RITA DE CÁSSIA MACIEL PINCERATO

**Classificação multiparamétrica
dos tumores gliais por RM**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências.

Programa de: Radiologia

Orientadora: Dra. Maria Concepción García
Otaúy

Co-orientadora: Profa. Dra Claudia da Costa Leite

São Paulo

2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Pincerato, Rita de Cássia Maciel

Classificação multiparamétrica dos tumores gliais por RM / Rita de Cássia Maciel Pincerato. -- São Paulo, 2010.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Radiologia.

Orientadora: Maria Concepción García Otaduy.

Co-orientadora: Claudia da Costa Leite.

Descritores: 1.Gliomas cerebrais 2.Espectroscopia por ressonância magnética
3.Perfusão 4.Difusão 5.Graduação tumoral

USP/FM/DBD-472/10

Dedicatória

À minha avó **Helena** (*“in memoriam”*), que sempre está comigo, pela dedicação e pelos ensinamentos que orientaram minha vida.

Aos meus pais **Carlos e Anita**, minha primeira professora, pelo sacrifício, incentivo e apoio, sempre!

À minha irmã **Kátia**, pelas memórias divididas desde a infância e por desde sempre acreditar em mim.

Agradecimentos

À minha orientadora, **Dra. Maria Concepción García Otaduy**, pela motivação para o desenvolvimento do tema desta tese. Agradeço pelos ensinamentos, incentivo e paciência durante a realização deste projeto.

À minha co-orientadora, **Profa. Dra. Claudia da Costa Leite**, pela oportunidade de regressar ao meio acadêmico, pela confiança depositada em mim e pelas sugestões valiosas durante o preparo desta tese.

Ao **Prof. Dr. Giovanni Guido Cerri**, pela oportunidade de realizar o curso de pós-graduação.

Aos biomédicos e corpo de enfermagem do setor de Ressonância Magnética do Instituto de Radiologia do HCFMUSP, pela colaboração preciosa na realização dos protocolos deste trabalho.

Aos pacientes e familiares, pela participação nesta pesquisa.

Aos meus pais **Carlos e Anita**, e minha irmã **Kátia**, por estarem na minha vida.

Aos meus primos e tios queridos, **Fernando, Andrea, Sérgio, Giulinha, Valdir e Rosa**, por fazerem parte da minha família.

Aos amigos, para sempre, **Tânia, Adriano, Cristiane e Sérgio**, pela história compartilhada.

Às companheiras da longa jornada da pós-graduação, **Katarina, Eun e Maria Inês**, pelos momentos de descontração e pela torcida.

Normalização adotada

Esta dissertação ou tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2a ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

Lista de abreviaturas

Lista de símbolos

Lista de figuras

Lista de tabelas

Resumo

Summary

1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVOS	9
3	REVISÃO DA LITERATURA	11
3.1	Classificação dos tumores gliais	12
3.1.1	Características histológicas e de vascularização dos tumores oligodendrogliais	15
3.1.2	Graduação dos tumores do SNC	16
3.1.3	Graduação dos tumores astrocíticos	17
3.2	Perfusão	18
3.2.1	Técnica	18
3.2.2	Aplicação da perfusão nos tumores cerebrais	27
3.2.3	Aplicação da perfusão na graduação dos tumores gliais	28
3.3	Difusão	31
3.3.1	Técnica	31
3.3.2	Aplicação da difusão no estudo dos tumores cerebrais	35
3.3.3	Aplicação da difusão na graduação dos tumores gliais	36
3.4	Espectroscopia de prótons	38
3.4.1	Técnica	38
3.4.2	Aplicação da espectroscopia nos tumores cerebrais	42
3.4.3	Aplicação da espectroscopia na graduação dos tumores gliais	44
3.5	Combinação e correlação da perfusão, difusão e espectroscopia na graduação dos tumores gliais	46
4	CASUÍSTICA E MÉTODOS	49
4.1	Casuística	50
4.2	Métodos	54
4.2.1	Ressonância magnética convencional	54
4.2.2	Perfusão	55
4.2.2.1	Aquisição	55
4.2.2.2	Análise	55
4.2.3	Difusão	57
4.2.3.1	Aquisição	57
4.2.3.2	Análise	57

4.2.4	Espectroscopia de prótons	59
4.2.4.1	Aquisição	59
4.2.4.2	Análise.....	59
5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	62
6	RESULTADOS	65
6.1	Perfusão	66
6.2	Difusão	71
6.3	Espectroscopia de prótons	76
6.4	Regressão logística e correlação da perfusão, difusão e espectroscopia na graduação dos tumores gliais.....	84
7	DISCUSSÃO	89
7.1	Perfusão	90
7.2	Difusão	96
7.3	Espectroscopia de prótons	98
7.3.1	Creatina	98
7.3.2	Colina.....	101
7.3.3	N-Acetilaspártato	105
7.3.4	Lactato	107
7.3.5	Lipídios	109
7.4	Combinação e correlação da perfusão, difusão e espectroscopia na graduação dos tumores gliais.....	112
7.5	Limitações do estudo.....	121
8	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	122
9	CONCLUSÕES	127
10	ANEXOS	129
11	REFERÊNCIAS	147

Listas

ABREVIATURAS

AG:	alto grau
BG:	baixo grau
BHE:	barreira hematoencefálica
CDA:	coeficiente de difusão aparente
Co:	colina
Cr:	creatina
EPI:	ecoplanar
ERM:	espectroscopia por ressonância magnética
FSC:	fluxo sanguíneo cerebral
GBM:	glioblastoma multiforme
GRE:	gradiente eco
Lac:	lactato
Lip:	lipídios
ml:	mioinositol
Naa:	N-acetilaspartato
NEX:	número de excitações
PPM:	partes por milhão
RI:	região de interesse
RM:	ressonância magnética
SE:	spin eco
TE:	tempo de eco
TMT:	tempo médio de trânsito
TR:	tempo de repetição
VI:	volume de interesse
VSC:	volume sanguíneo cerebral
WHO:	<i>World Health Organization</i>

SÍMBOLOS

%	porcentagem
µm	micrômetro
cm	centímetro
kg	quilograma
min	minuto
mm	milímetros
mmol	milimolar
ms	milissegundo
s	segundo
T	Tesla

FIGURAS

- Figura 1 -** Curva da intensidade de sinal pelo tempo, mostrando acentuada queda do sinal à chegada do contraste (seta vermelha), recuperação parcial da perda da intensidade do sinal (cabeças de setas). Uma segunda queda da intensidade do sinal em razão da recirculação (seta preta). Recuperação incompleta da linha de base por causa do extravasamento do contraste na presença de lesão da barreira hematoencefálica (seta verde). Adaptado da referência Cha *et al.*, 2002.20
- Figura 2 -** Paciente do sexo feminino, 64 anos, portadora de GBM (paciente nº 7). **(A)** Mapa colorido de VSCr, mostrando intensa vascularização do tumor (em vermelho) e o posicionamento das RIs na substância branca normal e no tumor. **(B)** Curvas da intensidade de sinal pelo tempo, referentes à substância branca normal (em lilás) e ao tumor (em verde).22
- Figura 3 -** **(A-C)** Axial ecoplanar gradiente-eco em uma mulher de 53 anos (paciente nº 23) portadora de GBM frontal. **(A)** Imagem obtida sem administração de agente de contraste, **(B)** Imagem obtida no pico da chegada do agente de contraste, demonstrando significativa queda do sinal no tumor (seta), **(C)** Imagem obtida 50 segundos, após a injeção demonstrando retorno da intensidade do sinal, exceto em áreas de quebra de barreira hematoencefálica (setas) onde ocorreu extravasamento, **(D)** Mapa colorido de VSCr mostrando intensa vascularização no tumor (em vermelho), **(E)** Imagem axial ponderada em T1 pós-contraste, demonstrando acentuado realce do tumor decorrente da quebra de barreira hematoencefálica (seta).23
- Figura 4 -** Paciente do sexo feminino, 64 anos, portadora de GBM (paciente nº 7). **(A)** Mapa colorido de VSCr, mostrando o posicionamento da RI na porção sólida do tumor com hiperperfusão (em vermelho) e **(B)** Curva da intensidade de sinal pelo tempo, correspondente ao mapa colorido de VSCr em A, com o ajuste reto da linha de base (tracejado em vermelho); **(C)** Mapa colorido de VSCr mostrando o posicionamento da RI na porção sólida do tumor com menor perfusão (em vermelho) em relação ao evidenciado no mapa de VSCr em A e **(D)** Curva da intensidade de sinal pelo tempo, correspondente ao mapa

	colorido de VSCr em C, com o ajuste interpolado da linha de base (tracejado em vermelho), mostrando menor área sob a curva.....	24
Figura 5 -	Imagem ponderada de difusão. (A) valor de $b=1.000$ s/mm ² , (B) valor de $b=0$, (C) mapa de coeficiente de difusão aparente.....	33
Figura 6 -	Paciente do sexo masculino, 61 anos (paciente nº 17), com diagnóstico histológico de GBM. (A,D,G) Imagem GRE-EPI de perfusão, mostrando localização das RI, (B,E,H) no mapa colorido de VSCr e (C,F,I) as correspondentes curvas de perfusão para RI no tecido normal (em lilás) e no tumor (em verde).....	56
Figura 7 -	Paciente do sexo masculino, 63 anos (paciente nº19), portador de GBM. (A,C,E) Imagens ponderadas em difusão, e (B,D,F) mapas de CDA, mostrando, respectivamente, em lilás e verde RI selecionadas para o tumor e área contralateral normal, com restrição da difusão no tumor.....	58
Figura 8 -	Paciente do sexo masculino, 69 anos (paciente nº31), portadora de GBM. (A): localizador da espectro com grade, mostrando a localização dos VIs individuais sobre a imagem localizadora FLAIR ; (B): exemplos de espectros em algumas regiões do tumor, (C): exemplo de espectro em tecido normal, (D): exemplo de espectro na porção sólida do tumor, mostrando aumento da colina (Co) e presença de lactato (Lac), sem pico significativo de n-acetilaspartato (Naa)	60
Figura 9 -	Paciente do sexo masculino, 46 anos (paciente nº55), com diagnóstico histológico de oligoastrocitoma grau II. (A) Imagem axial FLAIR, (B) Imagem axial ponderada em T1 pré-contraste, (C) Imagem axial ponderada em T1 pós-administração do gadolínio, (D) Mapa colorido de VSCr e (E) as correspondentes curvas de perfusão para RI no tecido normal (em lilás) e no tumor (em verde).....	67
Figura 10 -	Paciente do sexo masculino, 70 anos (paciente nº 1), com diagnóstico histológico de GBM. (A) Imagem axial FLAIR, (B) Imagem axial ponderada em T1 pré-contraste, (C) Imagem axial ponderada em T1 pós-administração do gadolínio, (D) Mapa colorido de VSCr e (E) as correspondentes curvas de perfusão para RI no tecido normal (em lilás) e no tumor (em verde).....	68
Figura 11 -	Curvas ROC da perfusão máxima, mínima e média.	70

- Figura 12** – Gráfico boxplot mostra a comparação da média dos valores de VSCr entre os grupos BG e AG, com diferença significativa entre os grupos. A linha central das caixas marca as medianas (percentil 50) do conjunto de dados, e o que está acima dessa linha refere-se ao percentil 75 e abaixo ao percentil 25. Observando os gráficos, verificamos que os valores de VSCr são muito maiores nos tumores de AG70
- Figura 13** - Paciente do sexo masculino, 57 anos (paciente nº 49), com diagnóstico histológico de astrocitoma grau II. **(A)** Imagem axial FLAIR, **(B)** Imagem axial ponderada em T1 pré-contraste, **(C)** Imagem axial ponderada em T1 pós-administração do gadolínio, **(D)** Imagem de difusão com as RI no tumor (em verde) e no lado contralateral normal (em lilás) e **(E)** Mapa de CDA correspondente, mostrando discreta restrição da difusão no tumor72
- Figura 14** - Paciente do sexo masculino, 63 anos (paciente nº 19), com diagnóstico histológico de GBM. **(A)** Imagem axial FLAIR, **(B)** Imagem axial ponderada em T1 pré-contraste, **(C)** Imagem axial ponderada em T1 pós-administração do gadolínio, **(D)** Imagem de difusão com as RI no tumor (em verde) e no lado contralateral normal (em lilás) e **(E)** Mapa de CDA correspondente, mostrando significativa restrição da difusão no tumor73
- Figura 15** - **(A)** Curvas ROC para difusão média, máxima e mínima. A curva ROC para difusão mínima apresenta maior área sob a curva, com maior poder discriminatório entre os grupos.75
- Figura 16** - Gráfico boxplot mostra a comparação da média dos valores de CDA entre os grupos BG e AG. A linha central das caixas marca as medianas (percentil 50) do conjunto de dados, e o que está acima dessa linha refere-se ao percentil 75 e abaixo, ao percentil 25. Observando os gráficos verificamos que, apesar de grande sobreposição, os valores de CDA são maiores nos tumores de BG.75
- Figura 17** - Paciente masculino, 14 anos (paciente nº44), portador de astrocitoma pilocítico. **(A)** Imagem FLAIR mostrando lesão expansiva sólida, **(B)** localizador do espectro, **(C)** exemplo de espectro normal, **(D, E, F)** exemplos de espectros em algumas regiões sólidas do tumor, mostrando aumento de colina (Co) e redução do n-acetilaspartato (Naa) e creatina (Cr), com grande variação da intensidade da Co nos diversos vóxeis.76

- Figura 18 -** Paciente do sexo masculino, 65 anos (paciente nº 29), com diagnóstico histológico de GBM. **(A)** Imagem FLAIR, **(B)** Imagem ponderada em T1 sem contraste, **(C)** Imagem ponderada em T1 pós-contraste, mostrando realce predominantemente periférico, com grande área de necrose central, **(D)** localizador da espectro, **(E,F)** exemplos de espectros na borda tumoral que realça e no núcleo caudado onde não se observa realce pelo meio de contraste, mostrando discreto aumento da colina (Co), redução da creatina (Cr) e n-acetilaspartato (Naa), e presença de lipídio (Lip).78
- Figura 19 -** Gráficos boxplot. **(A)** Comparação da média dos valores de Lip entre os grupos BG e AG, com diferença significativa entre os grupos; **(B)** Comparação da média dos valores de Cr entre os grupos BG e AG, com diferença significativa entre os grupos; **(C)** Comparação da média dos valores de Lac entre os grupos BG e AG, sem diferença significativa entre os grupos, com grande sobreposição de valores; **(D)** Comparação da média dos valores de Co entre os grupos BG e AG, evidenciando maior valor no grupo BG, embora com grande sobreposição de valores entre os grupos; **(E)** Comparação da média dos valores de Naa entre os grupos BG e AG, com menor valor no grupo AG, porém sem diferença significativa entre os grupos, com grande sobreposição de valores82
- Figura 20 -** Curvas ROC para os valores absolutos de Cr e Lip, e da razão Lip/Cr, demonstrando maior valor da área abaixo da curva para o Lip, sendo o parâmetro que apresentou maior eficiência diagnóstica.83
- Figura 21 -** **(A)** Curvas ROC das médias do Lip, VSCr e Lip+VSCr, mostrando discreto aumento da sensibilidade e especificidade, quando Lip e VSCr são combinados, quando comparado ao valor de VSCr de forma isolada. **(B)** Curvas ROC das médias da Cr, VSCr e Cr+VSCr, mostrando maior área sob a curva quando Cr+VSCr são combinados, em relação à Cr de forma isolada e discreto aumento da área sob a curva quando comparado ao VSCr.....86

TABELAS

Tabela 1 -	Dados da casuística dos pacientes do grupo AG referente à idade, sexo, tipo histológico do tumor, localização do tumor e se foram submetidos ao estudo de difusão, perfusão e espectroscopia (+).....	52
Tabela 2 -	Dados da casuística dos pacientes do grupo BG referente à idade, sexo, tipo histológico do tumor, localização do tumor e se foram submetidos ao estudo de difusão, perfusão e espectroscopia (+).....	53
Tabela 3 -	Comparação entre os valores estimados de VSCr obtidos para a diferenciação entre tumores de BG e AG, por meio do teste t. Valor de <i>p</i> significativo em vermelho.	69
Tabela 4 -	Comparação entre os valores estimados de CDA obtidos para a diferenciação entre tumores de BG e AG. Valor de <i>p</i> em azul, indicando uma tendência à diferença significativa.....	74
Tabela 5 -	Comparação entre os valores absolutos de Cr, Co, Lip, Lac e Naa obtidos para a diferenciação entre tumores de BG e AG, mostrando em azul tendência à significância estatística, e em vermelho, significância estatística.	79
Tabela 6 -	Comparação entre as razões metabólicas de Cr, Co, Lip, Lac e Naa obtidos para a diferenciação entre tumores de BG e AG, mostrando em azul tendência à significância estatística e, em vermelho, significância estatística.	80
Tabela 7 -	Comparação entre os valores de VSCr, Lip, Cr e da razão metabólica Lip/Cr, obtidos para a diferenciação entre tumores de AG e BG, com significância estatística em vermelho.....	84
Tabela 8 -	Valores de corte com sensibilidade, especificidade, VPP e VPN para perfusão e valores de Lip e Cr, e razão metabólica Lip/Cr para diferenciação entre tumores de BG e AG.	85
Tabela 9 -	Correlação de Spearman entre CDA mínimo e as demais variáveis, mostrando correlação negativa entre CDA mínimo e VSCr médio, indicando que a maior perfusão no tumor está relacionada à maior restrição da movimentação da água.	87

Tabela 10 - Correlação de Spearman entre VSCr médio e as demais variáveis.	87
Tabela 11 - Cálculo do poder estatístico para as diversas variáveis, mostrando poder alto para Lip e sobretudo para VSCr.	88
Tabela 12 - Comparação dos valores de corte para VSCr propostos em diversos artigos publicados para diferenciação entre tumores de BG e AG, mostrando grande variação entre os trabalhos.....	91
Tabela 13 - Comparação da metodologia e resultados dos diversos trabalhos multiparamétricos com o trabalho atual.	114

Resumo

Pincerato RCM. *Classificação multiparamétrica dos tumores gliais por RM* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2010. 158p.

INTRODUÇÃO: A referência padrão para determinação do grau tumoral é a avaliação histopatológica. Entretanto, algumas limitações estão associadas com a correta graduação histopatológica dos gliomas: (a) erro inerente da amostra associada a biópsia estereotáxica, sendo que a porção mais maligna do tumor pode não estar incluída na amostra obtida; (b) dificuldade em obter uma gama suficiente de amostras se o tumor for inacessível ao cirurgião; (c) dinâmica própria dos tumores do sistema nervoso central, com diferenciação freqüente em graus de maior malignidade; (d) variabilidade entre patologistas; (e) inabilidade para avaliação de tecido tumoral residual após cirurgia redutora. Embora a ressonância magnética (RM) convencional seja a técnica de maior utilidade no diagnóstico e avaliação de tumores cerebrais, de forma isolada não possui acurácia em prever o grau tumoral. Técnicas avançadas de RM, tais como caracterização de alterações metabólicas na espectroscopia de prótons (ERM), valores de volume sanguíneo cerebral relativo (VSCr) obtido com a perfusão por RM e imagem de difusão com o cálculo do coeficiente de difusão aparente (CDA), têm sido avaliadas como ferramentas diagnósticas na graduação prospectiva dos gliomas cerebrais.

OBJETIVOS: Determinar quais são os parâmetros derivados da perfusão, difusão e espectroscopia que auxiliam a graduação tumoral. Determinar a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) de cada método. Determinar se há alguma correlação entre os parâmetros utilizados na determinação do grau de malignidade tumoral. Determinar se a combinação destas técnicas aumenta a efetividade diagnóstica para graduação tumoral.

MÉTODOS: 56 pacientes com tumores de origem glial, sendo 37 glioblastomas multiforme, 2 astrocitoma anaplásico, 1 oligastrocitoma anaplásico, 3 oligastrocitomas grau II, 9 astrocitomas grau II e 4 astrocitomas pilocíticos, foram submetidos a RM convencional, difusão, perfusão e ERM em aparelho 1,5 T (GE-Horizon LX9.1). O estudo da difusão foi realizado com sequência SE-EPI com tempo de repetição (TR)/tempo de eco (TE) = 8000/110,8ms. A perfusão foi adquirida com sequência GRE-EPI com TR/TE = 2000/34,7ms. Para o estudo de ERM utilizamos sequência multivoxel com TR/TE=1500/135ms.

RESULTADOS: Diferenças significativas foram encontradas entre gliomas de baixo grau (BG) e alto grau (AG), com maiores valores de VSCr, Lip e Lip/Cr nos tumores de AG e maior valor de Cr nos tumores de BG. Tumores de AG apresentaram valores menores de CDA do que os de BG, porém sem diferença significativa. Correlação inversa foi observada entre valores de VSCr e CDA. O melhor parâmetro isolado para graduação tumoral foi o valor do VSCr. A combinação de VSCr e Cr, e VSCr e Lip, mostrou aumento da sensibilidade e especificidade na graduação dos gliomas.

CONCLUSÕES: As alterações metabólicas utilizando a razão Lip/Cr, e os valores de Lip e Cr, assim como os valores de VSCr foram úteis na graduação tumoral. O melhor parâmetro para graduação tumoral foi o valor de VSCr. A combinação do VSCr e Cr, e VSCr e Lip aumenta a sensibilidade e especificidade na determinação da graduação dos gliomas.

Descritores: Gliomas cerebrais, Espectroscopia por ressonância magnética, Perfusão, Difusão, Graduação tumoral.

Summary

Pincerato RCM. *Multiparametric classification of glial tumors using MR imaging* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2010. 158p.

INTRODUCTION: The current reference standard for determining glioma grade is histopathologic assessment. However some limitations are associated with correct histopathologic grading of gliomas: (a) inherent sampling error associated with stereotactic biopsy and the risk of missing the most malignant portion of the tumor in the sampling; (b) difficulty in obtaining a representative range of samples if the tumor is inaccessible to the surgeon; (c) the dynamic nature of central nervous system tumors, with frequent dedifferentiation into more malignant grades; (d) interpathologist variability and (e) inability to evaluate residual tumor tissue after reductive surgery. Although MR imaging is the most useful radiologic technique in the diagnosis and evaluation of common brain tumors, it is not accurate enough in predicting tumor grade. Advanced MR imaging techniques such as characterization of metabolic changes in MR spectroscopy (MRS), relative cerebral blood volume (rCBV) measurements derived from perfusion MR imaging, and diffusion-weighted MR imaging with calculation of apparent diffusion coefficient (ADC), have been evaluated as diagnostic tool in prospective grading of cerebral gliomas.

OBJECTIVES: To determine the usefulness of perfusion, diffusion, and spectroscopy values for glioma grading. To determine sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), and negative predictive value (NPV), of each method. To determine if there is any correlation between parameters used in glioma grading. To determine whether the combination of these techniques can improve the diagnostic effectiveness of glioma grading.

METHODS: 56 patients with glial tumors: 37 glioblastoma multiforme, 2 anaplastic astrocytoma, 1 anaplastic oligoastrocytoma, 3 oligoastrocytomas grade II, 9 astrocytomas grade II and 4 pilocytic astrocytomas. Patients underwent conventional MR, diffusion, perfusion and MRS, performed with a 1.5-T unit (GE-Horizon LX9.1). The diffusion-weighted images were acquired by using a SE-EPI imaging sequence with repetition time (TR)/echo time (TE) = 8000/110.8ms. Perfusion-weighted imaging were acquired by using GRE-EPI with TR/TE = 2000/34.7ms. Multivoxel MRS imaging were acquired by using TR/TE=1500/135ms.

RESULTS: Significant differences were noted between low-grade (LG) and high-grade (HG) gliomas with higher values of rCBV, Lip, Lip/Cr in HG, and higher values of Cr in LG. HG tumors had lower ADC values than LG, but with no statistical significant difference. An inverse relationship was observed between rCBV and ADC values. The best performing single parameter for glioma grading was rCBV value. Combination of rCBV and Cr, and rCBV and Lip, showed improvement in sensitivity and specificity in grading of gliomas.

CONCLUSIONS: Metabolic changes using Lip/Cr ratio and Lip and Cr, and rCBV values were useful in tumor grading. The best parameter for glioma grading was rCBV value. The combination of rCBV and Cr, and rCBV and Lip increased the sensitivity and specificity in determining glioma grade.

Descriptors: Brain gliomas, Magnetic resonance spectroscopy, Perfusion, Diffusion, Tumor grading.

1 Introdução

Em pacientes portadores de tumores cerebrais, o estudo de ressonância magnética (RM) convencional é considerado o método de referência para o diagnóstico pré-operatório, pois fornece informações detalhadas sobre a anatomia, edema peritumoral, presença de hemorragia e necrose, com aumento da acurácia diagnóstica por meio de sequências adquiridas, após o emprego do contraste paramagnético endovenoso. Entretanto, as informações obtidas não são características para graduação de tumores gliais, com especificidade e sensibilidade variáveis, dependendo do tipo de lesão que, de acordo com alguns trabalhos, pode variar de 55,1% a 83,3% (Dean et al., 1990; Knopp et al., 1999; Moller-Hartmann et al., 2002).

Embora pacientes portadores de tumores gliais de baixo grau (BG) e alto grau (AG) sejam submetidos da mesma forma à biópsia e/ou ressecção cirúrgica, pacientes com gliomas de AG são tratados de forma mais agressiva, sendo submetidos a tratamento adjuvante como radio e/ou quimioterapia.

Consequentemente, o erro no diagnóstico de tumores de AG como sendo de BG acarretará tratamento menos agressivo do que o necessário; e os tumores de BG caracterizados, como de AG serão tratados de forma mais agressiva, ocorrendo aumento da morbidade e mortalidade em ambos os casos.

Algumas características dos tumores observadas ao exame de RM convencional são relacionadas à caracterização de maior agressividade, tais como: presença de edema peritumoral, realce ao material de contraste endovenoso, presença de hemorragia, necrose e efeito de massa (Law et al., 2003; Chang et al., 2009).

Porém, com certa frequência, gliomas de AG podem apresentar mínimo edema, sem evidências de realce pelo contraste paramagnético, sem necrose e/ou efeito de massa (Knopp et al., 1999; Maia et al., 2005), e podem ser confundidos com tumores de BG. Portanto, a adequada caracterização, só com o estudo de imagem convencional de tumores cerebrais de origem glial, permanece um desafio em muitos casos, pela apresentação histológica heterogênea dos gliomas.

Muitos métodos de neuroimagem não invasivos, incluindo espectroscopia de prótons, difusão e perfusão, têm sido utilizados para determinar o grau tumoral das neoplasias gliais. Vários estudos vêm demonstrando que estes métodos auxiliam o diagnóstico pré-operatório da graduação tumoral, embora com acurácia controversa (Dean et al., 1990; Law et al., 2003).

A espectroscopia de prótons por ressonância magnética (ERM) é uma ferramenta não invasiva, que pode ser utilizada na investigação da distribuição espacial de alterações metabólicas em lesões cerebrais. Embora não exista um metabólito tumoral específico que possa ser detectado, é possível determinar certo padrão característico na alteração das concentrações dos metabólitos nos gliomas em comparação com o tecido

cerebral normal. Pela comparação da concentração relativa desses metabólitos, pode-se inferir o padrão de viabilidade neuronal e de replicação celular dentro de um volume de interesse.

Tanto tecidos normais como patológicos dependem de seu suprimento sanguíneo para adequado fornecimento de nutrientes, proporcionando seu crescimento e auxiliando na manutenção do metabolismo. Conforme o tecido se desenvolve, uma rede vascular apropriada desenvolve-se ao mesmo tempo, sendo este processo conhecido como angiogênese, que é um processo complexo, estimulado por diversos mecanismos. Tipicamente o crescimento do tecido tumoral, que excede seu suprimento sanguíneo local, resulta em hipóxia regional e hipoglicemia, estimulando a liberação de “mensageiros” químicos provenientes das células do próprio tecido que induzem o crescimento endotelial vascular, estimulando a formação de novos vasos. No tecido tumoral, o processo de angiogênese é tipicamente anormal, levando ao desenvolvimento de uma trama vascular distorcida, caracterizada por uma proporção excessiva de vasos com morfologia alterada e características particulares de fluxo (Gillard, 2005). A morfologia vascular e o grau de angiogênese são elementos importantes na avaliação de diferentes tipos tumorais e na determinação da agressividade biológica de neoplasias intracranianas, visto que um importante fator de malignidade tumoral é a capacidade de recrutar e sintetizar redes vasculares que favoreçam a proliferação celular. Além disso, tais redes vasculares também servem como rota para a infiltração tumoral ao longo dos espaços perivasculares.

