

## نقش متابولیت ها در تشخیص توده های مغزی با استفاده از طیف سنجی تشدید مغناطیس هسته ای و مقایسه غلظت آنها در بیماران تومورال با افراد سالم

فرحناز آذرخش<sup>۱</sup>، دکتر وحید چنگیزی<sup>۲</sup>

### چکیده

**زمینه و هدف:** تومورهای مغزی یکی از علت های چشمگیر بیماری و مرگ و میر باقی مانده اند و اغلب نسبت به درمان مقاوم هستند. درجه بندی تومور مغزی مفهوم مهمی در مدیریت بالینی دارد. در حال حاضر طیف سنجی اسپکتروسکوپی رزونانس مغناطیس بعد مهمی در ارزیابی متابولیتها و درجه بندی تومورهای مغزی است. هدف از این مطالعه ارزیابی متابولیت توده های مغزی و درجه بندی توده ها بر مبنای نسبت متابولیتی به کمک MRI مجهز به تکنیک طیف سنجی رزونانس مغناطیسی پرتون می باشد.

**روش بررسی:** مطالعات با استفاده از MRS تک وکسل با قدرت میدان ۳ تسلا، و توالی پالس به روش طیفسنجی حجم منفرد نقطه‌ی PRESS (Point Resolved Echo singelvocxel spectroscopy) صورت گرفت و زمان اکوی نسبتاً طولانی ۳۶ تا ۱۳۶ میلی ثانیه و زمان تکرار ۱۰۰۰ تا ۶۰۰۰ میلی ثانیه به کار برده شد و متابولیت‌های متمایز شامل کولین (cholin)، کراتین (creatin)، N-استیل آسپاراتات (N-acetyl aspartat) شناسایی شدند.

**یافته ها:** ۳۷ نفر دارای داده هایی بودند که در کنترل کیفیت پذیرفته شدند. بیماران در محدوده سنی ۷ تا ۸۱ سال با میانگین سنی ۴۱/۴۶±۲/۷۸ سال بودند. داده‌های MRS با استفاده از نرم افزار SYNGO از نظر طیف‌های میانگین و غلظت‌های متابولیتی پردازش شد و با استفاده از نرم افزارهای minitab و SPSS نسخه ۱۹ مقایسه گردیدند.

تفاوت‌های معنی‌داری در غلظت‌های متابولیت‌های کلیدی و نسبت متابولیتی cho/cr و cho/NAA با استفاده از آزمون T و سطح معنی‌داری ( $\alpha \leq 0.05$ ) دیده شد.

**نتیجه‌گیری:** MRS می‌تواند تفاوت متابولیت ها را در بین تومورهای مغزی در کودکان و بالغان تعیین کند و باید بخشی از ارزیابی بالینی توده ها را تشکیل دهد.

**واژه های کلیدی:** متابولیت ها، توده های مغزی، تشدید مغناطیس هسته ای

دریافت مقاله : اسفند ۱۳۹۴

پذیرش مقاله : خرداد ۱۳۹۵

\*نویسنده مسئول :

دکتر وحید چنگیزی؛

دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

Email :  
changizi@sina.tums.ac.ir

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد بیوفیزیک، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران

<sup>۲</sup> دانشیار گروه تکنولوژی رادیولوژی و رادیوتراپی، دانشکده پیراپزشکی، مرکز تحقیقات مدیریت اطلاعات سلامت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

## مقدمه

متابولیتی، کولین/کراتین و کولین/ان-استیل آسپاراتات به صورت غیر تهاجمی می‌باشد. پیشرفت در تصویربرداری اجازه داده است خواص بافت به شکل غیرتهاجمی جستجو شود که بینش‌های مهمی را نسبت به زیست‌شناسی تومور در *in vivo* ارائه می‌دهد (۱۰). بنابراین هدف از تصویربرداری مدرن نه تنها ارائه‌ی یک تشخیص بافت‌شناسی غیرتهاجمی بلکه بهبود طبقه‌بندی تومورهاست. استفاده از MRS-H با تصاویر آناتومیکی شروع می‌شود؛ به طوری‌که برای تعیین حجم مورد نظر (voxel-of-interest) تهیه طیف مورد نیاز است. برای تهیه طیف، ممکن است روش‌های مختلفی از جمله اسپکتروسکوپی تک یا چند وکسلی با استفاده از زمان‌های اکو کوتاه و طولانی (Time to Echo) استفاده شود. هر روش مزایا و معایبی دارد که انتخاب صحیح آن برای هر نوع هدف خاص حائز اهمیت است، چون کیفیت نتایج را بهتر می‌کند. با توجه به شرایط و امکانات در این پژوهش، ارزیابی طیف متابولیت‌های بیماران به روش اسپکتروسکوپی تک وکسل (Point Resolved Single Voxel Spectroscopy) و زمان اکو نسبتاً طولانی در محدوده ۳۶-۱۳۶ میلی ثانیه و زمان تکرار ۱۰۰۰ تا ۶۰۰۰ میلی ثانیه انجام گرفت.

