



La Espectroscopía de Hidrógeno por Resonancia Magnética: Exploración virtual no invasiva para la caracterización bioquímica de tumores cerebrales.

Arturo Alvarado ¹.

¹Universidad Central de Venezuela, Facultad de Medicina, Escuela "Luis Razetti", Cátedra de Farmacología y Toxicología, Instituto de Medicina Experimental, Caracas, Venezuela y CDD Centro Diagnóstico Docente "Las Mercedes", Caracas, Venezuela arturoalvaradopisani@gmail.com

Correspondencia: Instituto de Medicina Tropical - Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela.

Consignado el 15 de Abril del 2011 a la Revista Vitae Academia Biomédica Digital.

RESUMEN

La Espectroscopía de Hidrógeno por Resonancia Magnética (ERM) es una técnica no invasiva que puede definirse como biopsia virtual o virtuopsia siendo útil para evaluar el contenido bioquímico del cerebro al aportar información metabólica complementaria a las alteraciones anatómicas que pueden evidenciarse en estudios radiológicos. El objetivo fundamental de

este trabajo es caracterizar el patrón metabólico de los tumores cerebrales más comunes mediante marcadores espectroscópicos utilizando la técnica de ERM Multivoxel. 20 pacientes (5 de cada tipo) con diagnósticos de Glioblastoma Multiforme, Glioma, Astrocitoma Pilocítico, y Metástasis Cerebral de Cáncer de Mama fueron estudiados. La Imagen por Resonancia Magnética (IRM) y la Espectroscopia de Hidrógeno por Resonancia Magnética (ERM) se realizaron en un Equipo Signa Excite® de 3 Tesla (General Electric®). La ERM Multivoxel se llevó a cabo utilizando la secuencia PRESS (Point Resolved Spectroscopy Sequence). Los datos fueron tabulados, expresados en forma de proporción Col/Cr, NAA/Cr, Lac/Cr, Lip/Cr y analizados estadísticamente aplicando el Análisis de Varianza (ANOVA) y el Test de Student-Newman-Keuls para comparaciones múltiples entre medias. Los resultados obtenidos permiten inferir que la elevación de la relación Col/Cr en conjunto con la disminución de NAA/Cr indican mayor grado de agresividad o malignidad de las LOE mientras que un incremento en las relaciones Lac/Cr y/o Lip/Cr indican mayor grado de necrosis y metabolismo anaeróbico de la glucosa en las LOE evaluadas.

PALABRAS CLAVE: Espectroscopía, Resonancia Magnética, Biopsia Virtual, Tumor, Cerebro.

PROTON MAGNETIC RESONANCE SPECTROSCOPY: VIRTUAL NON INVASIVE EXPLORATION FOR THE BIOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF BRAIN TUMORS.

SUMMARY

Proton Magnetic Resonance Spectroscopy (MRS) is a noninvasive technique that could be describe as a virtual biopsy used to evaluate the biochemical content of the brain, providing additional metabolic information to anatomic changes that can be evident on Magnetic Resonance Imaging (MRI) studies. The aim of this study is to characterize the metabolic pattern of most common brain tumors based on the spectroscopic markers that best differentiate between them using the technique of Multivoxel MRS. 20 patients (5 of each type) with diagnosis of Glioblastoma Multiforme, Glioma, Pilocytic Astrocytoma, and Brain Breast Metastasis were studied. MRI and MRS were performed on a 3-Tesla scanner (Signa Excite, General Electric®). Multivoxel MRS was performed using the PRESS sequence (Point Resolved Spectroscopy Sequence). Data were tabulated and expressed as Cho/Cr, NAA/Cr, Lac/Cr and Lip/Cr ratios. They were statistically analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) and Student-Neuman-Keuls test for multiple comparisons among means. The results obtained allow us to conclude that the elevation of Cho/Cr together with the decrease in NAA/Cr suggests a higher degree of aggressiveness or malignancy of the tumor while an increase of Lac/Cr and/or Lip/Cr indicates an important degree of necrosis and anaerobic metabolism of glucose.

KEY WORDS: Spectroscopy, Virtual Biopsy, Tumor, Brain

LA ESPECTROSCOPIA DE HIDRÓGENO POR RESONANCIA MAGNÉTICA: EXPLORACIÓN VIRTUAL NO INVASIVA PARA LA CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE TUMORES CEREBRALES.

INTRODUCCIÓN

La Espectroscopía de Hidrógeno por Resonancia Magnética (ERM) es una técnica no invasiva que puede catalogarse como biopsia virtual o *virtuopsia* utilizada para evaluar el contenido bioquímico del cerebro proporcionando información metabólica complementaria a las alteraciones anatómicas que se evidencian en los estudios radiológicos ⁽¹⁻³⁾. Esta información puede ser de gran interés en la caracterización preoperatoria de los tumores cerebrales. Con el desarrollo de las técnicas de ERM apropiadas, la información bioquímica se ha ido ajustando con la información morfológica que aporta la Imagen por Resonancia Magnética (IRM). La carencia de marcadores que aporten información sobre el comportamiento y las características biológicas de los tumores limita de manera significativa el desarrollo de nuevas estrategias para el tratamiento de las Lesiones De Ocupación de Espacio (LOE) ubicadas en el cerebro ⁽⁴⁻⁶⁾. Hoy en día los marcadores de más importancia se identifican mediante análisis molecular, técnicas de microarreglo de genes y del ADN, los cuales requieren de la realización de biopsias que pudiesen estar limitadas debido a la localización de una determinada LOE. La ERM nos brinda la posibilidad de detectar moléculas intracelulares y marcadores metabólicos mediante un procedimiento no invasivo que no emite radiaciones abriendo las puertas para el inicio de una nueva etapa en el manejo de los tumores ⁽⁷⁻¹⁰⁾. La ERM Multivoxel permite obtener datos espectrales de múltiples zonas de las LOE y sus alrededores accediendo a predecir la histología, cambios en el grado tumoral, evaluar la respuesta a la radiación o a la quimioterapia, diferenciar tejido tumoral de tejido necrótico postradiación, tejido normal u otras anomalías estructurales ⁽⁸⁻⁹⁾. Los estudios previos al nuestro han demostrado reiterativamente el incremento de la intensidad de la señal de la Colina (Col) con la correspondiente disminución de la Creatina (Cre) y del N-Acetilaspártato (NAA) en LOE cerebrales ⁽¹⁰⁾. También se han detectado Lactato (Lac) y/o Lípidos (Lip) ⁽¹⁰⁻¹³⁾. El incremento en la Col se ha atribuido a modificaciones de la membrana celular que ocurren como consecuencia de la alteración del metabolismo de los fosfolípidos que acontece durante el crecimiento celular exagerado y la neoplasia. La disminución de NAA podría deberse al hecho de que las LOE están localizadas en neuronas sanas y por ende su descenso es determinado por la infiltración del tumor, inmadurez oligodendrogial, o alteraciones neoplásicas ⁽¹⁷⁻¹⁸⁾. La disminución de la Cre se le atribuye al edema y/o a la necrosis mientras que el incremento del lactato reflejaría alteraciones del metabolismo de las células tumorales desviando el mismo hacia la glicólisis anaeróbica ⁽¹⁰⁻¹²⁾.