Uma das maiores aplicações da perfusão cerebral por ressonância magnética tem sido o acesso aos parâmetros hemodinâmicos dos tumores, fornecendo estimativa robusta sobre o volume sanguíneo cerebral relativo (VSCr) que reflete a microvasculatura e angiogênese, correlacionados à atividade mitótica e ao grau de proliferação vascular que são fatores de grande relevância na caracterização do grau de malignidade (Knopp et al., 1999; Cha et al., 2002; Wetzel et al., 2002; Covarrubias et al., 2004; Schmainda et al., 2004) . Vários artigos demonstram boa correlação entre o estudo de perfusão e os achados de histologia, nos quais tumores gliais de maior grau apresentam maior VSCr e aqueles com VSCr menor apresentam-se como gliomas de BG (Aronel et al., 1994; Knopp et al., 1999; Petrella e Provenzale, 2000; Law et al., 2003; Law et al., 2006). Embora a perfusão apresente alta sensibilidade para o estudo de tumores gliais, a especificidade é baixa, e a análise conjunta com outras técnicas seria interessante para avaliar se há aumento da especificidade do método.

Muitos fatores podem influenciar a difusão da água no tecido vivo, incluindo restrição (compartimentalização celular, número e tipo de células, densidade da membrana celular) e as propriedades físico-químicas dos tecidos, como viscosidade e temperatura (Tung et al., 2001). As moléculas de água têm movimentação tortuosa definida pela presença de obstáculos, como fibras, organelas intracelulares e macromoléculas. O coeficiente de difusão da água tem, portanto, comportamento variável, dependendo da microestrutura ou estado fisiopatológico tecidual, sendo uma fonte potencial de contraste no tecido para caracterização de diversas patologias (Le Bihan

et al., 1992). Postula-se que a imagem de difusão da água e o cálculo do coeficiente de difusão da água (CDA) forneçam informações adicionais sobre a caracterização de tumores quando comparados ao estudo de RM convencional. De fato, Tien e cols. observaram que, no componente cístico e/ou de necrose do tumor, houve marcada supressão do sinal de difusão, com elevados valores de CDA, decorrentes da ausência de significativa restrição da difusão das moléculas de água. Por outro lado, nas porções sólidas do tumor, em geral, no referido trabalho foram encontrados menores valores de CDA, quando comparados ao edema vasogênico peritumoral e às regiões de necrose (Tien et al., 1994). Dentre os componentes da histologia tumoral que, aparentemente, contribuem de forma mais significativa para as diferenças obtidas nos valores de CDA, estão a celularidade tumoral, matriz do tumor, presença de fibrose/gliose, presença de componente cístico e/ou de necrose.

Artigos recentes sugerem que valores obtidos com os mapas de CDA podem ser úteis na avaliação de tumores, auxiliando na identificação da área tumoral com maior celularidade. Uma vez que a maior parte da movimentação da água ocorre no espaço extracelular, a presença de edema e /ou aumento da celularidade pode afetar os valores de difusão aparente (Szafer et al., 1995).

Portanto, valores mais baixos de CDA indicariam a região de maior celularidade, refletindo na redução do espaço extracelular pela invasão por células tumorais com subsequente restrição da movimentação da água (Castillo et al., 2001), enquanto maiores valores de CDA estariam

relacionados à facilitação da movimentação da água, observada em lesões com baixa celularidade tumoral, aumento do conteúdo de água intersticial e em regiões de necrose ou com degeneração cística (Lee et al., 2008).

Algumas publicações demonstraram boa correlação entre o CDA mínimo e a graduação dos gliomas, como Kono e cols. que, embora tenham encontrado sobreposição de valores de CDA entre gliomas grau II e GBMs, descreveram resultados indicando que menores valores de CDA sugerem glioma maligno, e alto valor de CDA, astrocitoma de BG, apresentando alto valor preditivo em associação à RM convencional (Kono et al., 2001). Em outro trabalho, foi encontrada também correlação significativa entre celularidade tumoral com valores mínimos de CDA em gliomas ($p=0,007$), no qual o CDA mínimo nos gliomas de AG foi significativamente menor que nos gliomas de BG, indicando que a técnica de difusão é útil no estudo da celularidade tumoral e graduação dos tumores (Sugahara et al., 1999). Yang e cols. calcularam o CDA mínimo na porção sólida de 17 tumores gliais e encontraram valores de $0,92 \pm 0,27 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ nos gliomas de AG e $1,28 \pm 0,15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ nos de BG ($p<0,05$) (Yang et al., 2002).

Outra publicação relata que o valor de CDA foi efetivo na discriminação de gliomas ($p < 0,001$), não sendo possível, porém, a distinção de diferentes tipos de tumor com o mesmo grau. Tumores de AG apresentaram valores de CDA ($0,872 \pm 0,104 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$) significativamente menores do que gliomas de BG ($1153 \pm 0,117 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$) (Bulakbasi et al., 2003). Em outro estudo com 16 pacientes portadores de tumores gliais, o CDA mínimo em astrocitomas de AG ($1,035$

$\times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$) foi significativamente menor que no grupo de BG ($1,19 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$) (Lee et al., 2008).

Embora os relatos acima citados tenham descrito que a medida de CDA possa ser útil na graduação tumoral, em razão da correlação inversa com a densidade celular, outros trabalhos têm encontrado diferentes resultados, descrevendo grande sobreposição de valores de CDA entre os gliomas de AG e BG, limitando seu uso clínico na graduação tumoral pré-operatória. Em estudo de 17 tumores gliais, Lam e cols, não encontraram diferença significativa ($p>0,7$) nos valores de CDA entre tumores de BG e AG, concluíram que o estudo da difusão não apresenta utilidade na prática clínica para a diferenciação tumoral (Lam et al., 2002). Castillo e cols. concluíram em estudo com 17 pacientes portadores de gliomas não ser possível diferenciar, por meio dos valores de CDA entre graus tumorais ou mesmo demarcar suas bordas, em relação ao edema vasogênico do tecido cerebral adjacente (Castillo et al., 2001).

Em razão da importância do diagnóstico pré-operatório dos tumores intracranianos, objetivou-se, neste trabalho, definir o papel da difusão, perfusão e espectroscopia de prótons para a graduação tumoral e se existe utilidade em agregar estas técnicas ao exame de RM convencional em pacientes portadores de tumor glial.

2 Objetivos

1. Determinar quais são os parâmetros derivados da perfusão, difusão e espectroscopia de prótons por RM, que auxiliam na diferenciação entre tumores cerebrais de alto e baixo graus de origem glial astrocítica e oligoastrocítica.
2. Determinar para estes parâmetros a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) de cada método.
3. Determinar se há alguma correlação entre os parâmetros utilizados na determinação do grau de malignidade tumoral
4. Determinar se a combinação dessas técnicas aumenta a efetividade diagnóstica para a graduação tumoral.

3 Revisão da Literatura

3.1 CLASSIFICAÇÃO DOS TUMORES GLIAIS

Glioma é um tipo de tumor neuroepitelial que tem origem nas células gliais, incluindo tumores astrocíticos, oligodendrogliomas, ependimomas e gliomas mistos.

Por definição astrocitomas são neoplasias infiltrativas compostas por astrócitos fibrilares. A localização hemisférica é mais comum em adultos jovens e pacientes de meia idade, e em crianças o local mais frequente é o tronco encefálico. Na medula espinhal e nervo óptico podem também ser encontrados e, ocasionalmente, no cerebelo na forma de astrocitoma pilocítico. As formas mais agressivas (astrocitoma anaplásico e glioblastoma multiforme) são mais comuns em pacientes com idade a partir da quinta década.

Os astrocitomas caracterizam-se por regiões de alta celularidade localizadas na substância branca que, com a evolução, se estendem até o córtex cerebral ou às estruturas hemisféricas profundas. São reconhecidos como astrocitomas mais pela atipia nuclear, distribuição celular irregular e aumento de celularidade do que pela configuração citoplasmática de suas células, que pode variar consideravelmente. Nas apresentações de maior malignidade, os astrocitomas apresentam significativa proliferação vascular,

além da presença de necrose, sobretudo na forma de glioblastoma multiforme (GBM). Embora a frequência precisa da progressão de astrocitomas para as formas de AG, não esteja bem estabelecida, podemos dizer que pacientes jovens, com astrocitomas bem diferenciados, têm melhor prognóstico do que pacientes com idade mais avançada, no qual a progressão para AG não só é mais comum, como também ocorre mais rápido.

Oligodendrogliomas são gliomas infiltrativos compostos por oligodendrócitos. Tipicamente afetam os hemisférios cerebrais, sobretudo os lobos frontais, com calcificação intra ou peritumoral. Embora de forma não específica exista um tropismo dos oligodendrogliomas pelo córtex cerebral, com infiltração perineuronal, subpial e perivascular. Apresentam forma e tamanho de núcleo uniformes e um achado histológico que auxilia o diagnóstico desse tipo de tumor, é a característica distribuição de sua vascularização, do tipo “tela de galinheiro” (*chicken wire*), cujos vasos sanguíneos típicos consistem de pequenos capilares arrumados geometricamente.

Ependimomas são neoplasias de células ependimárias e crescem por meio do neuroeixo, intimamente relacionado ao epêndima e seus remanescentes. Excepcionalmente, podem se manifestar como tumores do sistema ventricular, originando-se de tecido ependimário ectópico. Ocorrem com frequência em crianças, embora adultos também sejam afetados. Como regra, os tumores são bem circunscritos e deslocam mais do que infiltram o

parênquima cerebral, a presença de calcificação pode ocorrer, assim como o componente cístico associado.

Gliomas mistos são tumores compostos por mais de um tipo da célula da glia. Muitos gliomas possuem células derivadas fenotipicamente de outras neoplasias, não devem ser considerados como gliomas mistos verdadeiros. Oligodendrogliomas, por exemplo, frequentemente contêm células semelhantes aos astrócitos, as células que se parecem, tanto com astrócitos como com oligodendrócitos são encontradas em muitos ependimomas. Dentro da categoria de gliomas mistos, destacamos o oligoastrocitoma, que é um termo utilizado para tumores com distinção geográfica inequívoca composta por áreas onde oligodendrócitos e astrócitos coexistem. Vem sendo sugerido que o diagnóstico desse tumor como glioma misto seja atribuído quando a contribuição do tipo celular minoritário exceder uma proporção de 20%. Mas, na prática, esse parâmetro não pode sempre ser utilizado pela considerável sobreposição morfológica neste tipo de neoplasia glial. Sugere-se que a designação de tumor misto seja utilizada somente na presença de um componente astrocítico distinto e inequívoco. Há um conflito evidente sobre o prognóstico dos oligoastrocitomas, já que pacientes portadores de oligodendroglioma com componente astrocitário têm pior evolução do que os oligodendrogliomas puros, pela maior agressividade e maior propensão à degeneração maligna dos astrocitomas fibrilares, quando comparados aos oligodendrogliomas (Burger, 1994).

3.1.1 CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS E DE VASCULARIZAÇÃO DOS TUMORES OLIGODENDROGLIAIS

Astrocitomas e oligodendrogliomas são duas entidades patologicamente bem definidas, com características distintas quanto ao comportamento biológico e prognóstico. Os oligodendrogliomas apresentam neovascularização capilar com alta perfusão no estudo de RM que, em parte, mas não exclusivamente, pode estar relacionada à sua localização cortical. Já que o córtex normal contém um maior número de vasos sanguíneos comparado à substância branca, tumores que envolvem a cortical, têm maior densidade vascular, pela sua vizinhança ricamente vascularizada, porém como demonstrado previamente, a maioria dos oligodendrogliomas com base cortical tem volume sanguíneo aumentado mesmo quando comparados ao córtex normal contralateral (Cha et al., 2002).

Muitos estudos demonstraram que oligodendrogliomas expressam genes fortemente angiogênicos, como o gene do fator de crescimento endotelial vascular (Christov et al., 1998; Christov e Gherardi, 1999) o que contribui para sua neovascularização e hiperplasia vascular, levando a uma alta densidade vascular encontrada, tanto em tumores de BG como de AG (Schiffer et al., 1999). Este padrão contrasta com as características encontradas nos astrocitomas fibrilares, cuja proliferação microvascular é observada somente em tumores de AG.

Cha e cols sugerem que a classificação dos gliomas pode não apresentar boa correlação entre a perfusão cerebral e a graduação histopatológica, se oligodendrogliomas forem incluídos na amostra, sugerindo que a graduação dos tumores gliais baseada nas imagens de perfusão só se limitem aos astrocitomas fibrilares (Cha et al., 2002).

3.1.2 GRADUAÇÃO DOS TUMORES DO SNC

A seguir, será considerada a quarta edição do *World Health Organization* (WHO) para classificação de tumores do sistema nervoso central, publicada em 2007 (Louis et al., 2007).

A denominação grau I aplica-se a lesões com baixo potencial proliferativo, com possibilidade de cura após a ressecção cirúrgica, sem outros tratamentos coadjuvantes. Neoplasias designadas grau II são lesões, geralmente, de natureza infiltrativa e apesar da baixa atividade proliferativa, com frequência, apresentam recidiva. Alguns tipos de tumores grau II progridem para lesões de AG de malignidade, como por exemplo, astrocitoma difuso de BG que se transforma em astrocitoma anaplásico ou GBM. A designação WHO grau III, geralmente, é reservada para lesões com evidência histológica de malignidade, que incluem atipia nuclear e atividade mitótica intensa. Na maioria dos casos, pacientes com tumores grau III necessitam de terapia adjuvante com radio e/ou quimioterapia. A lesão grau IV é caracterizada pela presença de malignidade citológica evidente, com

acentuada atividade mitótica, necrose associada, e rápida evolução pré e pós-operatória, com prognóstico reservado. Exemplos de tumores grau IV incluem o GBM, a maioria dos tumores embrionários, assim como os sarcomas. Algumas neoplasias desse grupo são caracterizadas pela infiltração dos tecidos ao redor e pela disseminação liquórica crânioespinhal.

3.1.3 GRADUAÇÃO DOS TUMORES ASTROCÍTICOS

A graduação dos tumores astrocíticos é categorizada em graus, variando de I a IV, com base em diversos achados de microscopia como celularidade, atipia nuclear, proliferação vascular e presença de necrose. O astrocitoma grau I caracteriza-se por discreto aumento da celularidade, mínima atipia celular, sem outros achados patológicos, sendo incluído nesta categoria o astrocitoma pilocítico. Astrocitoma grau II apresenta discreto a moderado aumento da celularidade, discreto a moderado grau de atipia nuclear, mínima atividade mitótica, baixa proliferação vascular, ausência de necrose e, como exemplos desse grupo, encontramos o astrocitoma difuso ou bem diferenciado, e o oligoastrocitoma. A categoria grau III apresenta de moderada a alta celularidade, atipia nuclear proeminente, mitose facilmente identificada e moderada proliferação celular, sendo o astrocitoma anaplásico e o oligoastrocitoma anaplásico os representantes desse grupo. O astrocitoma grau IV é caracterizado pela alta celularidade, atipia nuclear,

presença de necrose e alta proliferação vascular e pertence a esse grupo o GBM.

Os astrocitomas de BG englobam os graus I e II, e os de AG, os graus III e IV.

3.2 PERFUSÃO

3.2.1 TÉCNICA

A avaliação hemodinâmica cerebral por RM pode ser obtida com base em duas técnicas diferentes. Podemos utilizar a aquisição dinâmica de imagens ponderadas em T1 (conhecida como aquisição dinâmica de realce pelo contraste), ou aquisição dinâmica de imagens com ponderação T2/T2* (conhecida com imagem dinâmica de susceptibilidade magnética). As técnicas ponderadas em T1 fornecem medidas relacionadas ao extravasamento do contraste (permeabilidade), e as baseadas em T2/T2* são basicamente utilizadas para medir o volume sanguíneo cerebral (VSC), correlacionado com a densidade capilar (Edelman et al., 1994; Covarrubias et al., 2004; Provenzale, 2007).

Neste estudo, escolhemos a técnica de perfusão baseada em T_2/T_2^* , e o restante desse subcapítulo será dedicado às considerações dos princípios básicos da física aplicada a este método.

Para o estudo da perfusão cerebral, é necessária uma boa resolução temporal, por isso, é imprescindível a utilização da sequência ecoplanar (EPI) que representa a técnica de aquisição mais rápida disponível, na qual todos os ecos necessários para formar a imagem são adquiridos em um único ou, no máximo, quatro tempos de repetição (TRs) (Leite, 2008).

No cérebro, a extração do agente de contraste paramagnético durante a primeira passagem é zero, quando a barreira hematoencefálica está intacta. A compartimentalização intravascular do agente de contraste cria grandes gradientes de susceptibilidade magnética ao nível microscópico durante sua primeira passagem, resultando na perda do sinal nas imagens ponderadas em T_2/T_2^* , decorrente da perda de magnetização transversal devido à defasagem dos spins. Deve ser observado que o efeito T_2/T_2^* se estende além das bordas dos vasos sanguíneos, afetando também o campo magnético local dos tecidos perivasculares (Gillard, 2005; Provenzale et al., 2006).

A forma como a utilização do agente de contraste estima a perfusão cerebral pode ser obtida por meio da análise cinética das curvas de concentração e/ou do sinal pelo tempo (Figura1). A partir destes índices hemodinâmicos, podem ser construídos mapas de VSC, fluxo sanguíneo cerebral (FSC) e tempo médio de trânsito (TMT), e para a medida da perfusão cerebral nos tumores o VSC é o mais utilizado.

Figura 1 - Curva da intensidade de sinal pelo tempo, mostrando acentuada queda do sinal à chegada do contraste (seta vermelha), recuperação parcial da perda da intensidade do sinal (cabeças de setas). Uma segunda queda da intensidade do sinal em razão da recirculação (seta preta). Recuperação incompleta da linha de base por causa do extravasamento do contraste na presença de lesão da barreira hematoencefálica (seta verde). Adaptado da referência Cha *et al.*, 2002

Como já explicado, durante a primeira passagem do bolo de contraste, $T2^*$ é reduzido com consequente queda da intensidade do sinal nas imagens ponderadas em $T2^*$. A alteração dessa razão de relaxação ($\Delta R2^*$) pode ser calculada, utilizando a relação da intensidade de sinal durante a passagem do bolo de contraste, com o tempo, intensidade do sinal pré-contraste e TE ($\Delta R2^* = [-\ln(SI_t/SI_0)/TE]$), onde SI_t é o pixel da intensidade de sinal no tempo t , SI_0 é a intensidade de sinal pré-contraste e TE é o tempo de eco). A $\Delta R2^*$ é proporcional à concentração do agente de contraste no tecido, sendo possível estimar o VSC por meio da integração

da curva, embaixo da linha de base, considerando-se que não haja recirculação ou extravasamento do agente de contraste. Mas a situação ideal não é possível de ser obtida, uma vez que nas regiões da lesão onde ocorre realce após a administração do gadolínio endovenoso, ou seja, onde há extravasamento para o espaço intersticial na presença de quebra da barreira hematoencefálica (BHE). O VSC poderá ser subestimado afetando a estimativa do grau de angiogênese tumoral, por duas razões principais: (a) O efeito de susceptibilidade $T2^*$ é menor, uma vez que o gradiente de concentração de gadolínio entre os espaços intra e extravasculares está reduzido, e (b) há também aumento do sinal em razão do encurtamento da constante $T1$, decorrente do efeito do material de contraste no espaço extravascular/extracelular. Por esta razão, alguns recursos são utilizados para reduzir a influência do realce $T1$ nos tecidos, como a pré-saturação do espaço extracelular pela administração de uma pré-dose de contraste endovenoso, e/ou pelas correções matemáticas pós-processamento, como a utilização da *gamma-variate function*. Com a utilização desse recurso, a curva de medida de $\Delta R2^*$ seria mais próxima à que teria sido obtida na ausência de recirculação e/ou de extravasamento do contraste. (Knopp et al., 1999; Cha et al., 2002; Boxerman et al., 2006; Provenzale et al., 2006).

A área abaixo da curva da intensidade do sinal pelo tempo é proporcional ao VSC e não corresponde a uma medida absoluta. É necessário, portanto, expressar a medida em relação a uma referência padrão, sendo usualmente utilizada a substância branca contralateral de

aspecto normal, e nos referimos então ao volume sanguíneo cerebral relativo (VSCr) (Cha et al., 2002).

Após a obtenção da aquisição dinâmica de perfusão, as imagens EPI são transferidas para uma estação de trabalho, e uma região de interesse (RI) é posicionada no lado contralateral de aparência normal, para gerar o mapa de VSCr que será utilizado como referência (Figura 2).

Figura 2 - Paciente do sexo feminino, 64 anos, portadora de GBM (paciente n° 7). (A) Mapa colorido de VSCr, mostrando intensa vascularização do tumor (em vermelho) e o posicionamento das RIs na substância branca normal e no tumor. (B) Curvas da intensidade de sinal pelo tempo, referentes à substância branca normal (em lilás) e ao tumor (em verde)

Os dados da Figura 3 apresentam imagens dos dados brutos com alterações da intensidade de sinal do tecido, antes, durante e após a passagem do agente de contraste intravascular. Como as pequenas, mas importantes, variações no VSC não estão sempre evidentes, quando baseadas nestas imagens, podemos como alternativa utilizar um mapa

colorido de VSCr (Figura 3D), no qual valores anormais de VSCr são mais facilmente reconhecidos. O mapa de VSCr reflete a vascularização da lesão, e a imagem axial ponderada em T1 pós-contraste (Figura 3E) mostra a quebra da barreira hematoencefálica como, neste caso, de um tumor ricamente vascularizado.

Figura 3 - (A-C) Axial ecoplanar gradiente-eco em uma mulher de 53 anos (paciente n° 23) portadora de GBM frontal. (A) Imagem obtida sem administração de agente de contraste, (B) Imagem obtida no pico da chegada do agente de contraste, demonstrando significativa queda do sinal no tumor (seta), (C) Imagem obtida 50 segundos, após a injeção demonstrando retorno da intensidade do sinal, exceto em áreas de quebra de barreira hematoencefálica (setas) onde ocorreu extravasamento, (D) Mapa colorido de VSCr mostrando intensa vascularização no tumor (em vermelho), (E) Imagem axial ponderada em T1 pós-contraste, demonstrando acentuado realce do tumor decorrente da quebra de barreira hematoencefálica (seta).

Visto que a área abaixo da curva da intensidade de sinal pelo tempo é proporcional ao VSC, podemos ajustar a linha de base da curva para aumentar a sensibilidade na obtenção dos valores de VSC. Como demonstrado nos dados da Figura 4, quando utilizamos a linha reta, a área sob a curva é maior se comparada à área obtida com a utilização da linha interpolada, fornecendo maior valor de VSC.

Figura 4 - Paciente do sexo feminino, 64 anos, portadora de GBM (paciente n° 7). **(A)** Mapa colorido de VSCr, mostrando o posicionamento da RI na porção sólida do tumor com hiperperfusão (em vermelho) e **(B)** Curva da intensidade de sinal pelo tempo, correspondente ao mapa colorido de VSCr em A, com o ajuste reto da linha de base (tracejado em vermelho); **(C)** Mapa colorido de VSCr mostrando o posicionamento da RI na porção sólida do tumor com menor perfusão (em vermelho) em relação ao evidenciado no mapa de VSCr em A e **(D)** Curva da intensidade de sinal pelo tempo, correspondente ao mapa colorido de VSCr em C, com o ajuste interpolado da linha de base (tracejado em vermelho), mostrando menor área sob a curva.

Embora os mapas de VSCr sejam bons indicadores de regiões hipervasculares nos tumores cerebrais, a análise somente visual destes mapas é prejudicada pela baixa relação sinal/ruído das imagens. Na prática, o mapa de VSCr é utilizado como guia para a obtenção semiquantitativa de vascularização da lesão, caracterizando áreas de hiperperfusão (maior vascularização) ou hipoperfusão (menor vascularização), por meio do cálculo de valores de VSCr com a utilização de múltiplas RIs. Em geral, as medidas do VSC nas lesões são calculadas em relação ao VSC da substância branca contralateral normal. Mas, se a lesão for predominantemente cortical, a RI de referência será posicionada no córtex contralateral em lugar de ser colocada na substância branca. De forma semelhante, em lesões na substância cinzenta profunda em núcleos da base ou tálamo, uma localização contralateral semelhante, não afetada, deverá preferencialmente ser selecionada como ponto de referência (Cha et al., 2002).

Como já mencionado, a passagem do gadolínio pela microvasculatura resulta em alterações em T2 e T2*, portanto, tanto sequências gradiente-eco (GRE) com contraste T2* como spin-eco (SE) com contraste T2, têm capacidade confiável e reprodutível de obter medidas do VSC. Pela complexidade da angiogênese, a acurácia das duas abordagens tem sido discutida, uma vez que algumas considerações técnicas as diferenciam. Sequências GRE são muito mais sensíveis na detecção de alterações paramagnéticas na susceptibilidade magnética local entre os vasos e o tecido ao redor, resultando na redução de T2* dos spins do compartimento

intra e extravascular. Com uma dose padrão do agente de contraste (0,1 mmol/kg), há uma perda de sinal transitória de 25% na substância branca normal. Imagens SE são menos sensíveis e requerem pelo menos o dobro da dose de contraste para produzir alteração substancial de sinal durante a passagem do bolo. As vantagens de utilização das sequências SE incluem menor presença de artefatos, particularmente, próximos à base do crânio ou às interfaces ar/osso, e maior especificidade ao efeito da passagem do contraste nos capilares tumorais. Vem sendo demonstrado que sequências SE são principalmente sensíveis a pequenos vasos (<20 μ m), fornecendo melhor imagem dos capilares tumorais (Gillard, 2005).

Por outro lado, sequências GRE são sensíveis tanto a capilares tumorais como também a vasos de maior calibre, utilizando menor volume de contraste. Mas, a sequência GRE é extremamente sensível a efeitos de suscetibilidade de todo leito vascular cerebral, cujas veias e artérias da superfície cortical e dos ventrículos podem ser interpretadas erroneamente como vascularização tumoral. Estas áreas devem ser excluídas por ocasião da escolha do posicionamento da RI. Além disso, componentes que causam perturbação no campo magnético, tornando-o pouco homogêneo, como a presença de produtos da degradação da hemoglobina, cálcio, ferro e melanina, também podem dificultar a obtenção do VSCr correto, mas o inconveniente desses possíveis artefatos pode ser minimizado com a redução da espessura do corte, sendo a sequência GRE de grande utilidade no estudo pré-operatório da graduação tumoral (Knopp al., 1999; Holodny, 2008).

3.2.2 APLICAÇÃO DA PERFUSÃO NOS TUMORES CEREBRAIS

O padrão de realce ao agente de contraste na RM convencional, após administração endovenosa do gadolínio, está relacionado às características estruturais da microvasculatura que afeta o comportamento do meio de contraste durante sua passagem pela rede vascular. A quantidade de contraste que passa pelo sistema vascular depende do fluxo sanguíneo e da dose de contraste injetado. Durante sua passagem pela rede vascular, ocorre extravasamento do meio de contraste para o espaço extravascular/extracelular, refletindo a diferença na sua concentração em relação ao plasma sanguíneo. A quantidade de contraste que extravasa, será determinada pela área de superfície da membrana endotelial e por sua permeabilidade, baseando-se na integridade da BHE (Gillard, 2005).

A BHE é composta por uma membrana basal contínua e homogênea, além de numerosos processos astrocíticos e junções estreitas, sendo importante mecanismo de defesa responsável pela regulação do movimento das moléculas. O endotélio capilar cerebral, sítio da BHE, é frequentemente destruído pelas células neoplásicas, com aumento da permeabilidade da BHE, associada ou não a vasos imaturos, ocorrendo extravasamento do meio de contraste e, portanto, realce. Mas, a destruição do endotélio capilar não é a única responsável pela alteração da permeabilidade da BHE. Alguns fatores próprios do crescimento tumoral, como o VEGF (*vascular endothelial growth factor*), são também potentes fatores de aumento da permeabilidade vascular, favorecendo o extravasamento de contraste através da BHE. Isto

ocorre porque os neovasos tumorais são caracteristicamente anormais, em razão da imaturidade vascular e da presença de grandes “gaps” endoteliais (Provenzale et al., 2006).

Portanto, no estudo de RM convencional, não obtemos informações específicas sobre a angiogênese tumoral, e sim sobre o comportamento e a integridade, ou não da BHE. Por este motivo, o estudo da perfusão cerebral por RM apresenta grande potencial em fornecer informações mais específicas sobre a morfologia e fisiologia vascular (Schmainda et al., 2004).

