

## OBJETIVOS

Estudios recientes sugieren que la osteoporosis está relacionada con la cantidad de grasa de la médula ósea (1-5), incluyendo trabajos que muestran una relación negativa entre la densidad mineral ósea y el aumento en el volumen de grasa medular observado en el envejecimiento, pacientes con anorexia nerviosa, o asociado a tratamiento con medicamentos como los glucocorticoides, la quimioterapia e inhibidores de aromatasa (6-9).

Para cuantificar la cantidad de deposición de grasa en la médula ósea influenciada por osteoporosis, estudios previos han utilizado diferentes métodos radiológicos que incluyen absorciometría de rayos X de energía dual (DXA) (10), TAC cuantitativa (11) y resonancia magnética (RM) (12-15). La RM proporciona un medio no invasivo para medir la infiltración grasa en la médula ósea. Especialmente, la espectroscopía de RM ha sido durante mucho tiempo considerada como el patrón de oro para tales mediciones en varios estudios clínicos [16-19]. Sin embargo, espectroscopía de RM lleva mucho tiempo y es de disponibilidad limitada. Las técnicas en RM de separación agua / grasa basadas en desplazamiento químico MRI (Dixon 2.0) permiten una cuantificación no invasiva de la fracción grasa de la médula ósea, habiéndose demostrado una buena concordancia entre la fracción grasa nominal obtenida con estas técnicas y la espectroscopía de RM (20). Las secuencias Dixon 2.0 proporcionan cuatro imágenes de cada localización: imágenes solo de agua, solo grasa, en fase (agua y grasa) y fuera de fase (agua menos grasa). Para obtener los datos de fracción de grasa (FG), es necesario realizar un postproceso de las imágenes, que consiste en una segmentación manual del área de médula ósea (por ejemplo cuerpo vértebra o cabeza femoral) en una de las imágenes (habitualmente imágenes de sólo agua), ROIs que se copian en la imagen de solo grasa; posteriormente la FG se calcula con la media de SI de cada ROI (21). Estos pasos consumen tiempo e introducen el potencial de error de registro de datos ya que los datos deben registrarse manualmente.

En ese estudio, los investigadores evalúan la concordancia y reproducibilidad de un nuevo algoritmo de segmentación semiautomático específico basado en Matlab frente a un proceso manual realizado con el programa Osirix, evaluando la FG de la médula de columna vertebral y de cabeza femoral derecha en imágenes obtenidas con secuencias Dixon 2.0.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### POBLACIÓN

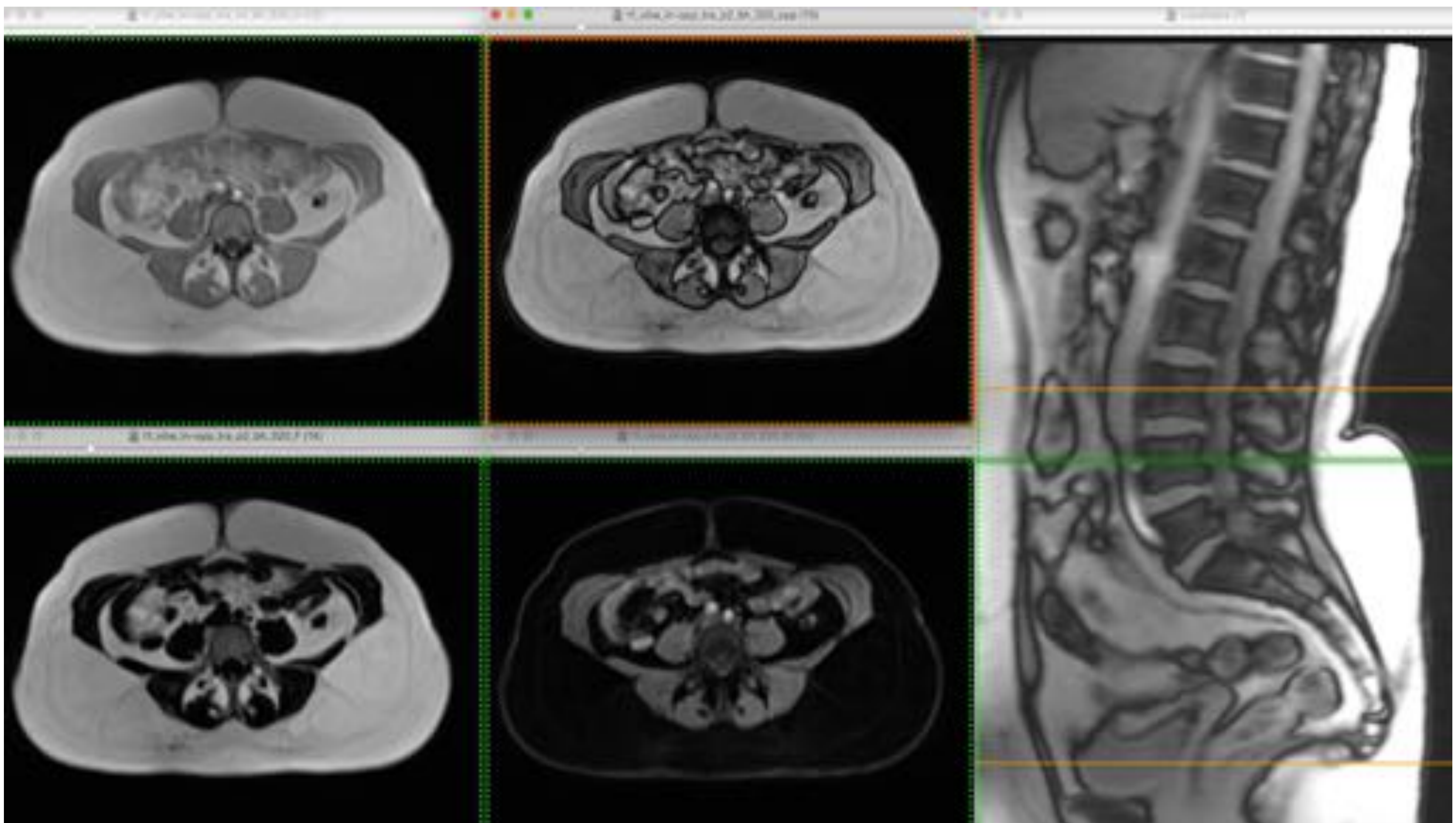
Este trabajo es parte de una investigación más amplia, un ensayo clínico longitudinal que asignó al azar a mujeres posmenopáusicas diagnosticadas de cáncer de mama que comenzaron a recibir terapia adyuvante con AI a uno de dos grupos: un grupo tratado con un grupo de ejercicio o grupo de control. Entre mayo de 2012 y enero de 2016, 49 pacientes con cáncer de mama posmenopáusicas (60,7 ± 5 años) se sometieron a exploraciones de RM obteniendo imágenes con secuencias Dixon 2.0 de abdomen, pelvis y muslo después de la cirugía. Todos ellos, después del tratamiento de quimioterapia y / o radioterapia, recibieron tratamiento con inhibidores de la aromatasa (AI). Los estudios de doce mujeres posmenopáusicas con cáncer de mama (rango de edad: 62.5 años ± 5.50) fueron elegidos para evaluar la concordancia y reproducibilidad de dos métodos de segmentación. Dos radiólogos realizaron de forma independiente las mediciones; un radiólogo realizó las mediciones con una herramienta de segmentación automática y específica desarrollada utilizando el marco de trabajo de Matlab en dos ocasiones separadas con dos semanas de diferencia, y los dos radiólogos realizaron de forma independiente medidas con el software Osirix.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### TÉCNICA

Todos los exámenes de MRI se realizaron con un sistema de resonancia magnética de 1,5 T inmediatamente después del examen DXA.