Optimizar el manejo de los pacientes que presentan un tumor cerebral requiere de un diagnóstico lo más exacto posible. La IRM puede proporcionar una definición inicial de las masas cerebrales con una adecuada exactitud dependiendo del tipo de tumor. La Anatomía Patológica (AP) se considera el método de elección para establecer el diagnóstico definitivo, por lo cual la biopsia del tumor sigue siendo necesaria ⁽¹⁹⁾. Un método no invasivo como la ERM, que permitiera predecir con exactitud cual tipo de lesión estudiamos podría evitar biopsias en procesos no tumorales o en tumores no abordables mediante cirugía convencional o radiocirugía ⁽²⁰⁻²¹⁾. Los resultados de la ERM y de la AP pueden presentar discrepancias entre ellas según la técnica utilizada. En la ERM es fundamental la ubicación del voxel, la selección de las imágenes de referencia pre o postcontraste, la técnica utilizada

(voxel sencillo o multivoxel), mientras que para que la AP resulte fidedigna es importante considerar la técnica quirúrgica a seleccionar (biopsia estereotáctica, resección parcial o resección total) ⁽¹⁹⁻²²⁾. Los tumores cerebrales pueden ser muy heterogéneos y su espectro puede contener información de múltiples compartimentos de tejido tales como células tumorales viables, áreas de necrosis, áreas quísticas, zonas de edema y/o tejido normal (infiltrado)⁽²²⁾. Cada compartimento aporta un tipo determinado de información que condiciona la clasificación. Por otra parte, células de diferente grado tumoral pueden coincidir en una misma lesión. El espectro de un voxel de determinado volumen ($1\text{ cm}^3 - 8\text{ cm}^3$) nos proporcionará la información promedio de ese volumen, mientras que el diagnóstico de la AP considerará el mayor grado detectado en la muestra, aunque represente únicamente una pequeña proporción del voxel. Por otra parte, el diagnóstico histopatológico de una pequeña muestra del tumor obtenida mediante estereotaxia pudiese no ser representativo de la totalidad del tumor ⁽¹⁹⁾. La información proporcionada por la ERM debería poder ser aplicada en la práctica clínica para diferenciar tipos tumorales “in vivo”. Por ello debemos establecer el patrón espectral de cada grupo tumoral así como conocer que variable o variables espectroscópicas diferencian mejor a los diversos grupos tumorales ⁽³⁻¹⁰⁾. De esa forma se podría disponer de un método que aplique las características diferenciales en la clasificación de tumores cerebrales.

El objetivo fundamental de este trabajo es caracterizar el patrón metabólico de los tumores cerebrales más frecuentes y las variables espectroscópicas que mejor los diferencien entre si mediante la técnica de ERM Multivoxel.

MATERIALES Y MÉTODOS

20 pacientes (5 de cada tipo) con diagnósticos de Glioblastoma Multiforme (GBM), Glioma (GLM), Astrocitoma Pilocítico (APC), y Metástasis Cerebral de Cáncer de Mama (MTC) fueron estudiados luego de obtener su consentimiento informado para participar en la investigación una vez que el protocolo fue aprobado por el Comité de Ética correspondiente. La IRM y la ERM se realizaron en un Equipo Signa Excite® de 3 Tesla de la casa comercial General Electric®. La ERM Multivoxel se llevó a cabo utilizando la secuencia PRESS (Point Resolved Spectroscopy Sequence) con los siguientes parámetros fijos: Tiempo de Repetición = 1500 milisegundos (mseg), Tiempo de Eco = 35 mseg, Campo de Vista = 20 cm, Fase = 16, profundidad de corte = 10 mm, Tiempo de Adquisición Total = 9'41". Los datos espectroscópicos fueron representados espacialmente en una matrix de 32 x 32 imágenes para una resolución final del voxel de $0.75\text{ cm} \times 0.75\text{ cm} \times 1.00\text{ cm} = 0.56\text{ cm}^3$ ⁽²³⁻³¹⁾. Se definieron las siguientes resonancias de interés en el espectro: Lípidos (Lip) centrado en 0,90 ppm, Lactato (Lac) centrado en 1,33 ppm (dupleta), N-Acetilaspártato (NAA) centrado en 2,02 ppm, Complejo Glutamina-Acido Glutámico (Glx) centrado entre 2,10 y 2,40 ppm, Creatina (Cre) centrado en 3,03 ppm, Colina (Col) centrado en 3,20 ppm y mio-Inositol (ml) centrado en 3,55 ppm. La estrategia para el posicionamiento de la grilla fue la de estudiar el mayor volumen posible del área tumoral sólida, áreas quísticas, regiones de penumbra tumoral, edema y posible tejido no afectado para ser tomado como referencial (aparentemente sano).

Para ello se analizaron todas las secuencias disponibles, incluyendo las obtenidas tras la administración de contraste endovenoso. El medio de contraste paramagnético administrado por vía intravenosa fue el gadolinio (Gd-DTPA, 0,1 mmol por kilogramo de peso corporal (mmol/kg p.c.), equivalente a 0,1 ml/kg p.c. de la solución 1,0 M ó a 0,2 ml/kg p.c. de la solución 0,5 M). La administración del Gd-DTPA tuvo por objeto destacar alguna imagen particular de interés en la LOE debido a la elevada susceptibilidad que presentan las moléculas paramagnéticas en medio de la baja susceptibilidad del tejido adyacente.

Los resultados se tabularon y expresaron en forma de proporción Col/Cre, NAA/Cre, Lac/Cre y Lip/Cre. Posteriormente fueron analizados estadísticamente aplicando el Análisis de Varianza (ANOVA) y el Test de Student-Newman-Keuls para comparaciones múltiples de medias⁽³²⁻³³⁾. Para ello se utilizó el software comercial Instat Graph Pad®.

RESULTADOS

Los valores de las relaciones Col/Cre, NAA/Cre, Lac/Cre y Lip/Cre se expresan en la Tabla 1.

	GBM	GLM	APC	MTC	REF
	3,80	3,25	1,50	1,50	0,90
	3,65	2,85	1,65	1,35	0,70
Col/Cre	4,20	2,75	1,85	1,25	0,85
	3,70	3,05	2,00	1,10	0,75
	4,00	2,50	1,90	1,55	0,95
	0,75	0,85	0,95	1,30	1,50
	0,60	0,80	0,75	1,25	1,65
NAA/Cre	0,50	0,75	0,90	1,20	1,70
	0,80	0,90	0,98	1,35	1,80
	0,65	0,70	0,87	1,20	1,75
	6,00	0,00	0,00	10,00	0,00
	6,50	0,00	0,00	8,00	0,00
Lac/Cre	5,00	0,75	0,00	9,50	0,00
	4,75	0,90	0,00	11,00	0,00
	4,00	0,70	0,00	8,50	0,00
	5,00	2,00	0,00	6,50	0,00
	4,20	1,50	0,00	4,75	0,00
Lip/Cre	3,70	2,50	0,00	5,00	0,00
	4,75	1,30	0,00	5,50	0,00
	4,00	1,40	0,00	6,00	0,00

Tabla 1.- Valores individuales de los marcadores espectrales referidos a la Creatina (Cre).

La Figura 1 representa el promedio más una desviación estándar de los resultados expresados en la Tabla 1.