Uma das maiores aplicações da perfusão cerebral por RM tem sido o acesso aos parâmetros hemodinâmicos dos tumores, fornecendo estimativa robusta sobre o VSCr que reflete a densidade microvascular e o grau de angiogênese correlacionados à atividade mitótica e ao grau de proliferação vascular, caracterizados por áreas de hiperperfusão, auxiliando também na diferenciação com lesões não neoplásicas (Knopp et al., 1999; Cha et al., 2002; Wetzel et al., 2002; Covarrubias et al., 2004; Law et al., 2004; Schmainda et al., 2004; Al-Okaili et al., 2006; Al-Okaili et al., 2007; Hourani et al., 2008).

3.2.3 APLICAÇÃO DA PERFUSÃO NA GRADUAÇÃO DOS TUMORES GLIAIS

Os tumores gliais mais agressivos são caracterizados pela formação de neovascularização, um processo conhecido como angiogênese, que está

relacionado à viabilidade tumoral, assim como à graduação tumoral. Uma abordagem não invasiva do processo fisiopatológico da angiogênese, por meio do estudo da perfusão cerebral por RM, fornece parâmetros que auxiliam na caracterização das lesões, possibilitando otimização do tratamento, influenciando na abordagem terapêutica e no prognóstico do paciente.

Embora o valor de VSCr não seja uma medida absoluta do volume sanguíneo regional, reflete o grau de vascularização e pode ser considerado um bom indicador da agressividade biológica tumoral e, portanto, de grande auxílio na graduação dos astrocitomas, cujo maior valor de VSCr estaria correlacionado com tumores de AG (Knopp et al., 1999).

De fato, embora haja uma grande sobreposição de valores do VSCr de neoplasias gliais de diferentes graus, vários artigos demonstram boa correlação entre o estudo de perfusão e os achados de histologia, com diferenças estatisticamente significativas; nos quais tumores gliais de maior grau apresentam maior VSCr e aqueles com VSCr menor apresentam-se como gliomas de BG (Aronen et al., 1994; Knopp et al., 1999; Petrella e Provenzale, 2000; Law et al., 2003; Law et al., 2006).

Schmainda e cols. classificaram corretamente 96% dos gliomas de AG, mas só 69% dos tumores de BG por meio do estudo da perfusão cerebral (Schmainda et al., 2004). Da mesma forma, Law e cols. encontraram sensibilidade de 95%, porém especificidade de só 57,7% na identificação de gliomas de AG por meio do estudo da perfusão cerebral em 160 pacientes (Law et al., 2006). Em outro trabalho, observou-se, que

conforme aumenta o grau dos astrocitomas maior tende a ser o valor do VSCr máximo, sendo, entretanto, observado que a graduação tumoral dos astrocitomas deve ser limitada ao tipo histológico fibrilar, uma vez que outros gliomas, sobretudo oligodendrogliomas, podem apresentar alto valor de VSCr a despeito de sua baixa graduação (Kim et al., 2006).

No valor de corte para o VSCr, grande variação tem sido encontrada entre os diversos trabalhos publicados que demonstram boa correlação entre o estudo da perfusão e a graduação tumoral. As variações nos valores de corte observadas entre estes estudos podem ser decorrentes de diversos fatores determinantes, como diferenças do tamanho populacional, variação da sensibilidade e especificidade utilizadas, porcentagem de gliomas grau III e IV na subpopulação de tumores de AG ou da localização dos volumes de interesse (VIs) utilizados para análise do VSCr de cada lesão e da heterogeneidade dentro de tumores do mesmo grupo. Outra possível explicação seria o emprego em alguns estudos de sequências EPI, baseadas na aquisição SE; enquanto outros se basearam em GRE. Como já observado em alguns artigos da literatura, o valor de VSCr obtido com técnica EPI GRE é significativamente maior do que com sequências SE, este último apresentando menor acurácia ao classificar a graduação tumoral (Sugahara et al., 1998; Donahue et al., 2000).

3.3 DIFUSÃO

3.3.1 TÉCNICA

A difusão representa a movimentação molecular aleatória da água (movimento Browniano) que depende de sua energia térmica e cinética. Cada molécula dentro de uma amostra comporta-se de forma independente em relação às outras. A colisão entre elas provoca um deslocamento individual randomizado, sem uma direção preferencial, que é impossível de ser definido com exatidão para um único spin. Mas, podemos calcular uma medida estatística da distância média de difusão e prever a distribuição final de um grupo de moléculas, após um determinado intervalo de tempo, uma vez que a variação do deslocamento de um grupo de moléculas segue o padrão de uma distribuição normal. O deslocamento em média para um determinado conjunto de moléculas de água é proporcional ao coeficiente de difusão da molécula (D), refletindo sua mobilidade dentro de seu microambiente, ao intervalo de tempo que deixamos a molécula difundir, que depende dos parâmetros da sequência utilizada para a medição.

A medida da difusão pela RM fornece informações únicas sobre a estrutura tecidual, caracterizada pelo tamanho, orientação e tortuosidade dos espaços intra e extracelulares. Além disso, a difusão da água é afetada pela microdinâmica do transporte celular entre subcompartimentos da estrutura tecidual, que é heterogênea, assim como pela presença de

membranas impermeáveis. Agregando-se dois pulsos de gradientes à sequência de pulso SE-EPI, é possível medir o sinal sensível ao movimento das moléculas de água durante o intervalo de tempo transcorrido entre estes dois gradientes, e assim, medir o coeficiente D da água. Durante a aplicação do primeiro gradiente de difusão, os spins saem de fase, após este pulso, aplica-se o mesmo pulso de gradiente com sinal invertido, de forma que a defasagem criada pelo primeiro é compensada pelo segundo pulso e todos os spins entram em fase durante a formação do eco. Há um intervalo de tempo entre a aplicação dos gradientes. Se neste intervalo os spins mudarem de localização, o segundo gradiente não terá o mesmo efeito compensatório sobre esses spins, que não contribuirão para o sinal do eco medido. A atenuação resultante no sinal da imagem de difusão depende de dois fatores. Primeiramente, das características estruturais da amostra, ou seja, de suas propriedades intrínsecas de difusão que determinam a movimentação dos spins, e segundo, dos parâmetros relacionados ao campo magnético aplicado, representado pelo fator b da sequência (Tien et al., 1994; Tofts, 2003; Leite, 2008).

A combinação da sequência de difusão com a técnica EPI reduz de forma significativa o tempo de aquisição da imagem, minimizando os artefatos de movimento do paciente para melhor detecção das alterações do sinal, decorrentes da movimentação molecular, em detrimento da resolução espacial.

Uma vez que é necessário alto valor de tempo de eco (TE) para adquirir adequada sensibilidade à movimentação da água, a imagem de

difusão caracteriza-se por ser fortemente ponderada em T2. A contribuição relativa de T2 versus propriedades de difusão na imagem final é determinada por um fator de ponderação em difusão da sequência, conhecido como fator b , caracterizado pela amplitude e duração dos gradientes pulsados e pelo intervalo entre os gradientes de difusão. Baixo valor de b resulta em mínima perda do sinal em razão da difusão, determinando baixa ponderação em difusão. Para um fator baixo de b , a imagem assemelha-se a uma típica imagem ponderada em T2, ou seja, com predomínio do contraste T2. De outra forma, com altos valores de b , há uma competição entre o contraste em razão da difusão e o relacionado à ponderação T2, porém, o contraste é amplamente produzido pelas propriedades de difusão, com maior atenuação do sinal para os spins de maior difusão. Tipicamente o fator b utilizado no estudo do cérebro na prática clínica é de 1.000 s/mm^2 (Beauchamp et al., 1998; Leite, 2008). (Figura 5 A e B).

Figura 5 - Imagem ponderada de difusão. (A) valor de $b=1.000 \text{ s/mm}^2$, (B) valor de $b=0$, (C) mapa de coeficiente de difusão aparente

Na prática para se obter a imagem ponderada em difusão, utilizamos a aquisição de três imagens, variando a direção do gradiente nos três eixos ortogonais x, y e z, uma vez que a detecção da difusão das moléculas de água depende da direção em que os gradientes são aplicados. Destas três imagens, é calculada uma média que é conhecida como imagem de difusão isotrópica, na qual o hipossinal indica aumento da difusão e hipersinal representa restrição à difusão (Figura 5A) (Leite, 2008).

Como já mencionado, na imagem de difusão, a intensidade de sinal é influenciada, tanto pela difusão da água como também pelo tempo de relaxação T2 do tecido, que é conhecido como efeito de brilho de T2 (*T2 shine through*). Para remover o contraste T2, podemos construir o mapa de CDA (Figura 5C) (Leite, 2008).

Uma vez que os valores de CDA da substância branca e do córtex são semelhantes, tipicamente não há contraste entre a substância branca e cinzenta no mapa de CDA. O contraste observado entre o córtex e a substância branca na imagem de difusão é decorrente do contraste T2. Devido a este componente T2 residual na imagem de difusão, na prática clínica, é fundamental a análise desta imagem em conjunto com o mapa de CDA. Portanto, o mapa de CDA é utilizado para excluir o “efeito de brilho de T2”, como causa de aumento de sinal nas imagens ponderadas em difusão, sendo útil na identificação de áreas de difusão aumentada ou reduzida que podem ser mascaradas pela presença do efeito T2 na imagem de difusão (Schaefer et al., 2000).

Esta abordagem auxilia a quantificação e reprodutibilidade das alterações de difusão da água, não só das lesões caracterizadas na RM convencional, mas também em áreas de sinal normal (Mascalchi et al., 2005; Murakami et al., 2007).

3.3.2 APLICAÇÃO DA DIFUSÃO NO ESTUDO DOS TUMORES CEREBRAIS

Na prática clínica, o estudo de difusão é utilizado, sobretudo na detecção de isquemia cerebral aguda, mas também pode ser empregado para avaliar as lesões cerebrais de outra natureza, como infecções e tumores.

Alguns artigos sugerem que valores obtidos com os mapas de CDA podem apresentar papel relevante na avaliação de tumores, auxiliando na identificação de área tumoral com maior celularidade (Guo et al., 2002; Higano et al., 2006).

A maior parte da movimentação da água verifica-se no espaço extracelular, uma vez que as células constituem uma barreira relativa à difusibilidade da água a presença de edema e /ou aumento da celularidade pode afetar os valores de CDA. Portanto, valores mais baixos de CDA indicariam a região de maior quantidade de células tumorais por unidade de volume, refletindo na redução do espaço extracelular em razão da invasão por células tumorais, tortuosidade do espaço intersticial, com aumento da viscosidade intracelular, resultando na limitação da movimentação da água.

Por outro lado, maiores valores de CDA estariam relacionados à maior difusibilidade da água, observada na presença de edema vasogênico, lesões muito hidratadas e em regiões de necrose (Castillo et al., 2001).

3.3.3 APLICAÇÃO DA DIFUSÃO NA GRADUAÇÃO DOS TUMORES GLIAIS

Embora algumas publicações tenham demonstrado correlação entre o CDA mínimo e a graduação dos gliomas (Nelson et al., 2002; Catalaa et al., 2006; Arvinda et al., 2009), o papel da difusão na avaliação pré-operatória das neoplasias gliais permanece clinicamente insignificante, pela grande sobreposição de valores de CDA entre os diferentes graus tumorais.

O papel limitado da difusão na graduação tumoral deve-se em menor parte à limitação do CDA como marcador quantitativo de celularidade, estando mais comumente relacionado com a marcada composição histológica heterogênea dos gliomas entre os diferentes graus, dentro de um mesmo grau e, até mesmo, dentro de um determinado tumor.

Os gliomas individualmente, sobretudo os de AG, contêm grande variedade de características histológicas nas diversas regiões do tumor, portanto, há grande variação de valores de CDA dentro de um determinado glioma, e a medida obtida de uma RI escolhida pode subestimar o grau de celularidade tumoral dentro de um espectro muito amplo (Kim et al., 2006).

Alguns autores observaram menor difusibilidade da água em gliomas de AG do que nos de menor grau (Sugahara et al., 1999; Yang et al., 2002; Bulakbasi et al., 2003). Entretanto, a considerável sobreposição entre CDA em tumores de BG e AG também tem sido descrita (Kono et al., 2001) permanecendo a dúvida se a graduação dos tumores gliais pelo estudo da difusão tem especificidade suficiente para ser útil em um contexto clínico. Por exemplo, Lam e cols. não encontraram diferença significativa nos valores de CDA entre tumores de BG e AG, concluindo que o estudo de difusão não apresentava utilidade na graduação pré-operatória dos tumores gliais (Lam et al., 2002).

Alguns aspectos conflitantes nos diferentes estudos podem ser decorrentes da inclusão ou não de áreas de necrose, que deveriam ser excluídas da análise do CDA nos tumores. Tais regiões de necrose são mais comumente observadas em tumores de AG, contribuindo para o aumento do CDA, embora pareça ser relativamente simples diferenciar áreas de necrose das porções sólidas do tumor, por meio da comparação do mapa de CDA com imagens ponderadas T2. Na prática, este procedimento é difícil de ser registrado de forma acurada em razão da distorção nas imagens EPI inerente à sequência de difusão (Provenzale et al., 2006). Além disso, a presença de micronecrose intratumoral, histologicamente comprovada, é impossível de ser identificada pelos métodos de imagem e, também pode estar relacionada à facilitação da difusão da água, mesmo na porção sólida do tumor.

3.4 ESPECTROSCOPIA DE PRÓTONS

3.4.1 TÉCNICA

Os fundamentos básicos da física da ERM são os mesmos da RM convencional, porém, enquanto a RM é utilizada para gerar imagens, a ERM caracteriza-se pela criação de gráficos com vários picos, cada qual representando um determinado metabólito em uma região de interesse específica, com diferentes frequências de precessão. A frequência de precessão é influenciada por diversos fatores, entre eles, pelo ambiente químico de cada molécula que representa o campo magnético adicional gerado pelos elétrons ao redor do núcleo de hidrogênio. Na presença de um campo magnético externo, os elétrons interagem com o campo e a carga negativa dos spins gera um campo magnético local que se opõe a este campo externo, blindando o núcleo, no qual a dimensão desta blindagem depende da densidade eletrônica local (Salibi, 1998).

Enquanto estas diferenças de frequência podem ser traçadas em unidades Hertz, uma escala mais conveniente é obtida em partes por milhão (ppm), que define a frequência de ressonância do spin de interesse em relação a uma frequência de referência. Estas diferenças relativas das frequências são conhecidas como desvios químicos e, usualmente, são expressas em unidades de ppm distantes de uma frequência de referência.

Cada metabólito tem um valor de ppm característico independente do tipo de aparelho e do campo magnético aplicado. O espectro, portanto, resume-se a um gráfico que nos fornece a medida da intensidade de sinal em função do desvio químico; no eixo X, temos as frequências de precessão em ppm de cada metabólito, e no eixo Y, a amplitude do pico é relacionada à sua concentração na amostra. Além de identificar a posição do pico, que define o metabólito presente no tecido estudado, por meio do espectro podemos também quantificar a área do pico que é proporcional ao número de spins responsáveis pela produção do sinal (Salibi, 1998; Leite, 2008).

Na ERM a maioria dos sinais dos metabólitos de interesse situa-se entre as frequências de ressonância da água e da gordura. A frequência de ressonância da água (4,7 ppm) localiza-se no limite final dos valores de maior frequência, situada à esquerda do gráfico, enquanto a frequência da gordura (0,9-1,3 ppm) ocorre no limite dos valores de menor frequência, ou seja, à direita no gráfico. Na prática, os desvios químicos dentro dos limites detectáveis situam-se entre 0 e 4 ppm, e nem sempre o valor de ppm é específico para um metabólito único, podendo ocorrer sobreposição dos metabólitos no espectro. É importante que as sequências de pulso utilizadas na ERM possibilitem, dentro de um volume de amostra específico, boa supressão do sinal da água, para permitir a quantificação do restante dos metabólitos presentes no cérebro que apresentam concentrações muito menores (Salibi, 1998).

Um fator determinante na obtenção do espectro é o tempo de eco (TE). Com TE curto, é possível detectar um número maior de metabólitos, no

entanto, sua quantificação pode ser mais difícil em razão da sobreposição dos sinais e da presença de uma linha de base irregular composta por macromoléculas que têm um tempo de relaxação T2 muito curto, resultando em picos muito alargados que se sobrepõem ao resto dos metabólitos. Com o TE longo, o sinal dos metabólitos com T2 curto perde-se e a linha de base fica mais regular, facilitando a quantificação dos metabólitos restantes (Leite, 2008).

Os metabólitos utilizados na prática clínica para avaliação encefálica são: N-acetilaspártato (Naa) com valor de ppm igual a 2,01, considerado um marcador de viabilidade e densidade neuronal. Creatina (Cr) com valor de ppm igual a 3,03, envolvido na produção de ATP, considerado marcador de reserva energética. Colina (Co) com valor de ppm igual a 3,23, considerado marcador de quebra de barreira e de proliferação celular. Mioinositol (mi) com valor de ppm igual a 3,56, considerado marcador de gliose e osmoralidade celular. Lipídios (Lip) com valor de ppm entre 0,9-1,3, detectados quando ocorre destruição da membrana celular com liberação de triglicerídeos e ácidos graxos, sendo um marcador de necrose. Lactato (Lac) com valor de ppm de 1,33, com aspecto de pico duplo, considerado marcador de anaerobiose (Leite, 2008).

Na ERM, o volume selecionado para o estudo pode ser um volume único (*single voxel*), cujo espectro é adquirido a partir de um pequeno volume tecidual definido pela intersecção de três planos ortogonais, normalmente com tamanho de 1 a 8 cm³; ou o método utilizado pode ser de múltiplos volumes (*multivoxel*), cujos dados coletados para a espectroscopia

originam-se de volumes adjacentes, cobrindo uma região maior em uma única medida.

A principal vantagem da ERM *multivoxel* é ser um meio eficiente para comparação dos espectros de vóxeis, contendo diferentes tipos de tecido. Por exemplo, em caso de lesões focais, como nos tumores, o espectro da lesão pode ser comparado com o tecido cerebral normal. Além disso, a distribuição heterogênea dos metabólitos dentro da lesão também pode ser estudada. A técnica *multivoxel* também oferece uma vantagem única de permitir o ajuste do posicionamento do voxel, após o término da aquisição, por meio do deslocamento da grade obtida para um local de maior interesse (*voxel shifting*) (Salibi, 1998).

A concentração da Cr é considerada como relativamente constante na maioria das patologias, com exceção das lesões tumorais e em patologias que cursam com deficiência de Cr. Na prática clínica, este metabólito é utilizado para comparação com o sinal dos demais metabólitos, sendo obtida a quantificação do sinal em uma RI na lesão e em outra RI contralateral, em uma área de aparência normal (Leite, 2008).

Alguns estudos (Murphy et al., 1999) demonstraram alteração dos valores de T1 e T2 dos metabólitos na presença do gadolínio. A princípio as maiores alterações identificadas foram no pico de Co (diminuição de até 15%) quando o espectro foi adquirido com TE longo (Sijens et al., 1998), enquanto, na ERM com TE curto as diferenças entre os espectros pré e pós-contraste não foram significativas (Lin e Ross, 2001). Com base nestas considerações, sempre que possível a ERM adquirida com TE longo deve

ser realizada antes da injeção do meio de contraste paramagnético endovenoso.

3.4.2 APLICAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA NOS TUMORES CEREBRAIS

Embora não exista um metabólito tumoral que possa ser detectado, é possível determinar certo padrão específico na alteração das concentrações dos metabólitos em comparação com o tecido cerebral normal. Por meio da comparação da concentração relativa desses metabólitos, pode-se inferir o padrão de viabilidade neuronal e do metabolismo celular dentro de um volume de interesse (VI).

Diversos estudos clínicos de ERM dos tumores cerebrais demonstraram aumento dos níveis de componentes contendo Co e redução da intensidade de sinal do Naa (Alger et al., 1990; Ott et al., 1993; Majos et al., 2002).

Embora muitos relatos indiquem que a maioria dos tumores cerebrais demonstra elevação na razão Co/Cr, neoplasias que não apresentam elevação destes níveis têm sido reportadas (Londono et al., 2003; Saraf-Lavi et al., 2003).

Alguns estudos demonstram baixos níveis de Cr em tumores cerebrais (Isobe et al., 2002; Tong et al., 2004), porém, Alger e cols. relatam evidências de que na verdade a quantidade de Cr é variável nas diferentes

regiões do tumor, podendo-se observar Cr elevada em áreas de baixo metabolismo e redução de seus níveis em áreas com metabolismo elevado dentro do mesmo tumor (Alger et al., 1990).

Estudos bioquímicos dos tumores têm revelado alterações no metabolismo da glicose, levando à suposição de que estes deveriam apresentar níveis elevados de Lac (Alger et al., 1990; Ricci et al., 2000), visto que este metabólito é o produto final da glicólise não oxidativa, sua presença está relacionada a baixos níveis de oxigenação no tecido tumoral. Muitos estudos reportaram sinal anormalmente elevado do Lac em vários tipos histológicos de tumores cerebrais (Arnold et al., 1990; Segebarth et al., 1990; Demaerel et al., 1991; Herholz et al., 1992), evidenciando-se, porém, uma variabilidade considerável entre os tipos de tumores e dentro do próprio tumor, refletindo a vascularização heterogênea intratumoral.

Nos tumores cerebrais, a contribuição dos picos de Lip pode variar de discreta elevação a um pico largo, dominando quase todo espectro (Kuesel et al., 1994; Hwang et al., 1998; Kaminogo et al., 2001). A quantidade de Lip varia dependendo do tipo de tumor e do grau de malignidade (Tien et al., 1994) e está relacionada à presença de necrose, inferindo destruição da membrana e morte celular (Kuesel et al., 1994; Kuesel et al., 1996; Li et al., 2005).

3.4.3 APLICAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA NA GRADUAÇÃO DOS TUMORES GLIAIS

O estudo de ERM também pode ser utilizado na graduação dos tumores de origem glial, revelando diferenças significativas entre gliomas de BG e AG, utilizando diversos metabólitos, quando comparados com o estudo isolado por RM convencional, evidenciando-se significativa correlação com achados de histopatologia.

Em artigo previamente publicado, foi descrita sensibilidade das razões Co/Cr e Co/Naa de 97,5% e 96,5%, respectivamente, confirmando a utilidade dessas razões metabólicas na determinação da graduação tumoral. Entretanto, baixa especificidade foi observada (12,5% para Co/Cr e 10% para Co/Naa) em razão da presença de altos valores de Co detectados em tumores de BG. Neste estudo postulou-se que a alta sensibilidade na identificação de gliomas de AG seria mais importante do que a alta especificidade, em razão da menor quantidade de casos de gliomas de BG, com consequências mais sérias de achados falso-negativos. Apesar da baixa especificidade, foi observada diferença significativa nas razões Co/Cr, Co/Naa e Naa/Cr na diferenciação entre tumores gliais de BG e AG (Law et al., 2003).

Hsu e cols. evidenciaram valores significativamente menores da razão Naa/Cr e maiores de Co/Naa em gliomas graus III e IV, quando comparados a gliomas grau II, e uma correlação significativa foi encontrada entre a relação (Co+Cr)/Naa e a graduação tumoral (Hsu et al., 2004).

O papel dos níveis de Cr não está bem claro na diferenciação entre tumores gliais de BG e AG. Vários estudos demonstram mesmos níveis de Cr em gliomas graus I e II, entretanto foram encontrados valores maiores de Cr em astrocitomas grau III, quando comparados aos oligodendrogliomas e oligoastrocitomas grau III (Stadlbauer et al., 2006). Em outros dois trabalhos, a utilização como referência de Cr no tecido normal forneceu avaliação objetiva da graduação tumoral, com menores valores de Cr em tumores de AG, sobretudo nos casos de GBM (Negendank et al., 1996; Yerli et al., 2007).

A presença de necrose na graduação tumoral tem papel importante na graduação dos gliomas, porque se apresenta como fator de diferenciação entre astrocitomas de BG e AG, sobretudo para o GBM. Law e cols. demonstraram a presença de lipídios e lactato em 5% dos tumores de BG e em 16,6% dos de AG, indicando que estes dois metabólitos estão correlacionados com necrose e podem ser úteis na diferenciação do grau de gliomas, como já demonstrado em outros trabalhos (Alger et al., 1990; Meyerand et al., 1999; Li et al., 2002).

Achado semelhante foi descrito na correlação da espectroscopia com estudo anatomopatológico em gliomas, onde a localização e intensidade dos picos de Lip e Lac foram consistentes com regiões representativas de necrose nas lesões gliais grau IV. Neste estudo, o fato de que também foram identificados picos menores de Lac e Lip em tumores graus II e III, sugere que sua presença seria indicativa de regiões que poderão evoluir para AG, devendo ser o alvo para eventual biópsia (Nelson et al., 2002).

Yamasaki e cols. encontraram valores significativos dos níveis de Lac e Lip para discriminação entre gliomas graus II e III, e graus III e IV; e entre estes dois metabólitos, o Lip foi fator mais significativo para esta diferenciação (Yamasaki et al., 2005). Em outro trabalho, também foram descritos valores mais altos de Lac em gliomas graus III e IV, sendo também demonstrado que os níveis de Lip foram significativamente maiores nos GBMs (Chang et al., 2009).

Embora muitos grupos (Go et al., 1995; Tien et al., 1996; Kim et al., 2006; Toyooka et al., 2008) tenham descrito que o pico de Lac está presente muito mais frequentemente em gliomas de AG, outros trabalhos indicam que a correlação desse metabólito com o grau de malignidade tumoral permanece incerta (Kaminogo et al., 2001; Li et al., 2005).

3.5 COMBINAÇÃO E CORRELAÇÃO DA PERFUSÃO, DIFUSÃO E ESPECTROSCOPIA DE PRÓTONS NA GRADUAÇÃO DOS TUMORES GLIAIS

Muitos estudos, como os acima citados, têm demonstrado o valor individual dos parâmetros fisiológicos na caracterização do grau de malignidade dos tumores gliais, mas poucos artigos foram publicados abordando a combinação da perfusão, difusão e ERM, e sua relevância em aumentar a sensibilidade e especificidade, quando analisados em conjunto,

para graduação dos gliomas, em especial, para os de origem somente astrocítica.

Catalaa e cols. demonstraram que, em gliomas grau IV, tanto nas regiões que realçam após o uso do gadolínio endovenoso, como nas áreas onde nenhum realce foi observado, houve correlação significativa entre VSCr, valores de CDA e níveis de Co. A análise das correlações entre estes parâmetros sugere que alta vascularização (alto VSCr) está correlacionada com regiões de alta celularidade (baixos valores de CDA) e de maior proliferação celular (altos níveis de Co) (Catalaa et al., 2006).

Outro grupo também obteve resultados semelhantes, em que significativa correlação entre alto VSCr, baixo CDA e níveis aumentados de Co foi observada nos GBMs. Neste trabalho, não foi possível estabelecer qualquer correlação entre esses parâmetros nos tumores graus II e/ou III (Nelson et al., 2002).

Em estudo comparando o VSCr e os valores de Co, observou-se correlação estatisticamente significativa entre os dois parâmetros; os índices obtidos para a graduação dos tumores foram superiores quando baseados nos valores da Co em relação às informações obtidas com o VSCr (Toyooka et al., 2008).

Law e cols. demonstraram que a combinação de VCSr com as razões metabólicas Co/Cr, Co/Naa e Naa/Cr, resultou em sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo de 93,3%,

60%, 87,5% e 75%, respectivamente, na graduação dos tumores gliais (Law et al., 2003).

No estudo de tumores gliais utilizando espectroscopia e difusão, Gupta e cols. encontraram significância estatística na correlação inversamente proporcional entre valores de CDA e sinal da Co somente quando casos de GBM foram considerados (Gupta et al. 1999).

4 Casuística e Métodos

4.1 CASUÍSTICA

Estudo prospectivo incluindo 56 pacientes consecutivos, com idades variando entre 9 e 83 anos (média 52 anos), sendo 35 homens e 21 mulheres, com tumores encefálicos de linhagem glial, encaminhados do ambulatório e enfermaria de Neurocirurgia do Instituto Central do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, com posterior confirmação histológica pós-cirúrgica, de acordo com a classificação WHO (Louis et al., 2007), sendo 37 GBMs, 2 astrocitomas anaplásicos, 1 oligoastrocitoma anaplásico, 3 oligoastrocitomas grau II, 9 astrocitomas grau II e 4 astrocitomas pilocíticos.