**RM abdominopélvica:** las imágenes se adquirieron con los sujetos en posición supina y los brazos colocados a lo largo de los costados. Se utilizó una bobina phased-array de columna vertebral (región dorsal) y dos bobinas de cuerpo phased-array de 6 canales (región ventral). Se obtuvieron localizadores sagitales, coronales y transversos desde el diafragma hasta la sínfisis del pubis. Posteriormente se obtuvieron series transversales con secuencias Dixon 2.0 (VIBE-2D) durante apnea con los siguientes parámetros: TR; 9,98 ms; TE 2,39 / 4,78 ms; FA: 10º; Matriz 320 x 320; Grosor de sección 3 mm; Ancho de banda de lectura 330 Hz; FOV 500 x 500 mm<sup>2</sup>; Tamaño de vóxel 2.5x1.6x3.0 mm<sup>3</sup>; NEX 1; Tiempo adquisición: 23 s; nº de imágenes 64. Debido a la limitación del tiempo de adquisición por la apnea requerida, se obtuvieron dos secuencias en cada sujeto (dos volúmenes de medio abdomen) consecutivas desde diafragma región pubiana. Los localizadores sagitales se utilizaron para determinar los sitios anatómicos precisos para la adquisición de imágenes, lo que permitió la ubicación de cada imagen según referencia de nivel discal vertebral (**Figura 1**).

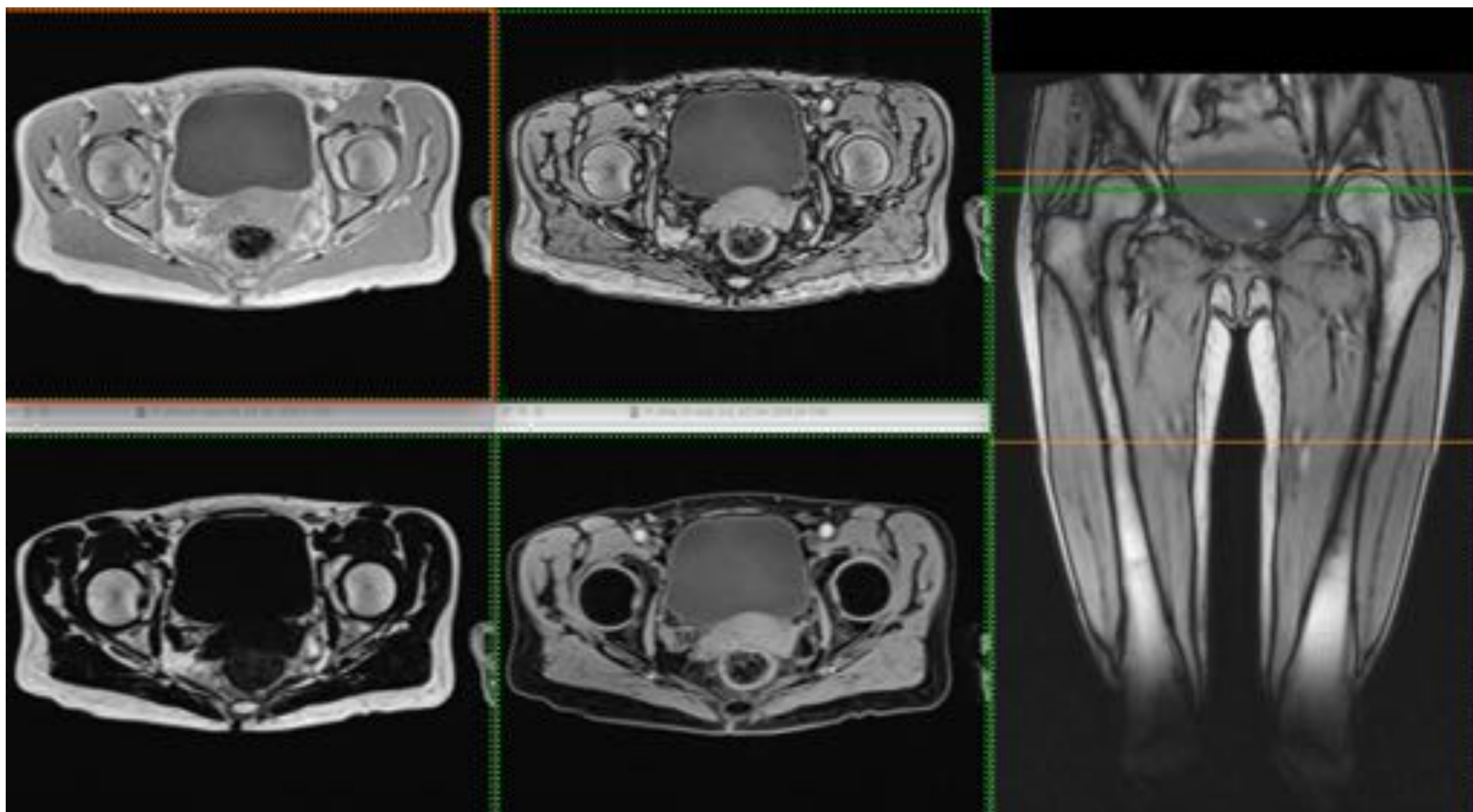


**Figura 1**  
Imágenes representativas transversales Dixon 2.0 localizadas a mitad de la altura del cuerpo vertebral de L4 en fase (a), fase opuesta (b), sólo grasa (c), solo agua (d) y (e) línea de referencia en localizador sagital.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**RM de muslos:** después de la adquisición abdominopélvica, los pacientes se repositionaron con el sujeto en posición supina, las piernas planas sobre la mesa, paralelas con los dedos de los pies dirigidos hacia la parte superior del gantry, con los pies sujetos entre sí para evitar rotación. Se utilizó una bobina phased-array de columna vertebral (región dorsal) y dos bobinas de cuerpo phased-array de 6 canales (región ventral). Se obtuvieron vistas sagitales, coronales y transversales de los fémures. La exploración se realizó en plano transversal desde la punta craneal de las cabezas femorales hasta el límite articular del cóndilo femoral externo más caudal. Se obtuvieron dos conjuntos de secuencias Dixon 2.0 (VIBE-2D) con los siguientes parámetros: TR 9,98 ms; TE 2,39 / 4,78 ms; FA 10°; Matriz 320x 320; Espesor de corte 3 mm Ancho de banda de lectura de 330 Hz; FOV 500 x 500 mm<sup>2</sup>; Tamaño de vóxel 1.6x1.6x3.0 mm<sup>3</sup>; número de excitación: 2; Tiempo de escaneo de 3 min 40 s; 64 números de imágenes (**Figura 2**).

Después de la ejecución de las secuencias Dixon 2.0, se obtuvieron automáticamente un conjunto de imágenes de en fase, fuera de fase, solo agua y solo grasa mediante un algoritmo de reconstrucción selectiva basado en desplazamiento químico automático (Figuras 1-2). Este algoritmo ha demostrado proporcionar una separación estable de señal de agua y grasa para imágenes de eco dual utilizando información de fase para resolver la ambigüedad de la g FOV rasa y Dixon, señal de agua en la generación de imágenes por desplazamiento químico (22-24). Las imágenes localizadoras y coronales de los fémures se utilizaron como referencia para etiquetar los niveles de cabeza femoral seleccionados para el estudio.