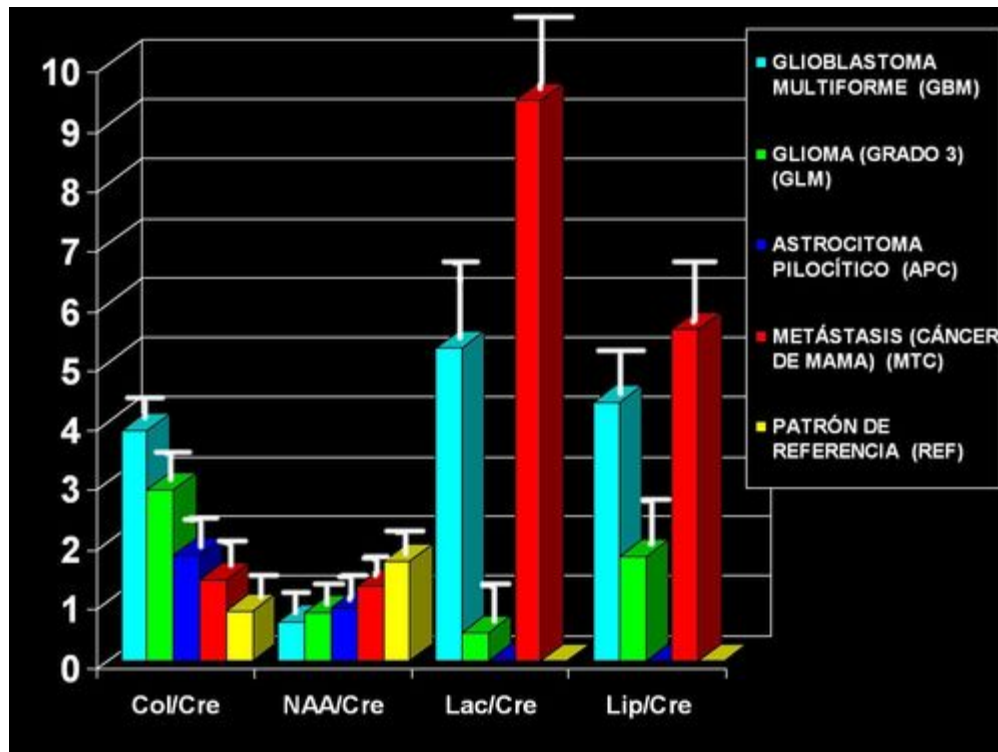


Figura.1. Representación en forma de barras de los promedios más una desviación estándar de las relaciones Col/Cre, NAA/Cre, Lac/Cre, Lip/Cre.

Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los promedios de la relación Col/Cre ($p < 0.01$) los cuales se ordenaron de manera decreciente GBM > GLM > APC > MTC > REF. De igual forma, pero en orden inverso para la relación NAA/Cre ($p < 0.01$) REF > MTC > APC > GLM \geq GBM. En el caso de la relación Lac/Cre y Lip/Cre, el comportamiento de la proporcionalidad fue MTC > GBM > GLM ($p < 0.01$) ya que el valor para APC y REF fue igual a cero.

La Figura 2 representa los patrones espectrales obtenidos en un caso de GLIOBLASTOMA MULTIFORME (GBM).

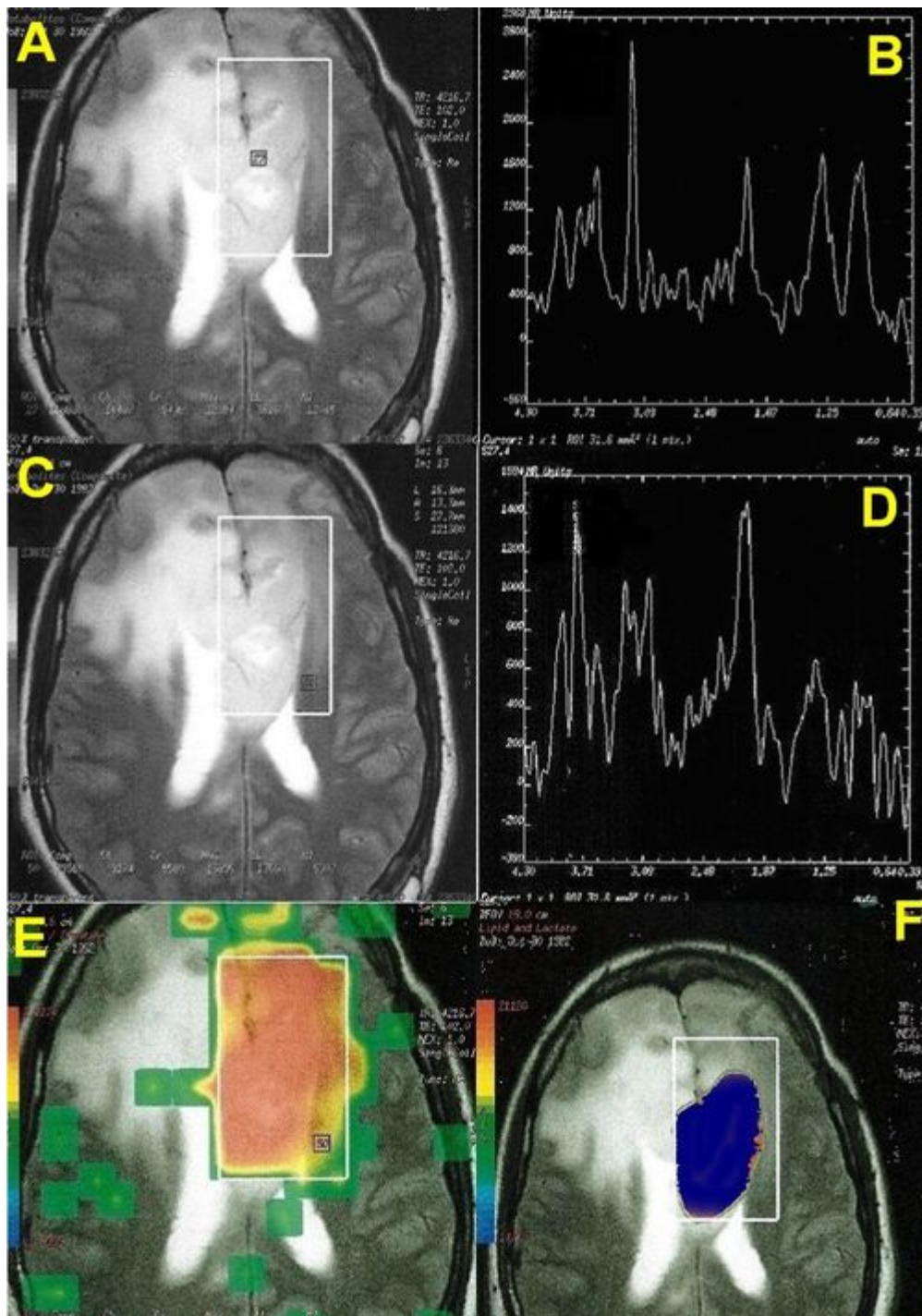


Figura 2. A.-Selección del Volumen de Interés más representativo a partir del Multivoxel localizado en la Proyección Axial T2 para espectroscopía. B.-Patrón espectroscópico obtenido en el Glioblastoma Multiforme. C.-Selección del Volumen de Interés de Referencia localizado en la Proyección Axial T2 para espectroscopía. D.-Trazado espectral referencial obtenido en una localización anatómica aparentemente sana. E.-Mapa Metabólico que representa a partir de la relación Col/Cr en color rojo sobre amarillo el área de mayor actividad tumoral de la LOE. F.- Mapa Metabólico que representa la presencia de Lac y Lip en color azul en la cual se observa intersección con el mapa presentado a la izquierda (5E).