Critérios de inclusão: pacientes portadores de lesões expansivas intracranianas com confirmação histológica de origem glial, de origem astrocítica e oligoastrocítica que não foram submetidos a nenhum procedimento cirúrgico ou tratamento prévio, como radio e/ou quimioterapia.

Critérios de exclusão: pacientes portadores de marcapasso e pacientes cujos espectros obtidos apresentaram má qualidade técnica, prejudicando sua avaliação (n=2).

Destes pacientes, 16 participaram de um protocolo antigo que não incluía exame de difusão e perfusão.

Para o estudo da correlação entre perfusão, difusão e ERM, somente pacientes submetidos às três técnicas foram incluídos (n=40).

Informações sobre idade, sexo, tipo de tumor, localização do tumor e métodos realizados, individualizados por paciente, estão resumidos nos dados das Tabelas 1 e 2.

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para análise de projetos de pesquisa (CAPPesq), e o consentimento informado para participação foi obtido em todos os casos (Anexos A e B).

Tabela 1 - Dados da casuística dos pacientes do grupo AG referente à idade, sexo, tipo histológico do tumor, localização do tumor e se foram submetidos ao estudo de difusão, perfusão e espectroscopia (+)

Paciente	Idade	Sexo	Tumor	Localização	Difusão	Perfusão	Espectroscopia
1	70	M	GBM	Temporal E	+	+	+
2	63	M	GBM	Corpo caloso	+	+	+
3	43	F	GBM	Frontal D	+	+	+
4	64	F	GBM	N. da base D	+	+	+
5	48	F	GBM	Temporal D	+	+	+
6	72	F	GBM	Frontal D	+	+	+
7	64	F	GBM	Parieto-occipitalE	+	+	+
8	67	M	GBM	Temporal D	+	+	
9	69	M	GBM	Temporal D	+	+	+
10	58	M	GBM	N da base D	+	+	+
11	35	M	GBM	Temporal D	+	+	+
12	50	M	GBM	Temporal D	+	+	+
13	56	M	GBM	Temporal D	+	+	+
14	60	F	GBM	Frontal D	+	+	+
15	72	M	GBM	Frontal D	+	+	+
16	68	F	GBM	N. da base	+	+	+
17	61	M	GBM	Occipital E	+	+	+
18	48	M	GBM	Frontal D	+	+	+
19	63	M	GBM	Temporal D	+	+	+
20	54	M	GBM	Frontal D	+	+	+
21	49	M	GBM	Parietal D	+	+	+
22	71	F	GBM	Temporal D	+	+	
23	53	F	GBM	Frontal D	+	+	+
24	34	F	GBM	Temporal D	+	+	+
25	50	M	GBM	Frontal D	+	+	+
26	56	M	GBM	N.da base E	+	+	+
27	45	M	GBM	Frontal E	+	+	+
28	83	F	GBM	N.da base D	+	+	+
29	65	M	GBM	Frontal E			+
30	60	F	GBM	Parietal D			+
31	69	M	GBM	Parietal E			+
32	57	M	GBM	N.da base E			+
33	58	M	GBM	Occipital D			+
34	62	F	GBM	N.da base D			+
35	68	F	GBM	Frontal D			+
36	72	M	GBM	Parietal E			+
37	55	M	GBM	Temporal D			+
38	26	F	Oligastrocitoma Anaplásico	Frontal E	+	+	+
39	70	F	Astrocitoma Anaplásico	Frontal E			+
40	26	M	Astrocitoma Anaplásico	Temporal D	+	+	+

Nota: D: direito; E : esquerdo; F: feminino; M: masculino; N: núcleos

Tabela 2 - Dados da casuística dos pacientes do grupo BG referente à idade, sexo, tipo histológico do tumor, localização do tumor e se foram submetidos ao estudo de difusão, perfusão e espectroscopia (+)

<i>Paciente</i>	<i>Idade</i>	<i>Sexo</i>	<i>Tumor</i>	<i>Localização</i>	<i>Difusão</i>	<i>Perfusão</i>	<i>Espectroscopia</i>
41	23	F	Astrocitoma pilocítico	Cerebelar E	+	+	+
42	12	M	Astrocitoma pilocítico	Cerebelar D	+	+	+
43	9	F	Astrocitoma pilocítico	IV ventrículo		+	+
44	14	M	Astrocitoma pilocítico	IV ventrículo			+
45	37	M	Astrocitoma grau II	Frontal E	+		+
46	13	M	Astrocitoma grau II	Frontal E	+	+	+
47	79	M	Astrocitoma grau II	Temporal E	+	+	+
48	44	M	Astrocitoma grau II	Parietal D	+	+	+
49	57	M	Astrocitoma grau II	Tálamo E	+	+	+
50	43	M	Astrocitoma grau II	Frontal E			+
51	38	F	Astrocitoma grau II	Temporal D			+
52	45	F	Astrocitoma grau II	Parietal E			+
53	47	M	Astrocitoma grau II	Frontal D			+
54	51	M	Oligoastrocitoma grau II	Temporal E	+	+	+
55	46	M	Oligoastrocitoma grau II	Frontal E	+	+	+
56	42	F	Oligoastrocitoma grau II	Parietal D	+	+	+

Nota: D: direito; E: esquerdo; F: feminino; M: masculino

4.2 MÉTODOS

4.2.1 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA CONVENCIONAL

Os pacientes foram submetidos a exame de RM em aparelho 1,5 Tesla, da marca GE-Horizon LX 9.1 (General Electric Healthcare, Milwaukee, WI, EUA), com gradiente de 33 mT/m de intensidade e bobina de quadratura para estudo do crânio.

O protocolo dos exames de RM do crânio incluiu aquisição de imagens axiais ponderadas em T2 (Tempo de repetição (TR) 5100 ms, Tempo de eco (TE) 102 ms, FOV 24 cm, matriz 256x192, espessura 5 mm), imagens axiais com a técnica de *fluid-attenuated inversion recovery* (FLAIR) (TR 10002 ms, TE 110 ms, Tempo de inversão (TI) 2200 ms, FOV 24 cm, matriz 256x192, espessura 5 mm), e imagens axiais ponderadas em T1 (TR 466 ms, TE 14 ms, FOV 24 cm, matriz 256x192, espessura 5 mm), antes e após a administração endovenosa do contraste paramagnético (Dotarem®-Guerbet).

4.2.2 PERFUSÃO

4.2.2.1 AQUISIÇÃO

A sequência GRE-EPI (TE/TR=34,7/2000ms; *flip* angle=30°), com espessura de 5 mm e espaçamento de 1,5 mm, FOV 28 cm, matriz 128x128, 1 NEX, com 10 cortes englobando o tumor foi utilizada, baseando-se nas imagens do localizador sagital para programação dos cortes axiais, com tempo total da sequência de 1min e 30 seg.

Feita a injeção do contraste paramagnético (Dotarem®-Guerbet) com dose dupla (0,2 mmol/kg) na forma de duas injeções, uma dose pequena (10%), antes da aquisição das imagens, e a dose principal (90%) durante a aquisição das imagens.

4.2.2.2 ANÁLISE

O processamento dos dados foi realizado, utilizando-se a estação de trabalho com programas analíticos do Functool (GE Healthcare, Milwaukee, WI, USA) e, após a construção dos mapas coloridos do VSCr, foram medidos os valores de VSCr, obtidos por meio de medidas no tumor em relação ao lado contralateral simétrico de aparência normal, sendo calculadas as médias dos valores mínimos, médios e máximos de três regiões de interesse (RI), com área de 30 mm², selecionadas em áreas de maior perfusão no mapa colorido, evitando os vasos corticais (Figura 6).

Figura 6 - Paciente do sexo masculino, 61 anos (paciente nº 17), com diagnóstico histológico de GBM. (A,D,G) Imagem GRE-EPI de perfusão, mostrando localização das RI, (B,E,H) no mapa colorido de VScR e (C,F,I) as correspondentes curvas de perfusão para RI no tecido normal (em lilás) e no tumor (em verde).

4.2.3 DIFUSÃO

4.2.3.1 AQUISIÇÃO

Imagens de difusão com cortes axiais cobrindo toda extensão do crânio, foram obtidas antes da administração do contraste paramagnético com a sequência SE-EPI *single shot* (TE/TR=110,8/8000 ms), com espessura de corte de 5 mm e espaçamento de 0 mm, matriz 128x128, FOV 26 x 20 cm, 1 NEX, utilizando $b = 0$ e 1.000 s/mm^2 , com tempo total da sequência de 1:05 min.

4.2.3.2 ANÁLISE

O processamento dos dados foi realizado utilizando-se a estação de trabalho com programas analíticos do Functool (GE Healthcare, Milwaukee, WI, USA). Após a construção dos mapas de CDA, calculados através da imagem pesada em T2 ($b=0 \text{ s/mm}^2$) e da imagem pesada em difusão ($b=1000 \text{ s/mm}^2$), foram determinados os valores de CDA. Esses valores foram quantificados manualmente com a escolha de três RI, com área de 30 mm^2 , posicionados na porção sólida do tumor, excluindo áreas císticas, com necrose ou hemorragia, de forma a obter os valores médios e mínimos de CDA no tumor (Figura 7).

Figura 7 - Paciente do sexo masculino, 63 anos (paciente nº19), portador de GBM. (A,C,E) Imagens ponderadas em difusão, e (B,D,F) mapas de CDA, mostrando, respectivamente, em lilás e verde RI selecionadas para o tumor e área contralateral normal, com restrição da difusão no tumor

4.2.4 ESPECTROSCOPIA DE PRÓTONS

4.2.4.1 AQUISIÇÃO

A ERM foi obtida com sequência *multivoxel* PRESS 2D (TE/TR=135/1500ms) adquirida antes da administração do gadolínio, com espessura de corte de 10 mm, FOV 24 cm, com matriz de 16 x 16, NEX 1, formando vóxeis individuais de 2,25 mm³. A ERM foi localizada em um corte axial de imagem FLAIR, com o volume de interesse (VI) incluindo uma área representativa da porção sólida do tumor, bem como o cérebro de aparência normal contralateral, sempre que possível, com tempo total da aquisição de 6min30s. A demarcação da área a ser englobada para aquisição da espectroscopia foi realizada pelo biomédico sob orientação do médico radiologista.

4.2.4.2 ANÁLISE

Dentro da lesão, foram analisados vários VIs, na porção sólida do tumor, evitando áreas de necrose e foram analisados também sempre que possível, alguns VIs no hemisfério cerebral contralateral de aparência normal, localizados em “espelho” em relação ao tumor, para comparação, como demonstrado nos dados da Figura 8.

Figura 8 - Paciente do sexo masculino, 69 anos (paciente nº31), portadora de GBM. (A): localizador da espectro com grade, mostrando a localização dos VIs individuais sobre a imagem localizadora FLAIR ; (B): exemplos de espectros em algumas regiões do tumor, (C): exemplo de espectro em tecido normal, (D): exemplo de espectro na porção sólida do tumor, mostrando aumento da colina (Co) e presença de lactato (Lac), sem pico significativo de n-acetilaspato (Naa)

Os espectros foram processados e selecionados com o software SAGE (GE Healthcare, Milwaukee, WI, USA). A determinação dos voxels a serem analisados foi realizada por um médico radiologista (R.C.M.P), e a partir destes voxels foi realizada a quantificação dos metabólitos Co, Cr, Naa, Lac e Lip, utilizando o software LCModel (Provencher 1993). Quando o valor de erro fornecido pelo LCModel foi maior que 20%, este valor não foi incluído na estatística; quando a intensidade do metabólito encontrava-se no nível do ruído foi considerado o valor 0 para este metabólito para efeitos da análise estatística. O sinal dos Lip foi quantificado considerando-se apenas o

componente em 1,33 ppm. Também foram calculadas diversas relações metabólicas, e escolhidas as razões que apresentaram maior relevância, que foram Co/Cr, Co(tu)/Co(nl), Naa/Cr, Lac/Cr, Lip/Cr. Em um mesmo paciente, para cada metabólito e razão metabólica foram calculados os valores médio, mínimo e máximo.

5 Análise Estatística

As análises foram feitas, baseando-se na comparação dos dados entre os grupos de patologia BG e AG obtidos, utilizando teste paramétrico teste t e não-paramétrico de Mann-Whitney, para comparar as tendências centrais das medidas dos dois grupos. O teste t foi aplicado para as medidas, cuja suposição de normalidade não foi rejeitada. Caso contrário utilizou-se o teste de Mann-Whitney. Para detectar a relação linear entre as diversas variáveis aos pares, foi utilizada correlação de Pearson em caso de distribuição normal ou correlação de Spearman, quando a amostra não apresentou uma distribuição normal. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo para ambos os testes.

Curvas ROC (*Receiver operating characteristic*) foram construídas, para as variáveis mais eficientes para distinguir pacientes entre os dois grupos estudados. As áreas abaixo da curva foram calculadas e comparadas. Para avaliação da eficiência dos testes para o diagnóstico de patologia AG, foram calculados valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN), sensibilidade e especificidade.

Utilizamos a análise da regressão logística, com o objetivo de avaliar quais variáveis agregam sensibilidade e especificidade na determinação de patologia de AG, quando analisadas em conjunto. Ajustou-se a regressão logística com todas as variáveis com o ponto de corte igual a 0,5.

O cálculo do poder estatístico também foi realizado para as variáveis que apresentaram diferença significativa entre os grupos BG e AG.

6 Resultados

A seguir os resultados apresentados corresponderam a 56 pacientes com tumor intracraniano, de origem astrocítica, com posterior confirmação histológica pós-cirúrgica. Para a espectroscopia foram 40 de AG e 16 de BG, sendo dois casos excluídos pela má qualidade do espectro. Para o estudo da perfusão e difusão, foram 30 de AG e 10 de BG.

6.1 PERFUSÃO

Nos dados das Figuras 9 e 10 apresentamos exemplos de mapas de VSCr e as respectivas curvas da intensidade de sinal pelo tempo correspondentes à perfusão em pacientes portadores de tumor BG e AG, respectivamente.

Nos dados da Figura 9, apresentamos exemplo de tumor de BG em paciente portador de oligoastrocitoma grau II frontal esquerdo, caracterizado por lesão expansiva sólida, com hipersinal na imagem FLAIR, baixo sinal na imagem ponderada T1 e realce heterogêneo central após a administração endovenosa do gadolínio. As curvas de perfusão evidenciam discreto aumento da perfusão no tumor em relação à área contralateral normal. Nos dados da Figura 10, apresentamos exemplo de tumor de AG em paciente

portador de GBM temporal esquerdo, evidenciando-se lesão expansiva sólida, com moderado edema da substância branca perilesional, de limites imprecisos, caracterizado por hipersinal na imagem FLAIR, baixo sinal na imagem ponderada T1 e realce heterogêneo central após a administração endovenosa do gadolínio. As curvas de perfusão evidenciam acentuado aumento da perfusão no tumor em relação à área contralateral normal.

Figura 9 - Paciente do sexo masculino, 46 anos (paciente nº55), com diagnóstico histológico de oligoastrocitoma grau II. **(A)** Imagem axial FLAIR, **(B)** Imagem axial ponderada em T1 pré-contraste, **(C)** Imagem axial ponderada em T1 pós-administração do gadolínio, **(D)** Mapa colorido de VSCr e **(E)** as correspondentes curvas de perfusão para RI no tecido normal (em lilás) e no tumor (em verde)

Figura 10 - Paciente do sexo masculino, 70 anos (paciente nº 1), com diagnóstico histológico de GBM. **(A)** Imagem axial FLAIR, **(B)** Imagem axial ponderada em T1 pré-contraste, **(C)** Imagem axial ponderada em T1 pós-administração do gadolínio, **(D)** Mapa colorido de VSCr e **(E)** as correspondentes curvas de perfusão para RI no tecido normal (em lilás) e no tumor (em verde)

Nos dados da tabela 3, apresentamos as médias para as medidas, mínima, máxima e média dos valores de VSCr, para cada tipo de tumor, e os respectivos valores de p obtidos, utilizando o teste t . Encontramos praticamente o dobro do valor de VSCr nos tumores de AG em relação aos de BG, com diferenças estatisticamente significativas para a perfusão média,

mínima e máxima entre os grupos, com valores de p de 0,004, 0,004 e 0,013, respectivamente.

Tabela 3 - Comparação entre os valores estimados de VSCr obtidos para a diferenciação entre tumores de BG e AG, através do teste t. Valor de p significativo em vermelho

VSCr	Baixo grau (grau I-II) n = 10	Alto grau (grau III-IV) n = 30	Valor de p
	Média ± DP	Média ± DP	
Mínimo	2,7 ± 2,5	5,4 ± 2,4	0,004
Média	3,6 ± 3,1	6,9 ± 2,9	0,004
Máxima	4,7 ± 4,6	8,3 ± 3,5	0,013

Nota: DP: desvio-padrão; VSCr: volume sanguíneo cerebral relativo.

Os dados da Figura 11 mostram as curvas ROC, analisando a especificidade e sensibilidade, demonstrando as diferenças encontradas entre tumores de BG e AG para os valores da perfusão máxima, mínima e média, que foram maiores nos tumores de AG. A melhor curva ROC obtida foi a da perfusão média que mostrou discreto aumento da área sob a curva quando comparado às curvas dos valores mínimo e máximo, apresentando maior poder discriminatório entre os grupos de BG e AG. Os dados da Figura 12 mostram a comparação da média dos valores de VSCr entre os grupos BG e AG, por meio do gráfico Boxplot que permite avaliar a simetria dos dados e sua dispersão. Observando o gráfico, verificamos que os valores de VSCr são muito superiores nos tumores de AG.

Figura 11 - Curvas ROC da perfusão máxima, mínima e média

Figura 12 - Gráfico boxplot mostra a comparação da média dos valores de VSCr entre os grupos BG e AG, com diferença significativa entre os grupos. A linha central das caixas marca as medianas (percentil 50) do conjunto de dados, e o que está acima dessa linha refere-se ao percentil 75 e abaixo ao percentil 25. Observando os gráficos, verificamos que os valores de VSCr são muito maiores nos tumores de AG.

Nota: VSCr: volume sanguíneo cerebral relativo; BG: baixo grau; AG: alto grau.

6.2 DIFUSÃO

Nos dados das Figuras 13 e 14, apresentamos exemplos de imagens de difusão e os respectivos mapas de CDA em pacientes portadores de tumor BG e AG, respectivamente. Na Figura 13, exemplificamos tumor de BG em paciente portador de astrocitoma grau II em tálamo esquerdo, caracterizado por lesão expansiva sólida, de limites imprecisos, com hipersinal na imagem FLAIR, baixo sinal na imagem ponderada T1, sem evidências de realce após a administração endovenosa do gadolínio na imagem ponderada em T1. O mapa de CDA mostra discreta restrição dos coeficientes de difusão no tumor (Figura 13E). Na Figura 14 exemplificamos tumor de AG em paciente portador de GBM temporal direito, caracterizado por lesão expansiva sólida, de limites imprecisos, com hipersinal na imagem FLAIR, baixo sinal na imagem ponderada T1, identificando-se realce heterogêneo na imagem ponderada em T1 após a administração endovenosa do gadolínio. O mapa de CDA mostra significativa restrição dos coeficientes de difusão no tumor (Figura 14E).

Figura 13 - Paciente do sexo masculino, 57 anos (paciente nº 49), com diagnóstico histológico de astrocitoma grau II. **(A)** Imagem axial FLAIR, **(B)** Imagem axial ponderada em T1 pré-contraste, **(C)** Imagem axial ponderada em T1 pós-administração do gadolínio, **(D)** Imagem de difusão com as RI no tumor (em verde) e no lado contralateral normal (em lilás) e **(E)** Mapa de CDA correspondente, mostrando discreta restrição da difusão no tumor

Figura 14 - Paciente do sexo masculino, 63 anos (paciente nº 19), com diagnóstico histológico de GBM. **(A)** Imagem axial FLAIR, **(B)** Imagem axial ponderada em T1 pré-contraste, **(C)** Imagem axial ponderada em T1 pós-administração do gadolínio, **(D)** Imagem de difusão com as RI no tumor (em verde) e no lado contralateral normal (em lilás) e **(E)** Mapa de CDA correspondente, mostrando significativa restrição da difusão no tumor

Os resultados obtidos da média dos valores de difusão mínima, máxima e média e o desvio-padrão para os dois grupos, com os respectivos valores de p obtidos utilizando o teste t estão sumarizados nos dados da Tabela 4.

Embora no grupo de AG os valores de CDA sejam menores, a comparação das médias dos valores de difusão entre tumores de BG e AG não evidenciou diferença significativa para graduação tumoral ($p = 0,087$).

Tabela 4 - Comparação entre os valores estimados de CDA obtidos para a diferenciação entre tumores de BG e AG. Valor de p em azul, indicando uma tendência à diferença significativa

CDA ($10^{-6} \text{ mm}^2/\text{s}$)	Baixo grau (grau I-II) n = 10	Alto grau (grau III-IV) n = 30	Valor de p
	Média $\pm$ DP	Média $\pm$ DP	
Mínimo	1038,9 $\pm$ 353,9	819,7 $\pm$ 165,5	0,087
Média	1099,8 $\pm$ 377,8	866,3 $\pm$ 171,1	0,187
Máxima	1127,3 $\pm$ 366,8	918,2 $\pm$ 180,6	0,174

Nota: DP: desvio-padrão; CDA: coeficiente de difusão aparente

Os dados da Figura 15 mostram as curvas ROC, demonstrando as diferenças encontradas entre tumores de BG e AG, para os valores da difusão mínima, média e máxima, em que observamos que o valor mínimo de CDA apresenta melhor curva ROC. Os dados da Figura 16 mostram a comparação da média dos valores de CDA entre os grupos BG e AG, por meio do gráfico Boxplot, demonstrando que apesar de grande sobreposição de valores entre os grupos, os tumores de BG apresentam menor restrição da difusão com valores maiores de CDA em relação aos de AG.

Figura 15 - (A) Curvas ROC para difusão média, máxima e mínima. A curva ROC para difusão mínima apresenta maior área sob a curva, com maior poder discriminatório entre os grupos

Figura 16 - Gráfico boxplot mostra a comparação da média dos valores de CDA entre os grupos BG e AG. A linha central das caixas marca as medianas (percentil 50) do conjunto de dados, e o que está acima desta linha refere-se ao percentil 75 e abaixo, ao percentil 25. Observando os gráficos verificamos que, apesar de grande sobreposição, os valores de CDA são maiores nos tumores de BG

Nota: CDA: coeficiente de difusão aparente; BG baixo grau; AG alto grau.

6.3 ESPECTROSCOPIA DE PRÓTONS

Os dados da Figura 17 mostram exemplos de aumento da Co, redução do Naa e Cr em tumor de BG. Podemos observar a heterogeneidade do tumor por meio da grande variação na intensidade da Co nos vóxeis localizados na área tumoral.

Figura 17 - Paciente masculino, 14 anos (paciente nº44), portador de astrocitoma pilocítico. (A) Imagem FLAIR mostrando lesão expansiva sólida, (B) localizador do espectro, (C) exemplo de espectro normal, (D,E,F) exemplos de espectros em algumas regiões sólidas do tumor, mostrando aumento de colina (Co) e redução do n-acetilaspártato (Naa) e creatina (Cr), com grande variação da intensidade da Co nos diversos vóxeis

Os dados da Figura 18 mostram exemplo de tumor AG em paciente portador de GBM frontal esquerdo, caracterizado por formação expansiva sólida, com grande área de necrose central, de limites parcialmente definidos, com hipersinal na imagem FLAIR, baixo sinal na imagem ponderada T1, com realce periférico, após a administração do gadolínio endovenoso, mostrando discreto aumento da Co, redução da Cr e Naa e presença de Lip nos vóxeis situados na borda tumoral anteromedial que realça, e no núcleo caudado onde não observamos realce pelo meio de contraste.

Figura 18 - Paciente do sexo masculino, 65 anos (paciente nº 29), com diagnóstico histológico de GBM. **(A)** Imagem FLAIR, **(B)** Imagem ponderada em T1 sem contraste, **(C)** Imagem ponderada em T1 pós-contraste, mostrando realce predominantemente periférico, com grande área de necrose central, **(D)** localizador da espectro, **(E,F)** exemplos de espectros na borda tumoral que realça e no núcleo caudado onde não se observa realce pelo meio de contraste, mostrando discreto aumento da colina (Co), redução da creatina (Cr) e n-acetilaspártato (Naa), e presença de lipídio (Lip)

Após o cálculo das medidas mínimas, máximas e médias para os valores absolutos e para as relações metabólicas, observamos que a medida das médias foi mais representativa na diferenciação entre os grupos de BG e AG, e nos referimos somente a estas medidas nas tabelas abaixo.

Nos dados das Tabelas 5 e 6, apresentamos as médias dos valores médios absolutos e das relações metabólicas, respectivamente, para a diferenciação entre BG e AG, e os respectivos valores de p obtidos, utilizando os testes de Mann-Whitney e teste t . Nos dados da Tabela 6 também observamos que, em alguns casos, o valor de n foi menor para algumas razões metabólicas, uma vez que o denominador seria igual a zero em casos em que o metabólito não foi detectado, impossibilitando o cálculo da relação metabólica.

Tabela 5 - Comparação entre os valores absolutos de Cr, Co, Lip, Lac e Naa obtidos para a diferenciação entre tumores de BG e AG, mostrando em azul tendência a significância estatística e, em vermelho, significância estatística

	Baixo grau (grau I-II) n = 16	Alto grau (grau III-IV) n = 40	Valor de p
	Média ± DP	Média ± DP	
Cr	1367,2 ± 2920,9	793,5 ± 2517,0	0,013
Naa	1107,0 ± 2965,0	816,9 ± 3729,6	0,082
Co	1421,2 ± 3541,0	667,8 ± 1349,1	0,088
Lip	262,4 ± 538,9	1854,2 ± 3517,9	0,001
Lac	674,8 ± 1012,5	891,1 ± 2808,1	0,649

Nota: Cr: creatina; Co: colina; Lac: lactato; Lip: lipídio; Naa: N-acetilaspártato; DP: desvio-padrão; n: número

Tabela 6 - Comparação entre as razões metabólicas de Cr, Co, Lip, Lac e Naa obtidos para a diferenciação entre tumores de BG e AG, mostrando em azul tendência à significância estatística e, em vermelho, significância estatística.

	Baixo grau (grau I-II) n = 16	Alto grau (grau III-IV) n = 40	
	Média ± DP	Média ± DP	Valor de p
Naa/Cr	0,48 ± 0,40 (n=15)	0,31 ± 0,31 (n=31)	0,070
Co/Cr	0,45 ± 0,19 (n=15)	0,37 ± 0,20 (n=31)	0,156
Cotu/Conl	1,55 ± 0,74 (n=16)	1,21 ± 0,60 (n=40)	0,085
Lip/Cr	0,23 ± 0,49 (n=15)	1,02 ± 1,74 (n=31)	0,023
La/Cr	0,81 ± 1,49 (n=15)	0,34 ± 0,65 (n=31)	0,255

Nota: DP: desvio-padrão; Co/Cr: razão colina/ creatina; Cotu/Conl: razão colina tumor/ colina normal; Lip/Cr: razão lipídio /creatina; Lac/Cr: razão lactato/creatina; Naa/Cr: razão N-acetilaspártato / creatina; n: número.

A comparação dos valores absolutos dos diversos metabólitos evidenciou diferença significativa entre os dois grupos (BG e AG) para os valores médios da Cr com menores valores no grupo AG ($p = 0,013$), e para os valores médios de Lip com maiores valores no grupo AG ($p = 0,001$). Os valores absolutos dos demais metabólitos não apresentaram diferença significativa entre os grupos de BG e AG (Tabela 5).

A comparação das concentrações das diversas razões metabólicas evidenciou diferença significativa entre os dois grupos (BG e AG) para os valores médios de Lip/Cr ($p = 0,023$), com tendência a valor significativo para os valores médios da razão Naa/Cr ($p=0,070$) e valor médio da Co normalizada ($p=0,085$) (Tabela 6). Os dados da Figura 19 mostram a comparação da média dos valores médios dos diversos metabólitos entre os grupos BG e AG, por meio do gráfico Boxplot. Observamos boa diferenciação entre os grupos para os metabólitos Cr, sobretudo para o Lip, com grande sobreposição de valores para os outros metabólitos. Embora o valor médio da Co seja maior no grupo BG, o valor limítrofe é maior para AG, sugerindo maior heterogeneidade para este tipo de tumor.

