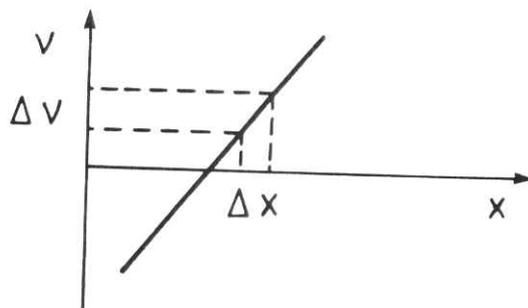
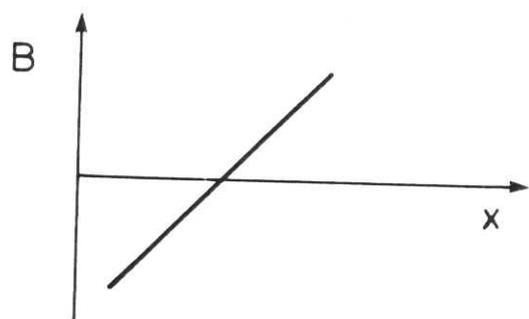
segue analogo andamento nel tempo, tranne che in un piano, detto di inversione, ove il valore del gradiente è sempre nullo. Tale piano rappresenta in un certo senso il "perno" attorno al quale oscillano i gradienti (Fig. 11).

Sotto ponendo il campione all'azione di due gradienti oscillanti perpendicolari tra loro si selezionerà una linea su cui agisce un campo statico, in corrispondenza dell'intersezione dei rispettivi piani di inversione. Un terzo gradiente, oscillante e perpendicolare ai primi due, selezionerà solo un punto, detto punto sensibile, il cui FID è facilmente separabile dagli altri, così consentendo di misurare parametri relativi alla zona scelta per l'osservazione.

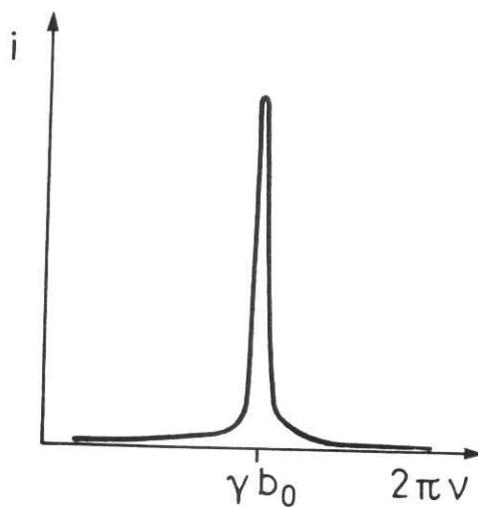
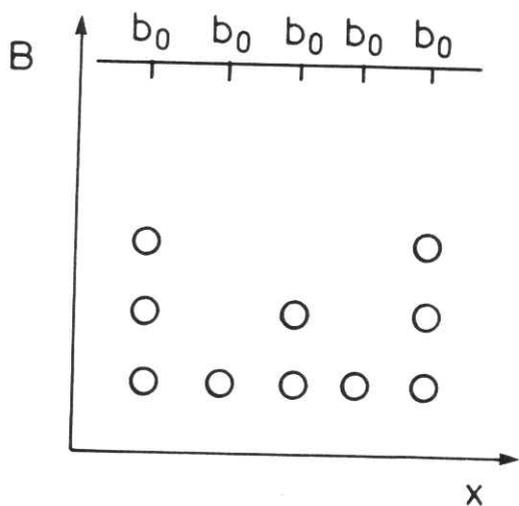
Inoltre, variando opportunamente i tre gradienti oscillanti, sarà possibile muovere il punto sensibile all'interno dell'oggetto ed ottenere, dopo un certo periodo di tempo, l'immagine dell'intero volume senza dover ricorrere a complicate ricostruzioni o elaborazioni del segnale.

Metodo dell'irraggiamento selettivo. - Quando l'impulso RF copre l'intera gamma delle frequenze di risonanza caratterizzanti il campione sottoposto all'azione del gradiente, l'intero volume verrà eccitato da tale impulso, detto pertanto non selettivo.

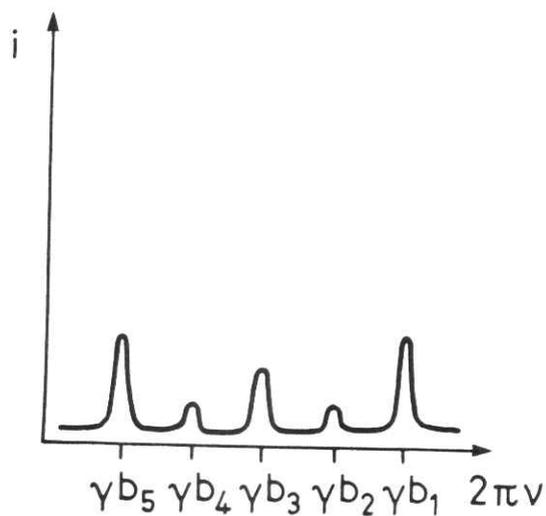
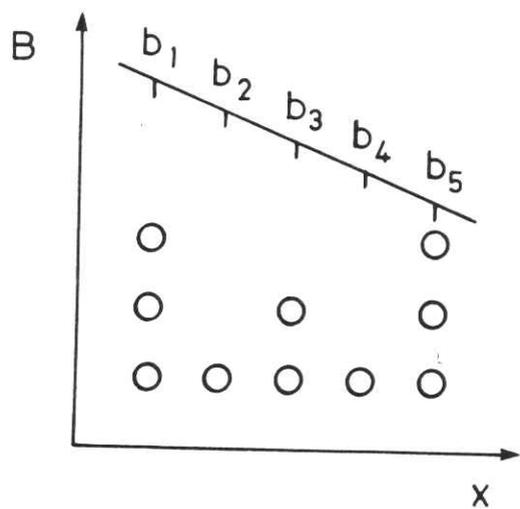
L'irraggiamento del campione da parte di un impulso selettivo, la cui ampiezza cioè è modulata nel tempo attraverso una particolare funzione detta antitrasformata di Fourier, consente di eccitare esclusivamente uno strato del campione. Secondo questo metodo, proposto da Mansfield *et al.* [34, 35], lo strato sarà situato nella regione dello spazio ove i valori del campo magnetico saranno tali da consentire la risonanza dei nuclei, le cui frequenze di Larmor sono comprese entro la gamma di