## روش بررسی

طیف سنجی از ۳۷ نمونه مورد بررسی (۲۰ نفر زن و ۱۷ نفر مرد) مبتلا به توده‌ی مغزی در سال ۱۳۹۲ مراجعه کننده به مرکز تصویربرداری بیمارستان امام خمینی با استفاده از یک واحد ۳ MRI (simens trio) تسلا، که تک وکسل (PRESS) بوده و دارای یک مجموعه کوئل مربعی به عنوان باندهای گیرنده و فرستنده می‌باشد، انجام شد. براساس تجربه MRS، حجم‌های مورد نظر MRS درون ضایعات قرار گرفتند. از نواحی نکروتیک مرکزی ضایعات، بافت طبیعی مغز، ساختارهای انباشته از مایع و بافت چربی در استخوان‌های جمجمه، در صورت امکان اجتناب شد. سرکوب آب، که جزو مراحل پیش پردازش می‌باشد، قبل از گرفتن طیف انجام شد. توالی پالس مورد استفاده برای MRS، طیف‌سنجی حجم منفرد نقطه‌ی PRESS با زمان تکرار (Time of Repeat) ۱۰۰۰ ms تا ۶۰۰۰ و زمان اکوی طولانی (Time of Repeat) ۳۶ تا ۱۳۶ ms بود. اندازه‌ی وکسل در بیشتر موارد  $1/5 \times 1/5 \times 1/5 \text{ cm}^3$  برای وکسل منفرد و در برخی موارد  $2 \times 2 \times 2 \text{ cm}^3$  و اندازه‌ی ماتریکس  $16 \times 16 \times 1$  و میدان دید

تومورهای مغزی باعث بالاترین میزان مرگ و میر و شیوع بیماری در بین همه‌ی گروه‌های تومور کودکان است و نیازمند روش جدیدی برای بهبود مدیریت بالینی می‌باشد (۱). طیف‌سنجی با تشدید مغناطیس هسته‌ای (MRS) یا (Magnetic Resonance Spectroscopy) اجازه‌ی اندازه‌گیری‌های غیرتهاجمی غلظت مولکول‌های کوچک موجود در بافت تومور را، برای ارائه‌ی بیومارکرهای تصویربرداری مفید بالینی، می‌دهد (۲ و ۳). از آنجا که MRI یا Magnetic Resonance Imaging و دیگر روش‌های تصویربرداری زیست‌پزشکی تنها اجازه‌ی شناسایی و موقعیت‌یابی مهمی از تومور را می‌دهد، بیوپسی‌ها به طور معمول برای تشخیص تومورها مورد نیازند. متأسفانه بسیاری از تومورها ممکن است برای بیوپسی قابل دسترسی نباشند، لذا درجه‌بندی تومورها با MRS دارای مزیت اضافی وجود یک روش تشخیصی غیرتهاجمی است. MRS روشی مهم برای ارزیابی نوع و درجه‌ی تومور، و همچنین برای هدف قرار دادن و ارزیابی پاسخ به درمان است (۴). MRS به طور فزاینده‌ای برای ارزیابی نئوپلاسم‌های مغزی استفاده می‌شود. این روش ترکیب بیوشیمیایی و متابولیسم انواع مختلف تومورهای مغزی را نشان می‌دهد (۵) و نه تنها می‌تواند یافته‌های غیرطبیعی را در نزدیک به ۱۰۰٪ تومورهای مغزی نشان دهد، بلکه در متمایز کردن تومورهای مغزی و مشخص کردن تغییرات متابولیک همراه با رشد تومور، درجه‌ی بدخیمی، و پاسخ به درمان نیز مفید است (۶). یافته‌های MRS از تومورهای مغزی سطوح افزایش یافته‌ی کولین (Cho) و سطوح کاهش یافته‌ی ان-استیل آسپاراتات (NAA) را نسبت به مغز طبیعی نشان می‌دهد که منعکس کننده‌ی افزایش بافت سلولی است (۷ و ۸). از آنجایی‌که تومورها ناهمگن با هسته نکروزی، حاشیه‌های رشد یافته و تهاجمی از اطراف بافت مغزی هستند، طیف‌ها بسته به منطقه‌ای که با MRS نمونه برداری می‌شوند، خیلی متنوع هستند (۹). با این حال، بخاطر تنوع ضایعات، ناهمگنی، همپوشانی بین تیپ‌های مختلف تومور و روش‌های تحلیلی اغلب برای پزشک مشکل است که برای تشخیص فقط از MRS به تنهایی استفاده کند، لذا از آن باید به عنوان روش و تکنیکی کمکی برای تشخیص استفاده شود.

هدف از این مطالعه دست‌یابی به غلظت‌های متابولیت‌های کولین (cho)، کراتین (Cr)، ان-استیل آسپاراتات (NAA) در توده‌های مغزی و درجه‌بندی این توده‌ها بر مبنای نسبت

به این هدف ندارد. تا زمانی که قدرت میدان کافی است، بیشتر سیستم‌های MRI قابل دسترسی با قدرت میدان‌های ۱ تسلا و بزرگتر احتمالاً مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این پژوهش، قدرت میدان ۳ تسلا مورد استفاده قرار گرفته است. هیچ آماده‌سازی اضافی برای بیمار لازم نیست. بیمار لازم است طی نمونه‌گیری از هر واحد مورد نظر که برای طیف‌سنجی تک وکسل حدود ۴ دقیقه است، ثابت باقی بماند. روند کلی برای ارزیابی تصاویر مغزی معمول و همچنین نمونه‌برداری از هر ناحیه‌ای که انجام می‌دهند، حدوداً ۳۰ دقیقه زمان به خود اختصاص داد.

ارزیابی تومور بر اساس تغییرات غلظت متابولیت‌های رایج در TE نسبتاً بلند که عبارتند از کولین، کراتین، N-استیل آسپاراتات و همچنین نسبت‌های Cho/NAA و Cho/Cr صورت گرفت.

۳۷ نفر دارای داده‌هایی بودند که در کنترل کیفیت پذیرفته شدند. از این تعداد، ۳۰ نفر مبتلا به توده‌های مغزی (۲۰ زن و ۱۷ مرد) با محدوده‌ی سنی ۷-۸۱ سال، و میانگین سنی  $(44/46 \pm 2/78)$  سال) و ۷ نفر طبیعی با دامنه سنی ۳۸ تا ۵۱ سال و میانگین سنی  $(44/57 \pm 3/44)$  که شامل ۳ مرد و ۴ زن بودند.