Figura 19 - Gráficos boxplot. **(A)** Comparação da média dos valores de Lip entre os grupos BG e AG, com diferença significativa entre os grupos; **(B)** Comparação da média dos valores de Cr entre os grupos BG e AG, com diferença significativa entre os grupos; **(C)** Comparação da média dos valores de Lac entre os grupos BG e AG, sem diferença significativa entre os grupos, com grande sobreposição de valores; **(D)** Comparação da média dos valores de Co entre os grupos BG e AG, evidenciando maior valor no grupo BG, embora com grande sobreposição de valores entre os grupos; **(E)** Comparação da média dos valores de Naa entre os grupos BG e AG, com menor valor no grupo AG, porém sem diferença significativa entre os grupos, com grande sobreposição de valores

Nota: AG: alto grau; BG: baixo grau; Lip: lipídios; Cr: creatina; Lac: lactato; Co: colina; Naa: N-acetilaspártato.

Os parâmetros mais eficientes foram os valores absolutos de Lip e Cr, e a razão Lip/Cr. Para estes parâmetros, foram construídas curvas ROC (Figura 20) para comparação do poder discriminatório entre os grupos de BG e AG. A comparação das áreas abaixo das curvas ROC permite concluir que o melhor índice para a discriminação entre os grupos tumorais é o Lip, pois foi o que apresentou maior área sob a curva, inferindo maior probabilidade de classificação correta dos pares examinados.

Figura 20 - Curvas ROC para os valores absolutos de Cr e Lip, e da razão Lip/Cr demonstrando maior valor da área abaixo da curva para o Lip, sendo o parâmetro que apresentou maior eficiência diagnóstica

Nota: Lip: lipídios; Cr: creatina

6.4 REGRESSÃO LOGÍSTICA E CORRELAÇÃO DA PERFUSÃO, DIFUSÃO E ESPECTROSCOPIA DE PRÓTONS NA GRADUAÇÃO DOS TUMORES GLIAIS

Em nosso estudo, houve diferença significativa de valores de VSCr , Lip, Cr e da relação Lip/Cr, para os dois grupos de tumores, e evidenciamos valor de p mais significativo para o Lip em relação às demais variáveis analisadas (Tabela7).

Tabela 7 - Comparação entre os valores de VSCr, Lip, Cr e da razão metabólica Lip/Cr, obtidos para a diferenciação entre tumores de BG e AG, com significância estatística em vermelho

	Baixo grau (grau I-II)	Alto grau (grau III-IV)	
	Média ± DP	Média ± DP	Valor de p
VSCr	3,6 ± 3,1 (n=10)	6,9 ± 2,9 (n=30)	0,004
Lip	262,4 ± 538,9 (n=16)	1854,2 ± 3517,9 (n=40)	0,001
Cr	1367,2 ± 2920,9 (n=16)	793,5 ± 2517,0 (n=40)	0,013
Lip/Cr	0,23 ± 0,49 (n=15)	1,02 ± 1,74 (n=31)	0,023

Nota: VSCr: volume sanguíneo cerebral relativo; Lip: lipídio; Cr: creatina; Lip/Cr: razão lipídio / creatina; DP: desvio-padrão; n: número

Os dados da Tabela 8 mostram os valores de sensibilidade, especificidade, VPP, VPN para o VSCr médio, Lip/Cr médio e Cr média. Observamos que o VSCr apresentou maior sensibilidade e VPN entre todos parâmetros estudados, e Lip, sobretudo Lip/Cr maior especificidade e VPP.

Tabela 8 - Valores de corte com sensibilidade, especificidade, VPP e VPN para perfusão e valores de Lip e Cr, e razão metabólica Lip/Cr para diferenciação entre tumores de BG e AG

	Valor de corte	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
VSCr	2,8	0,97	0,60	0,88	0,86
Lip	215,56	0,75	0,68	0,85	0,52
Cr	350,5	0,50	0,31	0,64	0,20
Lip/Cr	0,33	0,72	0,81	0,90	0,56

Nota: VSCr: volume sanguíneo cerebral relativo; Lip: lipídio; Cr: creatina; Lip/Cr: razão lipídio /creatina; VPP : valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo.

Ajustou-se a regressão logística com todas as variáveis com o ponto de corte igual a 0,5. Mas, algumas variáveis não foram consideradas estatisticamente significativas. Logo, ajustou-se outro modelo logístico para VSCr, Cr e Lip, que se apresentaram como variáveis significativas e, finalmente, foram construídas curvas ROC com essas variáveis.

Os dados da Figura 21 mostram o cálculo das curvas ROC do modelo logístico entre as médias do VSCr e Lip, e do VSCr e Cr, evidenciando índices discretamente superiores de sensibilidade e especificidade para graduação tumoral, quando os parâmetros são analisados de forma combinada, especialmente associando VSCr e Lip em relação ao VSCr de forma isolada.

Figura 21 - (A) Curvas ROC das médias do Lip, VSCr e Lip+VSCr, mostrando discreto aumento da sensibilidade e especificidade, quando Lip e VSCr são combinados, quando comparado ao valor de VSCr de forma isolada. **(B)** Curvas ROC das médias da Cr, VSCr e Cr+VSCr, mostrando maior área sob a curva quando Cr+VSCr são combinados, em relação à Cr de forma isolada e discreto aumento da área sob a curva quando comparado ao VSCr

Nota: Cr: creatina; Lip: lipídio; VSCr: volume sanguíneo cerebral relativo.

A análise do comportamento de pares de variáveis foi realizada por meio da correlação de Spearman, para determinar o grau de associação entre as variáveis. Nos dados das tabelas 9 e 10, estão demonstrados valores obtidos, evidenciando correlação negativa significativa ($r = -0,345$; $p = 0,032$) somente entre as variáveis CDA mínimo e VSCr médio, indicando que a maior perfusão está relacionada à maior restrição da movimentação da água.

Tabela 9 - Correlação de Spearman entre CDA mínimo e as demais variáveis, mostrando correlação negativa entre CDA mínimo e VSCr médio, indicando que maior perfusão no tumor está relacionado à maior restrição da movimentação da água

CDA mínimo	Média Cr	Média Co	Média Lip	VSCr médio
r	0,012	-0,178	-0,153	-0,345
Valor de p	0,943	0,277	0,315	0,032
N	39	39	39	39

Nota: N: número da amostra; Cr :creatina; Co: colina; Lip: lipídios; VSCr: volume sanguíneo cerebral relativo; CDA: coeficiente de difusão aparente.

Tabela 10 - Correlação de Spearman entre VSCr médio e as demais variáveis

VSCr médio	Média Cr	Média Co	Média Lip
r	-0,262	-0,205	0,247
Valor de p	0,107	0,211	0,130
N	39	39	39

Nota: N: número da amostra; Cr: creatina; Co: colina; Lip: lipídios; VSCr: volume sanguíneo cerebral relativo.

Uma vez que o tamanho da amostra está diretamente relacionado à capacidade dos resultados em fornecer uma resposta confiável para determinada questão clínica, o cálculo do poder estatístico foi realizado para as variáveis que apresentaram diferença significativa entre os grupos BG e AG e também para os valores de CDA (Tabela 11). O valor de poder estatístico do teste próximo a 0,80 é considerado confiável, portanto, em nossa amostra, o teste estatístico pode ser considerado suficientemente poderoso para detectar reais diferenças entre os grupos tumorais se utilizarmos os valores de VSCr e Lip.

Tabela 11 - Cálculo do poder estatístico para as diversas variáveis, mostrando poder alto para Lip e sobretudo para VSCr

	VSCr	Lip	CDA	Cr	Lip/Cr
Poder	0,86	0,74	0,47	0,10	0,37

Nota: VSCr: volume sanguíneo cerebral relativo; Lip: lipídio; CDA: coeficiente de difusão aparente; Cr: creatina; Lip/Cr: razão de lipídio/creatina.

7 Discussão

7.1 PERFUSÃO

A fim de se obter uma amostra histologicamente mais homogênea, excluímos oligodendrogliomas em razão das características particulares da vascularização desses tumores. Os oligoastrocitomas foram incluídos, porque, apesar de classificados como gliomas mistos, apresentam comportamento histológico e prognóstico, mais próximos dos astrocitomas fibrilares.

Por meio do estudo da perfusão cerebral por RM, obtivemos mapas de VSCr retratando globalmente a vascularização tumoral, permitindo de forma indireta inferir a angiogênese tumoral, sendo útil na determinação do potencial maligno da lesão (Cha et al., 2002).

Vários estudos têm sugerido um valor de corte para o VSCr capaz de auxiliar na distinção entre tumores de BG e AG (Tabela 12).

Tabela 12 - Comparação dos valores de corte para VSCr propostos em diversos artigos publicados para diferenciação entre tumores de BG e AG, mostrando grande variação entre os trabalhos

	Valor de corte VSCr
Estudo atual	2,8
Law et al.	1,75
Hakyenez et al.	1,98
Aronen et al.	1,93
Lee et al.	2,60
Catalaa et al.	1,33

Nota: VSCr: volume sanguíneo cerebral relativo

Em nosso trabalho, propomos valor de corte de 2,8 com sensibilidade de 97% e VPN de 86%, com especificidade de 60%. Outros estudos propõem valores de 1,75 (Law et al., 2003); 1,98 (Hakyemez et al., 2005) e 2,93 (Aronen et al., 1995).

Cha e cols. encontraram correlação estatisticamente significativa entre o VSCr e o grau tumoral. Mas, em estudo com 51 pacientes portadores de GBM, uma grande variabilidade foi encontrada para o valor máximo de VSCr, com valores de 1,95 a 28,59 (média de $5,5 \pm 4,5$). Esta grande variação é esperada, uma vez que o GBM é um dos tumores mais heterogêneos em relação à sua composição histológica. Na análise de 19

casos de astrocitoma anaplásico, evidenciou-se uma menor variação no valor máximo do VSCr, com valores de 1,29–10,26 (média de $4,03 \pm 2,43$) e no estudo de 13 gliomas de BG o valor máximo do VSCr variou entre 0,89–3,73 (média de $1,86 \pm 0,77$) (Cha et al., 2002).

Aronen e cols. encontraram VSCr variando de 0,82 a 5,40 para AG e de 1,01 a 1,21 em BG (Aronen et al., 1994). Em outro estudo, os autores encontraram valores de VSCr de $7,32 \pm 4,39$ para GBMs, $5,84 \pm 1,82$ para astrocitomas anaplásicos, e $1,26 \pm 0,55$ para gliomas de BG (Sugahara et al., 1998). Knopp e cols. encontraram VSCr máximo em astrocitomas AG, variando de 1,73 a 13,7, com valor médio de $5,07 \pm 2,79$ e, em BG o valor máximo variando de 0,92 a 2,19, com valor médio de $1,44 \pm 0,68$ (Knopp et al., 1999).

Em outro artigo publicado, os autores encontraram VSCr máximo de $4,90 \pm 1,01$ para GBMs, $3,97 \pm 0,56$ para astrocitomas anaplásicos e $1,75 \pm 1,51$ para gliomas de BG. O valor de corte que permitiu a discriminação entre BG e AG foi de 2,60, com sensibilidade e especificidade de 100% e 75%, respectivamente (Lee et al., 2001).

Outro trabalho de Catalaa e cols. evidenciou diferença significativa nos valores de VSCr, entre gliomas de BG e AG, tanto para o maior valor de VSCr como na média dos valores, com valor de corte de 1,33 para tumores grau III e 1,83 para tumores grau IV, quando a referência foi o vóxel de maior valor, enquanto que na média dos valores encontrou-se valor de corte de 1,09 e 1,87, respectivamente (Catalaa et al., 2006).

A grande variação nos valores de corte de VSCr propostos nos diversos artigos, pode ser decorrente de uma série de razões, como a escolha da sensibilidade/especificidade e proporção de tumores de graus III e IV na amostra do grupo AG. Outros fatores, como o uso da técnica de perfusão SE-EPI, em lugar de GE-EPI, a administração de uma dose de contraste de gadolínio de 0,1 ao invés de 0,2 mmol/kg, e a não correção do efeito de extravasamento do meio de contraste, podem afetar a quantificação do VSCr, pois nas três situações poderá haver subestimação dos valores da perfusão.

Em concordância com as diversas publicações, em nosso estudo encontramos diferença estatisticamente significativa entre a média dos valores máximo, mínimo e médio do VSCr para os dois grupos de tumores, com maiores valores no grupo de AG em relação aos de BG. Mas, alguns achados de nosso estudo, como valores maiores de VSCr, diferem dos artigos acima citados, e estas variações, provavelmente, decorrem de particularidades da amostra escolhida e metodologia aplicada.

Em nosso estudo, optamos por utilizar a sequência GE-EPI que apresenta maior sensibilidade às alterações de susceptibilidade magnética, o que permite detecção de áreas que apresentam redução mais sutil da intensidade de sinal dentro do tumor. Baseado em dados teóricos e experimentos prévios que demonstram que o $\Delta R2^*$ é linearmente proporcional à concentração de contraste no tecido (Villringer et al., 1988), administramos dose dupla do contraste, o que aumentaria a sensibilidade do método por fornecer dados mais robustos. O cálculo do VSCr baseou-se na

comparação com tecido em “espelho” em relação à área tumoral escolhida. Em outros trabalhos, foi utilizada a substância branca de aparência normal como denominador fixo, para o cálculo do VSCr. Mas, devemos observar que seguindo este método corre-se o risco de superestimar a perfusão em tumores corticais ou próximos do córtex cerebral, uma vez que a substância branca apresenta valores de VSC mais baixos do que a substância cinzenta. Em todos os nossos pacientes, foi administrada a pré-dose do gadolínio, que é um procedimento fundamental para evitar a subestimação dos valores de VSCr em áreas de destruição da BHE no tumor. Também optamos por excluir gliomas que não fossem da linhagem astrocítica e oligoastrocítica, evitando tumores com características particulares de vascularização, como os oligodendrogliomas, em que maior vascularização não está necessariamente associada ao maior grau de malignidade, o que poderia aumentar os valores de VSCr no grupo de tumores BG, interferindo na análise estatística para graduação tumoral.

No trabalho de Law e cols. os autores sugerem valor de corte para o VSCr de 1,75 (não foram citadas a sensibilidade e a especificidade escolhidas), muito menor do que o valor sugerido no presente estudo, provavelmente, porque naquele trabalho foi utilizada dose simples do meio de contraste e não foi administrada pré-dose para saturação do interstício, antes da perfusão (Law et al., 2003). Aronen e cols. apresentaram valores da média do VSCr máximo muito menores do que observamos e diferente de nosso estudo, os autores utilizaram a técnica SE-EPI, com administração variável da dose de meio de contraste (alguns pacientes receberam dose

simples e outros o dobro da dose), além do que somente três pacientes, dos 19 estudados, receberam pré-dose do gadolínio endovenoso (Aronen et al., 1995). Nos trabalhos de Knopp e cols. e Cha e cols. foram encontrados também menores valores para a média do VSCr máximo, tanto no grupo de BG como no de AG, quando comparado a nosso estudo, sendo que os autores administraram dose simples do meio de contraste e não utilizaram pré-dose do gadolínio (Knopp al., 1999; Cha et al., 2002). Lee e cols. também observaram valores mais baixos de VSCr máximo, e embora tenham utilizado dose dupla na aquisição da perfusão, não foi administrada a pré-dose do meio de contraste (Lee et al., 2001).

Em comparação a outros dois trabalhos, Sugahara e cols. e Hakyemez e cols., também relatam valores menores do VSCr máximo em relação aos observados no presente estudo. Provavelmente, estas diferenças estejam relacionadas à utilização de dose simples e a não administração da pré-dose do gadolínio endovenoso (Sugahara et al., 1998; Hakyemez et al., 2005). Catalaa e cols. relatam valores muito baixos de VSCr para os tumores de AG, muito menores do que os observados no presente estudo, assim como nos outros artigos publicados. Os autores utilizaram a sequência SE-EPI com administração endovenosa de dose dupla do meio de contraste, porém a administração da pré-dose de gadolínio não foi utilizada (Catalaa et al., 2006).

7.2 DIFUSÃO

A celularidade tumoral é considerada um fator determinante da malignidade tumoral e parece ser o componente mais importante na restrição da difusão da água, como demonstrado em alguns estudos que correlacionaram o CDA e celularidade tumoral (Sugahara et al., 1999; Kono et al., 2001). Tien e cols. também encontraram menores valores de CDA nas porções sólidas do tumor que apresentaram realce, após a administração do agente paramagnético, inferindo que este achado refletiria regiões de maior densidade celular, responsáveis pela restrição da movimentação das moléculas de água (Tien et al., 1994).

Em concordância com artigo previamente publicado (Zonari et al., 2007), em nosso trabalho embora haja uma tendência à diferença significativa ($p=0,087$), para o valor mínimo de CDA, que se apresenta menor nos tumores de AG em relação aos de BG, não é possível afirmar que o estudo da difusão seja um parâmetro inequívoco na graduação tumoral. A sobreposição de valores de CDA entre os diferentes graus pode estar relacionada à presença de micronecrose dentro dos gliomas de AG, sobretudo no grupo de GBMs (maioria de nossa amostra), que embora macroscopicamente indetectável, pode ser responsável por maiores valores de CDA neste tipo de tumor.

Apesar de não ser o foco do presente estudo, a abordagem das características da difusão da água pelas medidas dos valores de CDA no edema peritumoral pode ser utilizada para a determinação da graduação tumoral, como demonstrado em artigo submetido recentemente, no qual observamos diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre os grupos de BG e AG, com valores de CDA de $1730,71 \pm 330,02 \times 10^{-6} \text{ mm}^2/\text{s}$ e $1420,58 \pm 187,08 \times 10^{-6} \text{ mm}^2/\text{s}$, respectivamente (Pincerato et al., 2010).

7.3 ESPECTROSCOPIA DE PRÓTONS

7.3.1 CREATINA

O sinal da Cr, localizado em 3,02 ppm corresponde a um pico composto de Cr e fosfocreatina, sendo considerado um marcador do metabolismo energético aeróbico das células cerebrais, participando da síntese de ATP, pela reação via creatinoquinase. Uma vez que a Cr é sintetizada no fígado, hepatopatias crônicas levam a uma redução da concentração cerebral da Cr. Além disso, existe também um grupo raro de patologias que envolve deficiência total de Cr cerebral, resultado tanto da falta de síntese hepática, como da deficiência de transporte para o tecido cerebral. Apesar destas considerações, tem sido sugerido que o valor de Cr é relativamente constante no cérebro humano, por esta razão, a Cr é frequentemente utilizada como sinal de referência, sendo prática clínica comum utilizar razões metabólicas expressas em relação ao valor de Cr. Mas, com o desenvolvimento de técnicas de análises quantitativas, podemos observar que a Cr total não é sempre constante, variando em diferentes regiões cerebrais e sobretudo em algumas patologias, como nos tumores cerebrais onde o nível total de Cr é significativamente menor quando comparado ao tecido cerebral normal (Kaibara et al., 1998; Tong et al., 2004; Gillard, 2005).

Em tumores gliais, o nível de Cr tem papel controverso na determinação da graduação tumoral. Uma razão para resultados contrários pode ser a heterogeneidade histológica, própria do tumor, e a natureza metabólica dos gliomas, onde Cr elevada pode ser observada em áreas tumorais de baixo metabolismo, e sua redução pode ser identificada em regiões de hipermetabolismo no mesmo tumor. O achado de menores valores de Cr encontrado em tumores hipermetabólicos pode estar relacionado à presença de necrose e/ou hemorragia, mais comumente encontrados em tumores com maior metabolismo (Alger et al., 1990; Li et al., 2002). Na verdade, ainda permanece pouco claro se existe outro papel bioquímico para a Cr nos gliomas, além da função já bem estabelecida da creatina como reservatório energético a curto prazo. Altas concentrações de Cr são encontradas em astrócitos que são células capazes de sintetizar Cr e de liberar guanidinoacetato, como intermediário de sua síntese; enquanto as células tumorais parecem sintetizar um montante menor de Cr. Alguns trabalhos indicam que o aumento da Cr pode ser a reação de células astrogliais ao crescimento infiltrativo do tumor (Dringen et al., 1998). Neste contexto, a quantidade de Cr revelaria a atividade infiltrativa das células tumorais, o que explica os achados de Hattingen e cols. no estudo do valor prognóstico da Cr em gliomas grau II onde tumores com maior Cr evoluíram mais rapidamente para graus de maior malignidade (Hattingen et al., 2008). Likavcanova e cols. estudaram o metabolismo de gliomas por meio de ERM *in vitro* e encontraram mesmos níveis de Cr nas amostras de tumores de BG e AG (Likavcanova et al., 2005). Em outro trabalho, os valores de Cr também

não tiveram relevância na discriminação entre tumores de BG e AG (Meyerand et al., 1999). Em nosso estudo encontramos diferença significativa para diferenciação entre tumores de BG e AG, com menores valores de Cr no grupo de gliomas graus III e IV, para os valores absolutos de Cr média ($p=0,013$). Em outro estudo, Isobe e cols. verificaram baixa concentração de Cr como o indicador mais confiável de malignidade em gliomas (Isobe et al., 2002). Outro trabalho também encontrou tendência de baixos níveis de Cr em tumores de AG, indicando que esta menor concentração teria importante papel na graduação tumoral (Yerli et al., 2007). Da mesma forma, Negendank e cols. também descreveram níveis muito menores de Cr em GBMs, quando comparados aos gliomas graus I, II e III, sugerindo que quanto maior o grau de malignidade menor será a concentração de Cr (Negendank et al., 1996).

Muitos estudos publicados avaliaram os níveis metabólicos nos tumores cerebrais por meio de utilização de razões, empregando a Cr como denominador considerado estável. No entanto, em nosso estudo fica claro que o uso somente dessa razão subestima a importância da Cr na avaliação da graduação tumoral dos gliomas, uma vez que a quantificação de valores absolutos de Cr forneceu resultados significantes para diferenciação entre tumores de BG e AG.

7.3.2 COLINA

O sinal da Co, localizado em 3,23 ppm, origina-se de um grupo de compostos identificados como glicerofosfocolina, fosfocolina e uma pequena quantidade de Co livre, envolvidos na síntese e degradação da membrana celular. Sua concentração é discretamente maior na substância branca do que no córtex cerebral, indicando maior síntese de membrana e proliferação celular na substância branca. Baixas concentrações de Co têm sido observadas na encefalopatia hepática e existem evidências de que a variação na ingestão na dieta pode modular os níveis de Co no cérebro. Várias patologias caracterizam-se por elevação do sinal de Co como a desmielinização ativa, cujo aumento da Co é resultado da degradação de mielina ou do aumento do número de células gliais. Elevados níveis de Co também são descritos como característicos de vários tipos de tumores cerebrais, incluindo tumores gliais (sobretudo de AG com pouca necrose) e metástases, entre outros (Gillard, 2005).

O aumento da colina nos tumores pode ser explicado por dois mecanismos diferentes. Como já mencionado, a Co é considerada um marcador do *turnover* de fosfolipídios na membrana celular; como o aumento do anabolismo das células malignas promove uma rápida proliferação celular, conseqüentemente ocorre um real aumento da concentração de Co. Por outro lado, o aumento da Co também pode ocorrer em razão do metabolismo catabólico, já que a destruição da membrana celular por infiltração neoplásica está associada ao aumento da mobilidade da colina

pela formação de produtos decorrentes da lesão celular, com aumento da detectabilidade de seu sinal (Stadlbauer et al., 2006).

Grande parte dos trabalhos publicados considera os valores da Co, como importante parâmetro na discriminação entre tumores de BG e AG. Dados obtidos por Meyerand e cols. sugerem que a graduação de tumores gliais pode ser obtida com grande precisão, utilizando-se os valores de Co, embora a diferenciação entre astrocitoma anaplásico e GBM não seja possível por meio desse metabólito (Meyerand et al., 1999). Em outro trabalho, a despeito de baixa especificidade, observou-se diferença significativa nas razões metabólicas de Co/Cr e Co/Naa na discriminação entre tumores de BG e AG (Law et al., 2003). Outra publicação descreve aumento significativo das razões Co/Naa e (Co+Cr)/Naa em gliomas grau III e IV, quando comparados aos gliomas grau II, porém, sem diferença significativa dos valores desse metabólito entre os tumores do grupo de AG (Hsu et al., 2004). Proptani e cols. demonstraram que a razão Co/Cr foi significativamente diferente entre tumores de BG e AG com valores médios de $2,06 \pm 0,75$ e $2,9 \pm 1,08$, respectivamente, ($p=0,016$), mostrando consistência deste metabólito em predizer o grau tumoral (Poptani et al., 1995). Outro relato demonstra diferenças relevantes da razão Co/Cr entre gliomas grau II, astrocitoma anaplásico e GBM, com valores médios de $1,02 \pm 0,25$, $1,48 \pm 0,91$ e $2,08 \pm 2,31$, respectivamente (Castillo et al., 2000).

Embora a maioria dos tumores cerebrais demonstre elevação da Co e da relação Co/Cr, a mensuração dos níveis de Co pode variar

consideravelmente, dependendo da quantidade celular, proporção de células em divisão, balanço da biossíntese / degradação de membranas, e da presença ou ausência de necrose (Londono et al., 2003; Lai et al., 2008). Em nosso trabalho, observamos grande variação da intensidade do sinal da Co dentro de um mesmo tumor, como está demonstrado nos dados das Figuras 17 e 18. Esta observação justifica a utilização da ERM *multivoxel*, visto que por meio dessa técnica podemos abranger uma amostra tumoral mais representativa, o que possibilita uma análise simultânea dos vários componentes do tumor, facilitando a identificação de áreas de maior ou menor atividade, além de reduzir o efeito de volume parcial, uma vez que podemos estudar vóxeis de menores dimensões. Muitas neoplasias gliais que não cursam com elevação da Co ou que apresentam discreta elevação de seu valor têm sido reportadas. Londono e cols. relataram um caso em que não houve elevação dos níveis de Co no estudo de um paciente portador de astrocitoma fibrilar grau II (London et al., 2003). Lavi-Saraf e cols. também não encontraram elevação da razão de Co/Cr em um caso classificado histologicamente como glioma infiltrativo (WHO grau II/III) (Saraf-Lavi et al., 2003). Em outro artigo, observou-se que valores de Co foram maiores no tumor em relação à substância branca de aparência normal, em tumores grau II e astrocitoma anaplásico, porém, seu valor foi altamente variável nos GBMs, paradoxalmente chegando a ser menor do que no tecido cerebral normal, um efeito provavelmente secundário à atenuação do metabólito pela presença de necrose extensa (Howe et al., 2003). Achado semelhante foi descrito no trabalho de Dowling e cols. no

qual, altos valores de Co tinham sido encontrados em tumores graus II e III, pacientes com GBM apresentaram tendência a baixos valores de colina, tendo como possível explicação tecido tumoral com componente de necrose (Dowling et al., 2001). Fulham e cols. verificaram valores maiores de Co normalizada em tumores sólidos de AG quando comparados aos de BG, porém a Co normalizada não foi fator discriminatório da graduação tumoral, pois lesões de AG com necrose apresentaram Co reduzida (Fulham et al., 1992).

Em nosso estudo encontramos, valores maiores de Co nos tumores quando comparados ao tecido contralateral de aparência normal, mas não observamos diferença estatisticamente significativa entre os valores absolutos de Co e entre as diversas razões analisadas com os demais metabólitos para auxiliar na graduação tumoral. De forma surpreendente, notamos uma tendência à significância na diferenciação entre os distintos graus ao utilizarmos a Co média, Co mínima e Co normalizada, com valores maiores nos tumores BG. Uma possível explicação para esse achado inesperado seria a quantidade muito maior de GBMs (37 casos), em nossa amostra em relação aos tumores grau III (3 casos). A grande maioria (33 casos) no grupo dos GBMs apresentou macronecrose proeminente, o que provavelmente estaria relacionado à maior quantidade de áreas de micronecrose, mesmo nas regiões sólidas do tumor escolhidas em nossa amostra para posicionamento das RIs. Provavelmente este fato seja responsável pelos baixos valores de Co em nosso grupo de tumores de AG, em concordância com os três últimos artigos acima citados. Podemos

considerar algumas diferenças das metodologias e casuísticas de alguns artigos já citados onde os valores de Co foram maiores nos tumores de AG, auxiliando na discriminação com tumores de BG. Hsu e cols. apresentaram 17 casos de gliomas AG, sendo cinco grau III e 12 grau IV, com uma porcentagem de 20% de astrocitomas anáplasicos, enquanto na nossa amostra esta porcentagem foi de 8,10% (Hsu et al., 2004). Law e cols. não citam a quantidade de astrocitomas anaplásicos e GBM no grupo de AG, além disso cerca de 43 pacientes do total estudado nesse trabalho foram submetidos previamente à biópsia esterotáxica e/ou ressecção cirúrgica parcial do tumor o que pode ter afetado os valores dos metabólitos na ERM (Law et al., 2003). Stadlbauer e cols estudaram somente astrocitomas anaplásicos no grupo de tumores de AG e Castillo e cols. estudaram dez astrocitomas anaplásicos e dez GBMs, obtendo uma amostra mais homogênea de tumores de AG (Castillo et al., 2000; Stadlbauer et al., 2006).