La Figura 3 representa los patrones espectrales obtenidos en un caso de GLIOMA GRADO 3 (GLM)

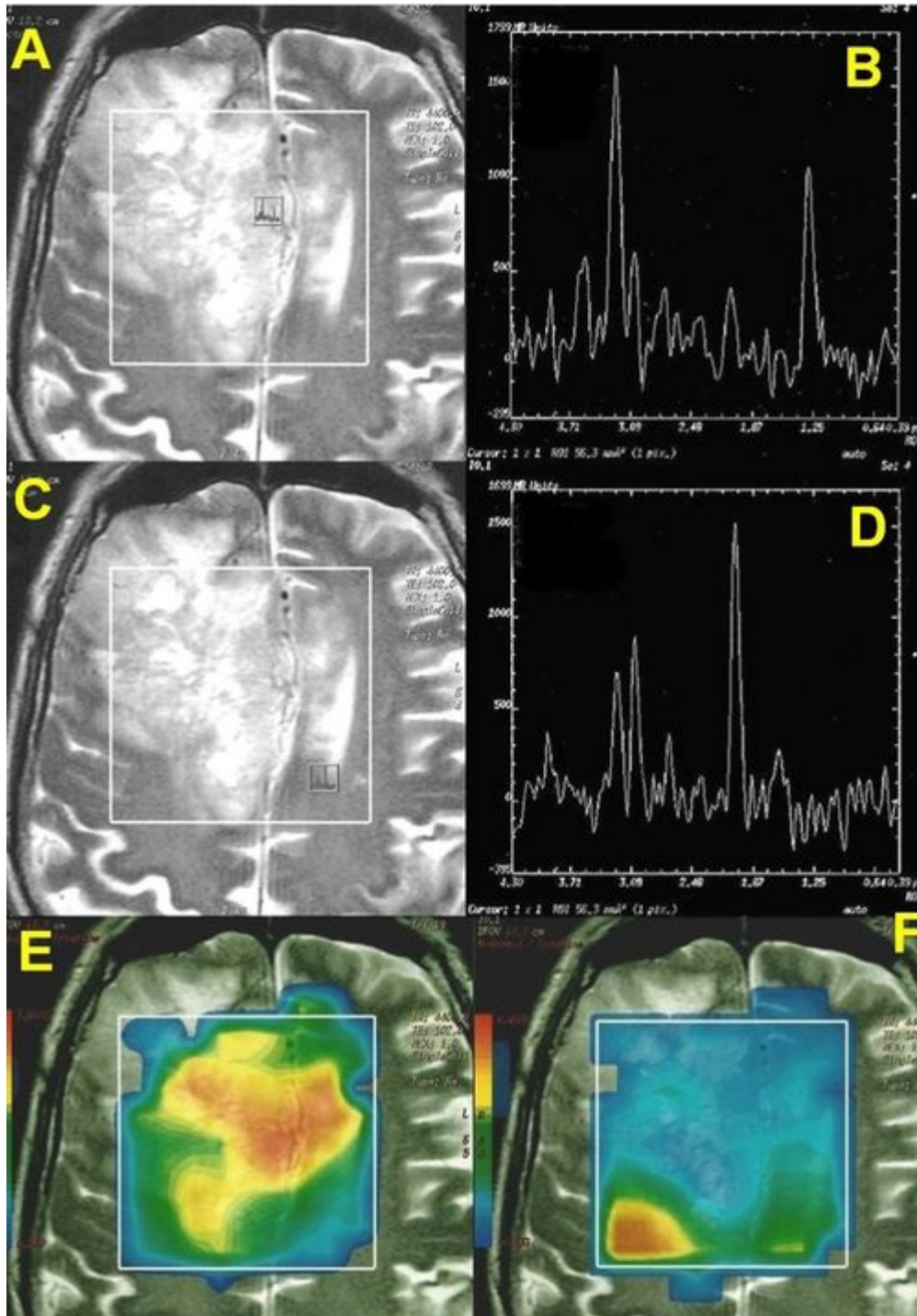


Figura 3. A.-Selección del Volumen de Interés más representativo a partir del Multivoxel localizado en la Proyección Axial T2 para espectroscopía. B.-Patrón espectroscópico obtenido en el Glioma. C.-Selección del Volumen de Interés de Referencia localizado en la Proyección Axial T2 para espectroscopía. D.-Trazado espectral referencial obtenido en una localización anatómica aparentemente sana. E.-Mapa Metabólico que representa a partir de la relación Col/Cr en color rojo sobre amarillo el área de mayor actividad tumoral de la LOE. F.- Mapa Metabólico que representa a partir de la relación NAA/Cr en color azul la región en la cual se presenta el mayor deterioro neuronal o gliosis.

La Figura 4 representa los patrones espectrales obtenidos en un caso de ASTROCITOMA PILOCÍTICO DE FOSA POSTERIOR (APC)