1



2



3

Fig. 10a. - Effetto del gradiente di campo magnetico sulla frequenza di risonanza (1). L'esempio indica come si comporta un sistema di 10 provette in assenza (2) ed in presenza (3) di gradiente.

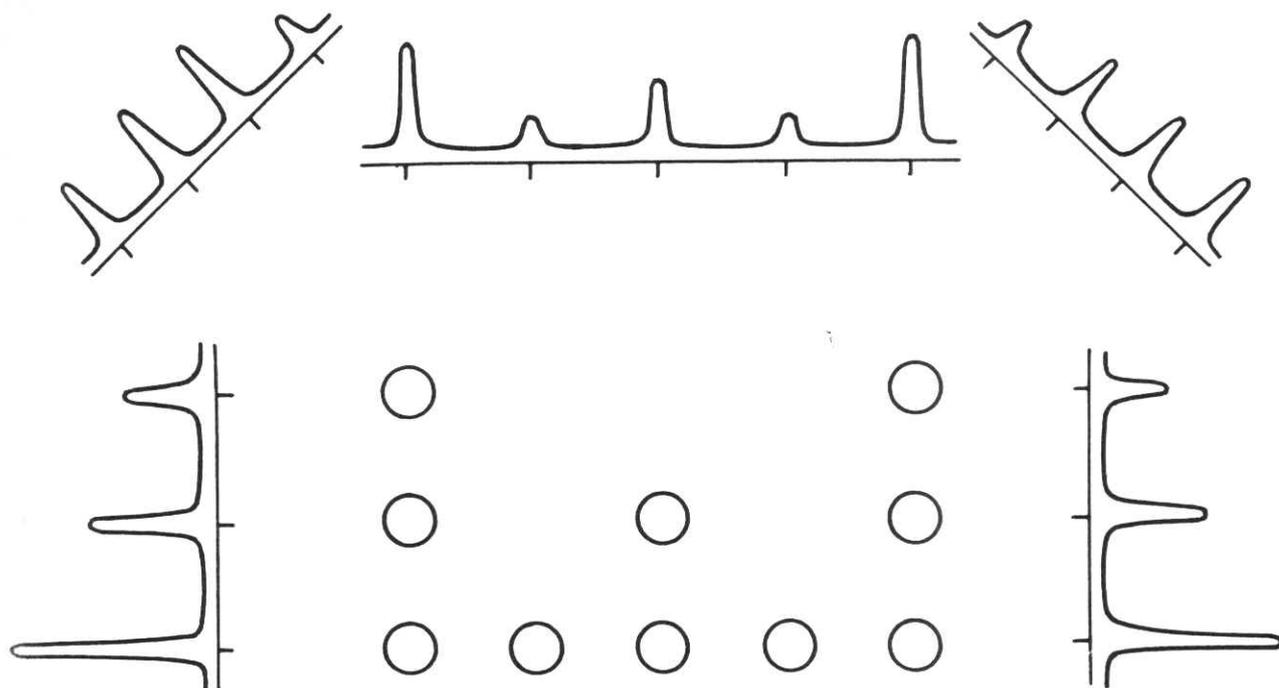


Fig. 10b. - Profili di densità protonica delle 10 provette indicate in Fig. 10a, ottenuti facendo variare la direzione del gradiente di campo magnetico.