## یافته‌ها

داده‌های جمع‌آوری شده از نمونه‌های آماری، و سن و جنسیت هر نمونه در جدول ۱ ارائه شده است. میانگین متابولیت‌های هر نفر با دقت ۰/۰۰۱ در حوزه‌ی دید مربوطه محاسبه شد و نسبت‌های کولین به کراتین و کولین به N-استیل آسپاراتات به دست آمد و در جداول ۱ تا ۳ قید گردیدند.

$15 \times 160 \times 160 \text{ mm}^3$  بود. پروتوکل‌های اکتسابی برای داده‌های بالینی، رادیولوژیکی و هیستوپاتولوژیکی برای اطمینان از سازگاری داده‌های به دست آمده تعریف شدند (۱۱).

آنالیز کمی طیف‌ها برای متابولیت‌های کولین (در ppm ۳/۲۲)، کراتین (ppm ۳/۰۲ تا ۳/۰۴)، N-استیل آسپاراتات (در ppm ۲/۰۲) که در ppm خواص خودشان رزونانس دارند، صورت می‌گیرد. داده‌های پیک‌ها ثبت شد و برای محاسبه‌ی نسبت‌های کولین نسبت به N-استیل آسپاراتات و کولین نسبت به کراتین استفاده شد. شدت‌های رزونانس متابولیت‌ها از انطباق نواحی قله تعیین شد. هنگامی که شدت‌های رزونانس متابولیت‌ها به شکل قابل توجه کاهش یافته و به طور اتوماتیک تعیین نگردید، شدت‌های سیگنال به شکل دستی از انطباق نواحی قله با استفاده از مقیاس درجه‌بندی شده‌ی مانیتور یا فیلم تخمین زده شد. این مقادیر سپس در نسبت‌های Cho/Cr و Cho/NAA قرار گرفتند.

محاسبات آماری داده‌های MRS بعد از آنکه با نرم افزار SYNGO از نظر طیف‌های میانگین و غلظت‌های متابولیتی پردازش شد، با استفاده از نرم افزارهای minitab و SPSS نسخه ۱۹ مقایسه شد. برای آزمون فرضیه‌ی اصلی، رگرسیون لوجستیک تک‌متغیره روی هر مقدار متابولیت اندازه‌گیری شده‌ی فردی انجام گرفت.

Cho/Cr و Cho/NAA بین درجات توموری با استفاده از آنالیز پارامتری مقایسه شدند. نسبت‌های متابولیتی نیز بین موارد گلیوم مقایسه شدند. از لحاظ آماری اختلافات میانگین معنی‌داری در سطح  $\alpha \leq 0/05$  ملاحظه شد.

انجام MRS نیاز به خرید یک واحد اختصاص داده شده

جدول ۱: میانگین غلظت متابولیت‌ها در ۳۰ بیمار تومورال مورد بررسی

کدبیمار	سن (سال)	جنس	Cho	Cr	NAA
۱	۱۱	مرد	۰/۰۸۸۵۰	۰/۷۰۵۰۰	۰/۶۳۴۷۵
۲	۴۶	زن	۰/۸۴۹۷۷	۰/۵۲۳۳۸	۰/۳۷۸۴۳
۳	۵۹	زن	۰/۴۷۲۷۰	۰/۱۷۳۳۰	۰/۲۴۱۹۰
۴	۳۱	مرد	۰/۹۵۳۱۴	۰/۳۴۹۲۹	۰/۲۹۷۰۰
۵	۷۰	مرد	۱/۵۴۶۶۷	۰/۵۸۷۷۷	۰/۲۸۱۰۳
۶	۳۱	زن	۰/۸۶۲۰۰	۰/۰۵۳۶۰	۰/۲۵۶۹۵
۷	۲۹	زن	۰/۳۷۸۶۹	۰/۲۷۱۳۱	۰/۳۴۹۰۴
۸	۵۸	مرد	۰/۹۸۷۲۵	۰/۳۰۳۲۵	۰/۲۲۸۷۵

۰/۳۹۱۳۳	۰/۷۵۷۶۷	۰/۴۷۶۳۳	مرد	۱۷	۹
۰/۴۳۸۵۰	۰/۴۰۹۷۵	۰/۷۴۱۷۵	مرد	۲۸	۱۰
۰/۲۲۷۴۳	۰/۷۹۷۵۰	۱/۳۴۲۵۰	زن	۳۰	۱۱
۰/۳۵۸۸۸	۰/۴۱۹۶۹	۰/۵۵۶۰	زن	۶۰	۱۲
۰/۴۷۲۶۷	۰/۴۸۱۲۷	۰/۶۴۰۸۰	زن	۴۹	۱۳
۰/۱۶۶۹۳	۰/۱۷۴۱۵	۰/۵۷۹۴۲	زن	۲۸	۱۴
۰/۲۴۲۶۹	۰/۲۰۴۹۲	۰/۲۶۰۳۱	زن	۴۷	۱۵
۰/۳۴۸۷۰	۰/۳۵۸۴۰	۰/۵۵۳۸۰	مرد	۳۴	۱۶
۰/۱۵۲۹۸	۰/۳۴۵۴۶	۰/۹۷۴۱۵	زن	۳۲	۱۷
۰/۱۷۸۲۵	۰/۳۸۳۷۳	۰/۹۱۰۴۵	زن	۴۹	۱۸
۰/۱۹۳۶۴	۰/۱۷۶۹۱	۰/۱۴۴۵۹	زن	۵۸	۱۹
۰/۰۴۴۴۵	۰/۰۳۷۴۰	۰/۰۶۶۱۰	مرد	۵۶	۲۰
۰/۲۷۲۲۸	۰/۲۶۴۰۰	۰/۷۰۲۰۰	مرد	۸۱	۲۱
۰/۳۷۷۲۵	۰/۳۶۰۸۷	۰/۴۵۸۹۱	مرد	۶۴	۲۲
۰/۱۹۸۶۱	۰/۲۵۳۹۲	۰/۳۵۷۵۴	مرد	۴۹	۲۳
۰/۱۲۸۷۹	۰/۲۴۶۴۷	۰/۲۶۰۶۵	مرد	۳۴	۲۴
۰/۲۹۹۵۰	۰/۳۷۰۲۹	۰/۱۹۸۳۸	مرد	۲۵	۲۵
۰/۳۲۰۰۲	۰/۴۶۳۵۴	۰/۴۱۱۴۶	زن	۱۹	۲۶
۰/۳۷۲۵۱	۰/۴۸۶۱۱	۰/۳۲۸۵۳	زن	۴۹	۲۷
۰/۲۹۴۴۹	۰/۱۴۷۷۴	۰/۲۳۴۹۰	زن	۶۳	۲۸
۰/۲۲۱۱۱	۰/۲۶۱۲۵	۰/۳۸۳۱۳	زن	۳۰	۲۹
۰/۲۵۳۱۰	۰/۳۳۰۰۷	۰/۲۰۷۹۱	زن	۷	۳۰