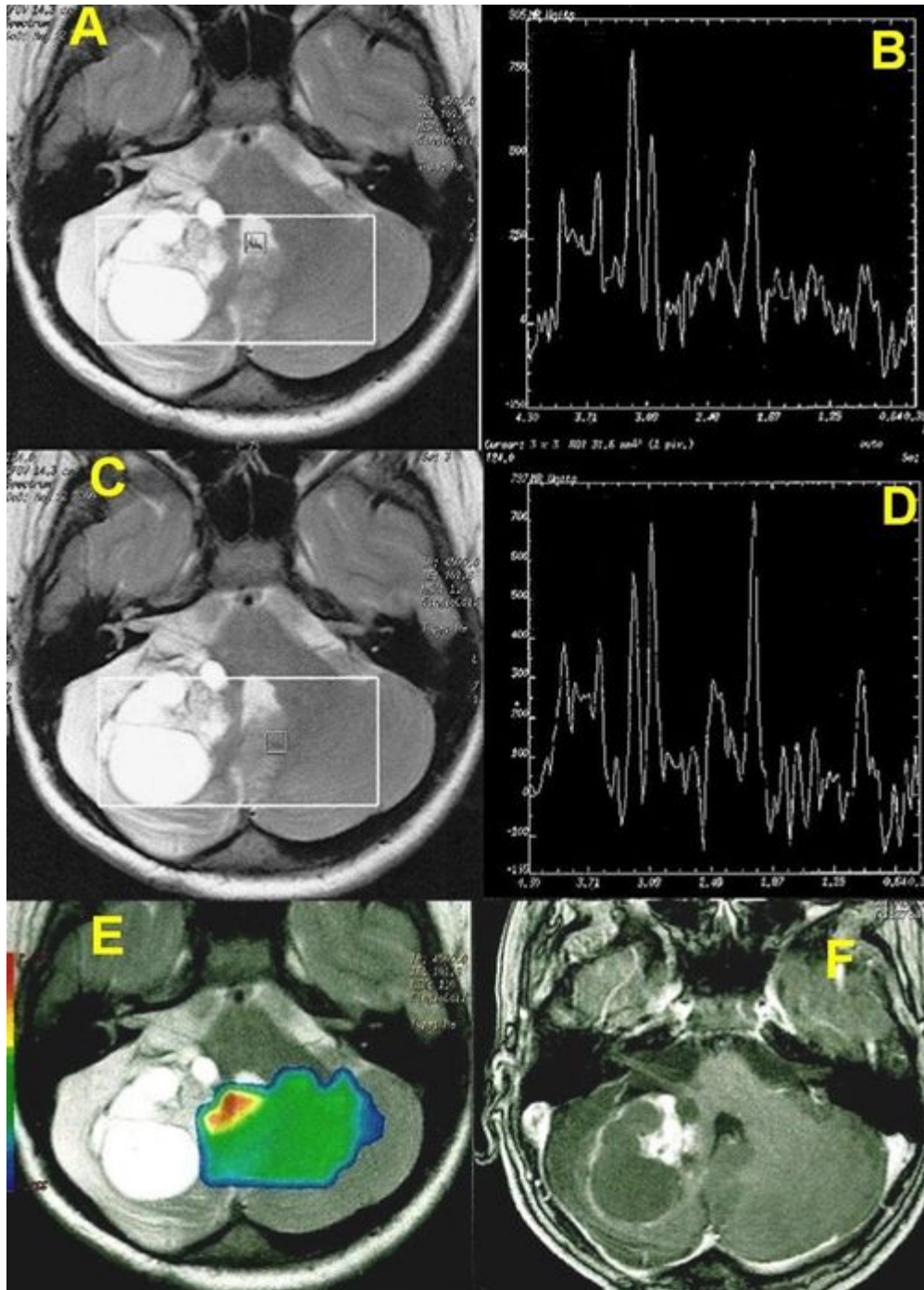


Figura 4. A.-Selección del Volumen de Interés más representativo a partir del Multivoxel localizado en la Proyección Axial T2 para espectroscopía. B.-Patrón espectroscópico obtenido en el Astrocitoma Pilocítico de Fosa Posterior. C.-Selección del Volumen de Interés de Referencia localizado en la Proyección Axial T2 para espectroscopía. D.-Trazado espectral referencial obtenido en una localización anatómica aparentemente sana. E.-Mapa Metabólico que representa a partir de la relación Col/Cr en color rojo sobre amarillo el área de mayor actividad tumoral de la LOE. F.- Imagen Axial en la cual se demuestra la captación de medio

de contraste en correlación con los resultados del mapa metabólico presentado en la gráfica 5E.

La Figura 5 representa los patrones espectrales obtenidos en un caso de METÁSTASIS DE CANCER DE MAMA (MTC)

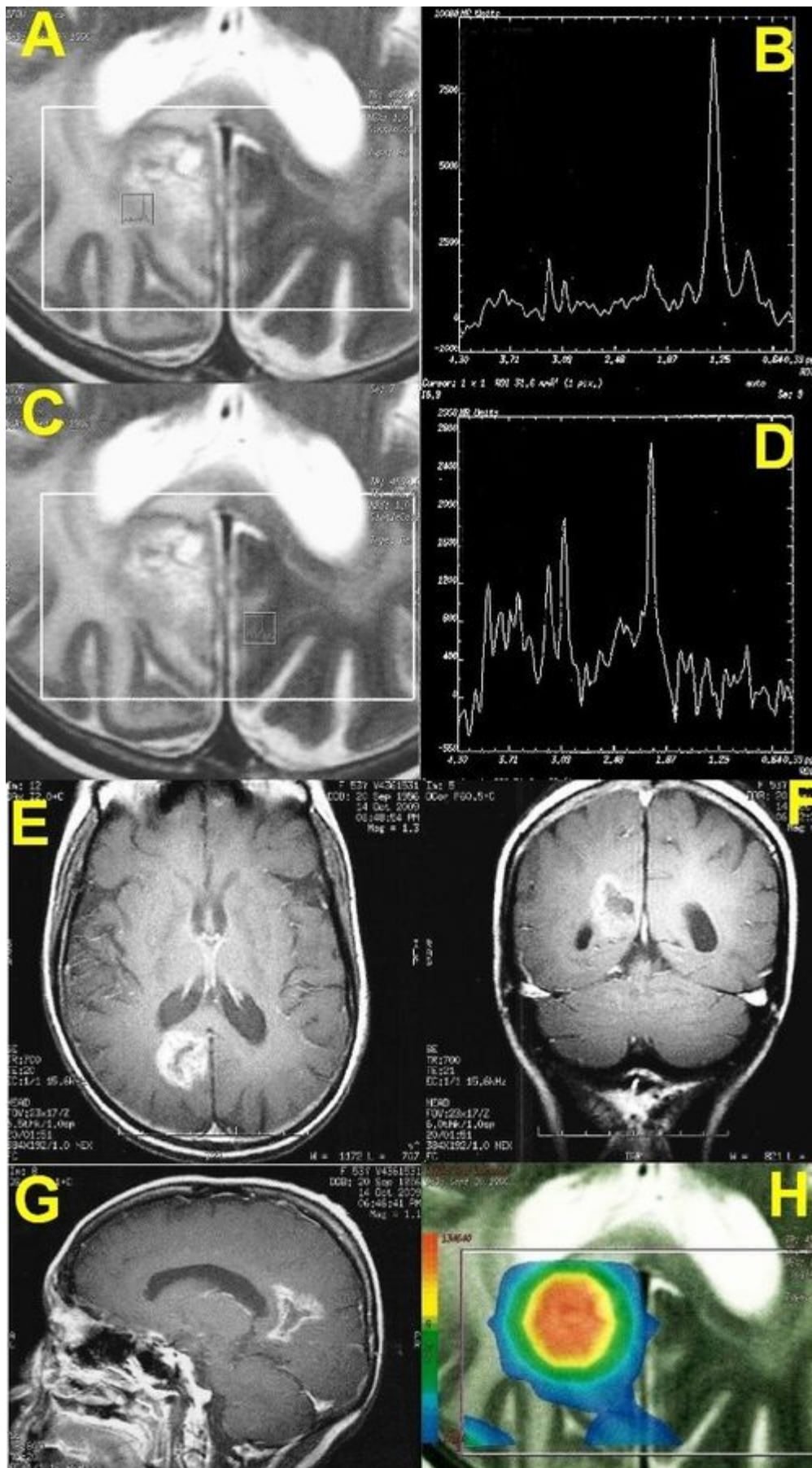


Figura 5. A-Selección del Volumen de Interés más representativo a partir del Multivoxel

localizado en la Proyección Axial T2 para espectroscopía. B.-Patrón espectroscópico obtenido en la LOE, una Metástasis del Cáncer de Mama localizada en la Región Occipital Derecha. C.- Selección del Volumen de Interés de Referencia localizado en la Proyección Axial T2 para espectroscopía en la Región Homóloga Contralateral. D.-Trazado espectral referencial obtenido en una localización anatómica aparentemente sana. E, F y G. Imagen Axial, Coronal y Sagital respectivamente en las cuales se demuestra el patrón de captación de medio de contraste. H.-Mapa Metabólico que representa a partir de la relación Col/Cr en color rojo sobre amarillo el área de mayor actividad tumoral de la LOE en estrecha correlación con los patrones de captación de medio de contraste.

DISCUSIÓN

La evaluación del tipo y grado de los Tumores Cerebrales así como la selección adecuada de la localización para realizar una biopsia y la definición de los márgenes de las LOE son difíciles de establecer si se realiza la IRM sin el complemento de la ERM. La ERM Multivoxel realizada en un equipo cuyo campo magnético es de 3T nos permitió diferenciar lesiones de alto o bajo grado, tumor de necrosis, edema de tumor y edema de tejido normal. Además, como puede observarse en las Figuras 2, 3, 4 y 5 cada tipo de tumor presenta un patrón espectroscópico característico que permitiría hacer una observación presuntiva del tipo de LOE que se está estudiando mientras se realiza el diagnóstico anatomopatológico ⁽³⁴⁻³⁷⁾.