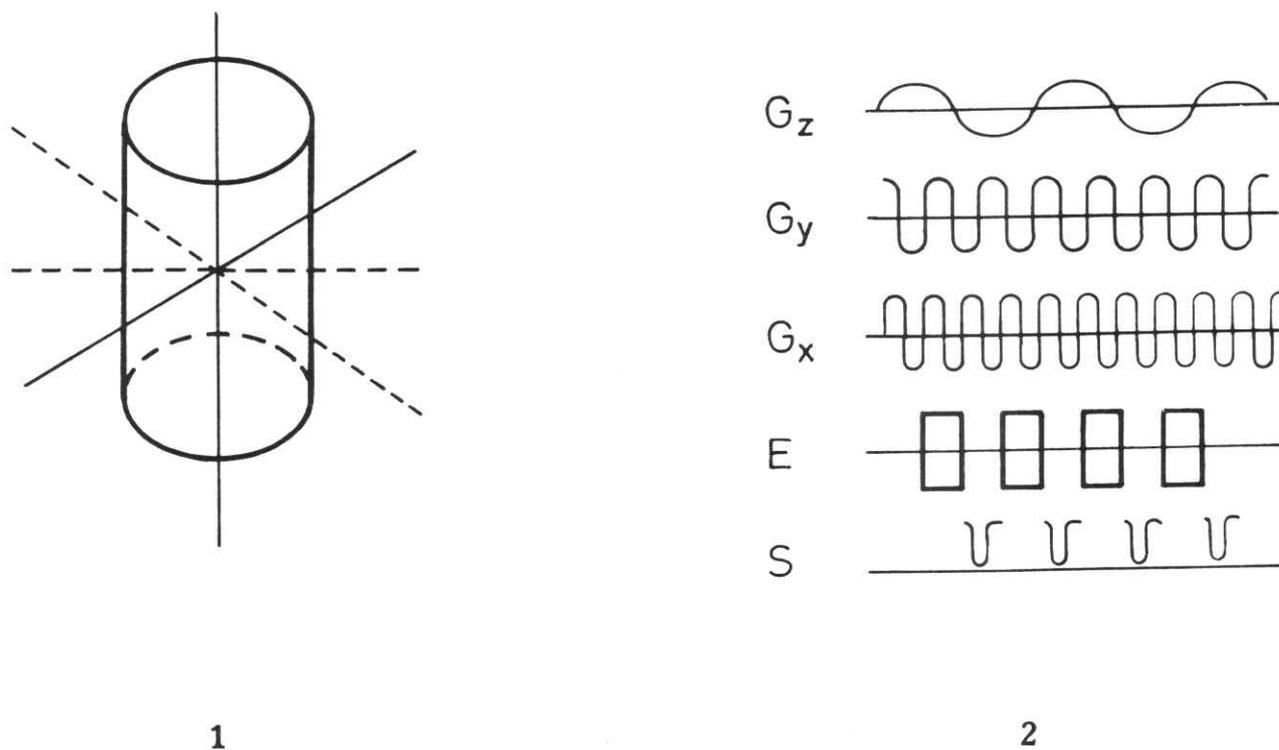


Fig. 11. - Acquisizione, secondo il metodo del gradiente oscillante intorno ad un piano isomagnetico (1). Serie di gradienti oscillanti (G_x , G_y , G_z) e di impulsi di eccitazione a 90° (E); S = segnale NMR (2).

frequenze appartenenti all'impulso selettivo. Lo spessore dello strato sarà proporzionale alla durata dell'impulso selettivo ed inversamente proporzionale al valore del gradiente. In tal caso, il campione è sottoposto ciclicamente ad impulsi di gradiente lineari lungo gli assi x , y , z per tempi t_x , t_y e t_z . Utilizzando un impulso selettivo contenente più di una frequenza di base si otterrà un notevole risparmio di tempo, in quanto il segnale risultante conterrà l'insieme delle informazioni corrispondenti ai vari strati eccitati. Ciò consentirà altresì di migliorare la sensibilità, a scapito ovviamente della risoluzione spaziale.

Al fine di selezionare una riga, subito dopo l'eccitazione dello strato, un gradiente viene orientato trasversalmente al precedente ed un impulso selettivo viene inviato al sistema (Fig. 12).

Metodo del campo magnetico disomogeneo. - Il campo magnetico impiegato in questa tecnica è fortemente disomogeneo in tutto lo spazio tranne che in un punto. Filtrando opportunamente lo spettro ottenuto dal campione, si ottiene esclusivamente il segnale proveniente dal piccolo volume predeterminato.

Tale metodica si rivela di scarsa utilità se applicata alla formazione dell'immagine (FONAR), in quanto l'osservazione successiva di tutti i piccoli elementi di volume dell'oggetto necessita lunghi tempi di esame; viceversa, il campo magnetico disomogeneo è stato impiegato con successo nella spettroscopia *in vivo* (topical NMR) [36].

Acquisizione dei dati mediante la codificazione in fase

In presenza di un campo magnetico omogeneo, gli spin si muovono in maniera sincrona e, se si esclude la perdita di coerenza da rilassamento trasverso, non verranno indotti a fenomeni di sfasamento. Una volta applicato il gradiente di campo magnetico, però, gli spin saranno sottoposti, a seconda della loro posizione nello spazio, a campi magnetici di intensità diversa e saranno quindi animati da moti di precessione caratterizzati da frequenze diverse.

La velocità di sfasamento risultante dipenderà allora dal valore del gradiente applicato e quindi dalla posizione degli spin nello spazio. In altri termini, al pari della frequenza, la fase assunta dagli spin contiene una informazione spaziale, la quale potrà venire estratta mediante un'operazione matematica, generalmente basata sull'utilizzazione dell'algoritmo di trasformata di Fourier.

Per \vec{G} diretto lungo l'asse x , la fase del segnale ϕ_x dopo un tempo t sarà data da:

$$\phi_x = v_x \cdot t_x \quad (18)$$

cioè

$$\phi_x = \gamma (B_0 + G_x \cdot x) t_x / 2\pi \quad (19)$$

Entrambi i sistemi di codificazione sono dunque basati sullo studio dell'evoluzione del sistema di spin in presenza del gradiente, il quale nella codificazione in frequenza è applicato simultaneamente all'acquisizione del FID, mentre nella codificazione in fase viene applicato prima di tale acquisizione.