7.3.3 N-ACETILASPARTATO

O sinal do Naa localizado em 2,02 ppm em circunstâncias normais é representado pelo maior pico do espectro, uma vez que é um dos mais abundantes aminoácidos presentes no cérebro e está predominantemente localizado nos neurônios, axônios e dendritos. Embora sua função biológica não seja totalmente conhecida, é considerado um marcador da quantidade e viabilidade neuronal. Pode estar elevado em algumas patologias como na

doença de Canavan e com valores reduzidos em patologias que envolvem perda neuronal ou axonal, entre elas, os tumores cerebrais (Miller, 1991; Gillard, 2005). Stadlbauer e cols. encontraram significativa correlação linear negativa entre concentração de Naa e infiltração tumoral (Stadlbauer et al., 2006). Em outra publicação, houve diferença significativa, considerando a razão Naa/Cr, para a diferenciação de tumores de BG e AG, com valor médio de $1,20 \pm 0,71$ e $0,90 \pm 0,62$, respectivamente (Law et al., 2003). Yerli e cols. evidenciaram que a relação Naa/Cr mínima apresentou maior confiabilidade entre os metabólitos estudados na graduação dos tumores gliais, com valores médios de $0,58 \pm 0,18$ nos tumores de BG e $0,29 \pm 0,23$ nos de AG, com valor de $p=0,009$ (Yerli et al., 2007). Em concordância com artigos previamente publicados, embora sem valor de p estatisticamente significativo, nossos achados indicam tendência à diferença significativa, para a graduação tumoral, utilizando-se os valores médios da razão entre Naa e Cr no tumor ($p=0,070$), e valores médios de Naa ($p=0,082$), com valores menores no grupo de tumores de AG. O fato de não alcançarmos significância estatística para os valores de Naa pode ser explicado pela exclusão de nossa análise de vóxeis com erro maior do que 20% (decorrente da baixa concentração), para valores dos metabólitos obtidos.

7.3.4 LACTATO

No tecido cerebral normal, o pico de Lac (1,33 ppm) está abaixo do limite de detectabilidade no estudo de ERM, e qualquer aumento detectável de Lac deve ser considerado anormal, exceto no líquido quando este metabólito pode ser detectado em baixos níveis na presença de ventrículos proeminentes. Usualmente, o aumento do Lac é resultado de alteração do metabolismo da glicose, decorrente de inadequado fornecimento de oxigênio que sustenta a rede aeróbica por insuficiência da microcirculação. Uma vez que o Lac é o produto final da glicólise não oxidativa, sua presença tem importância no estudo dos tumores cerebrais, já que sua elevação pode estar correlacionada com baixos níveis de oxigenação no tecido tumoral. De fato, o sinal do Lac nos tumores cerebrais tem sido estudado extensivamente, sendo observados valores elevados de Lac em diversos tumores, identificando-se, porém, variabilidade considerável entre tumores e dentro de um mesmo tumor, o que é frequentemente interpretado, como reflexo de vascularização tumoral heterogênea (Gillard, 2005; Kim et al., 2006). Kim e cols. encontraram diferença significativa da razão Lac/Cr, entre tumores de BG e AG, e Toyooka e cols. puderam discriminar astrocitoma anaplásico de GBMs utilizando o valor médio desta razão (Kim et al., 2006; Toyooka et al., 2008).

Em outro estudo, foi possível diferenciar GBM e astrocitoma anaplásico dos tumores de BG de forma específica e sem sobreposição de valores, utilizando-se o Lac, com valores de $0,67 \pm 0,05$ e $0,41 \pm 0,02$ para

GBM e astrocitoma anaplásico, respectivamente, e $0,01 \pm 0,00$ para tumores de BG; sendo também observada diferença significativa quando a razão Lac/Cr foi utilizada, com valores médios em GBM e astrocitoma grau III de $5,30 \pm 0,98$ e $3,28 \pm 0,59$, respectivamente, e em tumores de BG de $0,09 \pm 0,01$ (Meyerand et al., 1999). Yamasaki e cols. também encontraram diferença significativa entre os níveis de Lac na discriminação entre tumores graus II e III, e entre graus III e IV (Yamasaki et al., 2005).

Embora diversos grupos tenham reportado que o pico de Lac está presente com mais frequência em gliomas de AG, a correlação entre Lac e grau de malignidade tumoral permanece incerta. Uma possível explicação para a variabilidade na detecção de Lac na análise tumoral seria que um tumor com hipermetabolismo apresentaria rápido crescimento (teoricamente indicando maior malignidade), ocorrendo hipóxia seguida de falência energética com maior produção de Lac em razão da ineficiência do metabolismo aeróbico da glicose, mas o Lac não permanece sendo produzido indefinidamente. Além disso, algumas vias de respiração ou de efluxo do tumor podem eliminar o Lac que foi formado, portanto, o nível de Lac detectado na ERM dependeria da natureza e regulação dos mecanismos de eliminação, assim como da via de produção desse metabólito (Alger et al., 1990). Tien e cols. observaram que níveis de Lac apresentaram-se usualmente elevados em tumores de AG, porém, também foram detectados em várias amostras de gliomas de BG, pelo que concluíram não ser possível correlacionar de forma confiável o nível de Lac e a graduação tumoral, embora haja uma tendência a observar maior valor

deste metabólito nos GBMs (Tien et al., 1996). Em outra publicação, também não foi possível utilizar o Lac na diferenciação dos tumores gliais, sendo observada uma variação inconsistente, mesmo entre tumores com o mesmo grau histológico (Fountas et al., 2004). Em nosso estudo, embora os valores médios de Lac tenham sido maiores nos tumores de AG, não houve significância estatística entre os valores absolutos de Lac ($p=0,649$) e da relação Lac/Cr no tumor ($p=0,255$), para discriminação entre os grupos BG e AG. Talvez este achado esteja relacionado também ao aspecto heterogêneo do tumor e à exclusão em nossa análise das áreas de macronecrose onde se espera maior presença de Lac.

7.3.5 LIPÍDIOS

A presença de pico de Lip (0,9 e 1,3-1,4 ppm) é definitivamente patológica, uma vez que estas macromoléculas não são detectáveis, a menos que um processo patológico severo libere triglicerídeos e ácidos graxos de cadeia longa, identificados na ERM, indicando degradação da membrana celular, e o pico de Lip pode dominar o espectro em processos inflamatórios/infecciosos, necrose tumoral e infartos. O sinal de Lip comumente associado ao espectro de tumores tem sido usualmente descrito em regiões com necrose nas neoplasias sem tratamento prévio ou em necrose tumoral, decorrente de resposta ao tratamento. A presença de triglicerídeos é frequentemente detectada na ERM de tumores com

crescimento ativo e pode ser decorrente de lesão da membrana ou da mielina sem que necessariamente ocorra necrose (Danielsen, 1999).

Li e cols, identificaram significativa correlação entre o volume de necrose e a elevação dos níveis de Lip. No artigo, os autores observaram que, embora todos os pacientes com macronecrose apresentassem elevação dos valores de Lip, um tumor grau III e um tumor grau IV, sem necrose evidente, e dois tumores grau IV com macronecrose mínima, também apresentaram elevação significativa do pico de Lip. Os autores observaram também que em nenhum tumor BG e na maioria dos tumores de AG foram detectados picos elevados de Lip, sugerindo que este metabólito pode ser considerado um indicador de malignidade tumoral, auxiliando na graduação dos tumores gliais (Li et al., 2005). Como já reportado previamente, uma explicação para a presença de Lip em regiões sem necrose evidente seria que as áreas necróticas menores do que $3 \times 3 \times 6 \text{ mm}^3$ que usualmente estão abaixo da capacidade de resolução da RM convencional, contribuem de forma significativa para o sinal de Lip na ERM, como demonstraram Poptani e cols. que observaram na maioria dos gliomas de AG o sinal de Lip em áreas de macronecrose, assim como em áreas onde a necrose não era evidente (Poptani et al., 1995). Este achado pode ser explicado pelo fato de que a presença de Lip na ERM é mais sensível para detecção de necrose do que a RM convencional, como demonstrado nos dados da figura 18. Outra publicação recente descreve que, em estudo com 143 pacientes portadores de gliomas, o pico de Lip estava significativamente elevado nos GBMs (Chang et al., 2009). Em outro artigo, baseado na análise

da discriminação logística de tumores neuroepiteliais, observou-se que a presença de Lip foi o fator mais significativo na diferenciação entre tumores graus II e III, e entre graus III e IV (Yamasaki et al., 2005).

Em concordância com os artigos mencionados, em nosso trabalho encontramos diferença estatisticamente significativa entre tumores de BG e AG, quando considerados os valores da média de Lip ($p=0,001$), assim como quando usamos a média da razão entre Lip e Cr ($p=0,023$). Podemos concluir que, uma vez que nosso espectro foi obtido na porção sólida do tumor, a micronecrose pode ser detectada por meio do pico de Lip observado na ERM, mesmo antes desta ser evidente ao exame de RM convencional.

Em nosso estudo, o Lip mostrou maior poder discriminatório em relação aos outros metabólitos estudados provavelmente porque nossa amostra de tumores AG foi constituída sobretudo de GBMs.

7.4 COMBINAÇÃO E CORRELAÇÃO DA PERFUSÃO, DIFUSÃO E ESPECTROSCOPIA NA GRADUAÇÃO DOS TUMORES GLIAIS

Em nosso estudo, observamos diferença significativa entre os grupos BG e AG, para os valores médios de VSCr, Lip e da razão Lip/Cr, com maiores valores no grupo de AG e para os valores médios de Cr que apresentaram maior valor no grupo de BG. O VSCr foi o parâmetro isolado que mostrou maior capacidade discriminatória entre os grupos BG e AG, com maior poder estatístico, sensibilidade e VPN. Dentre os metabólitos analisados na ERM, o Lip foi o parâmetro que apresentou maior especificidade e VPP, com bom poder estatístico.

Considerando-se que, em nossa amostra, o grupo de tumores de AG é constituído, sobretudo por GBMs, a presença de VSCr aumentado e sinal de Lip aumentado é esperada, e pode ser explicada pela composição histológica desse tipo de tumor, onde observamos vascularização significativamente aumentada, indicando maior agressividade tumoral e presença de necrose, mesmo em regiões sólidas do tumor, achado característico de GBM.

Por intermédio da análise das curvas ROC da regressão logística (Figura 21) utilizando os valores de VSCr e da Cr, observamos que houve discreto aumento da área sob a curva quando estas duas variáveis foram combinadas, em relação à curva do VSCr isolado e um aumento maior

quando comparado à curva isolada da Cr. Observamos ainda índices discretamente superiores de sensibilidade e especificidade para graduação tumoral, com maior área sob a curva, quando os parâmetros VSCr e Lip são analisados de forma combinada, em relação ao valores obtidos de VSCr de forma isolada.

Houve ainda correlação inversa entre os valores de VSCr médio e CDA mínimo, indicando que, em áreas de maior perfusão, observamos maior restrição à difusão da água. Não houve correlação entre a perfusão e os diversos metabólitos estudados na ERM, o que demonstra que as técnicas complementam-se.

Na literatura, existem poucos trabalhos que analisam conjuntamente as três técnicas para a graduação tumoral, e o restante desta discussão será dedicado à comparação com publicações de estudos semelhantes ao nosso trabalho.

Na comparação com os principais estudos multiparamétricos publicados recentemente, observamos algumas diferenças nos materiais e métodos utilizados e nos resultados obtidos. As principais diferenças na metodologia utilizada e dos resultados dos trabalhos multiparamétricos que foram comparados com nosso estudo estão sumarizados nos dados da Tabela 13.

Tabela 13 - Comparação da metodologia e resultados dos diversos trabalhos multiparamétricos com o trabalho atual.

	Estudo atual	Zonari e cols	Catalaa e cols	Tzika e cols	Yang e cols	Di Constanzo e cols	Law e cols
Campo magnético	1,5 T	1,5 T	1,5 T	1,5 T	1,5 T	3 T	1,5 T
N da amostra	56	105	67	21 (crianças)	17	31	160
Tipo histológico	Astrocíticos	Astrocíticos	Astrocíticos	Neuroepiteliais	Astrocíticos (oligodendrogliomas)	Astrocíticos (oligodendrogliomas)	Astrocíticos (oligodendrogliomas)
Perfusão	EPIGE	EPIGE	EPISE	EPIGE	EPIGE	EPIGE	EPIGE
Dose	0,2 mmol/kg	0,1 mmol/kg	0,2 mmol/kg	0,1 mmol/kg	0,1 mmol/kg	0,7 mmol/kg	0,1 mmol/kg
Pré dose	sim	não	não	não	não	não	não
Referência VSCRr	Simétrico	Simétrico	Substância branca	Substância branca	Substância branca	Simétrico	Substância branca
VSCR	VSCR > 2	< VSCR	< VSCR	< VSCR	< VSCR	< VSCR	< VSCR
Espectroscopia	Multivoxel	Single voxel	Multivoxel	Multivoxel	Multivoxel	Multivoxel	Multivoxel
Metabólitos	Cr, Lip, Lip/Cr	Naa/Cr e Co/Cr	Lip/Naa	Cotu/Conl e Lip	Co/Naa, Cotu/Conl Naa/Cr	Cotu/Conl, Naatu/Naanl, Lip	Co/Cr, Co/Naa e Naa/Cr
CDA	não	não	não	não	sim	não	x
Combinação	VSCR+Cr VSCR+Lip	VSCR+Naa/Cr	x	x	x	VSCR+Lip	VSCR+Co/Cr e Naa/Cr
Correlação	VSCR e CDA (-)	x	VSCR e Co (+) VSCR e CDA(-)	VSCR e Co (+), Co e CDA (-) VSCR e CDA (-)	VSCR e CDA (-) Co e CDA (-)	x	x
Melhor parâmetro isolado	VSCR	VSCR	x	Cotu/Conl	Co/Naatu	x	VSCR

Nota: (x) não realizado; (+) correlação positiva; (-) correlação negativa; CDA: coeficiente de difusão aparente; Co: colina; Cr: creatina; Lip: lipídio; Naa: N-acetilaspártato; nl: normal; tu: tumor; VSCR: volume sanguíneo cerebral relativo.

Metade dos estudos incluiu oligodendrogliomas em sua amostra, mas em nosso estudo incluímos somente tumores astrocíticos. O campo magnético utilizado para aquisição das imagens foi na grande maioria de 1,5T, e só um deles utilizou campo magnético de 3T.

Para o estudo da perfusão cerebral na maioria dos trabalhos, foi utilizada a sequência EPI/GRE e só em um dos estudos os autores optaram por empregar a sequência EPI/SE. Somente no nosso estudo, utilizamos a administração da pré-dose de gadolínio em todos os pacientes e administramos o dobro da dose para aquisição da perfusão, enquanto nos outros trabalhos não foi usada a pré-dose do meio de contraste e a grande maioria utilizou dose simples de gadolínio. Também observamos diferenças na análise do VSCr, em que quatro trabalhos utilizaram a substância branca para comparação, e em outros três, incluindo o nosso, a comparação foi realizada com o a região simétrica contralateral de aparência normal. Em dois dos quatro trabalhos que fizeram referência ao melhor parâmetro na discriminação entre tumores de BG e AG, a medida do VSCr foi a mais eficaz, como observado por nós.

No estudo da ERM, somente em um dos trabalhos optou-se pela aquisição *single voxel*, os demais usaram *multivoxel*, e só em nosso estudo foi empregado o programa LCModel para a quantificação dos metabólitos. A escolha das razões metabólicas e dos metabólitos utilizados foi variada, e em quatro de seis trabalhos o Lip e razões envolvendo esse metabólito mostraram diferença significativa para graduação tumoral. Só um dos trabalhos verificou diferença significativa para valores da Cr na diferenciação

entre os grupos de tumores, assim como foi observado em nosso estudo. Em dois estudos, as relações metabólicas envolvendo a Co foram o melhor parâmetro na diferenciação entre tumores BG e AG.

Quando o parâmetro analisado foi o CDA, só um estudo encontrou diferença significativa entre tumores de BG e AG. Os demais não verificaram papel relevante da difusão para a graduação tumoral, em concordância ao que foi evidenciado em nosso trabalho.

Em todos os trabalhos que constam dos dados da Tabela 13 que fizeram a combinação dos métodos ($n=3$), houve aumento da sensibilidade e especificidade quando utilizados o VSCr e a ERM, como em nossa análise onde a combinação do VSCr e Lip, e VSCr e Cr aumentou o poder discriminatório para Lip e Cr de forma isolada, com discreto aumento em relação ao VSCr. Como em nosso estudo, em todos os trabalhos que analisaram a correlação entre os parâmetros ($n=3$), observou-se correlação inversa entre VSCr e CDA .

Em estudo multiparamétrico (Zonari et al., 2007), foram estudados 105 tumores gliais, sendo 40 grau II, 45 grau III e 20 grau IV. Os autores estudaram cada modalidade individualmente para avaliar a melhor acurácia entre os parâmetros e combinaram o CDA mínimo, VSCr máximo, Co/Cr máximo e Naa/Cr mínimo, avaliando se houve aumento da sensibilidade e especificidade na graduação tumoral. No trabalho, encontraram diferenças significativas das razões de Naa/Cr e Co/Cr no tumor e dos valores de VSCr, entre tumores de BG e AG. Nenhuma diferença significativa foi encontrada para valores de CDA entre os grupos. Na análise da regressão logística, o

melhor desempenho para um parâmetro isolado foi o do VSCr, com aumento de sensibilidade e especificidade, quando combinado com os valores de Naa/Cr no tumor. Na análise da curva ROC, os autores evidenciaram alta probabilidade para neoplasia ser de AG, para valores de VSCr $>1,16$ (sensibilidade de 80% e especificidade de 78,6%) e Naa/Cr $<0,44$ (sensibilidade de 69,2% e especificidade de 80%). Em concordância com estes achados, em nosso estudo, os valores de VSCr apresentaram a maior significância estatística para graduação tumoral. Como na maioria dos trabalhos da Tabela 13, em nosso estudo também não encontramos qualquer diferença entre os grupos de BG e AG para os valores de difusão. Zonari e cols, utilizaram a técnica *single voxel*, no estudo da ERM, e no nosso estudo, assim como no restante dos trabalhos comparados, optamos pela técnica *multivoxel* que fornece melhor resolução espacial, além da vantagem de se poder estudar um maior número de vóxeis. Outra diferença em nossos achados em relação ao trabalho de Zonari e cols foi o aumento da sensibilidade e especificidade, quando combinamos VSCr e Cr, sendo mais uma vez a maior quantidade de GBMs em nossa amostra a possível razão para este achado, uma vez que como já discutido anteriormente, baixos valores de Cr podem ser observados em regiões de hipermetabolismo (Alger et al., 1990; Li et al., 2002), em tumores grau IV que, por sua vez, também apresentam áreas de maior perfusão.

Em outro trabalho (Catalaa et al., 2006) os autores também estudaram o valor diagnóstico da perfusão, difusão e espectroscopia em tumores gliais de origem astrocítica, porém com metodologia diferente de

nosso estudo, sendo a obtenção dos valores baseada na comparação das regiões do tumor que apresentaram ou não realce, sendo as RIs posicionadas sobrepostas em relação a estas áreas. Além disso, foi utilizada a sequência EPI SE na aquisição da perfusão cerebral, mas em nosso estudo utilizamos EPI GRE. No trabalho, observou-se que o valor médio do VSCr em regiões de realce de gliomas grau IV foi maior do que em regiões de realce dos astrocitomas anaplásicos, mas não houve diferença significativa entre os graus II e III. Valores de CDA não apresentaram diferença significativa entre os grupos de BG e AG, e entre as regiões que realçaram e que não apresentaram realce. Para os metabólitos analisados na ERM, o valor máximo de Lip/Naa apresentou significativo poder discriminatório entre os graus II, III e IV. Na correlação entre os parâmetros, somente para gliomas grau IV houve correlação positiva entre VSCr e Co média e significativa correlação negativa entre CDA médio e Co média e o CDA médio e VSCr médio. Em nosso estudo, também encontramos correlação negativa entre difusão e perfusão, porém entre CDA mínimo e VSCr médio. No estudo de Catalaa e cols., não foi realizada a combinação dos diversos parâmetros para verificar se haveria aumento da sensibilidade/especificidade.

Em estudo multiparamétrico de tumores cerebrais em crianças (Tzika et al., 2003), os autores encontraram correlação inversa entre valores de Co e CDA e, como em nosso estudo, entre valores de VSCr e CDA, e diferença significativa entre tumores de BG e AG para a Co normalizada e valores de lip. Diferentemente de nosso trabalho, nesse estudo foram incluídos na

amostra diversos tipos histológicos de tumores neuroepiteliais. Além disso, também foram incluídas áreas de necrose na aquisição dos diversos parâmetros e utilizou-se ainda dose simples de gadolínio (0,1 mmol/kg) para o estudo de perfusão. Não foi realizada combinação entre os parâmetros, nem foram propostos valores de corte para o CDA, VSCr e metabólitos estudados para diferenciação entre tumores de BG e AG.

Em estudo prospectivo de 17 tumores de origem glial (incluindo oligodendrogliomas), Yang e cols. conseguiram discriminar tumores de BG e AG, utilizando o CDA mínimo, razão entre Co e Naa no tumor, razão entre Co no tumor e Cr no tecido normal, Naa/Cr no tumor e máximo VSCr. Correlação inversa estatisticamente significativa foi observada entre VSCr e CDA, e entre CDA e Co/Cr, entretanto nenhuma correlação foi encontrada entre VSCr e qualquer metabólito (Yang et al., 2002).

Di Constanzo e cols. estudaram 31 pacientes com gliomas cerebrais, incluindo gangliogliomas e oligodendrogliomas, sendo 10 de BG e 21 de AG, com estudo multiparamétrico em aparelho de 3T. Neste estudo (Di Costanzo et al., 2006), os autores objetivaram a graduação tumoral e também a avaliação da extensão tumoral em áreas peritumorais, não abordada em nosso trabalho. Observaram que, nas áreas de “edema” perilesional, houve aumento da razão Co/Naa, CDA reduzido e valores aumentados de VSCr. Nas regiões de aparência normal próximas às áreas de realce do tumor, foram observados aumento de Co e da razão Co/Naa. Neste trabalho, houve diferença significativa para os tumores de AG entre todos os parâmetros, exceto com valores de CDA, e houve aumento da acurácia na discriminação,

tanto na massa tumoral como nas margens do tumor, quando as variáveis de ERM e VSCr foram incluídas, especialmente, para os valores de lipídios. Em concordância com nosso estudo, valores de Cr foram menores em tumores de AG.

Em outro estudo, Law e cols. estudaram a ERM e perfusão cerebral para graduação tumoral, em 160 pacientes, com tumores gliais, incluindo oligodendrogliomas. Neste trabalho, não foram incluídos dados de difusão. Como no nosso estudo foi adquirida ERM multivoxel, porém, o voxel contralateral escolhido para comparação foi posicionado na substância branca de aparência normal, e não simétrico à lesão. Os autores observaram diferenças significativas para as razões metabólicas de Co/Cr e Co/Naa, propondo valores de corte, embora com baixa especificidade (57,5%), de 1,56 para Co/Cr e 1,60 para Co/Naa. Ressaltamos ainda que nesse estudo os autores não quantificaram formalmente os valores de Lip e a análise de sua contribuição para discriminação entre tumores de BG e AG, não foi realizada. Os autores observaram ainda que houve aumento da sensibilidade, especificidade, VPP e VPN quando os valores de VSCr, Co/Cr e Naa/Co foram combinados.

Em resumo, podemos dizer que a maioria dos trabalhos concorda que a medida do VSCr é um excelente parâmetro isolado para a graduação tumoral, o estudo de ERM agrega sensibilidade e especificidade quando combinado ao estudo de perfusão, e a grande maioria não encontrou utilidade do CDA para a diferenciação entre tumores AG e BG.

7.5 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Uma limitação de nosso estudo foi que, embora tenhamos escolhido a área do tumor mais representativa da porção sólida, utilizamos ERM multivoxel 2D com aquisição de corte único, o que limitou a cobertura de todo o volume tumoral, potencialmente podendo subestimar a quantificação dos metabólitos presentes em regiões não estudadas.

Dentro do grupo de tumores de AG, não foi possível a discriminação entre astrocitomas anaplásicos e GBMs, em razão da maior quantidade desses últimos em nossa amostra.

Outra imperfeição de nosso estudo a ser mencionada foi o baixo número de tumores BG de nossa amostra, decorrente de uma limitação causada pela menor incidência natural destes tumores dentro do grupo de astrocitomas, sendo muito mais raros que os astrocitomas anaplásicos e GBMs. Em nossa casuística, há uma desproporção significativa entre o grupo de tumores de AG, com 40 pacientes, em relação aos tumores de BG, constituído por 16 pacientes, o que pode interferir na precisão das estimativas feitas pela análise estatística baseada nesta informação, pois, quanto maior for o número de pacientes em um determinado grupo maior será a precisão do teste aplicado. Quando há grande diferença entre os grupos, a informação da variabilidade das observações em cada classe pode ser subestimada.

8 Perspectivas Futuras

As perspectivas futuras estão relacionadas ao desenvolvimento tecnológico constante da RM com utilização de aparelhos de maior campo (3T) e aprimoramento de novas técnicas como permeabilidade, *arterial spin labeling*, espectroscopia tridimensional e aplicação dos tensores de difusão.

O mesmo tipo de avaliação englobando o estudo da perfusão cerebral, espectroscopia de prótons e difusão poderá ser feito em aparelho de 3T, o que deverá proporcionar melhor qualidade de resolução, com maior relação sinal-ruído, possivelmente, aumentando a sensibilidade e especificidade dos métodos.

Outra abordagem futura seria a análise da permeabilidade endotelial dos vasos em tumores cerebrais que fornece informações valiosas sobre a integridade e morfologia da BHE. Estudos recentes (Cha et al., 2006) demonstraram correlação da estimativa quantitativa da permeabilidade microvascular e achados de histopatologia por meio de valores de coeficiente de transferência (K_{trans}) que representam o grau de permeabilidade endotelial. O estudo da permeabilidade vascular apresenta algumas vantagens claras sobre a perfusão $T2/T2^*$, como maior resolução espacial e maior resistência aos artefatos de susceptibilidade magnética. Os dados de permeabilidade podem ser obtidos durante a administração da pré-dose de gadolínio utilizada antes da sequência EPI-GRE para a aquisição da perfusão $T2/T2^*$. Se por hipótese consideramos que os valores de VSCr e

de K_{trans} podem medir diferentes parâmetros da angiogênese tumoral, podemos verificar a eficácia da análise conjunta desses diferentes dados ao acrescentar sensibilidade e especificidade na graduação tumoral.

Também é um projeto para estudo futuro avaliar a correlação dos achados histopatológicos dos tumores com a perfusão cerebral quantitativa por meio da técnica *arterial spin labeling* (ASL) e estudar sua efetividade na graduação dos tumores gliais. Em artigo previamente publicado (Warmuth et al., 2003), os autores observaram correlação estreita entre os métodos de ASL e perfusão T2/T2*, com valores comparáveis do fluxo sanguíneo tumoral em ambos os métodos. A técnica ASL utiliza a água como contraste intrínseco por meio da indução de alteração dos spins do tecido hidratado nos capilares, portanto, tem a vantagem de não requerer administração de contraste extrínseco. Com isso, nenhum meio de contraste afeta as propriedades físico-químicas ou fisiológicas do sangue. O método ASL também fornece quantificação absoluta mais confiável do VSC, já que não é afetado pelos efeitos da permeabilidade vascular observados na presença de quebra da BHE. Além disso, a técnica ASL é menos sensível a variações de susceptibilidade que resultam da presença de calcificação e/ou hemorragia intratumoral.