El presente estudio demuestra el beneficio de realizar la ERM Multivoxel para la identificación de biomarcadores tumorales en las LOE del cerebro contribuyendo a suministrar información de interés acerca de la utilidad de la Col, el NAA, el Lac y/o Lip los cuales son los cuatro metabolitos de mayor utilidad que se detectan de manera no invasiva mediante la ERM permitiendo así optimizar la evaluación clínica de los tumores cerebrales ⁽⁹⁻¹³⁾. Estos biomarcadores de manera independiente, pueden ser útiles para predecir el grado de la lesión, mientras que la interpretación de manera combinada puede contribuir a la clasificación del tumor. La aproximación al grado del tumor es esencial para optimizar el tratamiento farmacológico posterior a la cirugía con quimioterapia o radioterapia.

Las alteraciones metabólicas que se observan en tumores cerebrales pueden resumirse en la elevación de la intensidad de la señal de Col, Lac y Lip y disminución de la intensidad de la señal del NAA y Cre. El metabolismo de la Col es complejo lo cual dificulta la interpretación de los resultados. La liberación de fosforilcolina y glicerofosfocolina producto de la destrucción de la membrana celular y la ulterior producción de estos metabolitos durante la síntesis de dicha membrana, podrían ser los eventos bioquímicos que expliquen el incremento de la intensidad de la señal de la Col. En consecuencia su elevación en la ERM puede resultar de la síntesis de membrana, la destrucción de la misma o de una combinación de ambos factores ⁽¹⁴⁻¹⁷⁾. La intensidad de la señal de la Col se puede modificar dependiendo de la densidad celular, el grado de la lesión y la presencia o ausencia de necrosis ⁽³⁸⁾. La resonancia de la Col es mayor en aquellas regiones de las LOE con elevada densidad neoplásica celular (Figuras 2 y 3 correspondientes al GBM y GLM respectivamente) y progresivamente inferior en tumores de

bajo o moderado grado como el APC (Figura 4). Esto queda evidenciado en el GBM la lesión de mayor malignidad del grupo de las LOE presentadas en este trabajo alcanzando el valor de la relación Col/Cre más elevado aún en presencia de abundante tejido necrótico como lo corroboran los valores de las relaciones Lac/Cr y Lip/Cr (Figura 2). En tal sentido el orden de magnitud de la proporción Col/Cre reportado en la Figura 1 fue GBM > GLM > APC > MTC > REF.

Estudios previos han demostrado correspondencia entre los resultados de la anatomía patológica y la elevación de los valores de la relación Col/Cre en lo que al grado de malignidad concierne ⁽³⁹⁻⁴¹⁾. Por ende el análisis del comportamiento de la Col podría surgir como una alternativa a la realización de la biopsia en aquellos casos en los cuales la localización de la LOE comprometa la toma de la misma. Adicionalmente el valor de la relación Col/Cre podría servir para monitorizar la terapéutica a ser aplicada, mientras que la combinación de los valores de Col/Cre con Lac/Cre o Lip/Cre podría ser útil para el diseño del tratamiento basado en la presencia de los marcadores metabólicos ^(8-15, 17, 38-41).

Tanto Col como Lac y/o Lip han sido previamente asociados de manera independiente con el grado del tumor ⁽⁴²⁻⁴⁵⁾. En el presente estudio exploramos la posible asociación de las proporciones Col/Cre, Lac/Cre y Lip/Cre de manera combinada para evaluar el nivel de agresividad o malignidad de los GBM, GLM, APC y MET. La clasificación de los GLM (tumores cerebrales primarios en los que participan las células gliales que brindan nutrientes, oxígeno y otro tipo de soporte a las neuronas) según su grado es importante para la selección de su posterior tratamiento ya que los GLM de alto grado son abordados con radio o quimioterapia adyuvante luego de su resección quirúrgica en comparación con los de bajo grado ⁽⁴⁶⁾. La revisión de la literatura aporta evidencias sobre la utilidad del valor de la relación NAA/Cr para diferenciar entre gliomas de bajo o de alto grado ⁽⁴⁷⁻⁴⁹⁾. En nuestro estudio presentamos resultados para GLM Grado 3 (Figura 3) pudiendo constatarse que el valor de la proporción NAA/Cr no fue estadísticamente diferente entre los GBM y los GLM ($p > 0,05$) lo cual evidencia el alto grado tumoral de ambos tipos de lesión. Nuestro estudio corrobora que inversamente a lo que ocurre con la intensidad de la señal de la Col, la del NAA (marcador de la integridad neuronal) se reduce en los Tumores Cerebrales debido al hecho que representa el que la mayoría de las LOE del cerebro son de origen no neuronal. Es de hacer notar que la disminución de NAA/Cre no es específica para tumores ya que se observa en los patrones espectroscópicos de condiciones como accidentes cerebro-vasculares, condiciones desmielinizantes e hipoxia entre otras ^(23,50).

El análisis de nuestros resultados demuestra que la elevación de los valores de Lac/Cre o Lip/Cre pudiesen reflejar el elevado grado de las LOE que las presentan sugiriendo un importante componente de necrosis como es el caso de las MTC (Figura 5) mientras que en lesiones de bajo grado como los APC presentados en este estudio, se encuentran ausentes (Figura 4) ⁽⁵¹⁾. Los Lip perceptibles a través de la ERM se correlacionan con la presencia de apoptosis, necrosis y con la proporción de células en fase S y G2 ⁽⁵²⁾.

El incremento de la relación Lac/Cre probablemente se debe a la modificación de la glicólisis normal alterando la bioquímica de las LOE hacia la glicólisis anaeróbica favorecida por la

isquemia originada por la insuficiente irrigación sanguínea o a la necrosis, la cual se cree que en conjunto con la ruptura de la membrana anteriormente descrita puede ser la causa del aumento de los valores de Lac/Cre y/o Lip/Cre ⁽⁵¹⁻⁵⁵⁾.

El estudio de las MTC presentadas corresponde al promedio de los valores obtenidos para pacientes con Cáncer de Mama. El patrón espectral de las MTC es similar al de los GBM mostrando los valores más elevados de las relaciones Lac/Cre y Lip/Cre al compararlos con el resto de los grupos en estudio ($p < 0,05$) ⁽⁵⁶⁻⁵⁸⁾.

El análisis de los resultados obtenidos nos conduce a varias precisiones sobre los patrones espectroscópicos derivados de la ERM Multivoxel. Los tumores resultan ser muy heterogéneos y su espectro puede contener información de múltiples compartimentos que coexisten en una misma LOE: células tumorales viables, áreas de necrosis, áreas quísticas, zonas de edema, zonas de penumbra, áreas de encefalomalacia (en el caso que hayan sido sometidos previamente a cirugía) y tejido normal. Cada porción aporta un tipo determinado de información que determina la preclasificación de las LOE antes de obtener los resultados histopatológicos. Ha de tenerse en cuenta que células de diferente grado tumoral pueden coincidir en un mismo tumor. El espectro de un voxel de $0,56 \text{ cm}^3$ como el obtenido del Multivoxel realizado nos proporcionará una visión promedio de ese volumen, mientras que el diagnóstico anatomopatológico considerará el mayor grado detectado en la muestra⁽⁵⁰⁾. El diagnóstico histopatológico de una muestra de la LOE obtenida mediante biopsia estereotaxica podría no ser representativa de la totalidad del tumor estableciendo un diagnóstico por ERM diferente del anatomopatológico ⁽¹⁹⁻²³⁾. La ERM Multivoxel presenta una importante ventaja frente a la técnica de voxel sencillo ya que la totalidad del tumor queda incluida en el estudio ⁽⁵⁸⁻⁵⁹⁾.

A pesar de estas limitaciones nuestros resultados demuestran patrones de espectroscopia que se han señalado como característicos de determinados tipos tumorales, y las técnicas estadísticas aplicadas han demostrado ser capaces de relacionar determinados patrones de ERM con algunos grupos tumorales ^(8,19,20,23-26,59).