Ricostruzione dell'immagine secondo la codificazione in fase del segnale

Principi generali. - Il sistema di spin in risonanza viene fatto evolvere in un primo tempo, detto appunto tempo di evoluzione, sotto l'azione di uno (tecniche bidimensionali) o due gradienti trasversali successivi, G_x e G_y , distanziati da intervalli di tempo prefissati (tecniche tridimensionali). Viene quindi applicato un gradiente trasversale (G_z), che servirà da codificatore in fase, e immediatamente dopo questo, il segnale verrà rivelato. Lo sfasamento risultante sarà dato da:

$$\phi_{xy} = \gamma [(B_0 + G_x \cdot x)t_x + (B_0 + G_y \cdot y)t_y] / 2\pi \quad (20)$$

I segnali così ottenuti contengono informazioni su due variabili contemporaneamente, e saranno analizzati mediante l'algoritmo della trasformata di Fourier rispetto al tempo di evoluzione, quindi rispetto al tempo di rivelazione. La risoluzione dell'immagine ottenuta integrando i diversi segnali a varie fasi sarà funzione del numero di essi e potrà raggiungere un valore soddisfacente (Fig. 13).

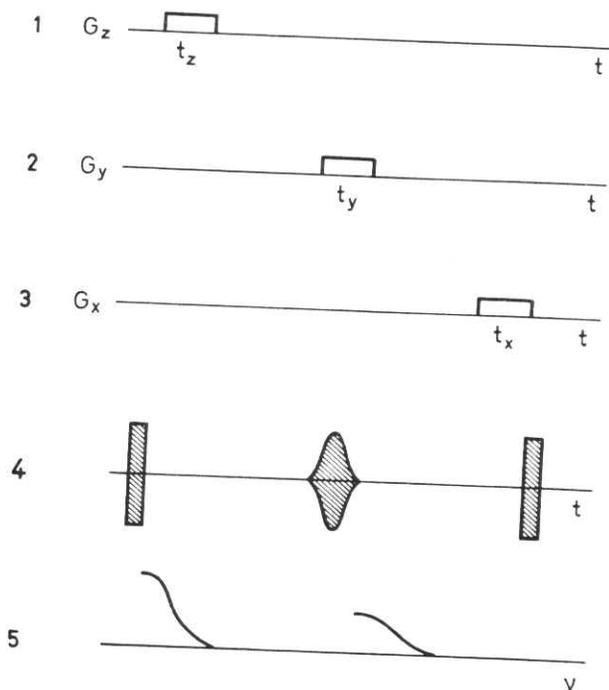
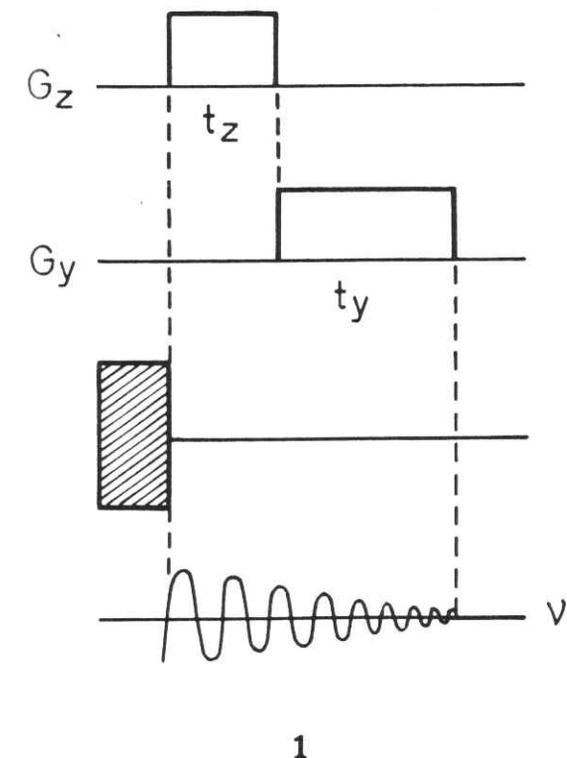
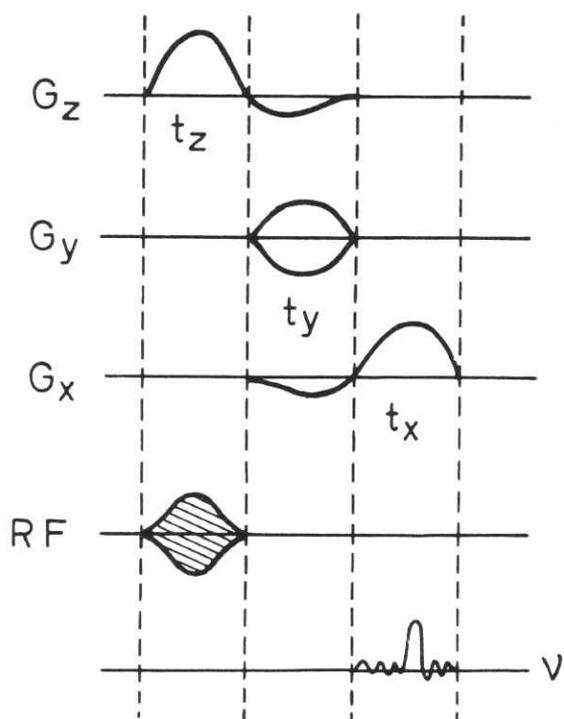


Fig. 12. - Acquisizione secondo il metodo dell'impulso selettivo: l'applicazione successiva dei tre gradienti $G_z(1)$, $G_y(2)$ e $G_x(3)$ e dell'impulso selettivo (4) consentono di ottenere il segnale (5) da regioni selezionate del corpo.