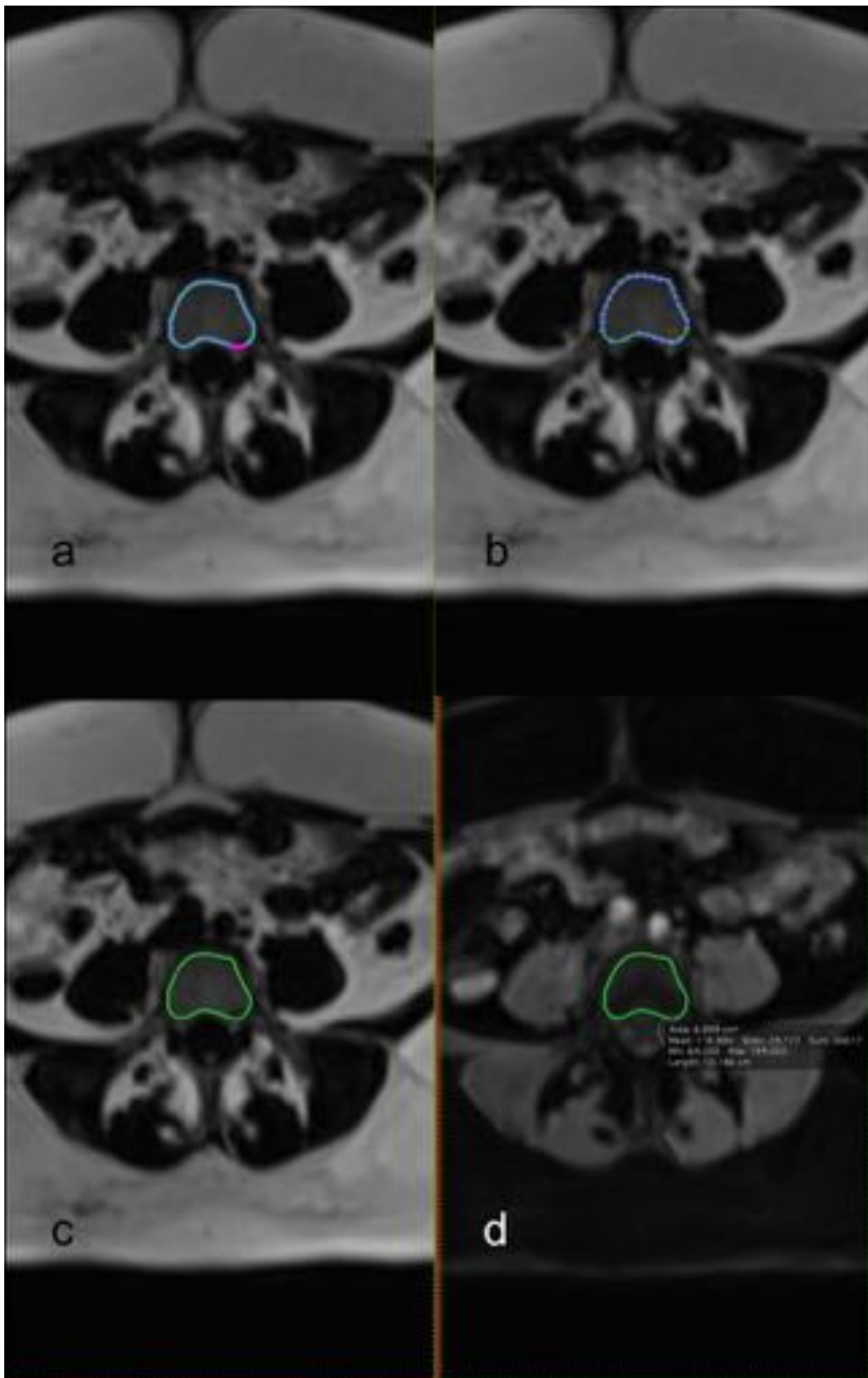
**Figura 2**

Imágenes representativas transversales Dixon 2.0 localizadas a nivel de fovea capitis, en fase (a), fase opuesta (b), sólo grasa (c), solo agua (d) y (e) línea de referencia en localizador coronal.

## ANÁLISIS DE IMAGEN

En ninguna de las imágenes se apreciaron anomalías morfológicas o de señal de RM, como lesiones neoplásicas o fracturas por compresión. Las imágenes se transfirieron a ordenadores personales en formato Digital y Comunicación en Medicina (DICOM).

**Análisis con software Osirix:** todas las evaluaciones fueron realizadas por dos radiólogos entrenados (FI y AE). El análisis de los datos se realizó con Osirix (versión 5.5.1, OsiriX Imaging Software, [www.osirix-viewer.com](http://www.osirix-viewer.com)). Las imágenes de imágenes de grasa y agua se cargaron y se registraron automáticamente en la función de visor de OsiriX. Se eligieron las imágenes localizadas a nivel de la mitad de los cuerpos vertebrales L2, L3, L4 y L5, y las imágenes de cabezas femorales a nivel de las foveas capitis. Posteriormente se dibujaron manualmente regiones de interés (ROI) utilizando la herramienta de lápiz del software Osirix. En los niveles vertebrales, los ROI se dibujaron en las imágenes de solo agua tal y como se ha descrito previamente (21), incluyendo el área más grande del hueso esponjoso excluyendo la cortical vertebral; los ROI se copiaron en las imágenes correspondiente de solo grasa (como se muestra en la **Figura 3**).