یافته های جدول ۱ مربوط به میانگین غلظت متابولیتها در نمونه آماری ۳۰ بیمار مبتلا می باشد. سن بر مبنای سال و جنسیت افراد در مقابل کد افراد مورد بررسی آورده شده اند. بر اساس جدول ۱، در توده ها غلظت NAA از محدوده ی میانگین ۰/۰۴۴ تا ۰/۶۳۵ و با میانگین ۰/۱۳±۰/۲۸۷۲ تغییر کرده است و همچنین غلظت cr از محدوده ۰/۳۷ تا ۱/۰۵۴ و با میانگین ۰/۳۸۹۹۳±۰/۴۸ و غلظت cho از محدوده ی ۰/۰۶۶ تا ۱/۸۶۲ و با میانگین ۰/۱۸۴±۰/۶۳۰۹۴ تغییر کرده اند.

جدول ۲: غلظت متابولیت ها و نسبت متابولیتی در افراد طبیعی

Cho/cr	Cho/NAA	NAA	cr	cho	جنس	سن (سال)	کد افراد طبیعی
۰/۴۰	۰/۷۲	۰/۱۰۸	۰/۰۶۰	۰/۰۴۳	مرد	۴۹	۳۱
۰/۸۹	۰/۸۸	۰/۰۸۷	۰/۰۸۸	۰/۰۷۷	زن	۴۳	۳۲
۰/۴۲	۱/۰۰	۰/۰۲۴	۰/۰۱۰	۰/۰۱۰	مرد	۳۸	۳۳
۰/۷۹	۱/۱۴	۰/۰۵۲	۰/۰۳۶	۰/۰۴۱	زن	۴۰	۳۴
۰/۴۴	۰/۶۳	۰/۰۵۷	۰/۰۴۰	۰/۰۲۵	مرد	۴۵	۳۵
۰/۵۲	۰/۸۴	۰/۱۵۵	۰/۰۹۵	۰/۰۸۰	زن	۵۱	۳۶
۰/۵۳	۰/۶۸	۰/۰۶۴	۰/۰۵۰	۰/۰۳۴	زن	۴۶	۳۷

یافته های مربوط به غلظت متابولیت ها و نسبت متابولیتی در جدول ۲ آورده شده است. سن بر مبنای سال و جنسیت افراد در مقابل کد افراد مورد بررسی، آورده شده است. غلظت متابولیت های مورد اندازه گیری شده عبارتند از: کولین(cho)

از ۰/۰۲۵ تا ۰/۰۸، کراتین(cr) از ۰/۰۱ تا ۰/۰۹۵، ان استیل اسپاراتات(NAA) ۰/۰۲۴ تا ۰/۱۵۵ و نسبتهای متابولیتی عبارتند از کولین/ان استیل اسپاراتات(cho/NAA) از ۰/۶۳ تا ۱/۴۴، کولین/کراتین(cho/cr) از ۰/۴ تا ۰/۸۹.

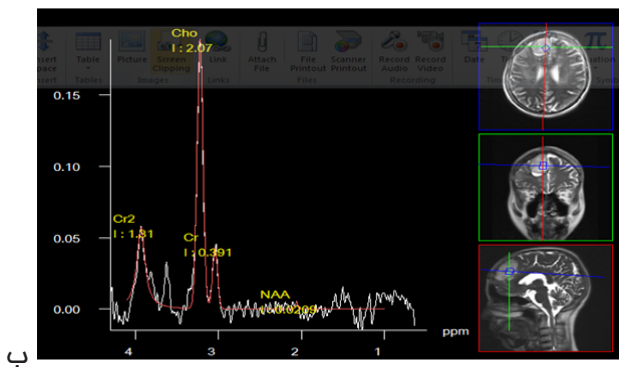
جدول ۳: نسبت متابولیتی و شدت بیماری در افراد تومورال