1



2

Fig. 13. - Acquisizione mediante codificazione in fase 2DFT(1) [37] e *spin-warp* bidimensionale (2) [38].

Trasformata di Fourier bi- o tridimensionale. - Le variazioni spaziali delle fasi si ottengono, in questo caso, facendo variare la durata dei tempi di evoluzione e mantenendo costanti i gradienti [37].

La trasformata bidimensionale di Fourier (2DFT) prevede successivi incrementi del t per gli n FID raccolti: se dt_y è il valore dell'incremento, t_y varierà nell'intervallo da 0 a $n \cdot dt_y$. La matrice risultante $n \cdot n$, sottoposta a trasformata bidimensionale di Fourier, darà l'immagine dello strato. In altre parole, la tecnica utilizza due impulsi di gradiente applicati successivamente durante l'evoluzione del FID prodotto da un impulso a 90° . Variando ogni volta la durata t_y di applicazione del primo gradiente G_y (che determina la fase del segnale), e prelevando solo il segnale in t_x si ottengono FID le cui trasformate bidimensionali di Fourier contengono le informazioni necessarie per ricostruire l'immagine nel piano.

Per quanto riguarda invece la trasformata tridimensionale di Fourier (3DFT), si avranno due incrementi di tempo: da 0 a $n \cdot dt_y$ e da 0 a $m \cdot dt_x$, ed una conseguente matrice tridimensionale $n \cdot n \cdot m$.

Spin-warp bi- o tridimensionale. - La tecnica dello *spin-warp* [38] prevede la variazione dell'ampiezza dei gradienti di evoluzione mantenendo costanti le durate: per un'esame bidimensionale si considera ad esempio l'intervallo da 0 a $n \cdot dG_y$. Il vantaggio di usare gradienti a rapida inversione risiede nel miglior rapporto segnale/rumore, mentre la variazione dell'ampiezza, invece della durata dei gradienti, semplifica l'elaborazione dei dati.

Formazione dell'immagine con nuclei diversi dal protone

Un discreto numero di elementi chimici diversi dall'idrogeno sono componenti molecolari della materia vivente e possiedono un momento magnetico nucleare non nullo. Essi tuttavia presentano vari problemi in quanto, rispetto al protone hanno:

- minore sensibilità intrinseca (ad eccezione del trizio);
- molto minore concentrazione nella materia organica;
- numero di spin spesso maggiore di $1/2$, il che comporta allargamenti quadrupolari della riga di risonanza e complessità dei sistemi di scambio energetici;
- frequenze di risonanza generalmente più basse (a parità di campo, a causa del minore rapporto giromagnetico).

Almeno due elementi sono tuttavia già stati oggetto di studio per il loro impiego in diagnostica: il ^{23}Na , soprattutto, ed il ^{19}F . È stato altresì auspicato lo sviluppo di metodologie adatte ad altri nuclei, quali ^{31}P e ^{13}C .

CARATTERIZZAZIONE TESSUTALE MEDIANTE NMR

Note introduttive

Il successo odierno della NMR in campo biomedico non è unicamente legato alla sua peculiare caratteristica di fornire nitide immagini tomografiche del corpo umano, in quanto le prestazioni offerte dalla MRI sono a grandi linee sovrapponibili a quelle fornite dalla tomografia assiale computerizzata a raggi X (TAC) o dall'ecografia, almeno fino ad oggi.

Il fenomeno della risonanza magnetica nucleare applicato allo studio non invasivo della fisiologia e del metabolismo tessutale introduce infatti nuove possibilità di caratterizzare il processo patologico, in relazione ad alcune modificazioni del tessuto a livello biofisico e biochimico. Lasciando al processo di formazione dell'immagine il ruolo di determinare precise coordinate spaziali riguardo alla presentazione anatomica e morfologica della lesione o dell'organo esaminati, si tenta oggi di praticare un'analisi quantitativa del tessuto in esame, in base ad alcune sue caratteristiche chimico-fisiche particolari. Tali caratteristiche sono anche alla base dei processi di formazione dell'immagine, in quanto influenzano l'intensità dei segnali associati alle diverse regioni anatomiche studiate. I principali parametri, che permettono di discriminare la lesione dal tessuto sano circostante o tessuti adiacenti, sono la densità protonica, i tempi di rilassamento, le velocità di flusso e gli spostamenti chimici delle risonanze di vari composti biochimici intra- o extracellulari (Tab. 2).

Tempi di rilassamento

Principi generali

In un esperimento di risonanza magnetica nucleare, il grado di assorbimento della radiazione RF, ossia l'ampiezza del segnale, è direttamente proporzionale al numero di nuclei per unità di volume. Tuttavia, il fattore principale che permette di differenziare tra tessuti sani e patologici, non è costituito dalla variazione spaziale della densità del nucleo in risonanza, bensì dall'eterogenea distribuzione dei valori di rilassamento dei vari tessuti.

Sottoposti alle medesime condizioni sperimentali, tessuti con caratteristiche biofisiche e biochimiche diverse si distinguono per le deboli variazioni del campo magnetico locale fluttuante, le quali si traducono in diversi valori dei tempi di rilassamento. In particolare, le variazioni nei tempi di rilassamento tessutali sono associate soprattutto a modificazioni nella struttura dell'acqua sia nelle sue interazioni con i componenti macromolecolari della cellula, sia negli spazi intercellulari.