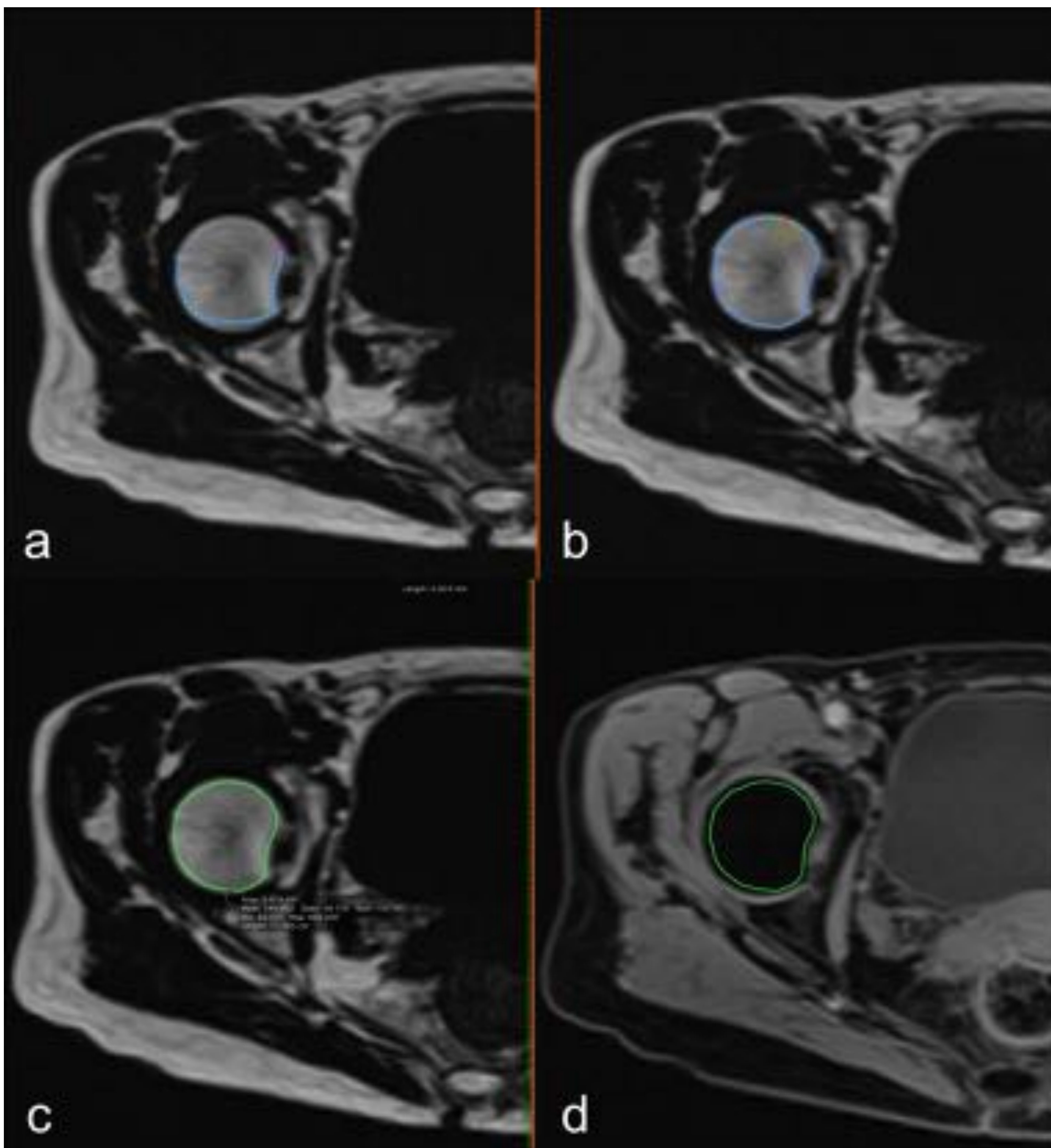
**Figura 3**

Imágenes transversales solo de grasa (a, b, c) y solo agua (d) en mitad de cuerpo vertebral L5. La región de interés (ROI) se dibujó manualmente utilizando la herramienta de lápiz del software Osirix (a) y se editó si era necesario con la herramienta repulsora (b). Los ROI se dibujaron en las imágenes de solo agua abarcando el punto medio de los cuerpos vertebrales incluyendo la mayor área del hueso esponjoso excluyendo la cortical vertebral y el disco intervertebral; los ROI se copiaron al conjunto de imágenes correspondiente de la imagen solo grasa (c, d). La intensidad de señal media de cada ROI se registró manualmente en una hoja de cálculo.

## ANÁLISIS DE IMAGEN

### *Análisis con soft Osirix:*

En los niveles de la cabeza femoral, se dibujaron los ROI incluyendo el área más grande de la cabeza femoral excluyendo el hueso cortical (como se muestra en la Figura 4).



**Figura 4**

Imágenes transversales solo de grasa (a, b, c) y solo agua (d) en la cabeza femoral derecha (nivel de fovea capitis). La ROI se dibujó manualmente utilizando la herramienta de lápiz del software Osirix (a) y se editó si era necesario con la herramienta repulsora (b). Los límites de la ROI incluyeron la mayor área del hueso esponjoso excluyendo la cortical de la cabeza femoral en el imágenes solo de agua; los ROI se copiaron en el conjunto de imágenes correspondientes de la imagen solo grasa. La intensidad de señal media de cada ROI se registró manualmente en una hoja de cálculo

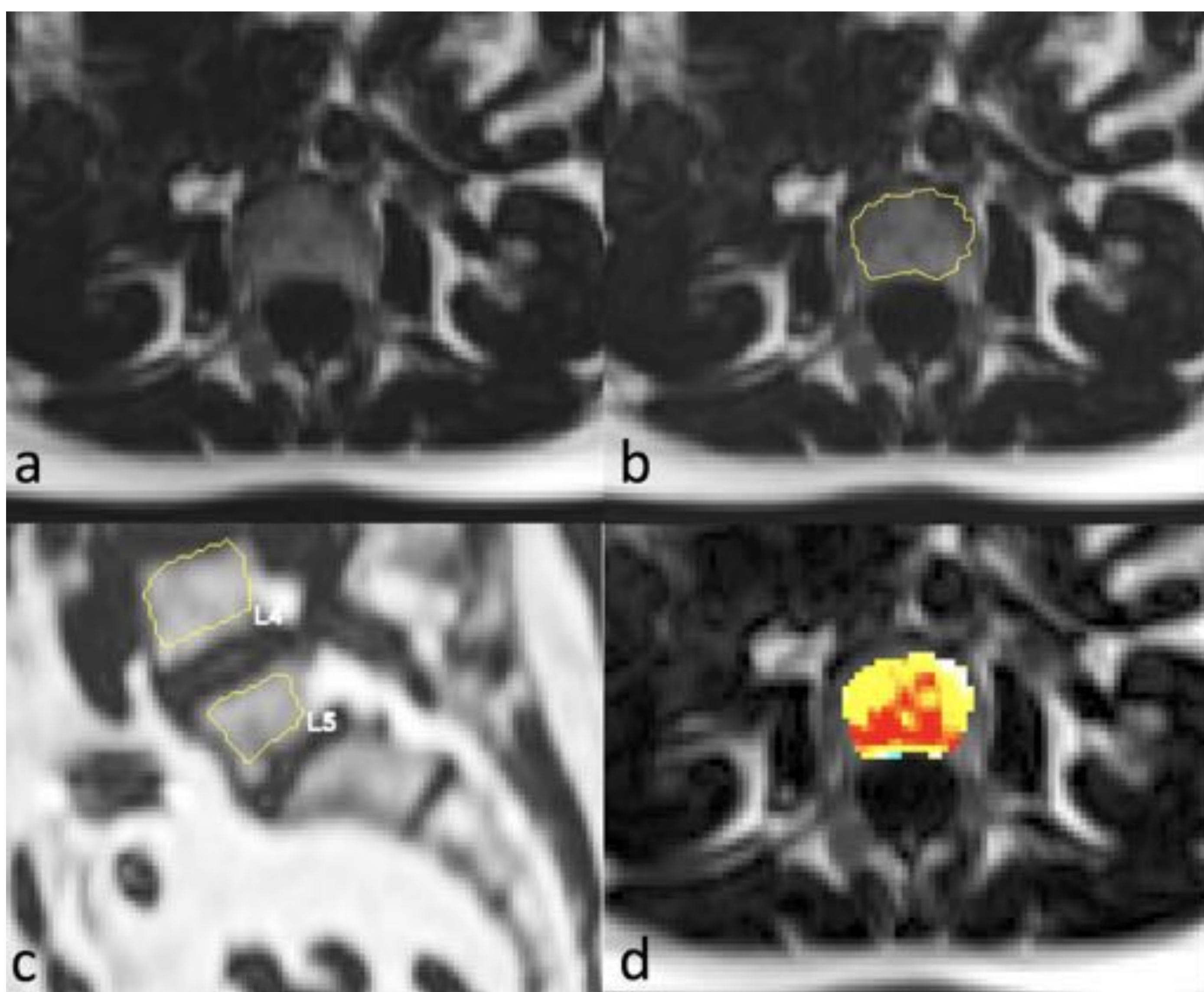
Para cada nivel, la fracción de grasa (FG) se calculó a partir de intensidades de señal derivadas de imágenes solo de grasa (IS GRASA) e imágenes de solo agua (IS AGUA) de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$FG = IS \text{ GRASA} / (IS \text{ GRASA} + IS \text{ AGUA}).$$