کد بیمار	cho\NAA	Cho\Cr	شدت بیماری(grade)
۱	۱/۷۱	۱/۵۴	low
۲	۲/۲۷	۱/۶۲	low
۳	۱/۹۵	۲/۷۳	high
۴	۳/۲۱	۲/۷۳	high
۵	۵/۵۰	۲/۶۳	high
۶	۷/۲۵	۱/۷۷	high
۷	۱/۰۸	۱/۴۰	low
۸	۴/۳۲	۳/۲۶	high
۹	۱/۲۲	۰/۶۳	low
۱۰	۱/۶۹	۱/۸۱	low
۱۱	۵/۹۰	۱/۶۸	high
۱۲	۱/۵۵	۱/۳۲	low
۱۳	۱/۳۶	۱/۳۳	low
۱۴	۳/۴۷	۳/۳۳	high
۱۵	۱/۰۷	۱/۲۷	low
۱۶	۱/۵۹	۱/۵۵	low
۱۷	۶/۳۷	۲/۸۲	high
۱۸	۵/۱۱	۲/۳۷	high
۱۹	۰/۷۵	۰/۸۲	low
۲۰	۱/۴۹	۱/۷۷	low
۲۱	۲/۵۸	۲/۶۶	high
۲۲	۱/۲۲	۱/۲۷	low
۲۳	۱/۸۰	۱/۴۱	low
۲۴	۲/۰۲	۱/۰۶	low
۲۵	۰/۶۶	۰/۵۴	low
۲۶	۱/۲۹	۰/۸۹	low
۲۷	۴/۸۸	۳/۶۸	low
۲۸	۰/۸۰	۱/۵۹	low
۲۹	۱/۷۳	۱/۴۷	low
۳۰	۰/۸۲	۰/۶۳	low

مخالف آن بر وجود تفاوت معنادار تاکید دارد. وقتی که  $\text{significance}(p \leq 0.05)$  باشد نشان می دهد که آزمون T معتبر است و میانگین در حد بالا و پایین قرار دارد و این بدان معنی است که میانگین ها تفاوت معنادار دارند. مقایسه ی بین دو جامعه ی سالم با بیمار درجه پایین (Low grade) و سالم با بیمار درجه بالا (high grad) در توده های مغزی انجام شد. نتایج حاصل از انجام آزمون تی استودنت برای دو گروه مستقل و مقایسه میانگین آنها در فاصله اطمینان ۹۵٪ نشان داد که میانگین تفاوتها در دامنه حد پایین و بالای شناسایی شده قرار می گیرند، لذا فرض صفر رد شده و بین دو نسبت متابولیک در بیماران (high و low) و افراد سالم تفاوت معناداری دیده شد. تصاویر مربوط به نقشه متابولیکی رنگی و طیف HMRS یک نفر از بیماران به عنوان نمونه در شکل ۱ آورده شده است.

یافته های مربوط به نسبت متابولیتی و شدت بیماری بر مبنای نسبت متابولیتی کولین/کراتین (cho/cr) و کولین/ان استیل آسپاراتات (cho/NAA) در نمونه آماری ۳۰ بیمار مبتلا به تومور آمده است. شدت بیماری بر مبنای این نسبتها به دو صورت درجه پایین (low grad) و درجه بالا (high grad) گزارش شده است. افزایش میزان Cho/NAA از ۰/۶۶ تا ۷/۰۲۵۰ و با میانگین  $2 \pm 0.422$  و افزایش میزان Cho/Cr از ۰/۵۴ تا ۳/۳۳ و با میانگین  $0.627 \pm 1.686$  در توده های مغزی مشاهده گردید.

مسئله ای که در اینجا مطرح می شود این است که آیا دو نسبت متابولیک محاسبه شده از نظر میانگین بین دو جامعه ی سالم و بیمار تفاوت معناداری با یکدیگر دارند یا خیر. برای بررسی این موضوع از آزمون میانگین T\_test استفاده شد. در این آزمون، فرض صفر عبارت است از اینکه بین میانگین دو جامعه ی بیمار و سالم تفاوت معناداری وجود ندارد و فرض



الف



شکل (۱): الف- نقشه متابولیکی رنگی، ب- نمودار غلظت متابولیکی در خانم ۳۱ ساله

۱/۸۶۲ تا ۰/۰۶۶ از محدوده ی cho از غلظت  $0.48 \pm 0.38993$  و با میانگین  $0.184 \pm 0.63094$  تغییر کرده اند. افزایش میزان Cho/NAA از ۰/۶۶ تا ۷/۰۲۵۰ و با میانگین  $2 \pm 0.422$  و افزایش میزان Cho/Cr از ۰/۵۴ تا ۳/۳۳ و با میانگین  $0.627 \pm 1.686$  در توده های مغزی مشاهده گردید. همچنین در مقایسه دو جامعه مستقل سالم با بیمار با  $\text{Sig} \leq 0.05$  بود و تفاوت معنی دار بین دو جامعه، مشاهده شد. نتایج به دست آمده مشابه نتایج Alger JR و همکاران در ۱۹۹۰ می باشد. این افراد، موفقیت طیف سنجی هیدروژن (پروتون) را در تمایز تومورهای مغزی بدخیم از بافت طبیعی مغز در بزرگسالان و همچنین کودکان را تأیید کردند (۱۲). در مطالعه ای که در سال ۲۰۰۹ توسط Poussaint و همکاران انجام شد، آنها دریافتند که سیگنال Cho به جای شاخص تکثیر، به صورت خطی با تراکم سلولی در ارتباط است (برعکس آنچه که با ضریب نفوذ آشکار دیده می شود. پیک Cho اکثراً در مرکز

در شکل یک قسمت (الف) نسبت cho/NAA در بالاترین نسبت برابر ۹۸/۹ و با رنگ قرمز و کمترین نسبت ۴/۴ را با رنگ آبی نشان می دهد. نقشه متابولیکی رنگی در FOV صفر به دست آمده است و وکسل دقیقاً بر روی ضایعه قرار گرفته می باشد. در قسمت (ب) نمودار غلظت متابولیکی توسط MRS تک وکسل به دست آمده است. خانم ۳۱ ساله مبتلا به تومور مغزی، دارای کاهش نسبی غلظت NAA  $0.209$  و در مقابل افزایش  $2.07$  cho و غلظت کراتین cr  $0.391$  وکسل ۱۳۷ و field of view صفر است.

## بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت NAA از محدوده ی ۰/۰۴۴ تا ۰/۶۳۵ و با میانگین  $0.13 \pm 0.2872$  تغییر کرده است. همچنین غلظت cr از محدوده ی ۰/۳۷ تا ۱/۰۵۴ و با میانگین



می‌کند (۱۹ و ۱۸). همچنین likaVcanva و همکاران در ۲۰۰۵ پی بردند که افزایش Cho افزایش تغییر و تبدیل غشای سلولی را نشان می‌دهد. همبستگی بین پیک Cho با فعالیت میتوزی و درجه‌ی بدخیمی تومور وجود دارد به طوری که افزایش Cho کل همراه با پیشرفت تومور است (۲۰). یافته‌های به دست آمده در مطالعه حاضر نیز در توافق با ایشان میباشد. از دیگر تغییرات در تومورهای مغزی، کاهش NAA است. این متابولیت، یک مارکر عصبی است و کاهش آن، بیانگر تخریب و جابه‌جایی بافت طبیعی است. فقدان NAA در تومور درون-محوری بیانگر منشا خارج از سیستم اعصاب مرکزی (متاستاز) می‌باشد و یا نشانگر تومور شدیداً بدخیم است که تمام نورون‌ها را در آن موقعیت تخریب نموده است (۲۱). از طرف دیگر، سیگنال Cr، اندکی در تومورهای مغزی متغیر است و برحسب نوع تومور و درجه‌اش، تغییر می‌کند. یک طیف معمول از H-MRS برای تومور مغزی با سطح Cho بالا، NAA پایین و تغییرات کمی در Cr همراه می‌باشد که مطالعه حاضر آن را تایید می‌نماید (۱۵). در اغلب موارد، افزایش cho با افزایش نسبت‌های cho/NAA یا cho/cr همراه است. تخمین غلظت خالص cho با این‌که امکان پذیر است، اما نسبت به خیلی از خطاهایی که فرضشان نیاز می‌باشد، حساس است. از این‌رو، نسبت‌های cho/NAA و cho/cr برای بررسی بسیار دقیق‌تر به کار می‌رود. افزایش Cho در تمام آسیب‌های نئوپلاستی مشاهده می‌شود. پیک Cho می‌تواند در پاسخ به درمان، تشخیص و پیشرفت تومور کمک کند که افزایش آن بخاطر شرکت در گردش غشای سلولی می‌باشد و منعکس کننده‌ی تکثیر سلولی است (۱۵).

Spaminato و همکاران در سال ۲۰۰۷ یافتند، ممکن است لیگوندندرو و گلیوما درجه پایین، Cho افزایش یافته را نشان دهند که مشابه تومور درجه بالا خود را نشان می‌دهد. این تومورهای درجه پایین دارای تراکم سلولی بالا، اما فاقد تکثیر هستند و تلیالی و نکروزیس می‌باشند (۲۲). لذا مرور مقالات، اختلافات به حساب آورده شده در تکنیک طیف‌سنجی، مانند انتخاب TE و روش تعیین نسبت‌های متابولیت‌ها را نشان‌دهنده‌ی تفاوت‌های سطوح Cho بین گلیوم‌های درجه پایین و درجه بالا می‌دانند و گلیوم‌های درجه پایین نشان‌دهنده‌ی سطوح پایین‌تر Cho نسبت به گلیوم‌های درجه بالا خواهد بود (۲۱). این تفاوت حتی با استفاده از روش‌های مختلف سنجش کمی Cho نیز درک می‌شود. این نکته برای درک اینکه MRS به تغییرات میزان متابولیت‌ها بسیار حساس است، اهمیت دارد. از

توده‌ی نئوپلاستی، بلندتر است و به طور محیطی کاهش می‌یابد. سیگنال Cho همواره در مناطق نکروزی، پایین است (۱۳). در تحقیق حاضر، ارزیابی غلظت‌های متابولیتی، افزایش پیک cho در مرکز توده‌ها را مشخص کرد و این مسئله در نقشه متابولیتی رنگی تعدادی از بیماران به وضوح آشکار است. این افزایش با تراکم سلولی ارتباط خطی دارد و رفتن سلول به سمت تومورال شدن را نشان می‌دهد. از آنجایی که گلیوما طبیعت ارتشاحی یا نفوذ دارند باعث تخریب سلولهای عصبی و کاهش NAA می‌گردند. Cohen و همکاران در سال ۲۰۰۵، کاهش NAA کل مغز را در بیماران با تومورهای گلیال فراتر از تومور اصلی یافتند. این کاهش قابل توجه NAA کل مغز احتمالاً نشانگر نفوذ گسترده‌ی تومور در مغز به ظاهر سالم در MRI می‌باشد (۱۴). Stadlbauer و همکاران در یک مطالعه‌ی کمی طیف‌سنجی مغناطیس هسته‌ای، همبستگی بین درصد نفوذ تومور با تغییرات نسبت‌های NAA، Cho و Cho/NAA در وکسل‌های مربوط را دریافتند (۱۵). Law و Soares در مطالعات خود متوجه شدند که غلظت خالص NAA با درجه نفوذ تومور کاهش می‌یابد در حالی‌که غلظت خالص Cho و نسبت Cho/NAA با درجه نفوذ تومور افزایش می‌یابد (۱۶). مطالعات ما نیز اثبات کرد در مواردی که کاهش شدید NAA در غلظت متابولیت‌های بیماران مشاهده می‌گردد این افراد دارای گلیوم‌های درجه بالا هستند. توده‌هایی با درجه بالای بدخیمی (گلیوم آناپلاستیک با درجه ۳، و گلیوپلاستوما‌ی چند فرمی با درجه ۴) نسبت به توده‌های درجه پایین (درجه ۲ و یا ۱)، cho بالاتر و NAA پایین‌تر دارند. Cho افزایش یافته مربوط به تکثیر و چگالی سلولی است. مطالعات Holling worth و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان داد که MRS می‌تواند به طور دقیق گلیوم درجه بالا و پایین را از هم تشخیص دهد. البته نتایج درجه بندی گلیوم با استفاده از MRS، بسیار گسترده و وسیع است. این تنوع گسترده می‌تواند به خاطر روش‌های مختلف و متابولیت‌های مختلف باشد. در بین درجه‌های مختلف تومور، "روی هم افتادگی" (Cho/Cr (Overlapping) و Cho/NAA قابل توجه است. همچنین نسبت حجم خون مغزی بالا در درجه بندی گلیوم‌ها بخوبی تمایز ایجاد نمی‌کند (۱۷).