Anche i grassi possono contribuire in misura rilevante ai valori delle costanti di rilassamento magnetico protonico di un tessuto [39-42].

Misure sperimentali dei tempi di rilassamento

Misure in vitro. - Le misure dei tempi di rilassamento eseguite con spettrometri NMR di tipo analitico su campioni biotici sono effettuate da oltre due decenni dagli spettroscopisti NMR. Tali misure dipendono fortemente dalle condizioni operative usate: quando i risultati ottenuti dai vari laboratori vengono paragonati tra loro, allo scopo di acquisire precise informazioni di caratterizzazione tessutale, i dati sono spesso difficilmente confrontabili e non si prestano facilmente ad integrazioni sistematiche [43-45]. In linea di principio, la precisione e l'accuratezza di questo metodo di misura possono aggirarsi intorno al 5-10%, qualora vengano utilizzati protocolli sperimentali adeguati [43, 46, 47].

Misure in vivo. - Nel corso di un normale esame mediante MRI i valori dei tempi di rilassamento possono essere determinati con due tipi di metodi. Il primo, basato sul metodo del punto sensibile, può raggiungere precisioni dell'ordine del 10% e si presta quindi a determinazioni quantitative delle proprietà di rilassamento magnetico nucleare di un tessuto, punto per punto, ma richiede lunghi tempi di esame. Una seconda classe di metodi, maggiormente in uso, è basata sulla elaborazione matematica di (almeno due) immagini ottenute separatamente, in condizioni diverse di rilassamento. In entrambi i casi, i valori ottenuti per i tempi di rilassamento dipendono da una serie di parametri che caratterizzano le prestazioni del tomografo NMR e che influenzano, direttamente o indirettamente, la determinazione quantitativa delle costanti di tempo T_1 e T_2 . La misura dei tempi di rilassamento *in vivo* richiede pertanto una preventiva calibrazione strumentale, con l'uso di appropriate metodologie di standardizzazione e di oggettivazione, al fine di verificare la precisione e l'accuratezza delle misure ottenibili dal tomografo utilizzato [48-50].

Sequenze impulsive. - Per sequenza impulsiva si intende una serie di impulsi RF di varia natura, caratterizzata dall'ampiezza degli impulsi e dagli intervalli di tempo tra di essi. Tali sequenze vengono applicate al sistema di spin in risonanza, allo scopo di selezionare il segnale proveniente da una particolare componente della magnetizzazione macroscopica, in maniera da risalire, mediante l'impiego di opportuni algoritmi, alle costanti di tempo che caratterizzano il rilassamento magnetico nucleare del tessuto.

Metodi di misura del tempo di rilassamento spin-reticolo

Sequenza di inversion recovery (IR, 180° - t - 90°). - Si tratta di una serie di due impulsi nella quale il primo, di 180° , eccita il sistema di spin, invertendo la magnetiz-

Tabella 2. - Parametri di caratterizzazione tessutale mediante NMR

Molecole e gruppi chimici	Tempi di rilassamento magnetico nucleare; coefficienti di diffusione (moti di rotazione/traslazione; interazioni intermolecolari)
Nuclei	Densità di spin (numero di nuclei, ad es. protoni, per unità di volume)
Intorno chimico	Spostamento chimico (schemo elettronico dovuto a legami intramolecolari ed interazioni intermolecolari)
Fluidi	Velocità di flusso

zazione longitudinale presente. A questo punto, dal momento che nessuna componente di M si trova sul piano trasversale, nessun segnale verrà indotto nella bobina ricevente, anche se il sistema è eccitato e tende a tornare all'equilibrio. Applicando un secondo impulso RF a 90° (di identica intensità ma di durata dimezzata rispetto alla precedente), dopo un tempo t , la magnetizzazione totale, il cui valore si è ridotto a causa del rilassamento, sarà riportata sul piano trasversale ed il segnale potrà essere registrato (Fig. 14). L'andamento della magnetizzazione totale di una specie nucleare, in un intorno chimico-fisico che le conferisce un rilassamento spin-reticolo mono-esponenziale (caratterizzato cioè da una sola costante di tempo) è dato dalla relazione:

$$M_z(t) = M_0 (1 - 2 \cdot e^{-t/T_1}) \quad (21)$$

Il tempo T_1 può essere determinato riportando in un grafico semilogaritmico i valori della grandezza $(1 - M_z(t)/M_0)/2$ in funzione del tempo t , e determinando il coefficiente angolare della retta che meglio approssima i punti sperimentali.

Un metodo alternativo, talvolta adottato per una rapida determinazione del T_1 , riporta in un grafico a scale lineari l'ampiezza del segnale $M_z(t)$ in funzione del tempo t e determina la costante di tempo dalla relazione:

$$T_1 = t_{null}/\ln 2 \quad (22)$$

dove t_{null} è quel valore di t per il quale la magnetizzazione longitudinale, dopo l'impulso a 90° , vale zero. Questo metodo è meno preciso del primo, dato che si basa sull'interpolazione di bassi valori del segnale. Determinazioni più accurate del T_1 sono ovviamente basate sull'uso di un calcolatore e di opportuni programmi di *best fit*, purché si disponga di un numero di punti sperimentali sufficienti a dare significatività al calcolo.