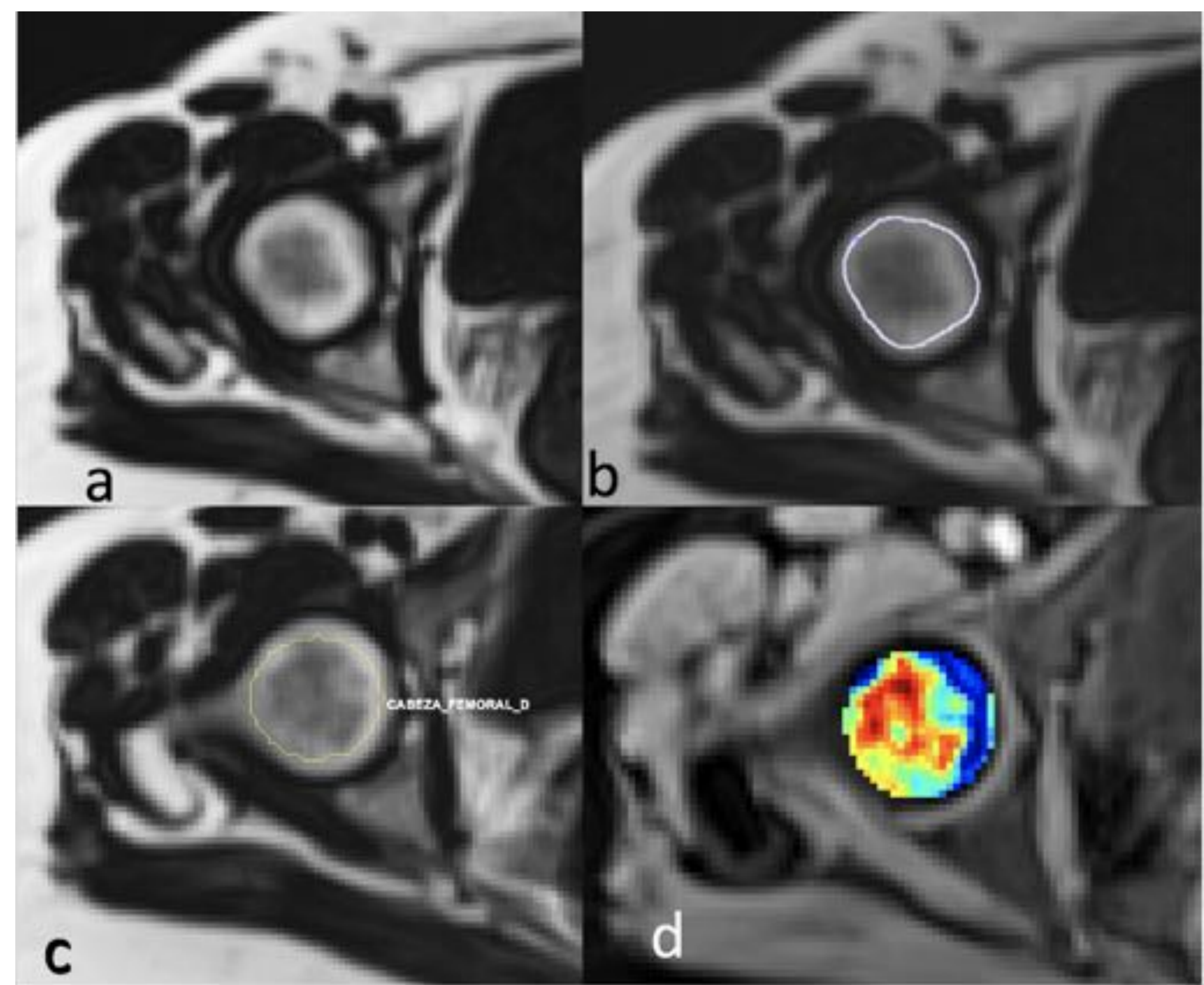
## ANÁLISIS DE IMAGEN

**Análisis con software basado en Matlab:** todas las evaluaciones fueron realizadas por el mismo radiólogo (FI) dos veces para calcular el acuerdo intraobservador.

La aplicación ha sido diseñada para calcular automáticamente otros parámetros además de la fracción grasa. Para estimar el valor de FG en la zona vertebral, se ha diseñado un procedimiento semiautomático. El software permite realizar las mediciones tanto en plano axial como sagital. El usuario puede esbozar los límites de la vértebra utilizando diferentes herramientas proporcionadas en la aplicación, como elipse, polígono o una herramienta de manos libres, entre otras. La herramienta de manos libres se eligió para dibujar el ROIS con los mismos criterios que se describen antes de usar el software Osirix (**Figuras 5 y 6**). De la misma manera, la aplicación permite importar los ROI realizados para otros estudios o guardar los realizados para ser reutilizados en el futuro.



**Figura 5:** Imágenes transversales de solo grasa a nivel de mitad de L3 (a, b), imagen reconstruida en la línea sagital media (c) e imagen segmentada en la imagen del nivel L3 (d). Se eligió la herramienta de manos libres para dibujar los ROIs con los mismos criterios que se han descrito con Osirix. El software permitió realizar las mediciones en el plano axial (a, b) y medio sagital (c). El resultado del cálculo de FG se superpuso utilizando una representación de pseudocolor (d). Los datos se guardaron y se exportaron a un archivo evitando el registro manual de datos.



**Figura 6:** Imágenes transversales de cabeza femoral derecha de solo grasa (a, b, c) y de solo agua obtenidas a nivel de fovea capitis. Se eligió la herramienta de manos libres para dibujar los ROIs con los mismos criterios que se han descrito con Osirix. El resultado del cálculo de FG se superpuso utilizando una representación de pseudocolor (d). Los datos se guardaron y se exportaron a un archivo evitando el registro manual de datos.

Una vez que se han terminado los ROI, el usuario puede seleccionar realizar la segmentación, es decir, calcular el valor de FF. Este valor se calcula de dos formas diferentes. Por un lado, el valor de FF se calcula en base a cada píxel incluido dentro del del ROI. Para este fin, se emplean las imágenes de grasa y agua del estudio. Empleando los valores de grasa y agua de cada píxel, el FF se calcula como:

$$\text{FG pixel} = \text{FAT pixel} / (\text{FAT pixel} + \text{WATER pixel})$$

El resultado del cálculo de FF se superpone utilizando una representación de pseudocolor (Figuras 5 y 6). Por lo tanto, cada píxel se representa con un color que muestra el valor de FG (se usa el color de escala JET, siendo los colores azulados los valores más bajos, mientras que los tonos rojizos representan los valores más altos).