Outra área de interesse para estudo futuro é a realização de espectroscopia de prótons tridimensional utilizando a técnica *proton echo planar spectroscopy imaging* (PEPSI). A aquisição tridimensional é desejável, pois possibilita grande volume de cobertura, com menor espessura de corte, potencialmente envolvendo todo tumor e o tecido

cerebral normal em uma única aquisição. Além disso, a técnica 3D/PEPSI possibilita a utilização de TEs mais curtos com aumento da sensibilidade na detecção dos metabólitos (Posse et al., 1994). Também é possível obter supressão mais eficaz dos lipídios presentes na gordura extracraniana, reduzindo a contaminação do espectro, que claramente compromete a identificação e quantificação de alterações metabólicas, apresentando menor susceptibilidade a artefatos decorrentes de desvio químico (Posse et al., 1997). Outra vantagem desta técnica é o preenchimento de forma elíptica do espaço K durante a aquisição dos dados da ERM, com substancial redução no tempo da sequência, mantendo relação S/N que se assemelha a de uma aquisição convencional, o que favorece boa resolução espacial (Xu et al., 2006).

Também como projeto futuro, seria interessante determinar a utilidade da RM com tensor de difusão para graduação tumoral. Pela construção dos mapas de tratografia, podemos, hipoteticamente, definir um padrão de envolvimento tumoral dos principais tratos de substância branca. Também é possível obter medidas da fração de anisotropia (FA). Em teoria, a FA estaria reduzida nos tumores gliais, sobretudo, no grupo AG em razão de sua alta celularidade. O tensor de difusão também pode ser utilizado no estudo do edema peritumoral, visto que a heterogeneidade dentro do tumor pode causar imprecisão para graduação tumoral, pela presença de necrose e artefatos de susceptibilidade. Em estudo anterior (Lu et al., 2003), os autores demonstraram que embora não houvesse diferença significativa entre os valores de FA entre metástases e gliomas de AG, a análise da

região peritumoral evidenciou valores significativamente maiores da difusibilidade nas metástases.

9 Conclusões

1. VSCr, os valores absolutos da Cr e Lip e a razão Lip/Cr apresentaram potencial discriminatório significativo na graduação pré operatória dos tumores gliais, e o VSCr foi o melhor parâmetro isolado.
2. Observamos que o VSCr apresentou maior sensibilidade e VPN entre todos parâmetros estudados, e Lip, sobretudo Lip/Cr maior especificidade e VPP.
3. Observamos correlação negativa entre os parâmetros de VSCr médio e CDA mínimo, mas o CDA não diferenciou entre os grupos BG e AG.
4. A combinação dos três métodos evidenciou que a análise combinada de valores de VSCr e Cr, e de VSCr e Lip aumenta a sensibilidade e a especificidade na discriminação entre tumores de BG e AG, em comparação à utilização desses parâmetros de forma isolada.

ANEXO A

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
DA
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Instruções para preenchimento no verso)

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE :
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M F
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO Nº APTO:
BAIRRO: CIDADE
CEP: TELEFONE: DDD (.....)
2. RESPONSÁVEL LEGAL
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
DOCUMENTO DE IDENTIDADE : SEXO: M F
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO: Nº APTO:
BAIRRO: CIDADE:
CEP: TELEFONE: DDD (.....)

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA:
CORRELAÇÃO DE ACHADOS DE ESPECTROSCOPIA DE PRÓTONS COM MÚLTIPLOS VOLUMES DE INTERESSE E DA PERFUSÃO CEREBRAL POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA EM PACIENTES PORTADORES DE TUMORES INTRACRANIANOS DE ORIGEM GLIAL.

PESQUISADOR: Rita de Cassia Maciel Pincerato e Dra Maria Concepcion Garcia Otaduy

CARGO/FUNÇÃO: **Doutoranda do departamento de radiologia da FMUSP e Física do departamento de radiologia da FMUSP**

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº: **72552**

UNIDADE DO HCFMUSP: **INRAD**

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCO RISCO MÍNIMO **X** RISCO MÉDIO
RISCO BAIXO RISCO MAIOR

(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 4 anos

III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA CONSIGNANDO:

1. justificativa e os objetivos da pesquisa; 2. procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais; 3. desconfortos e riscos esperados; 4. benefícios que poderão ser obtidos; 5. procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo.

O paciente que tem um tumor no cérebro fará um exame de ressonância magnética. Neste exame o paciente fica deitado num tubo, onde há um barulho bem alto, e são realizadas imagens do cérebro. Durante a realização do exame a única coisa que o paciente tem que fazer é ficar bem quieto, e na metade do exame injeta-se um líquido na veia para ver melhor o tumor no cérebro. Além do exame convencional serão realizadas sequências de perfusão e espectroscopia por RM, que poderão ajudar no diagnóstico e tratamento do tumor, tendo como único inconveniente o aumento do tempo do seu exame em cerca de 15 minutos. Este exame vai ajudar o médico a decidir qual o melhor tratamento para a sua doença. Só não pode fazer este exame, o paciente que tem marca-passo, clip de aneurisma cerebral ou prótese de ouvido. Como há uma entrevista antes do exame, se você tiver qualquer dúvida é só perguntar para o enfermeiro ou médico.

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA CONSIGNANDO:

1. acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas.
 2. liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência.
 3. salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.
- A identidade dos participantes não será divulgada. Caso isto seja importante só será feito com o consentimento do paciente ou seus responsáveis.
4. disponibilidade de assistência no HCFMUSP, por eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa.
 5. viabilidade de indenização por eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa.

V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.**VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:****VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO**

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

São Paulo, de de .

assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome Legível)

ANEXO B

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
RUA JUSCELINO KUBITZK, 150 - JARDIM PÉROLA
05508-900 - SÃO PAULO - SP

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 25.05.06, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº 427/06, intitulado: " **Correlação de achados de espectroscopia de prótons com múltiplos volumes de interesse e da perfusão cerebral por ressonância magnética em pacientes portadores de tumores intracranianos de origem glial**" apresentado pelo **Departamento de Radiologia**, inclusive Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10.10.1996, inciso IX. 2, letra "c")

Pesquisador(a) Responsável: **Dra. Maria C. Garcia Otaduy**

Pesquisador (a) Executante: **Rita de Cassia Maciel Pincerato**

CAPPesq, 25 de Maio de 2006.

PROF. DR. EUCLIDES AYRES DE CASTILHO
Presidente da Comissão de Ética para Análise
de Projetos de Pesquisa

ANEXO C

American Journal of Neuroradiology

AJNR

**The Role of Diffusion-Weighted Magnetic Resonance
Imaging in Regions of Peritumoral Edema in the
Determination of Glioma Grading**

Journal:	<i>American Journal of Neuroradiology</i>
Manuscript ID:	AJNR-10-00899
Manuscript Type:	Original Research
Classifications:	Brain tumors, Diffusion-weighted imaging, Magnetic resonance imaging

SCHOLARONE™
Manuscripts

ANEXO D

Online Manuscript Submission

Neuroradiology

Editorial Manager(tm) for Neuroradiology
Manuscript Draft

Title: Differentiation of high and low grade gliomas by proton magnetic resonance spectroscopic imaging

Article Type: Original

Section/Category: Diagnostic Neuroradiology

Keywords: multi-voxel, spectroscopy, glioma, grading

Corresponding Author: Rita de Cassia Maciel Pincerato, M.D.

Corresponding Author's Institution:

First Author: Rita de Cassia Maciel Pincerato, M.D.

Order of Authors: Rita de Cassia Maciel Pincerato, M.D.;Claudia Costa Leite, PhD;Katia Maciel Pincerato,M.D.;Eduardo Cameiro Lima, PhD;Maria Concepcion Garcia Otaduy, PhD

Abstract: Purpose: To evaluate the hypothesis that multi-voxel proton magnetic resonance spectroscopy imaging is able to aid in the differentiation of high-grade vs. low-grade gliomas and to determine which metabolite generates better performance in predicting high-grade gliomas.

Methods: Fifty-six patients (21 women, 35 men) with untreated gliomas underwent multi-voxel 1HMRSI while the area of the solid part of the tumor and the contralateral area were studied. Histological analysis showed 16 low-grade tumors (9 astrocytomas, 3 oligoastrocytomas, 4 pilocytic astrocytomas) and 40 high-grade tumors (37 glioblastomas multiformes, 2 anaplastic astrocytomas, 1 anaplastic oligoastrocytoma). Quantification of the spectra was performed with LCModel software. Mean, maximum and minimal values of each metabolite or metabolite ratio were calculated.

Results: The mean values of lipid (Lip) were significantly higher in the high-grade group ($p=0.001$). The mean value of creatine (Cr) was significantly lower in the high-grade group ($p=0.013$), whereas mean values of N-acetylaspartate (NAA) and choline (Cho) were lower in the high-grade group ($p=0.082$ and 0.088 , respectively). Lactate (Lac) peaks were found more frequently in high-grade tumors, but this did not reach statistical significance. The mean values of metabolite ratios using Cr in tumor as a reference were higher for the Lip/Cr ratio in high-grade tumors ($p=0.001$). The mean of Cho in tumor over Cho in normal tissue tended to be lower in the high-grade group ($p=0.085$).

Conclusions: Multi-voxel 1H-MRS is useful in the preoperative assessment of tumor grade. Lip and Cr values and the Lip/Cr ratio had the best diagnostic performance in predicting glioma grade.

ANEXO E - Valores absolutos médios, mínimos e máximos, de Cr, Naa e Co por paciente do grupo AG

Pac	Grau	MédiaCr	MinCr	MaxCr	MédiaNaa	MinNaa	MaxNaa	MédiaCo	MinCo	MaxCo
1	AG	370	0	990	0	0	0	612	345	972
2	AG	0	0	0	0	0	0	440,25	323	638
3	AG	104	0	520	361,4	0	1002	277,6	231	352
4	AG	0	0	0	479,5	0	959	576	421	731
5	AG	729,5	0	1470	0	0	0	402,88	0	611
6	AG	0	0	0	370,5	0	741	419,5	273	566
7	AG	197,8	0	989	321,8	0	877	364,2	0	721
8	AG	634,33	0	1160	483,83	0	1350	382,5	0	821
9	AG	311,44	0	1030	206,89	0	988	246,78	0	469
10	AG	350,5	0	645	146,25	0	585	568,75	388	852
11	AG	168,25	0	673	196	0	784	258	208	297
12	AG	441,17	0	1220	125,5	0	753	635,67	305	952
13	AG	84	0	840	0	0	0	153,9	0	375
14	AG	391,67	0	595	0	0	0	365	303	456
15	AG	226,67	0	689	406,67	0	1300	272,5	0	381
16	AG	568,67	0	1110	213,33	0	640	526,67	274	693
17	AG	219,67	0	659	275	0	825	593,33	453	687
18	AG	541,88	0	1100	909,13	0	1270	544,13	387	692
19	AG	0	0	0	0	0	0	1806,75	0	7227
20	AG	0	0	0	0	0	0	275,5	0	408
21	AG	974	801	1210	472	0	1170	396,25	270	629
22	AG	0	0	0	0	0	0	222	0	444
23	AG	0	0	0	0	0	0	204	0	408
24	AG	16113	16113	16113	23774	23774	23774	8814	8814	8814
25	AG	430,5	0	861	305,5	0	611	387,5	304	471
26	AG	696	619	773	0	0	0	490,5	439	542
27	AG	0	0	0	0	0	0	384,25	240	511
28	AG	680,5	0	1190	340,38	0	1380	478,5	294	615
29	AG	0	0	0	0	0	0	127,5	0	487
30	AG	941,5	912	971	0	0	0	531,5	446	617
31	AG	368,2	0	940	244	0	1220	477,8	372	591
32	AG	325,5	0	651	550	0	1100	241,5	0	483
33	AG	832	765	960	346,67	0	1040	427,67	332	478
34	AG	279	0	837	0	0	0	338,33	0	592
35	AG	284	0	826	180,88	0	820	275,13	0	458
36	AG	362	0	816	212,22	0	902	514,22	233	806
37	AG	1985	1790	2180	762,5	726	799	804,5	539	1070
38	AG	1245,5	802	1700	290	0	1160	898	568	1220
39	AG	208	0	624	310	0	930	398,67	348	439
40	AG	677,75	0	1290	391,5	0	900	576,88	327	789

Nota: AG:alto grau; Cr:creatina; Naa: n-acetilaspartato; Co: colina; Min:mínimo; Max:máximo

ANEXO F - Valores absolutos médios, mínimos e máximos, de Cr, Naa e Co por paciente do grupo BG

Pac	Grau	MédiaCr	MinCr	MaxCr	MédiaNaa	MinNaa	MaxNaa	MédiaCo	MinCo	MaxCo
41	BG	231,7	0	972	0	0	0	339,5	0	667
42	BG	640,17	0	1090	512,17	0	1190	1144,33	418	1740
43	BG	981,63	592	1300	506,81	0	1470	552	303	670
44	BG	1018,27	0	2150	55	0	605	791,64	0	1550
45	BG	831,6	548	1070	622,6	0	1150	658,2	337	1120
46	BG	350	0	700	605	0	1210	264,5	250	279
47	BG	12246,5	0	22953	12161,5	0	29639	14674,33	9749	18911
48	BG	445	0	890	0	0	0	523,5	447	600
49	BG	339	0	678	448	0	896	590,5	586	595
50	BG	0	0	0	0	0	0	319	319	319
51	BG	336,67	0	1010	0	0	0	440,67	270	528
52	BG	865,5	721	1010	650	0	1300	367,5	331	404
53	BG	944,5	754	1130	0	0	0	595,25	490	821
54	BG	824,17	0	1580	691,67	0	1370	499,83	266	797
55	BG	1246,67	960	1500	981,67	0	1780	663	420	790
56	BG	574,6	0	904	476,8	0	1690	315,2	0	507

Nota: BG: baixo grau; Cr: creatina; Naa: N-acetilaspártato; Co: colina; Min: mínimo; Max: máximo

ANEXO G - Valores absolutos médios, mínimos e máximos, de Lip e Lac por paciente do grupo AG

Pac	Grau	MédiaLip	MinLip	MaxLip	MédiaLac	MinLac	MáxLac
1	AG	215,56	0	1940	479	0	1410
2	AG	855	0	3420	0	0	0
3	AG	612	0	3060	707,2	0	2400
4	AG	0	0	0	0	0	0
5	AG	3051,25	0	8070	625	0	2700
6	AG	3330	2230	4430	0	0	0
7	AG	418	0	2090	2462	790	3250
8	AG	335	0	2010	256,67	0	1540
9	AG	564,44	0	3070	1385,56	0	4590
10	AG	1297,5	0	5190	0	0	0
11	AG	622,5	0	2490	0	0	0
12	AG	0	0	0	0	0	0
13	AG	1293	0	6540	903	0	7580
14	AG	2606,67	0	4570	1613,33	1330	1880
15	AG	1258,33	0	6270	1066,33	0	2460
16	AG	1443,33	0	4330	440	0	1320
17	AG	0	0	0	591,67	0	1020
18	AG	0	0	0	0	0	0
19	AG	21680	0	86720	17746,5	2228	31363
20	AG	3230	0	7120	0	0	0
21	AG	0	0	0	0	0	0
22	AG	3625	0	7250	0	0	0
23	AG	3240	0	6480	2050	1680	2420
24	AG	0	0	0	0	0	0
25	AG	0	0	0	475,5	0	951
26	AG	0	0	0	630	0	1260
27	AG	4482,5	0	9870	0	0	0
28	AG	0	0	0	492,88	0	1500
29	AG	3815	0	8120	1505	0	5890
30	AG	0	0	0	0	0	0
31	AG	1606,6	413	2140	0	0	0
32	AG	2113	966	3260	0	0	0
33	AG	2436,67	0	4030	0	0	0
34	AG	603,33	0	1810	1493,33	0	3370
35	AG	5027,5	0	9970	721,25	0	3760
36	AG	2230,78	0	5690	0	0	0
37	AG	993,5	897	1090	0	0	0
38	AG	257,5	0	1030	0	0	0
39	AG	456,67	0	1370	0	0	0
40	AG	467,25	0	1370	0	0	0

Nota: AG: alto grau; Lip: lipídio; Lac: lactato; Min: mínimo; Max: máximo

ANEXO H - Valores absolutos médios, mínimos e máximos de Lip e Lac por paciente do grupo BG

Pac	Grau	MédiaLip	MinLip	MaxLip	MédiaLac	MinLac	MáxLac
41	BG	0	0	0	3422	2130	5320
42	BG	0	0	0	0	0	0
43	BG	0	0	0	71,88	0	1150
44	BG	412,73	0	3460	597,27	0	3940
45	BG	0	0	0	1170	0	2320
46	BG	0	0	0	0	0	0
47	BG	0	0	0	0	0	0
48	BG	0	0	0	885	0	1770
49	BG	0	0	0	555	0	1110
50	BG	0	0	0	0	0	0
51	BG	2093,33	0	6280	0	0	0
52	BG	0	0	0	419	0	838
53	BG	372,5	0	1490	1065	0	4260
54	BG	333,83	0	1620	0	0	0
55	BG	201,5	0	671	0	0	0
56	BG	783,8	0	4220	2612	0	7020

Nota: BG:baixo grau; Lip:lipídio; Lac: lactato; Min:mínimo; Max:máximo

ANEXO I - Valores médios, mínimos e máximos das razões Naa/Cr e Co(tu)/Co(nl) por paciente do grupo AG

Pac	Grau	MédiaNaa/Cr	MinNaa/Cr	MaxNaa/Cr	MédiaCo(tu)/Co(nl)	MinCo(tu)/Co(nl)	MaxCo(tu)/Co(nl)
1	AG	0	0	0	1,78	1,13	2,72
2	AG	ND	ND	ND	1,34	1,03	1,92
3	AG	0,31	0	1,54	0,89	0,67	1,11
4	AG	ND	ND	ND	1,77	1,29	2,25
5	AG	0	0	0	1,05	0	1,91
6	AG	ND	ND	ND	0,78	0,73	0,82
7	AG	0,15	0	0,74	1,36	0	2,9
8	AG	0,56	0	1,19	1,14	0	2,45
9	AG	0,14	0	0,84	0,73	0	1,39
10	AG	0,32	0	1,29	1,85	1,26	2,78
11	AG	0,29	0	1,16	0,76	0,61	0,87
12	AG	0	0	0	1,77	0,85	2,65
13	AG	0	0	0	0,56	0	1,37
14	AG	0	0	0	0,88	0,72	1,1
15	AG	0,6	0	1,93	0,74	0	1,03
16	AG	0,19	0	0,57	1,24	0,64	1,64
17	AG	0,42	0	1,25	2,54	1,94	2,94
18	AG	0,54	0	1,15	1,83	1,3	2,33
19	AG	ND	ND	ND	0,32	0	1,26
20	AG	ND	ND	ND	0,83	0	1,22
21	AG	0,58	0	1,46	1,56	1,06	2,47
22	AG	ND	ND	ND	0,3	0	0,6
23	AG	ND	ND	ND	0,52	0	1,03
24	AG	1,47	1,47	1,47	0,79	0,79	0,79
25	AG	0,35	0	0,7	1,59	1,25	1,93
26	AG	0	0	0	1,42	1,27	1,57
27	AG	ND	ND	ND	1,28	0,8	1,7
28	AG	0,38	0	1,15	1,44	0,88	1,85
29	AG	ND	ND	ND	0,4	0	1,54
30	AG	0	0	0	2,45	2,05	2,84
31	AG	0,26	0	1,29	1,26	1,05	1,59
32	AG	0,84	0	1,68	0,63	0	1,25
33	AG	0,36	0	1,08	0,98	0,76	1,1
34	AG	0	0	0	0,69	0	1,21
35	AG	0,25	0	1,06	0,7	0	1,17
36	AG	0,35	0	1,94	1,27	0,57	1,99
37	AG	0,38	0,36	0,4	2,13	1,42	2,83
38	AG	0,23	0	0,92	2,67	1,69	3,63
39	AG	0	0	0	1,1	0,96	1,21
40	AG	0,51	0	1,44	1,31	0,74	1,8

Nota: AG: alto grau; Cr: creatina; Naa: N-acetilaspártato; Co: colina; tu: tumor; nl: normal; Min: mínimo; Max: máximo; ND: não disponível (denominador igual a zero).

ANEXO J - Valores médios, mínimos e máximos das razões Naa/Cr e Co(tu)/Co(nl) por paciente do grupo BG

Pac	Grau	MédiaNaa/Cr	MinNaa/Cr	MaxNaa/Cr	MédiaCo(tu)/Co(nl)	MinCo(tu)/Co(nl)	MaxCo(tu)/Co(nl)
41	BG	0	ND	0	1,19	0	2,34
42	BG	0,56	ND	1,3	4,02	1,47	6,14
43	BG	0,51	0	1,73	1,55	0,85	1,88
44	BG	0,03	ND	0,34	1,79	0	3,24
45	BG	1,31	0	3,41	1,87	0,96	3,19
46	BG	0,86	ND	1,72	0,97	0,81	1,12
47	BG	0,72	ND	1,79	1,43	0,95	1,85
48	BG	0	ND	0	1,7	1,45	1,94
49	BG	0,66	ND	1,32	1,03	0,81	1,25
50	BG	ND	ND	ND	0,83	0,83	0,83
51	BG	0	ND	0	1,55	0,95	1,85
52	BG	0,64	0	1,28	1,29	1,16	1,42
53	BG	0	0	0	1,65	1,36	2,28
54	BG	0,55	ND	1,09	1,78	0,95	2,84
55	BG	0,78	0	1,58	1,32	0,83	1,57
56	BG	0,61	ND	1,86	0,81	0	1,3

Nota: BG: baixo grau; Cr: creatina; Naa: N-acetilaspártato; Co: colina; tu: tumor; nl: normal; Min: mínimo; Max: máximo; ND: não disponível (denominador igual a zero).

ANEXO K - Valores médios, mínimos e máximos das razões Lac/Cr e Lip/Cr por paciente do grupo AG

Pac	Grau	Média Lac/Cr	MínimoLac/Cr	Máximo Lac/Cr	MédiaLip/Cr	MínimoLip/Cr	Máximo Lip/Cr
1	AG	1,29	ND	1,42	0,58	ND	1,95
2	AG	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3	AG	6,8	ND	4,61	5,88	ND	5,88
4	AG	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5	AG	0,85	ND	1,83	4,18	ND	5,48
6	AG	ND	ND	ND	ND	ND	ND
7	AG	12,44	ND	3,28	2,11	ND	1,8
8	AG	1,82	ND	1,32	0,52	ND	1,73
9	AG	3,31	ND	4,45	1,81	ND	2,98
10	AG	0	ND	0	3,7	ND	8,04
11	AG	0	ND	0	3,69	ND	3,69
12	AG	0	ND	0	0	ND	0
13	AG	1,1	ND	9,02	1,53	ND	7,78
14	AG	4,12	ND	3,15	6,65	ND	7,68
15	AG	4,71	ND	3,57	5,55	ND	9,1
16	AG	0,77	ND	1,18	2,53	ND	3,9
17	AG	2,69	ND	1,54	0	ND	0
18	AG	0	ND	0	0	ND	0
19	AG	ND	ND	ND	ND	ND	ND
20	AG	ND	ND	ND	ND	ND	ND
21	AG	0	0	0	0	0	0
22	AG	ND	ND	ND	ND	ND	ND
23	AG	ND	ND	ND	ND	ND	ND
24	AG	0	0	0	0	0	0
25	AG	1,1	ND	1,1	0	ND	0
26	AG	0,91	0	1,63	0	0	0
27	AG	ND	ND	ND	ND	ND	ND
28	AG	0,72	ND	1,26	0	ND	0
29	AG	ND	ND	ND	ND	ND	ND
30	AG	0	0	0	0	0	0
31	AG	0	ND	0	3,36	ND	2,27
32	AG	0	ND	0	6,49	ND	5
33	AG	0	0	0	2,92	0	4,19
34	AG	5,35	ND	4,02	2,16	ND	2,16
35	AG	2,53	ND	4,55	17,7	ND	12,07
36	AG	0	ND	0	6,16	ND	6,97
37	AG	0	0	0	0,5	0,5	0,5
38	AG	0	0	0	0,2	0	0,6
39	AG	0	ND	0	2,19	ND	2,19
40	AG	0	ND	0	0,68	ND	1,06

Nota: AG: alto grau; Lac: lactato; Cr: creatina; Lip: lipídio; ND: não disponível (denominador igual a zero).

ANEXO L - Valores médios, mínimos e máximos das razões Lac/Cr e Lip/Cr por paciente do grupo BG

Pac	Grau	Média Lac/Cr	MínimoLac/Cr	Máximo Lac/Cr	MédiaLip/Cr	MínimoLip/Cr	Máximo Lip/Cr
41	BG	14,81	0	5,47	0	ND	0
42	BG	0	ND	0	0	ND	0
43	BG	0,72	0	0,88	0	0	0
44	BG	0,58	ND	1,6	0,4	ND	1,6
45	BG	1,4	0	2,16	0	0	0
46	BG	0	ND	0	0	ND	0
47	BG	0	ND	0	0	ND	0
48	BG	1,98	ND	1,98	0	ND	0
49	BG	1,63	ND	1,63	0	ND	0
50	BG	ND	ND	ND	ND	ND	ND
51	BG	0	ND	0	6,21	ND	6,21
52	BG	0,48	0	0,82	0	0	0
53	BG	1,12	0	3,7	0,39	0	1,31
54	BG	0	ND	0	0,4	ND	1,02
55	BG	0	0	0	0,16	0	0,44
56	BG	4,54	ND	7,76	1,36	ND	4.66

Nota: BG: baixo grau; Lac: lactato; Cr: creatina; Lip: lipídio; ND: não disponível (denominador igual a zero).

ANEXO M - Valores médios, mínimos e máximos das razões Co/Cr por paciente do grupo AG

Pac	Grau	MédiaCo/Cr	MínimoCo/Cr	MáximoCo/Cr
1	AG	0,40	ND	1,13
2	AG	ND	ND	ND
3	AG	0,11	ND	0,54
4	AG	ND	ND	ND
5	AG	0,27	ND	0,72
6	AG	ND	ND	ND
7	AG	0,14	ND	0,72
8	AG	0,36	ND	1,21
9	AG	0,13	ND	0,41
10	AG	0,79	ND	1,27
11	AG	0,10	ND	0,38
12	AG	0,45	ND	1,35
13	AG	0,04	ND	0,37
14	AG	0,43	ND	0,76
15	AG	0,16	ND	0,56
16	AG	0,57	ND	1,16
17	AG	0,23	ND	0,68
18	AG	0,44	ND	1,02
19	AG	ND	ND	ND
20	AG	ND	ND	ND
21	AG	0,40	0,33	0,59
22	AG	ND	ND	ND
23	AG	ND	ND	ND
24	AG	0,54	0,54	0,54
25	AG	0,27	ND	0,54
26	AG	0,70	0,70	0,70
27	AG	ND	ND	ND
28	AG	0,46	ND	1,13
29	AG	ND	ND	ND
30	AG	0,56	0,45	0,67
31	AG	0,19	ND	0,51
32	AG	0,37	ND	0,74
33	AG	0,51	0,43	0,62
34	AG	0,17	ND	0,50
35	AG	0,20	ND	0,59
36	AG	0,47	ND	1,05
37	AG	0,40	0,30	0,49
38	AG	0,71	0,70	0,74
39	AG	0,18	ND	0,55
40	AG	0,70	ND	1,68

Nota: AG: alto grau; Co: colina; Cr: creatina; ND: não disponível (denominador igual a zero).

ANEXO N - Valores médios, mínimos e máximos das razões Co/Cr por paciente do grupo BG

Pac	Grau	MédiaCo/Cr	MínimoCo/Cr	MáximoCo/Cr
41	BG	0,18	ND	0,68
42	BG	0,64	ND	1,59
43	BG	0,56	0,40	0,71
44	BG	0,64	ND	1,08
45	BG	0,80	0,48	1,13
46	BG	0,20	ND	0,39
47	BG	0,47	ND	0,79
48	BG	0,34	ND	0,67
49	BG	0,44	ND	0,87
50	BG	ND	ND	ND
51	BG	0,17	ND	0,52
52	BG	0,44	0,32	0,56
53	BG	0,62	0,54	0,72
54	BG	0,33	ND	0,59
55	BG	0,53	0,43	0,75
56	BG	0,45	ND	0,91

Nota: BG: baixo grau; Co: colina; Cr: creatina; ND: não disponível (denominador igual a zero).