Sequenza di saturation recovery (SR, 90° - t - 90°). - Differisce dalla precedente per il fatto che l'impulso di eccitazione a 180° è stato sostituito da un impulso a 90° . L'andamento della magnetizzazione risultante sarà allora:

$$M_z(t) = M_0 (1 - e^{-t/T_1}) \quad (23)$$

Il calcolo del T_1 tramite il programma statistico o l'analisi della pendenza della retta è simile al precedente (Fig. 15).

Sequenza di partial saturation (PS, 90°). - Caso particolare della precedente, questa sequenza, nota anche come FID ripetuto, SR progressiva o sequenza *steady state*, è formata da un treno di impulsi a 90° , intervallati da un tempo prefissato t . L'acquisizione dei dati inizia subito dopo ogni impulso, il quale porta la magnetizzazione longitudinale sul piano trasversale, ove può essere rivelata ed acquisita.

Metodi di misura del tempo di rilassamento spin-spin

Principi generali. - Per poter apprezzare il decremento del segnale dovuto alla perdita di coerenza di fase degli spin, occorre eliminare il contributo costante derivante dalle disomogeneità del campo magnetico effettivo agente sulla specie nucleare osservata (secondo la relazione 12).

A tale scopo, trascorso un tempo t dopo un impulso di eccitazione a 90° , si applica un impulso a 180° , in maniera tale da "ribaltare" l'insieme degli spin sul piano trasversale. Gli spin che si stavano allontanando dall'asse x con velocità diverse a causa del rispettivo sfasamento causato dalle disomogeneità di campo, dopo la rotazione di 180° , mantenendo la loro velocità angolare, andranno a raggiungere insieme l'asse x dopo un tempo pari a $2t$ dal primo impulso, dando luogo ad un segnale, detto "eco", rivelabile da parte della bobina ricevente. Gli unici spin "perduti" con questo metodo, perché non rifocalizzabili, sono quelli il cui sfasamento è dovuto al rilassamento spin-spin (Fig. 16a).

Sequenza di spin-echo (SE, 90° - t - 180°). - Si tratta della sequenza impulsiva più semplice per realizzare l'esperimento anzi descritto, al fine di calcolare il tempo di rilassamento T_2 [6, 51, 52]. Il segnale di eco (in valore assoluto) rivelato dopo un tempo $2t$ dal primo impulso (90°) è proporzionale alla componente trasversale della magnetizzazione, il cui valore è dato dalla relazione temporale