Por otro lado, la cantidad total de FG se estima para cada ROI como la suma de los valores FG de los píxeles que pertenecen al ROI particular. Este resultado se puede guardar y exportar a un archivo para analizarlo más a fondo, evitando el registro manual de datos.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

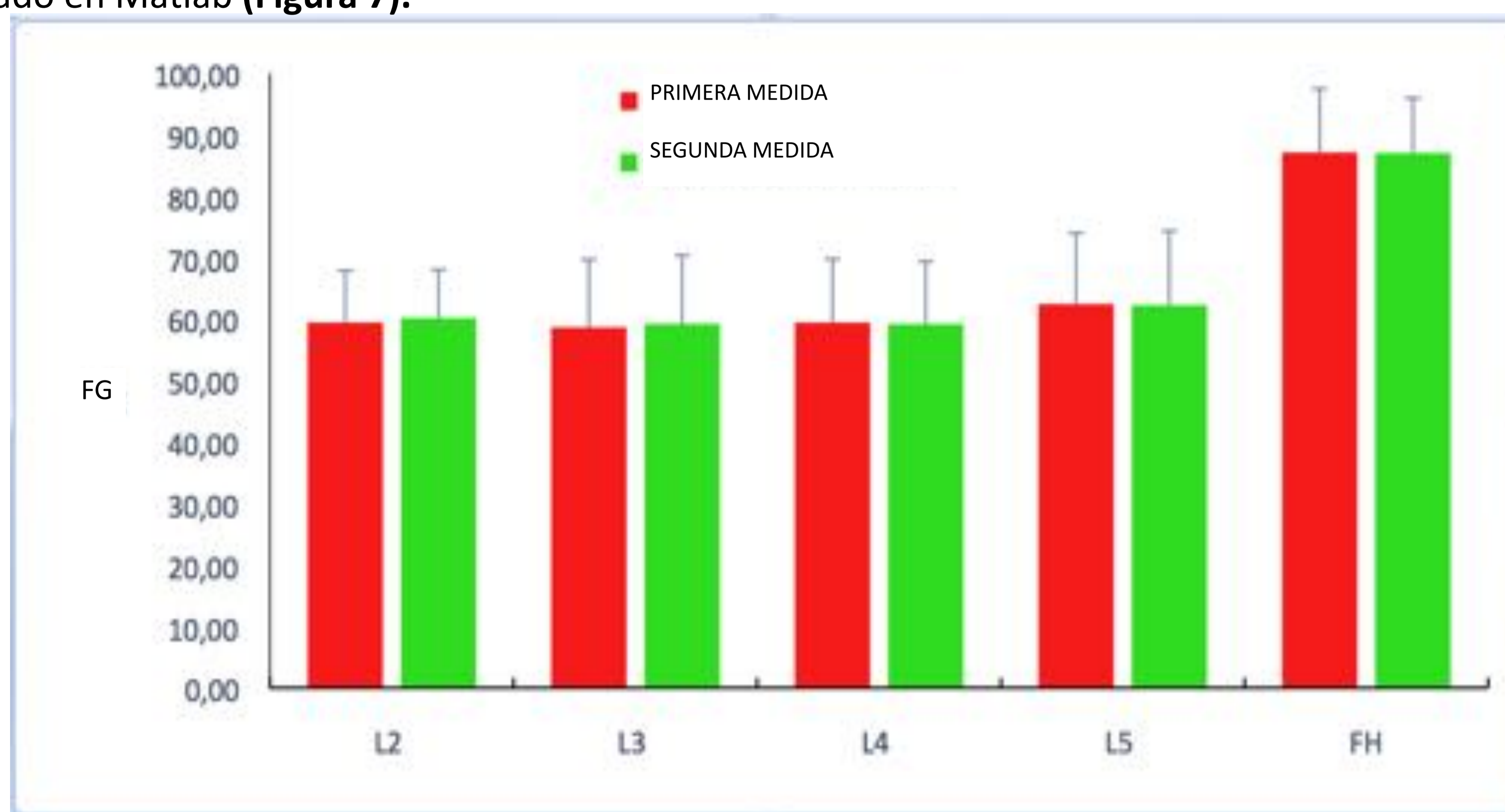
Para el análisis estadístico, se utilizó el programa SPSS Statistics 22. Se calcularon el coeficiente de Pearson, el gráfico de Bland-Altman y el coeficiente intraclase (ICC) para medir el acuerdo intraobservador e intermetodológico. Todos los resultados fueron expresados como medias  $\pm$  desviaciones estándar; se consideraron estadísticamente significativas valores  $p < 0.05$

## RESULTADOS

No se apreciaron lesiones focales óseas ni fracturas en las imágenes de los cuerpos vértebras L2-L5 ni en las cabezas femorales.