Smith و همکاران در سال ۲۰۰۸ و Lee و Nelson در سال ۲۰۰۰ با استفاده از MRS دریافتند که تومورهای مغزی سطوح افزایش یافته‌ی Cho و سطوح کاهش یافته‌ی NAA نسبت به مغز طبیعی نشان می‌دهد که این پدیده افزایش بافت سلولی را منعکس



تومورها استفاده شود. نتایج این مطالعه نشان داد که گلیوم درجه بالا دارای نسبت‌های میانگین  $\text{Cho/Cr}$  و  $\text{Cho/NAA}$  بالاتری نسبت به درجه پایین است و با استناد به نتایج گزارش شده از طیف سنجی رزونانس مغناطیسی بیماران و مقایسه با نمونه‌های کنترل می‌توانیم اعلام کنیم که طیف سنجی رزونانس مغناطیسی این توانایی را در ارزیابی متابولیت‌های توده‌های مغزی و درجه بندی توده‌ها دارد و می‌بایست که بخشی از تشخیص بالینی را تشکیل دهد.

### تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مرکز تحقیقات مدیریت اطلاعات سلامت دانشگاه علوم پزشکی تهران با شماره طرح ۱۸۸۷۱ به انجام رسیده است. همچنین از مرکز تصویربرداری بیمارستان امام خمینی به منظور همکاری شایسته در اجرای این مطالعه قدردانی می‌شود.

لحاظ بالینی یافتن برخی گلیوم‌های درجه پایین با نسبت‌های  $\text{Cho:Cr}$  و  $\text{Cho:NAA}$  بسیار بالا، و برعکس، گلیوم‌های درجه بالا با نسبت‌های  $\text{Cho:Cr}$  و  $\text{Cho:NAA}$  پایین‌تر که در درجه‌ی اول ناشی از نکروز گسترده هستند غیرمعمول نمی‌باشند. برخی همپوشانی‌ها در بین تومورهای درجات مختلف وجود دارد. این پدیده ممکن است مربوط به تنوع در استفاده از نسبت‌های متابولیت‌ها به جای سنجش کمی مطلق برای مقایسه‌ی درجات گلیوم نسبت داده شود (۱۵).

### نتیجه گیری

در تومورها سطوح  $\text{Cho}$ ، به خاطر افزایش سنتز غشا و تکثیر افزایش یافته، در حالی که سطوح  $\text{NAA}$  سقوط می‌کند، زیرا نورون‌ها و آکسون‌ها تخریب و نابود می‌شوند. همچنین این سقوط در سطوح  $\text{Cr}$  در تومورها، به خاطر فرسودگی و افزایش لیپیدها در نکروز، وجود دارد. نسبت‌های متابولیتی  $\text{MRS}$  ( $\text{Cho/NAA}$  و  $\text{Cho/Cr}$ ) می‌تواند برای درجه و متمایز کردن

### منابع

- Magalhaes A, Godfrey W, Shen Y, Hu J & Smith W. Proton magnetic resonance spectroscopy of brain tumors correlated with pathology. *Academic Radiology* 2005; 12(1): 51-7.
- Herminghaus S, Dierks T, Pilatus U, Möller-Hartmann W, Wittsack J, Marquardt G, et al. Determination of histopathological tumor grade in euro epithelial brain tumors by using spectral pattern analysis of in vivo spectroscopic data. *Journal of Neurosurgery* 2003; 98(1): 74-81.
- Wilson M, Cummins CL, MacPherson L, Sun Y, Natarajan K, Grundy RG, et al. Magnetic resonance spectroscopy metabolite profiles predict survival in pediatric brain tumors. *European Journal of Cancer* 2013; 49(2): 457-64.
- Nelson SJ. Multivoxel magnetic resonance spectroscopy of brain tumors. *Molecular Cancer Therapeutics* 2003; 2(5): 497-507.
- Likavcanová K, Dobrota D, Liptaj T, Prónayová N, Mlynárik V, Belan V, et al. In vitro study of astrocytic tumors metabolism by proton magnetic resonance spectroscopy. *General Physiology and Biophysics* 2005; 24(3): 327-35.
- Bulakbasi N, Kocaoglu M, Ors F, Tayfun C & Uçoz T. Combination of single-voxel proton MR spectroscopy and apparent diffusion coefficient calculation in the evaluation of common brain tumors. *American Journal of Neuroradiology* 2003; 24(2): 225-33.
- Sijens PE, Oudkerk M, Van Dijk P, Levendag PC & Vecht CJ. 1H MR spectroscopy monitoring of changes in choline peak area and line shape after Gd-contrast administration. *Magnetic Resonance Imaging* 1998; 16(10): 1273-80.
- Miller BL, Chang L, Booth R, Ernst T, Cornford M, Nikas D, et al. In vivo 1H MRS clinical: correlation with in vitro chemistry/histology. *Life Sciences* 1996; 58(22): 1929-35.