$$M_{xy}(2t) = M_0 \cdot e^{-2t/T_2} \quad (24)$$

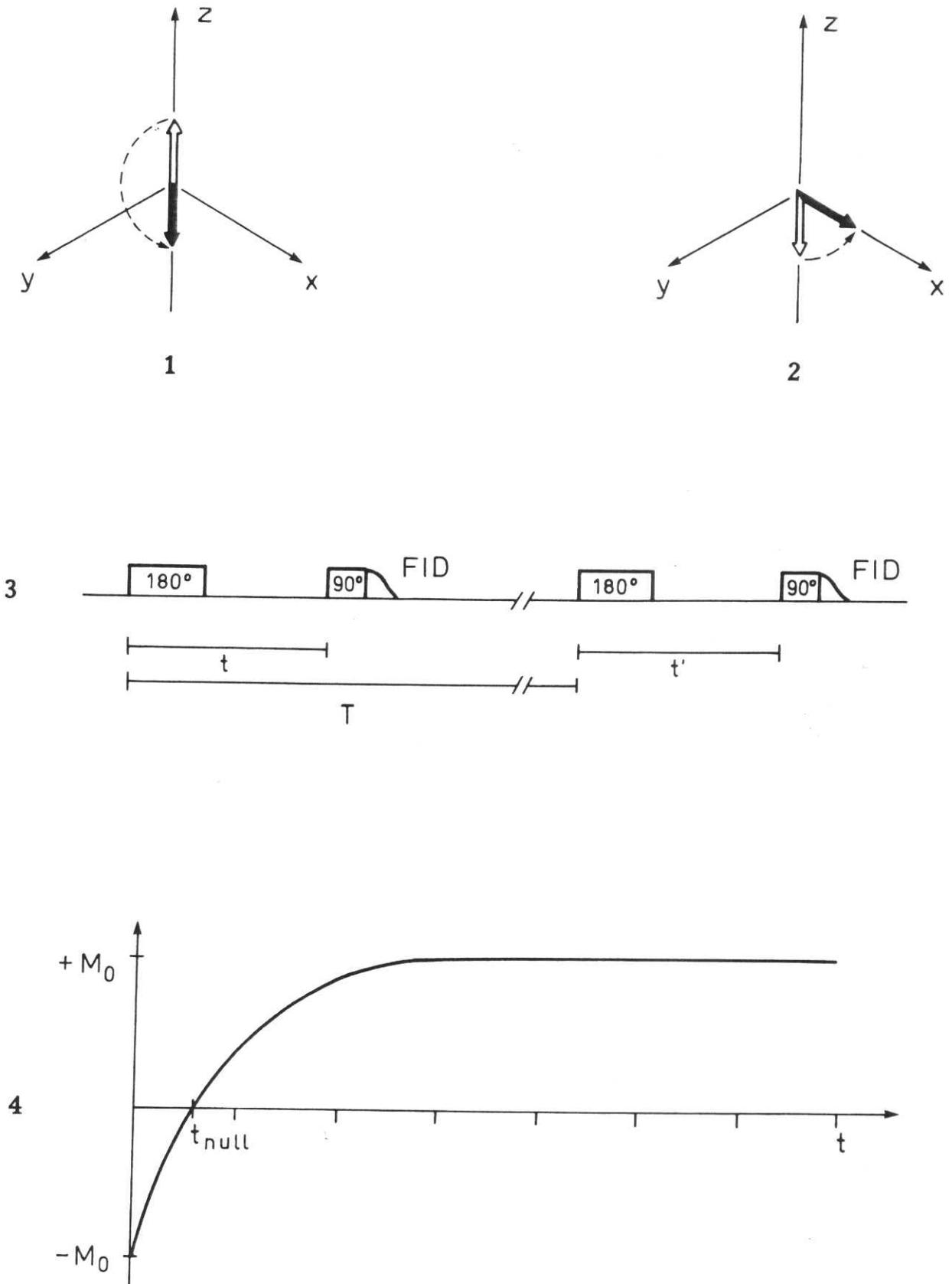


Fig. 14. - Sequenza di *inversion recovery*: sono indicati il primo impulso a 180° (1), il secondo a 90° (2), la sequenza temporale (3) e l'andamento della magnetizzazione nel tempo (4).

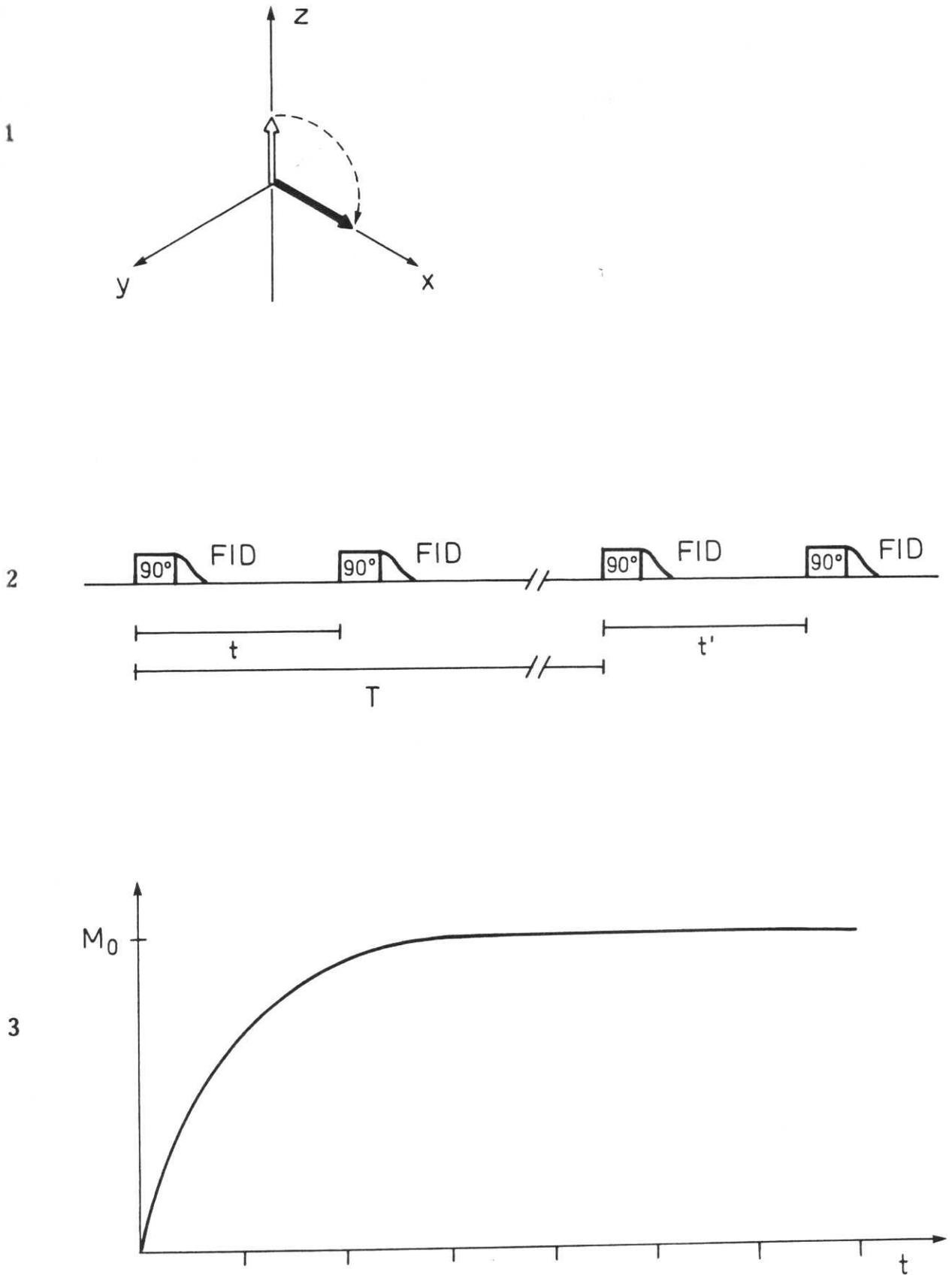


Fig. 15. - Sequenza di *saturation recovery*: sono indicati l'impulso a 90° (1), la sequenza temporale (2) e l'andamento della magnetizzazione nel tempo (3).