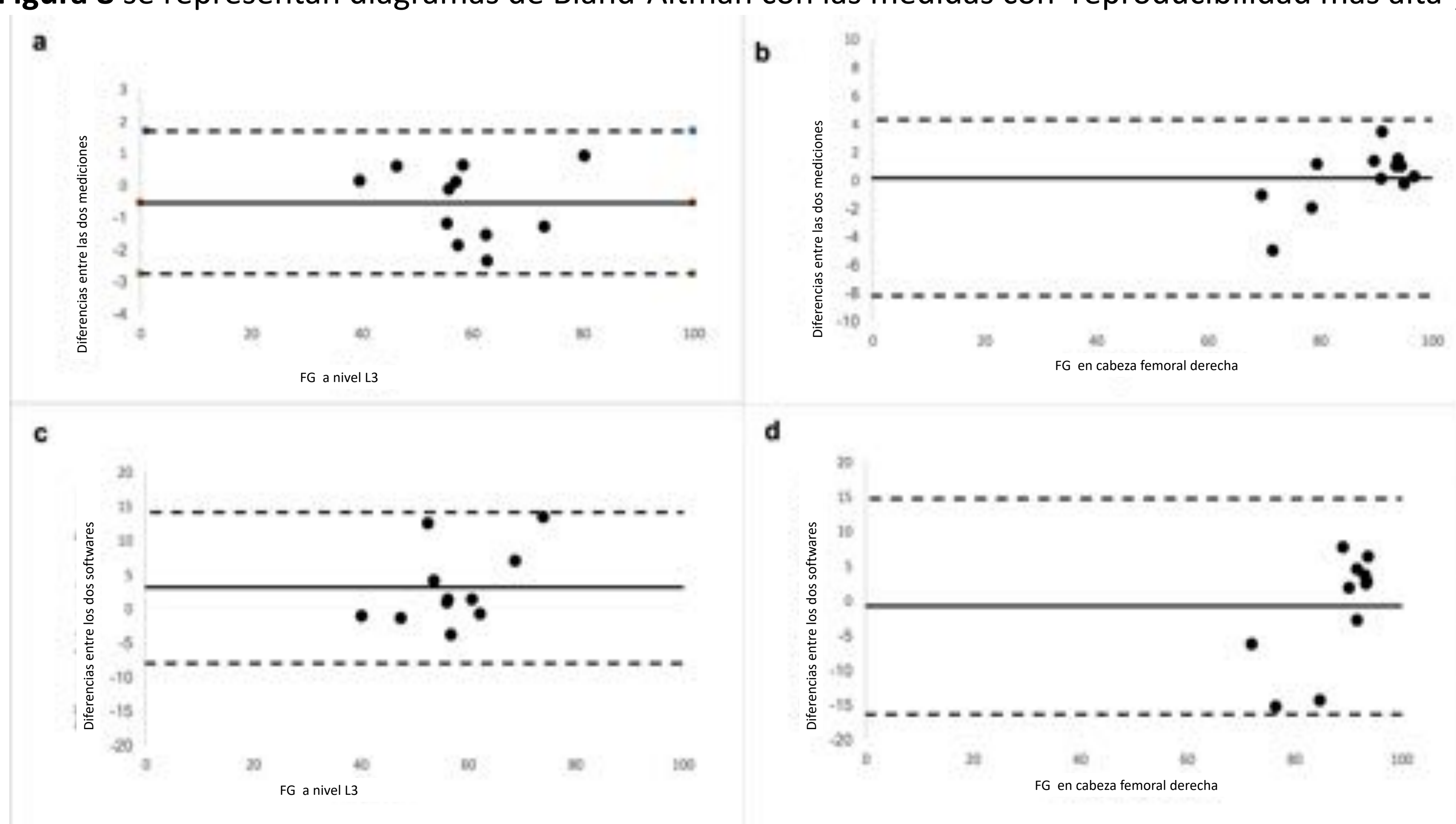
## ACUERDO INTRAOBSERVADOR

No se observaron diferencias significativas en los valores medios de FG medidos por el mismo radiólogo con el software basado en Matlab (**Figura 7**).



**Figura 7** : El gráfico muestra los valores medios de FG medidos por el mismo radiólogo con dos semanas de diferencia para calcular el acuerdo intraobservador.

En la **Figura 8** se representan diagramas de Bland-Altman con las medidas con reproducibilidad más alta y más baja.



**Figura 8** : Bland-Altman plots representativos de reproducibilidad intraobservador (a,b) inter-software (c,d) de medidas con los mejores valores de reproducibilidad (FG a nivel L3: a,c) y los peores valores de reproducibilidad (FG a nivel de cabeza femoral: b,d).

Los coeficientes de correlación intraclase intraobservador revelaron un excelente acuerdo para la FG lumbar (ICC 0.988-0.997) y de la cabeza femoral FF (ICC 0.989) (Tabla 1). El coeficiente de Pearson indicó una alta correlación entre las dos mediciones.

Tabla 1

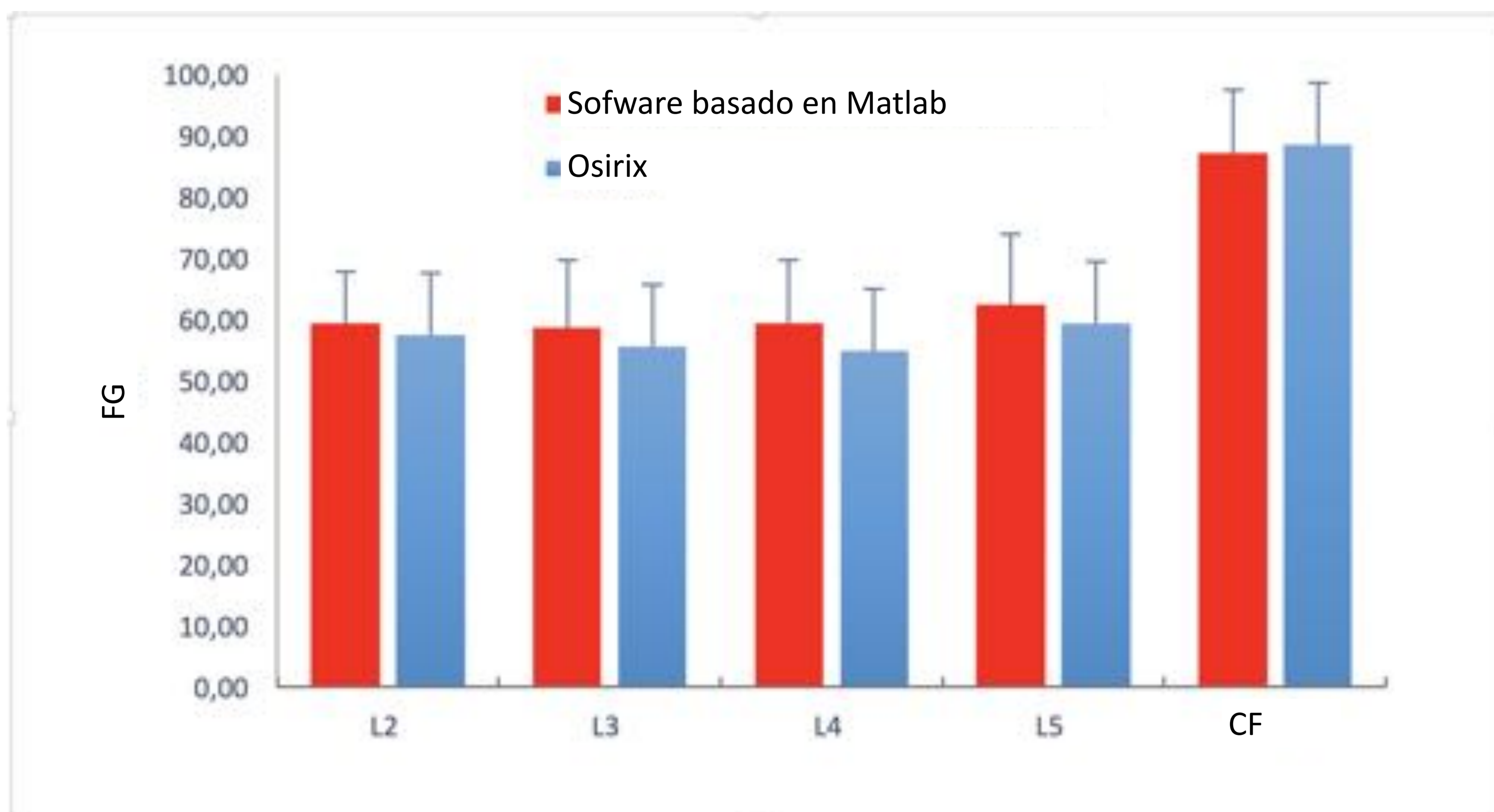
Variabilidad intraobservador con el software semiautomático basado en Matlab

	L2	L3	L4	L5	FHr
ICC (CI 95%)	0,993 (0,971 -0,998)	0,994 (0,977-0,988)	0,986 (0,952-0,996)	0,993 (0,977-0,998)	0,989 (0,962-0,997)
R	,992**	,995**	,970**	,987**	,977**

ICC: correlación intraclase; R: coeficiente de correlación de Pearson; \*Nivel de significación P < 0.01; \*\*Nivel de significación P < 0.001.

## ACUERDO ENTRE MÉTODOS

La **Figura 9** muestra los valores medios de FG medidos con los dos softwares



**Figura 9** : El gráfico muestra los valores medios de FG medidos con los dos diferentes softwares para calcular el acuerdo inter-métodos

Los diagramas de Bland-Altman muestran las medidas con la reproducibilidad más alta y con la reproducibilidad más baja (**Figura 8**).

No se encontraron diferencias significativas en las mediciones de FG obtenidas con los dos softwares, obteniendo un coeficiente de Pearson indicando una alta correlación (**Tabla 2**). Los coeficientes de correlación intraclase inter-métodos revelaron en general de buen a excelente acuerdo para la medida de FG lumbar (ICC 0.821-0.906) y un buen acuerdo para la medida de FG en la cabeza femoral (0.731) (**Tabla 2**).