ANEXO O - Valores médios, mínimos e máximos de VSCr por paciente nos grupos de AG e BG

Pac	Grau	VSCr Máximo	VSCr Mínimo	VSCr Médio
1	AG	7,4	5,58	6,41
2	AG	6,81	4,66	5,65
3	AG	6,61	3,32	5,36
4	AG	14,07	12,12	14,73
5	AG	7,51	5,03	6,16
6	AG	13,44	7,67	10,7
7	AG	8,88	6,98	8,23
8	AG	3,54	2,17	2,87
9	AG	13,78	5,31	9,84
10	AG	5,56	4,41	4,81
11	AG	7	5,49	6,04
12	AG	7,69	5,73	6,65
13	AG	9,09	6,34	7,81
14	AG	10,97	4,85	8,52
15	AG	5,19	4,98	5,19
16	AG	4,8	3,11	4,14
17	AG	7,57	3,88	5,55
18	AG	12,55	5,21	7,68
19	AG	10,52	7,72	9,14
20	AG	7,83	6,41	7,28
21	AG	5,52	5	5,34
22	AG	5,58	3,88	4,74
23	AG	10,18	8,82	9,28
24	AG	4,22	2,53	3,41
25	AG	5,92	2,68	4,8
26	AG	7,9	5,08	6,96
27	AG	13,96	5,8	9
28	AG	16,12	11,37	13,45
38	AG	6,92	5,01	5,89
40	AG	1,66	1,55	1,6
41	BG	2,8	1,09	2,78
42	BG	1,15	1,05	1,09
43	BG	5,2	1,9	3,44
46	BG	2,66	1,33	2,02
47	BG	2	1,78	1,89
48	BG	9,34	6,96	7,99
49	BG	1,91	1,13	1,41
54	BG	15,76	7,6	10,39
55	BG	3,89	2,62	3,17
56	BG	2,03	1,61	1,76

Nota: AG: alto grau; BG: baixo grau; VSCr: volume sanguíneo cerebral relativo

ANEXO P - Valores de CDA por paciente nos grupos de AG e BG

Pac	Grau	CDA médio ($\times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$)	CDA mínimo ($\times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$)
1	AG	697	615
2	AG	752	686
3	AG	871	882
4	AG	954	902
5	AG	716	650
6	AG	845	832
7	AG	686	691
8	AG	970	969
9	AG	910	883
10	AG	743	698
11	AG	950	906
12	AG	716	668
13	AG	771	728
14	AG	888	873
15	AG	884	873
16	AG	948	889
17	AG	864	748
18	AG	831	767
19	AG	526	508
20	AG	893	867
21	AG	906	946
22	AG	1226	1140
23	AG	1181	1050
24	AG	1350	1300
25	AG	905	837
26	AG	818	778
27	AG	890	744
28	AG	762	751
38	AG	933	845
40	AG	604	564
41	BG	1793	1640
42	BG	1175	1118
45	BG	654	650
46	BG	1433	1360
47	BG	792	721
48	BG	871	782
49	BG	1345	1320
54	BG	786	748
55	BG	773	730
56	BG	1376	1320

Nota: AG: alto grau; BG: baixo grau; CDA: coeficiente de difusão aparente.

11 Referências

- Al-Okaili RN, Krejza J, Wang S, Woo JH, Melhem ER. Advanced MR imaging techniques in the diagnosis of intraaxial brain tumors in adults. *Radiographics*. 2006;26 Suppl 1:S173-89.
- Al-Okaili RN, Krejza J, Woo JH, Wolf RL, O'Rourke DM, Judy KD, *et al*. Intraaxial brain masses: MR imaging-based diagnostic strategy--initial experience. *Radiology*. 2007;243:539-50.
- 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 fluorodeoxyglucose PET. *Radiology*. 1990;177:633-41.
- Arnold DL, Shoubridge EA, Villemure JG, Feindel W. Proton and phosphorus magnetic resonance spectroscopy of human astrocytomas in vivo. Preliminary observations on tumor grading. *NMR Biomed*. 1990;3:184-9.
- Aronen HJ, Gazit IE, Louis DN, Buchbinder BR, Pardo FS, Weisskoff RM, *et al*. Cerebral blood volume maps of gliomas: comparison with tumor grade and histologic findings. *Radiology*. 1994;191:41-51.
- Aronen HJ, Glass J, Pardo FS, Belliveau JW, Gruber ML, Buchbinder BR, *et al*. Echo-planar MR cerebral blood volume mapping of gliomas. Clinical utility. *Acta Radiol*. 1995;36:520-8.
- Beauchamp NJ, Jr., Ulug AM, Passe TJ, van Zijl PC. MR diffusion imaging in stroke: review and controversies. *Radiographics*. 1998;18:1269-83; discussion 83-5.
- Boxerman JL, Schmainda KM, Weisskoff RM. Relative cerebral blood volume maps corrected for contrast agent extravasation significantly correlate with glioma tumor grade, whereas uncorrected maps do not. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2006;27:859-67.
- Bulakbasi N, Kocaoglu M, Ors F, Tayfun C, Ucoz T. Combination of single-voxel proton MR spectroscopy and apparent diffusion coefficient calculation in the evaluation of common brain tumors. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2003;24:225-33.
- Burger PC. Tumors of the Central Nervous System. In: *Atlas of Tumor Pathology - Tumors of the Central Nervous System*. Washington, DC: J Rosai, Armed Forces Institute of pathology. 25-161, 1994.

- Castillo M, Smith JK, Kwock L. Correlation of myo-inositol levels and grading of cerebral astrocytomas. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2000;21:1645-9.
- Castillo M, Smith JK, Kwock L, Wilber K. Apparent diffusion coefficients in the evaluation of high-grade cerebral gliomas. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2001;22:60-4.
- Catalaa I, Henry R, Dillon WP, Graves EE, McKnight TR, Lu Y, *et al*. Perfusion, diffusion and spectroscopy values in newly diagnosed cerebral gliomas. *NMR Biomed*. 2006;19:463-75.
- Cha S. Update on brain tumor imaging: from anatomy to physiology. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2006;27:475-87.
- Cha S, Knopp EA, Johnson G, Wetzel SG, Litt AW, Zagzag D. Intracranial mass lesions: dynamic contrast-enhanced susceptibility-weighted echo-planar perfusion MR imaging. *Radiology*. 2002;223:11-29.
- Cha S, Yang L, Johnson G, Lai A, Chen MH, Tihan T *et al*. Comparison of Microvascular Permeability Measurements, K trans, determined with conventional esteady-state T1-weithted and first-pass T2*-weighted MR imaging methods in gliomas and meningiomas. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2006;27:409-17.
- Chang SM, Nelson S, Vandenberg S, Cha S, Prados M, Butowski N, *et al*. Integration of preoperative anatomic and metabolic physiologic imaging of newly diagnosed glioma. *J Neurooncol*. 2009;92:401-15.
- Christov C, Adle-Biasette H, Le Guerinel C, Natchev S, Gherardi RK. Immunohistochemical detection of vascular endothelial growth factor (VEGF) in the vasculature of oligodendrogliomas. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 1998;24:29-35.
- Christov C, Gherardi RK. Vascular endothelial growth factor (VEGF) likely contributes to oligodendroglioma angiogenesis. *Acta Neuropathol*. 1999;97:429-32.
- Covarrubias DJ, Rosen BR, Lev MH. Dynamic magnetic resonance perfusion imaging of brain tumors. *Oncologist*. 2004;9:528-37.
- Danielsen ER, B. The Clinical Significance of Metabolites. In: *Magnetic Resonance Spectroscopy Diagnosis of Neurological Diseases*. New York, Marcel Dekker.23-43,1999.
- Dean BL, Drayer BP, Bird CR, Flom RA, Hodak JA, Coons SW, *et al*. Gliomas: classification with MR imaging. *Radiology*. 1990;174:411-5.

- Demaerel P, Johannik K, Van Hecke P, Van Ongeval C, Verellen S, Marchal G, *et al.* Localized 1H NMR spectroscopy in fifty cases of newly diagnosed intracranial tumors. *J Comput Assist Tomogr.* 1991;15:67-76.
- Di Costanzo A, Scarabino T, Trojsi F, Giannatempo GM, Popolizio T, Catapano D, *et al.* Multiparametric 3T MR approach to the assessment of cerebral gliomas: tumor extent and malignancy. *Neuroradiology.* 2006;48:622-31.
- Donahue KM, Krouwer HG, Rand SD, Pathak AP, Marszalkowski CS, Censky SC, *et al.* Utility of simultaneously acquired gradient-echo and spin-echo cerebral blood volume and morphology maps in brain tumor patients. *Magn Reson Med.* 2000;43:845-53.
- Dowling C, Bollen AW, Noworolski SM, McDermott MW, Barbaro NM, Day MR, *et al.* Preoperative proton MR spectroscopic imaging of brain tumors: correlation with histopathologic analysis of resection specimens. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2001;22:604-12.
- Dringen R, Verleysdonk S, Hamprecht B, Willker W, Leibfritz D, Brand A. Metabolism of glycine in primary astroglial cells: synthesis of creatine, serine, and glutathione. *J Neurochem.* 1998;70:835-40.
- Edelman RR, Wielopolski P, Schmitt F. Echo-planar MR imaging. *Radiology.* 1994;192:600-12.
- Fountas KN, Kapsalaki EZ, Vogel RL, Fezoulidis I, Robinson JS, Gotsis ED. Noninvasive histologic grading of solid astrocytomas using proton magnetic resonance spectroscopy. *Stereotact Funct Neurosurg.* 2004;82:90-7.
- Fulham MJ, Bizzi A, Dietz MJ, Shih HH, Raman R, Sobering GS, *et al.* Mapping of brain tumor metabolites with proton MR spectroscopic imaging: clinical relevance. *Radiology.* 1992;185:675-86.
- Gillard J WA, Barker P. In: *Clinical MR Neuroimaging - Diffusion, Perfusion and Spectroscopy.* CU Press, 2005. p.109-18, 329-48.
- Go KG, Kamman RL, Mooyaart EL, Heesters MA, Pruim J, Vaalburg W, *et al.* Localised proton spectroscopy and spectroscopic imaging in cerebral gliomas, with comparison to positron emission tomography. *Neuroradiology.* 1995;37:198-206.
- Guo AC, Cummings TJ, Dash RC, Provenzale JM. Lymphomas and high-grade astrocytomas: comparison of water diffusibility and histologic characteristics. *Radiology.* 2002;224:177-83.

- Gupta RK, Sinha U, Cloughesy TF, Alger JR. Inverse correlation between choline magnetic resonance spectroscopy signal intensity and the apparent diffusion coefficient in human glioma. *Magn Reson Med*. 1999;41:2-7.
- Hakyemez B, Erdogan C, Ercan I, Ergin N, Uysal S, Atahan S. High-grade and low-grade gliomas: differentiation by using perfusion MR imaging. *Clin Radiol*. 2005;60:493-502.
- Hattingen E, Raab P, Franz K, Lanfermann H, Setzer M, Gerlach R, *et al*. Prognostic value of choline and creatine in WHO grade II gliomas. *Neuroradiology*. 2008;50:759-67.
- Herholz K, Heindel W, Luyten PR, denHollander JA, Pietrzyk U, Voges J, *et al*. In vivo imaging of glucose consumption and lactate concentration in human gliomas. *Ann Neurol*. 1992;31:319-27.
- Higano S, Yun X, Kumabe T, Watanabe M, Mugikura S, Umetsu A, *et al*. Malignant astrocytic tumors: clinical importance of apparent diffusion coefficient in prediction of grade and prognosis. *Radiology*. 2006;241:839-46.
- Holodny AI. Perfusion Imaging: Physical Principles and Applications in the Brain. In: *Funcional Neuroimaging: A Clinical Approach*:IH USA.273-308,2008.
- Hourani R, Brant LJ, Rizk T, Weingart JD, Barker PB, Horska A. Can proton MR spectroscopic and perfusion imaging differentiate between neoplastic and nonneoplastic brain lesions in adults? *AJNR Am J Neuroradiol*. 2008;29:366-72.
- Howe FA, Barton SJ, Cudlip SA, Stubbs M, Saunders DE, Murphy M, *et al*. Metabolic profiles of human brain tumors using quantitative in vivo ¹H magnetic resonance spectroscopy. *Magn Reson Med*. 2003;49:223-32.
- Hsu YY, Chang CN, Wie KJ, Lim KE, Hsu WC, Jung SM. Proton magnetic resonance spectroscopic imaging of cerebral gliomas: correlation of metabolite ratios with histopathologic grading. *Chang Gung Med J*. 2004;27:399-407.
- Hwang JH, Egnaczyk GF, Ballard E, Dunn RS, Holland SK, Ball WS, Jr. Proton MR spectroscopic characteristics of pediatric pilocytic astrocytomas. *AJNR Am J Neuroradiol*. 1998;19:535-40.
- Isobe T, Matsumura A, Anno I, Yoshizawa T, Nagatomo Y, Itai Y, *et al*. Quantification of cerebral metabolites in glioma patients with proton MR spectroscopy using T2 relaxation time correction. *Magn Reson Imaging*. 2002;20:343-9.

- Kaibara T, Tyson RL, Sutherland GR. Human cerebral neoplasms studied using MR spectroscopy: a review. *Biochem Cell Biol.* 1998;76:477-86.
- Kaminogo M, Ishimaru H, Morikawa M, Ochi M, Ushijima R, Tani M, *et al.* Diagnostic potential of short echo time MR spectroscopy of gliomas with single-voxel and point-resolved spatially localised proton spectroscopy of brain. *Neuroradiology.* 2001;43:353-63.
- Kim JH, Chang KH, Na DG, Song IC, Kwon BJ, Han MH, *et al.* 3T 1H-MR spectroscopy in grading of cerebral gliomas: comparison of short and intermediate echo time sequences. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2006;27:1412-8.
- Knopp EA, Cha S, Johnson G, Mazumdar A, Golfinos JG, Zagzag D, *et al.* Glial neoplasms: dynamic contrast-enhanced T2*-weighted MR imaging. *Radiology.* 1999;211:791-8.
- Kono K, Inoue Y, Nakayama K, Shakudo M, Morino M, Ohata K, *et al.* The role of diffusion-weighted imaging in patients with brain tumors. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2001;22:1081-8.
- Kuesel AC, Briere KM, Halliday WC, Sutherland GR, Donnelly SM, Smith IC. Mobile lipid accumulation in necrotic tissue of high grade astrocytomas. *Anticancer Res.* 1996;16:1485-9.
- Kuesel AC, Donnelly SM, Halliday W, Sutherland GR, Smith IC. Mobile lipids and metabolic heterogeneity of brain tumours as detectable by ex vivo 1H MR spectroscopy. *NMR Biomed.* 1994;7:172-80.
- Kuesel AC, Sutherland GR, Halliday W, Smith IC. 1H MRS of high grade astrocytomas: mobile lipid accumulation in necrotic tissue. *NMR Biomed.* 1994;7:149-55.
- Kugel H, Heindel W, Ernestus RI, Bunke J, du Mesnil R, Friedmann G. Human brain tumors: spectral patterns detected with localized H-1 MR spectroscopy. *Radiology.* 1992;183:701-9.
- Lai PH, Weng HH, Chen CY, Hsu SS, Ding S, Ko CW, *et al.* In vivo differentiation of aerobic brain abscesses and necrotic glioblastomas multiforme using proton MR spectroscopic imaging. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2008;29:1511-8.
- Lam WW, Poon WS, Metreweli C. Diffusion MR imaging in glioma: does it have any role in the pre-operation determination of grading of glioma? *Clin Radiol.* 2002;57:219-25.
- Law M, Hamburger M, Johnson G, Inglese M, Londono A, Golfinos J, *et al.* Differentiating surgical from non-surgical lesions using perfusion MR imaging and proton MR spectroscopic imaging. *Technol Cancer Res Treat.* 2004;3:557-65.

- Law M, Yang S, Wang H, Babb JS, Johnson G, Cha S, *et al.* 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;24:1989-98.
- Law M, Young R, Babb J, Rad M, Sasaki T, Zagzag D, *et al.* Comparing perfusion metrics obtained from a single compartment versus pharmacokinetic modeling methods using dynamic susceptibility contrast-enhanced perfusion MR imaging with glioma grade. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2006;27:1975-82.
- Le Bihan D, Turner R, Douek P, Patronas N. Diffusion MR imaging: clinical applications. *AJR Am J Roentgenol.* 1992;159:591-9.
- Lee EJ, Lee SK, Agid R, Bae JM, Keller A, Terbrugge K. Preoperative grading of presumptive low-grade astrocytomas on MR imaging: diagnostic value of minimum apparent diffusion coefficient. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2008;29:1872-7.
- Lee SJ, Kim JH, Kim YM, Lee GK, Lee EJ, Park IS, *et al.* Perfusion MR imaging in gliomas: comparison with histologic tumor grade. *Korean J Radiol.* 2001;2:1-7.
- Leite CC, Amaro Jr E, Lucato LT. Técnicas de obtenção das imagens em neurorradiologia. In: *Neurorrdiologia: diagnóstico por imagem das alterações encefálicas*. Rio de Janeiro: Koogan, 2008. p.1-47.
- Li X, Lu Y, Pirzkall A, McKnight T, Nelson SJ. Analysis of the spatial characteristics of metabolic abnormalities in newly diagnosed glioma patients. *J Magn Reson Imaging.* 2002;16:229-37.
- Li X, Vigneron DB, Cha S, Graves EE, Crawford F, Chang SM, *et al.* Relationship of MR-derived lactate, mobile lipids, and relative blood volume for gliomas in vivo. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2005;26:760-9.
- Likavcanova K, Dobrota D, Liptaj T, Pronayova N, Mlynarik V, Belan V, *et al.* In vitro study of astrocytic tumour metabolism by proton magnetic resonance spectroscopy. *Gen Physiol Biophys.* 2005;24:327-35.
- Lin AP, Ross BD. Short-echo time proton MR spectroscopy in the presence of gadolinium. *J Comput Assist Tomogr.* 2001;25:705-12.
- Londono A, Castillo M, Armao D, Kwock L, Suzuki K. Unusual MR spectroscopic imaging pattern of an astrocytoma: lack of elevated choline and high myo-inositol and glycine levels. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2003;24:942-5.
- Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, *et al.* The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol.* 2007;114:97-109.

- Lu S, Ahn D, Johnson G, Cha S. Peritumoral diffusion tensor imaging of high-grade gliomas and metastatic brain tumors. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2003;24:937-941..
- Maia AC, Jr., Malheiros SM, da Rocha AJ, da Silva CJ, Gabbai AA, Ferraz FA, *et al.* MR cerebral blood volume maps correlated with vascular endothelial growth factor expression and tumor grade in nonenhancing gliomas. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2005;26:777-83.
- Majos C, Alonso J, Aguilera C, Serrallonga M, Acebes JJ, Arus C, *et al.* Adult primitive neuroectodermal tumor: proton MR spectroscopic findings with possible application for differential diagnosis. *Radiology.* 2002;225:556-66.
- Mascalchi M, Filippi M, Floris R, Fonda C, Gasparotti R, Villari N. Diffusion-weighted MR of the brain: methodology and clinical application. *Radiol Med.* 2005;109:155-97.
- Meyerand ME, Pipas JM, Mamourian A, Tosteson TD, Dunn JF. Classification of biopsy-confirmed brain tumors using single-voxel MR spectroscopy. *AJNR Am J Neuroradiol.* 1999;20:117-23.
- Miller BL. A review of chemical issues in ^1H NMR spectroscopy: N-acetyl-L-aspartate, creatine and choline. *NMR Biomed.* 1991;4:47-52.
- Moller-Hartmann W, Herminghaus S, Krings T, Marquardt G, Lanfermann H, Pilatus U, *et al.* Clinical application of proton magnetic resonance spectroscopy in the diagnosis of intracranial mass lesions. *Neuroradiology.* 2002;44:371-81.
- Murakami R, Sugahara T, Nakamura H, Hirai T, Kitajima M, Hayashida Y, *et al.* Malignant supratentorial astrocytoma treated with postoperative radiation therapy: prognostic value of pretreatment quantitative diffusion-weighted MR imaging. *Radiology.* 2007;243:493-9.
- Murphy PS, Leach MO, Rowland IJ. Signal modulation in (^1H) magnetic resonance spectroscopy using contrast agents: proton relaxivities of choline, creatine, and N-acetylaspartate. *Magn Reson Med.* 1999;42:1155-8.
- Negendank WG, Sauter R, Brown TR, Evelhoch JL, Falini A, Gotsis ED, *et al.* Proton magnetic resonance spectroscopy in patients with glial tumors: a multicenter study. *J Neurosurg.* 1996;84:449-58.
- Nelson SJ, McKnight TR, Henry RG. Characterization of untreated gliomas by magnetic resonance spectroscopic imaging. *Neuroimaging Clin N Am.* 2002;12:599-613.

- Opstad KS, Griffiths JR, Bell BA, Howe FA. Apparent T(2) relaxation times of lipid and macromolecules: a study of high-grade tumor spectra. *J Magn Reson Imaging*. 2008;27:178-84.
- Ott D, Hennig J, Ernst T. Human brain tumors: assessment with in vivo proton MR spectroscopy. *Radiology*. 1993;186:745-52.
- Petrella JR, Provenzale JM. MR perfusion imaging of the brain: techniques and applications. *AJR Am J Roentgenol*. 2000;175:207-19.
- Pincerato RCM, Leite CC, Pincerato KM, Rosemberg S, Otaduy MCG. The role of diffusion MR imaging in regions of peritumoral edema in the determination of Glioma grading. Manuscript ID: AJNR-10-00899.
- Poptani H, Gupta RK, Roy R, Pandey R, Jain VK, Chhabra DK. Characterization of intracranial mass lesions with in vivo proton MR spectroscopy. *AJNR Am J Neuroradiol*. 1995;16:1593-603.
- Posse S, Dager SR, Richards TL, Yuan C, Ogg R, Artru AA , *et al*. In vivo measurement of regional brain metabolic response to hyperventilation using magnetic resonance: Proton echo planar spectroscopic imaging (PEPSI). *Magn Reson Imaging*. 1997;37:858-865.
- Posse S, DeCarli C, Le Bihan D. Three-dimensional echo-planar MR spectroscopy imaging at short echo times in the human brain. *Radiology*. 1994;192:733-38.
- Provencher SW. Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. *Magn Reson Med*. 1993;30:672-9.
- Provenzale JM. Imaging of angiogenesis: clinical techniques and novel imaging methods. *AJR Am J Roentgenol*. 2007;188:11-23.
- Provenzale JM, Mukundan S, Barboriak DP. Diffusion-weighted and perfusion MR imaging for brain tumor characterization and assessment of treatment response. *Radiology*. 2006;239:632-49.
- Ricci PE, Pitt A, Keller PJ, Coons SW, Heiserman JE. Effect of voxel position on single-voxel MR spectroscopy findings. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2000;21:367-74.
- Salibi NM. Clinical MR Spectroscopy - First principles. In: *Clinical MR Spectroscopy - First principles*. New York: Wiley-Liss, 1998. p.5-49.
- Saraf-Lavi E, Bowen BC, Pattany PM, Sklar EM, Murdoch JB, Petito CK. Proton MR spectroscopy of gliomatosis cerebri: case report of elevated myoinositol with normal choline levels. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2003;24:946-51.

- Schaefer PW, Grant PE, Gonzalez RG. Diffusion-weighted MR imaging of the brain. *Radiology*. 2000;217:331-45.
- Schiffer D, Bosone I, Dutto A, Di Vito N, Chio A. The prognostic role of vessel productive changes and vessel density in oligodendroglioma. *J Neurooncol*. 1999;44:99-107.
- Schmainda KM, Rand SD, Joseph AM, Lund R, Ward BD, Pathak AP, *et al*. Characterization of a first-pass gradient-echo spin-echo method to predict brain tumor grade and angiogenesis. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2004;25:1524-32.
- Seeger U, Klose U, Mader I, Grodd W, Nagele T. Parameterized evaluation of macromolecules and lipids in proton MR spectroscopy of brain diseases. *Magn Reson Med*. 2003;49:19-28.
- Segebarth CM, Baleriaux DF, Luyten PR, den Hollander JA. Detection of metabolic heterogeneity of human intracranial tumors in vivo by ¹H NMR spectroscopic imaging. *Magn Reson Med*. 1990;13:62-76.
- 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. *Magn Reson Imaging*. 1998;16:1273-80.
- Stadlbauer A, Gruber S, Nimsky 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;238:958-69.
- Sugahara T, Korogi Y, Kochi M, Ikushima I, Hirai T, Okuda T, *et al*. Correlation of MR imaging-determined cerebral blood volume maps with histologic and angiographic determination of vascularity of gliomas. *AJR Am J Roentgenol*. 1998;171:1479-86.
- Sugahara T, Korogi Y, Kochi M, Ikushima I, Shigematu Y, Hirai T, *et al*. Usefulness of diffusion-weighted MRI with echo-planar technique in the evaluation of cellularity in gliomas. *J Magn Reson Imaging*. 1999;9:53-60.
- Szafer A, Zhong J, Anderson AW, Gore JC. Diffusion-weighted imaging in tissues: theoretical models. *NMR Biomed*. 1995;8(7-8):289-96.
- Tien RD, Felsberg GJ, Friedman H, Brown M, MacFall J. MR imaging of high-grade cerebral gliomas: value of diffusion-weighted echoplanar pulse sequences. *AJR Am J Roentgenol*. 1994;162:671-7.
- Tien RD, Lai PH, Smith JS, Lazeyras F. Single-voxel proton brain spectroscopy exam (PROBE/SV) in patients with primary brain tumors. *AJR Am J Roentgenol*. 1996;167:201-9.

- Tofts P. Quantitative MRI of the Brain - Measuring changes caused by disease. In: *Quantitative MRI of the Brain - Measuring changes caused by disease*. London: P Tofts, John Wiley&Sons Ltd., 2003. p. 203-28, 300-18.
- Tong Z, Yamaki T, Harada K, Houkin K. In vivo quantification of the metabolites in normal brain and brain tumors by proton MR spectroscopy using water as an internal standard. *Magn Reson Imaging*. 2004;22:1017-24.
- Torriani M, Thomas BJ, Halpern EF, Jensen ME, Rosenthal DI, Palmer WE. Intramyocellular lipid quantification: repeatability with ¹H MR spectroscopy. *Radiology*. 2005;236:609-14.
- Toyooka M, Kimura H, Uematsu H, Kawamura Y, Takeuchi H, Itoh H. Tissue characterization of glioma by proton magnetic resonance spectroscopy and perfusion-weighted magnetic resonance imaging: glioma grading and histological correlation. *Clin Imaging*. 2008;32:251-8.
- Tung GA, Evangelista P, Rogg JM, Duncan JA, 3rd. Diffusion-weighted MR imaging of rim-enhancing brain masses: is markedly decreased water diffusion specific for brain abscess? *AJR Am J Roentgenol*. 2001;177:709-12.
- Tzika AA, Astrakas LG, Zarifi MK, Petridou N, Young-Poussaint T, Goumnerova L, et al. Multiparametric MR assessment of pediatric brain tumors. *Neuroradiology*. 2003;45:1-10.
- Villringer A, Rosen BR, Belliveau JW, Ackerman JL, Lauffer RB, Buxton RB, et al. Dynamic imaging with lanthanide chelates in normal brain: contrast due to magnetic susceptibility effects. *Magn Reson Med*. 1988;6:164-74.
- Warmuth C, Gunther M, Zimmer C. Quantification of blood flow in brain tumors: Comparison of arterial spin labeling and dynamic susceptibility-weighted contrast-enhanced MR imaging. *Radiology*. 2003;228:523-532.
- Wetzel SG, Cha S, Johnson G, Lee P, Law M, Kasow DL, et al. Relative cerebral blood volume measurements in intracranial mass lesions: interobserver and intraobserver reproducibility study. *Radiology*. 2002;224:797-803.
- Yamasaki F, Takaba J, Ohtaki M, Abe N, Kajiwarra Y, Saito T, et al. Detection and differentiation of lactate and lipids by single-voxel proton MR spectroscopy. *Neurosurg Rev*. 2005;28:267-77.

- Yang D, Korogi Y, Sugahara T, Kitajima M, Shigematsu Y, Liang L, *et al.* Cerebral gliomas: prospective comparison of multivoxel 2D chemical-shift imaging proton MR spectroscopy, echoplanar perfusion and diffusion-weighted MRI. *Neuroradiology*. 2002;44:656-66.
- Yerli H, Agildere AM, Ozen O, Geyik E, Atalay B, Elhan AH. Evaluation of cerebral glioma grade by using normal side creatine as an internal reference in multi-voxel 1H-MR spectroscopy. *Diagn Interv Radiol*. 2007;13:3-9.
- Xu D, Chen AP, Cunningham C, Osorio JA, Nelson SJ, Vigneron DB. Spectroscopic imaging of the brain with phased-array coils at 3.0T. *Magn Reson Imag*. 2006;24:69-74.
- Zonari P, Baraldi P, Crisi G. Multimodal MRI in the characterization of glial neoplasms: the combined role of single-voxel MR spectroscopy, diffusion imaging and echo-planar perfusion imaging. *Neuroradiology*. 2007;49:795-803.