9. Law M, Cha S, Knopp EA, Johnson G, Arnett J & Litt AW. High-grade gliomas and solitary metastases: differentiation by using perfusion and proton spectroscopic MR imaging. *Radiology* 2002; 222(3): 715-21.
10. Peet AC, Davies NP, Ridley L, Brundler MA, Kombogiorgas D, Lateef S, et al. Magnetic resonance spectroscopy suggests key differences in the metastatic behavior of medulloblastoma. *European Journal Cancer* 2007; 43(7): 1037-44.
11. van der Graaf M, Julià-Sapé M, Howe FA, Ziegler A, Majós C, Moreno-Torres A, et al. MRS quality assessment in a multicentre study on MRS-based classification of brain tumors. *NMR in Biomedicine* 2008; 21(2): 148-58.
12. Alger JR, Frank JA, Bizzi A, Fulham MJ, DeSouza BX, Duhaney MO, et al. Metabolism of human gliomas: assessment with H-1 MR spectroscopy and F-18 fluorodeoxy glucose PET. *Radiology* 1990; 177(3): 633-41.
13. Poussaint TY & Rodriguez D. Advanced neuro imaging of pediatric brain tumors: MR Diffusion, MR Perfusion, and MR Spectroscopy. *Neuroimaging Clinics of North America* 2006; 16(1): 169-92.
14. Cohen BA, Knopp EA, Rusinek H, Babb JS, Zagzag D & Gonen O. Assessing global invasion of newly diagnosed glial tumors with whole-brain proton MR spectroscopy. *American Journal of Neuroradiology* 2005; 26(9): 2170-7.
15. Stadlbauer A, Gruber S, Nimsy C, Fahlbusch R, Hammen T, Buslei R, et al. Preoperative grading of gliomas by using metabolite quantification with high-spatial-resolution proton MR spectroscopic imaging. *Radiology* 2006; 238(3): 958-69.
16. Soares DP & Law M. Magnetic resonance spectroscopy of the brain: review of metabolites and clinical applications. *Clinical Radiology* 2009; 64(1): 12-21.
17. Hollingworth W, Medina LS, Lenkinski RE, Shibata DK, Bernal B, Zurakowski D, et al. A systematic literature review of magnetic resonance spectroscopy for the characterization of brain tumors. *American Journal of Neuroradiology* 2006; 27(7): 1404-11.
18. Lee MC & Nelson SJ. Supervised pattern recognition for the prediction of contrast-enhancement appearance in brain tumors from multivariate magnetic resonance imaging and spectroscopy. *Artificial Intelligence in Medicine* 2008; 43(1): 61-74.
19. Smith JK, Kwack L & Castillo M. Effects of contrast material on single-volume proton MR spectroscopy. *American Journal of Neuroradiology* 2000; 21(6): 1084-9.
20. Van Der Naalt J. Resting functional imaging tools (MRS, SPECT, PET and PCT). *Handbook of Clinical Neurology* 2015; 127(1): 295-308.
21. Ross BD, Coletti P & Lin A. Magnetic resonance spectroscopy of the brain: neurospectroscopy. Philadelphia, Saunders: Elsevier; 2006: 1840-907.
22. Spampinato MV, Smith JK, Kwack L, Ewend M, Grimme JD, Camacho DL, et al. Cerebral blood volume measurements and proton MR spectroscopy in grading of oligodendroglial tumors. *American Journal of Roentgenology* 2007; 188(1): 204-12.

# Metabolites Role in Detecting Brain Tumors Using Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy and Comparing Their Densities in Tumoral Patients with Those in Healthy Individuals

Azarakhsh Farahnaz<sup>1</sup> (M.S.) - Changizi Vahid<sup>2</sup> (Ph.D.)

1 Master of Science in Biophysics, Biology Department, School of Basic Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2 Associate Professor, Technology of Radiology and Radiotherapy Department, School of Allied Medical Sciences, Health Information Management Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

## Abstract

Received: Mar 2016

Accepted: Jun 2016

**Background and Aim:** Brain tumors have remained as a significant cause of morbidity and mortality and are often refractory to treatment. The grading of brain tumor has an important implication in clinical management. Currently, magnetic resonance spectroscopy (MRS) is an important dimension in evaluating metabolites and grading brain tumors. The aim of this study is to evaluate metabolites in brain tumors and grading brain gliomas using HMRS (proton magnetic resonance spectroscopy).

**Materials and Methods:** Studies were performed using single voxel MRS, at a field strength of 3Tesla and pulse sequence using point resolved single volume spectroscopy (PRESS) with repetition time (TR) 10006000-ms and echo time (TE) 36136-ms, and distinguished metabolites including Choline (Cho), Creatin (Cr), and N-acetyl aspartate (NAA) were detected.

**Results:** Thirty-seven cases (17 males and 20 females) had data which passed quality control. The patients' age ranged from 7 to 81 years with a mean of  $41.462.78 \pm$ . MRS data were processed using SYNGO software in terms of mean spectra and metabolite concentrations which were compared using minitab and SPSS. Significant differences were found in concentrations of key metabolites, and Cho/NAA and Cho/Cr ratios using t-test with a significance level ( $\alpha \leq 0.05$ ). In the assessment of age rate and tumor grading, the malignancies of brain tumors did not correlate with patients' age and sex.

**Conclusion:** MRS can detect subtle differences between low-grade brain tumors in children and should form part of the clinical assessment of these tumors.

**Keywords:** Metabolites, Brain Tumors, Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy

\* Corresponding Author:

Changizi V;

Email:

changizi@sina.tums.ac.ir