En conclusión, los resultados obtenidos permiten inferir que la elevación de la relación Col/Cre en conjunto con la disminución de NAA/Cre indica un importante grado de agresividad o malignidad de las LOE mientras que un incremento de las proporciones Lac/Cre y/o Lip/Cre indica presencia de necrosis y metabolismo anaeróbico de la glucosa en las LOE evaluadas en la presente investigación.

REFERENCIAS

- 1.-Alusta P, Im I, Pearce B, Beger R, Kretzer R, Buzatu D, Wilkes J. Improving proton MR spectroscopy of brain tissue for noninvasive diagnostics. J Magn Reson Imaging 2010; 32: 818-829.
- 2.-Preul M, Caramanos Z, Collins D, Villemure J, Leblanc R, Olivier A, Pokrupa R, Arnold D.

Accurate, noninvasive diagnosis of human brain tumors by using proton magnetic resonance spectroscopy. *Nat Med* 1996; 2: 323-325.

3.-Ross B, Michaelis T. Clinical applications of magnetic resonance spectroscopy. *Magn Reson Q* 1994; 10: 191-247.

4.-Kugel H, Heindel W, Ernestus R, Bunke J, du Mesnil R. Human brain tumors: spectral patterns detected with localized H-1 MR spectroscopy. *Radiology* 1992; 183: 701-709.

5.-Tzika A, Vajapeyam S, Barnes P. Multivoxel proton MR spectroscopy and hemodynamic MR imaging of childhood brain tumors: preliminary observations. *Am J Neuroradiol* 1997;18:203-18.

6.-Del Sole A, Falini A, Ravasi L, Ottobrini L, De Marchis D, Bombardieri E, Lucignani G. Anatomical and biochemical investigation of primary brain tumours. *Eur J Nucl Med* 2001; 28: 1851-1872.

7.-Tzika A, Cheng L, Goumnerova L, Madsen J, Zurakowski D, Astrakas L, Zarifi M, Scott R, Anthony D, Gonzalez R, Black P. Biochemical characterization of pediatric brain tumors by using in vivo and ex vivo magnetic resonance spectroscopy. *J Neurosurg* 2002; 96: 1023-1031.

8.-Murphy M, Loosemore A, Clifton A, Howe F, Tate A, Cudlip S, Wilkins P, Griffiths J, Bell B. The contribution of proton magnetic resonance spectroscopy (¹H MRS) to clinical brain tumour diagnosis. *Br J Neurosurg* 2002; 16: 329-334.

9.-Tzika A, Astrakas L, Zarifi M, Petridou N, Young-Poussaint T, Goumnerova L, Zurakowski D, Anthony D, Black P. Multiparametric MR assessment of pediatric brain tumors. *Neuroradiology* 2003;45:1-10.

10.-Howe F, Barton S, Cudlip S, Stubbs M, Saunders D, Murphy M, Wilkins P, Opstad K, Doyle V, McLean M, Bell B, Griffiths J. Metabolic profiles of human brain tumors using quantitative in vivo ¹H magnetic resonance spectroscopy. *Magn Reson Med* 2003; 49: 223-232.

11.-Ott D, Henning J, Ernst T. Human brain tumors: assessment with in vitro proton MR spectroscopy. *Radiology* 1993; 186: 745-752.

12.-De Edelenyi F, Rubin C, Estève F, Grand S, Décorps M, Lefournier V, Le Bas J, Rémy C. A new approach for analyzing proton magnetic resonance spectroscopic images of brain tumors: nosologic images. *Nat Med* 2000; 6: 1287-1289.

13.-Preul M, Caramanos Z, Leblanc R, Villemure J, Arnold D. Using pattern recognition of in vivo proton MRSI data to improve the diagnosis and surgical management of patients with brain tumors. *NMR Biomed* 1998; 11: 192-200.

14.-Gupta R, Cloughesy T, Sinha U, Garakian J, Lazareff J, Rubino G, Rubino L, Becker D, Vinters H, Alger J. Relationships between choline magnetic resonance spectroscopy, apparent diffusion coefficient and quantitative histopathology in human glioma. *J Neurooncology* 2000;50:215-226.

- 15.-Herminghaus S, Pilatus U, Moller-Hartmann W, Raab P, Lanfermann H, Schlote W, Zanella F. Increased choline levels coincide with enhanced proliferative activity of human neuroepithelial brain tumors. *NMR Biomed* 2002; 15: 385-392.
- 16.-Podo F. Tumour phospholipid metabolism. *NMR Biomed* 1999;12:413-439.
- 17.-Tzika A, Astrakas L, Kieran M, Zurakowski D, Zarifi M, Poussaint T. Choline to N-acetylaspartate ratio is predictive of pediatric brain tumor progression. *Radiology* 2001;221(Suppl):488
- 18.-Tallan H. Studies on the distribution of N-acetyl-L-aspartic acid in brain. *J Biol Chem* 1957;224:41-5.
- 19.-Yu X, Liu Z, Tian Z, Li S, Huang H, Xiu B, Zhao Q, Liu L, Jing W. Stereotactic biopsy for intracranial space-occupying lesions: clinical analysis of 550 cases. *Stereotact Funct Neurosurg* 2000; 75: 103-108.
- 20.-Alesch F, Pappaterra J, Tratting S, Koos W. The role of stereotactic biopsy in radiosurgery. *Acta Neurochirur Suppl (Wien)* 1995; 63: 20-24.
- 21.-Bernstein M, Parrent A. Complications of CT-guided stereotactic biopsy of intra-axial brain lesions. *J Neurosurg* 1994; 81: 165-168.
- 22.-Paulus W, Pfeiffer J. Intratumoral histologic heterogeneity of gliomas. A quantitative study. *Cancer* 1989; 64: 442-447.
- 23.-Lin A, Ross B, Harris K, Wong W. Efficacy of proton magnetic resonance spectroscopy in neurological diagnosis and neurotherapeutic decision making. *NeuroRx* 2005;2:197-214
- 24.-Frayne R, Goodyear B, Dickhoff P, Lauzon M, Sevvick R. Magnetic resonance imaging at 3.0 Tesla: challenges and advantages in clinical neurological imaging. *Invest Radiol* 2003;38:385-402
- 25.-Di Costanzo A, Trojsi F, Tosetti M, Giannatempo G, Nemore F, Piccirillo M, Bonavita S, Tedeschi G, Scarabino T. High-field proton MRS of human brain. *Eur J Radiol* 2003;48:146-153
- 26.-Schmitz B, Aschoff A, Hoffmann M, Grön G. Advantages and pitfalls in 3T MR brain imaging: a pictorial review. *Am J Neuroradiol* 2005;26:2229-2237
- 27.-Shapiro M, Magee T, Williams D, Ramnath R, Ross J. The time for 3T clinical imaging is now. *Am J Neuroradiol* 2004;25:1628-1629
- 28.-DeLano M, Fisher C. 3T MR imaging of the brain. *Magn Reson Imaging Clin N Am* 2006;14:77-88
- 29.-Tanenbaum L. Clinical 3T MR imaging: mastering the challenges. *Magn Reson Imaging Clin N Am* 2006;14:1-15
- 30.-Schwindt W, Kugel H, Bachmann R, Kloska S, Allkemper T, Maintz D, Pfeleiderer B, Tombach B, Heindel W. Magnetic resonance imaging protocols for examination of the neurocranium at

3T. Eur Radiol 13:2170-2179

31.-Lu H, Nagae-Poetscher L, Golay X, Lin D, Pomper M, van Zijl P. Routine clinical brain MRI sequences for use at 3.0 Tesla. J Magn Reson Imaging 2005;22:13-22

32.-Ndukum J, Fonseca L, Santos H, Voit E, Datta S. Statistical inference methods for sparse biological time series data. BMC Syst Biol. 2011 Apr 25;5:57.