Tabla 2

Variabilidad entre el software semiautomático basado en Matlab y el método de segmentación basado en Osirix

	L2	L3	L4	L5	FHr
ICC (CI 95%)	0,902 (0,672-0,971)	0,892 (0,598-0,971)	0,821 (0,328-0,950)	0,906 (0,672-0,973)	0,731(0,057-0,929)
R	,839*	,865*	,773*	,852**	0,731*

ICC: correlación intraclase; R: coeficiente de correlación de Pearson; \*Nivel de significación P < 0.01; \*\*Nivel de significación P < 0.001.



## CONCLUSIÓN

Las secuencias Dixon 2.0 con separación de grasa y agua basada en desplazamiento químico permiten la cuantificación de FG de vértebras lumbares y médula ósea femoral con buena reproducibilidad. El nuevo algoritmo semiautomático para segmentar y medir la médula ósea presentado es comparable a la evaluación realizada con Osirix.

1. Schwartz AV, Sigurdsson S, Hue TF, et al. Vertebral Bone Marrow Fat Associated With Lower Trabecular BMD and Prevalent Vertebral Fracture in Older Adults. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013; 98(6):2294–2300.
2. Shih TT, Chang CJ, Hsu CY, Wei SY, Su KC, Chung HW. Correlation of bone marrow lipid water content with bone mineral density on the lumbar spine. *Spine.* 2004; 29(24):2844–2850.
3. Griffith JF, Yeung DK, Antonio GE, et al. Vertebral bone mineral density, marrow perfusion, and fat content in healthy men and men with osteoporosis: dynamic contrast-enhanced MR imaging and MR spectroscopy. *Radiology.* 2005; 236(3):945–951.
4. Di Iorgi N, Rosol M, Mittelman SD, Gilsanz V. Reciprocal relation between marrow adiposity and the amount of bone in the axial and appendicular skeleton of young adults. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 Jun;93(6):2281-6.
5. Wehrli FW, Hopkins JA, Hwang SN, Song HK, Snyder PJ, Haddad JG. Cross-sectional study of osteopenia with quantitative MR imaging and bone densitometry. *Radiology.* 2000 Nov;217(2):527-38.
6. Carmona R, Pritz J, Bydder M, Gulaya S, Zhu H, Williamson CW, et al. Fat composition changes in bone marrow during chemotherapy and radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2014;90:155–63.
7. Bredella MA, Fazeli PK, Daley SM, Miller KK, Rosen CJ, Klibanski A, et al. Marrow fat composition in anorexia nervosa. *Bone.* 2014;66:199–204.
8. Templeton ZS, Lie WR, Wang W, Rosenberg-Hasson Y, Allur, RV, Tamaresis JS, et al. Breast cancer cell colonization of the human bone marrow adipose tissue niche. *Neoplasia.* 2015;17: 849–61.
9. Grey A, Beckley V, Doyle A, Fenwick S, Horne A, Gamble G, et al. Pioglitazone increases bone marrow fat in type 2 diabetes: results from a randomized controlled trial. *Eur J Endocrinol.* 2012;166:1087–91.
10. Blake GM, Fogelman. The role of DXA bone density scans in the diagnosis and treatment of osteoporosis. *Postgrad Med J.* 2007 Aug; 83(982):509-17.
11. Engelke K, Adams JE, Armbrecht Get al. Clinical use of quantitative computed tomography and peripheral quantitative computed tomography in the management of osteoporosis in adults: The 2007 ISCD official positions. *J Clin Densit.* 2008; 11:123–162.
12. Zhang L, Li S, Hao S, Yuan Z. Quantification of fat deposition in bone marrow in the lumbar vertebra by proton MRS and in-phase and out-of-phase MRI for the diagnosis of osteoporosis. *J Xray Sci Technol.* 2016;24(2):257-66.
13. Ho KY, Hu HH, Keyak JH, Colletti PM, Powers CM. Measuring bone mineral density with fat-water MRI: comparison with computed tomography. *J Magn Reson Imaging.* 2013 Jan;37(1):237-42.
14. Shen W, Scherzer R, Gantz M, Chen J, Punyanitya M, Lewis CE, Grunfeld C. Relationship between MRI-measured bone marrow adipose tissue and hip and spine bone mineral density in African-American and Caucasian participants: the CARDIA study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 Apr;97(4):1337-46.
15. Le Ster C, Lasbleiz J, Kannengiesser S, Guillin R, Gambarota G, Saint-Jalmes H. A fast method for the quantification of fat fraction and relaxation times: Comparison of five sites of bone marrow. *Magn Reson Imaging.* 2017 Jun;39:157-161.
16. Cordes C, Dieckmeyer M, Ott B, Shen J, Ruschke S, Settles M, Eichhorn C, Bauer JS, Kooijman H, Rummeny EJ, Skurk T, Baum T, Hauner H, Karampinos DC. MR-detected changes in liver fat, abdominal fat, and vertebral bone marrow fat after a four-week calorie restriction in obese women. *J Magn Reson Imaging.* 2015 Nov;42(5):1272-80.
17. Cohen A, Shen W, Dempster DW, Zhou H, Recker RR, Lappe JM, Kepley A, Kamanda-Kosseh M, Bucovsky M, Stein EM, Nickolas TL, Shane E. Marrow adiposity assessed on transiliac crest biopsy samples correlates with noninvasive measurement of marrow adiposity by proton magnetic resonance spectroscopy ((<sup>1</sup>H-MRS) at the spine but not the femur. *Osteoporos Int.* 2015 Oct;26(10):2471-8.
18. Li X, Kuo D, Schafer AL, Porzig A, Link TM, Black D, Schwartz AV. Quantification of vertebral bone marrow fat content using 3 Tesla MR spectroscopy: reproducibility, vertebral variation, and applications in osteoporosis. *J Magn Reson Imaging.* 2011 Apr;33(4):974-9.
19. Karampinos DC, Ruschke S, Dieckmeyer M, Diefenbach M, Franz D, Gersing AS, Krug R, Baum T. Quantitative MRI and spectroscopy of bone marrow. *J Magn Reson Imaging.* 2017 Jun 1. doi: 10.1002/jmri.25769. [Epub ahead of print]
20. Salas-Ramirez M, Tran-Gia J, Kesenheimer C, Weng AM, Kosmala A, Heidemeier A, Koestler H, Lassmann M. Quantification of fat fraction in lumbar vertebrae: correlation with age and implications for bone marrow dosimetry in molecular radiotherapy. *Phys Med Biol.* 2017 Nov 13. doi: 10.1088/1361-6560/aa9a28. [Epub ahead of print].
21. Li GW, Xu Z, Chen QW, Tian YN, Wang XY, Zhou L, Chang SX. Quantitative evaluation of vertebral marrow adipose tissue in postmenopausal female using MRI chemical shift-based water-fat separation. *Clin Radiol.* 2014 Mar;69(3):254-62.
22. Dixon WT. Simple proton spectroscopic imaging. *Radiology* 1984;153:189–194
23. Ma J. Dixon techniques for water and fat imaging. *J Magn Reson Imaging* 2008; 28:543–558
24. Fischer MA, Pfirmann CW, Espinosa N, Raptis DA, Buck FM. Dixon-based MRI for assessment of muscle-fat content in phantoms, healthy volunteers and patients with achillodynia: comparison to visual assessment of calf muscle quality. *Eur Radiol.* 2014 Jun;24(6):1366-75.