33.-O'Brien L, Ziegler D, Deutsch C, Frazier J, Herbert M, Locascio J. Statistical adjustments for brain size in volumetric neuroimaging studies: Some practical implications in methods. Psychiatry Res. 2011 Jun 17. [Epub ahead of print]

34.-Tate A, Majos C, Moreno A, Howe F, Griffiths J, Arus C. Automated classification of short echo time in in vivo ^1H brain tumor spectra: a multicenter study. Magn Reson Med 2003; 49: 29-36.

35.-Majos C, Julia-Sape M, Alonso J, Serrallonga M, Aguilera C, Acebes J, Arús C, Gili J. Brain tumor classification by proton MR spectroscopy: comparison of diagnostic accuracy at short and long TE. Am J Neuroradiol 2004; 25: 1696-1704.

36.-Lukas L, Devos A, Suykens J, Vanhamme L, Howe F, Majos C, Moreno-Torres A, Van der Graaf M, Tate AR, Arús C, Van Huffel S. Brain tumor classification based on long echo proton MRS signals. Artif Intell Med 2004; 31: 73-89.

37.-Simonetti A, Melssen W, Szabo de Edelenyi F, van Asten J, Heerschap A, Buydens L. Combination of feature-reduced MR spectroscopic and MR imaging data for improved brain tumor classification. NMR Biomed 2005; 18: 34-43.

38.-Glunde K, Jacobs M, Bhujwala Z. Choline metabolism in cancer: implications for diagnosis and therapy. Exp Rev Mol Diag 2006; 6(6) 821-829.

39.-Dowling C, Bollen A, Noworolski S, McDermott M, Barbaro N, Day M, Henry R, Chang S, Dillon W, Nelson S, Vigneron D. Preoperative proton MR spectroscopy imaging of brain tumors: correlation with histopathologic analysis of resection specimens. Am J Neuroradiol 2001; 22: 604-612.

40.-Huang B, Kwok L, Castillo M, Smith J. Association of choline levels and tumor perfusion in brain metastases assessed with proton MR spectroscopy and dynamic susceptibility contrast-enhanced perfusion weighted MRI. Technol Cancer Res Treat. 2010;9:327-337.

41.-Burtscher I, Skagerberg G, Geijer B, Englund E, Ståhlberg F, Holtås S. Proton MR spectroscopy and preoperative diagnostic accuracy: an evaluation of intracranial mass lesions characterized by stereotactic biopsy findings. Am J Neuroradiol 2000; 21:84-93.

42.-Behar K, den Hollander J, Stromski M, Ogino T, Shulman R, Petroff O, Prichard J. High resolution ^1H NMR study of cerebral hypoxia in vivo. Proc Natl Acad Sci USA 1983; 80: 4945-4948.

- 43.-Tomoi M, Kimura H, Yoshida M, Itoh S, Kawamura Y, Hayashi N, Yamamoto K, Kubota T, Ishii Y. Alterations of lactate (+lipid) concentration in brain tumors with in vivo hydrogen magnetic resonance spectroscopy during radiotherapy. *Invest Radiol* 1997;32:288-96.
- 44.-Castillo M, Kwock L, Mukherji S. Clinical applications of proton MR spectroscopy. *Am J Neuroradiol* 1996; 17: 1-15.
- 45.-Castillo M, Kwock L. Proton MR spectroscopy of common brain tumors. *Neuroimag Clin North Am* 1998; 8: 733-752.
- 46.-Louis DN, Ohgaki H, Wiestler O, Cavenee W, Burger P, Jouvet A, Scheithauer B, Kleihues P. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol* 2007; 114: 97-109.
- 47.-Di Costanzo A, Scarabino T, Trojsi F, Giannatempo G, Popolizio T, Catapano D, Bonavita S, Maggialelli N, Tosetti M, Salvolini U, d'Angelo V, Tedeschi G. Multiparametric 3T MR approach to the assessment of cerebral gliomas: tumor extent and malignancy. *Neuroradiology* 2006; 48: 622-631.
- 48.-Law M, Yang S, Wang H, Babb J, Johnson G, Cha S, Knopp E, Zagzag D. Glioma grading: sensitivity, specificity, and predictive values of perfusion MR imaging and proton MR spectroscopic imaging compared with conventional MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 2003; 24:1989-1998.
- 49.- Law M, Young R, Babb J, Peccerelli N, Chheang S, Gruber M, Miller D, Golfinos J, Zagzag D, Johnson G. Gliomas: predicting time to progression or survival with cerebral blood volume measurements at dynamic susceptibility-weighted contrast-enhanced perfusion MR imaging. *Radiology* 2008; 247:490-498.
- 50.-Di Costanzo A, Trojsi F, Tosetti M, Schirmer T, Lechner S, Popolizio T, Scarabino T. Proton MR spectroscopy of the brain at 3T: an update. *Eur Radiol* 2007;17: 1651-1662.
- 51.- Smith M, Koutcher J, Zakian K. J-difference lactate editing at 3.0 Tesla in the presence of strong lipids. *J Magn Reson Imaging*. 2008;28:1492-1498.
- 52.- Kuesel A, Sutherland G, Halliday W, Smith I. ^1H MRS of high grade astrocytomas: mobile lipid accumulation in necrotic tissue. *NMR Biomed* 1994; 7: 149-155.
- 53.-Gatenby RA and Gillies R. Why do cancers have high aerobic glycolysis? *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 891-899.
- 54.-Seth P, Grant A, Tang J, Vinogradov E, Wang X, Lenkinski R, Sukhatme V. On-target inhibition of tumor fermentative glycolysis as visualized by hyperpolarized pyruvate. *Neoplasia*. 2011; 13:60-71.
- 55.-Park I, Chen A, Zierhut M, Ozturk-Isik E, Vigneron D, Nelson S. Implementation of 3 T lactate-edited 3D ^1H MR spectroscopic imaging with flyback echo-planar readout for gliomas patients. *Ann Biomed Eng*. 2011; 39:193-204.

56.-Sjobakk T, Johansen R, Bathen T, Sonnewald U, Kvistad K, Lundgren S, Gribbestad I. Metabolic profiling of human brain metastases using in vivo proton MR spectroscopy at 3T. BMC Cancer 2007; 7: 141

57.-Chawla S, Zhang Y, Wang S, Chaudhary S, Chou C, O'Rourke D, Vossough A, Melhem E, Poptani H. Proton magnetic resonance spectroscopy in differentiating glioblastomas from primary cerebral lymphomas and brain metastases. J Comput Assist Tomogr. 2010;34:836-841

58.-Crawford F, Khayal I, McGue C, Saraswathy S, Pirzkall A, Cha S, Lamborn K, Chang S, Berger M, Nelson S. Relationship of pre-surgery metabolic and physiological MR imaging parameters to survival for patients with untreated GBM. J Neurooncol 2009;91:337-51

59.-Cuellar-Baena S, Morais L, Cendes F, Faria A, Castellano G. Manual and semi-automatic quantification of in vivo ¹H-MRS data for the classification of human primary brain tumors. Braz J Med Biol Res. 2011; 44:345-353.