



ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

**«Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΗΣ ΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΣΤΗΝ ΠΡΩΙΜΗ
ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΩΝ ΓΛΟΙΩΜΑΤΩΝ»**

**«THE CONTRIBUTION OF MAGNETIC RESONANCE SPECTROSCOPY IN THE
EARLY DIAGNOSIS OF GLOIOMAS »**

υπό

ΟΜΗΡΟΥ ΑΓΓΕΛΙΚΗ

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των
απαιτήσεων για την απόκτηση του
Διπλώματος Μεταπτυχιακών Σπουδών

«Φυσικές Αρχές Βιοϊατρικής Απεικόνισης και Ακτινοπροστασία»

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Καψαλάκη Ευτυχία , Καθηγήτρια ,ΤΙ ΠΘ
Τσούγκος Ιωάννης , Καθηγητής, ΤΙ ΠΘ
Βλυχού Μαριάννα , Καθηγήτρια , ΤΙ ΠΘ

Λάρισα, 2025

[1]

Περιεχόμενα

1. ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	3
2. ΜΕΘΟΔΟΣ :.....	4
3. ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ:.....	4
4.ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ:	4
5.ΠΕΡΙΛΗΨΗ / ABSTRACT :.....	5
6.ΟΓΚΟΙ ΤΟΥ ΚΕΝΤΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ	6
7.ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΓΛΟΙΩΜΑΤΩΝ ΚΑΤΑ ΠΟΥ (2021).....	7
8.ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΗΣ ΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΤΟΜΟΓΡΑΦΙΑΣ ΣΤΗΝ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ FOLLOW UP ΤΩΝ ΓΛΟΙΩΜΑΤΩΝ	10
9. Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΗΣ MRS ΣΤΗΝ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΩΝ ΓΛΟΙΩΜΑΤΩΝ	13
10. ΣΥΖΗΤΗΣΗ- ΑΝΑΓΚΗ ΓΙΑ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟ	20
11. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	21

1. ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η μεταπτυχιακή αυτή εργασία αποτελεί το τελευταίο κομμάτι για την ολοκλήρωση των σπουδών μου στο πλαίσιο του μεταπτυχιακού προγράμματος Φυσικές Αρχές Βιοιατρικής Απεικόνισης και Ακτινοπροστασίας και σηματοδοτεί το τέλος αυτού του όμορφου ταξιδιού στην περαιτέρω γνώση και εμβάθυνση των φυσικών επιστήμων. Θα ήθελα αρχικά να ευχαριστήσω τον καθηγητή Ιατρικής Φυσικής κο. Ιωάννη Τσούγκο ο οποίος με μεγάλη αγάπη για το αντικείμενο και όρεξη για μάθηση και μεταλαμπάδευση της γνώσης ήταν εκεί σε κάθε βήμα του μεταπτυχιακού προγράμματος για να μας καθοδηγήσει και να μας εκπαιδεύσει . Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα της πτυχιακής μου εργασίας καθηγήτρια Ακτινοδιαγνωστικής κα. Ευτυχία Καραλακή η οποία ήταν συνοδοιπόρος στην προσπάθεια μου αυτή και ήταν πάντα εκεί να με βοηθήσει και να με καθοδηγήσει στη συγγραφή. Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς την κα. Δήμητρα Τσιβάκα η οποία αποτελεί μεγάλο κομμάτι αυτού του μεταπτυχιακού προγράμματος και πάντα βρίσκεται διπλά στους μεταπτυχιακούς φοιτητές να τους βοηθήσει και να συνδράμει με όλο της το είναι σε ότι χρειαστούν . Τέλος θα ήθελα να πω ένα τεράστιο ευχαριστώ στην οικογένεια μου και τους δικούς μου ανθρώπους που πίστεψαν σε μένα περισσότερο από ότι εγώ και πάντα είναι εκεί να με στηρίζουν και να με βοηθούν σε κάθε βήμα , τίποτα από όλα αυτά δεν θα ήταν εφικτό χωρίς εκείνους .

2. ΜΕΘΟΔΟΣ :

Για την δημιουργία αυτής της πτυχιακής εργασίας έγινε μια ανασκόπηση της βιβλιογραφίας χρησιμοποιώντας μηχανές αναζήτησης με την χρήση λέξεων κλειδιών. Ενδεικτικά χρησιμοποιήθηκαν ιστοσελίδες και μηχανές αναζήτησης όπως Google Scholar , Pub Med, National Library of Medicine, Radiology Society of North America (RSNA), Radiology Assistant , Radiopedia , κ.ά. Στην συνέχεια έγινε συστηματική μελέτη από άρθρα που βρέθηκαν μέσω της παραπάνω μεθόδου και εξαγωγή δεδομένων από αυτά ώστε να γίνει μια αξιολόγησή της συμβολής της μεθόδου MRS στην διάγνωση των γλοιωμάτων .

3. ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ:

MRI: Magnetic Resonance Imaging
MRSI: Magnetic Resonance Spectroscopy Imaging
MRS: Magnetic Resonance Spectroscopy
NAA: N- acetyl aspartate, νευροανταποκριτικό οξύ
Cr:Κρεατίνη
Cho:Χολίνη
Lip: Λιπίδια
Ins: Ινοσιτόλη
Lac: Γαλακτικό
ΚΝΣ : Κεντρικό Νευρικό Σύστημα
ΠΟΥ: Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας

4.ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ:

Magnetic Resonance Imaging, Magnetic Resonance Spectroscopy , WHO gliomas classification, IDH mutant, IDH wildtype, metabolites ratio, spectra , glioblastoma multiforme, creatine, choline ,NAA, genome , genetic alterations .

5.ΠΕΡΙΛΗΨΗ / ABSTRACT :

- 1) Η MRS αποτελεί μια μη επεμβατική μη ιονίζουσα απεικονιστική μέθοδο η οποία έχει τη δυνατότητα να μετρά την συγκέντρωση διαφόρων διαγνωστικά σημαντικών ισοτόπων στο εγκεφαλικό παρέγχυμα. Οι συχνότερα μετρούμενοι μεταβολίτες είναι το NAA, η Cho, η Cr, τα λιπίδια, το γαλακτικό καθώς και οι λόγοι αυτών. Η νεότερη κατάταξη του ΠΟΥ όσον αφορά τα γλοιώματα , κατατάσσει τα γλοιώματα σε τέσσερις κατηγορίες ανάλογα με το βαθμό κακοήθειας τους (grading I-IV). Η νεότερη αυτή κατάταξη λαμβάνει υπόψη όχι μόνο τα μακροσκοπικά χαρακτηριστικά του όγκου αλλά και τις βιοχημικές και γενετικές αλλαγές που τυχόν φέρει . Ειδικότερα σημαντικό προγνωστικό δείκτη αποτελεί η παρουσία ή όχι μετάλλαξης του γονιδίου της IDH γεγονός που καθίσταται ευκολά αναγνωρίσιμο με τη μέτρηση του μεταβολίτη 2-Hydroxyglutarate (2-HG) μέσω της MRS μεθόδου. Η MRS λοιπόν μπορεί να αποτελέσει ένα σημαντικό εργαλείο στην κατάταξη των γλοιωμάτων συμπληρωματικά με την MRI και να συμβάλλει σημαντικά στην διάγνωση αυτής της όχι και τόσο συχνής αλλά σημαντικής νοσολογικής οντότητας.
- 2) MRS is a noninvasive non ionizing diagnostic imaging method that allows the measurement of different diagnostic important chemical isotopes in the brain. The more commonly measured metabolites are NAA, Cho, Cr, Lipids, Lac and also their ratios. The newest WHO classification for gliomas grading, classifies gliomas into for grades (grade I-IV) not only based on their macroscopic features but also taking into consideration the chemical or genetical alterations the tumor has. Especially an important prognostic indicator is the presence or no of mutation for the gene of IDH. This mutation could easily be found with the measurement of the metabolite of 2-Hydroxyglutarate (2-HG) with this method. In conclusion MRS could be an important diagnostic tool for the glioma grading in addition with MRI and to contribute in the diagnosis of this not so common but very important pathology entity.

6.ΟΓΚΟΙ ΤΟΥ ΚΕΝΤΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Οι όγκοι του εγκεφάλου αποτελούν το 2 % της επίπτωσης του συνόλου των καρκίνων στους ενήλικες με ετήσια επίπτωση 3,7/100.000/ έτος στους άντρες και 2,6/100.00/έτος στις γυναίκες, επομένως οι πρωτοπαθείς όγκοι εγκεφάλου στον ενήλικο πληθυσμό συμπεριλαμβανομένων και των μηνιγγιωμάτων αποτελούν μια όχι και τόσο συχνή νοσολογική οντότητα . Η συνολική επίπτωση των όγκων ΚΝΣ στις ΗΠΑ τα έτη 2010-2014 ήταν περίπου 22.6 ανά 100.000 πληθυσμού με συχνότητα παρόμοια με τον καρκίνο του θυρεοειδούς και το μελάνωμα. Περίπου τα δυο τρίτα των όγκων του ΚΝΣ είναι κακοήθεις , ενώ εκ των κακοήθων όγκων το γλοιώμα παριστά το 80 %. Εκ των διαγνωσθέντων γλοιωμάτων το 50 % είναι γλοιοβλαστώματα ή αστροκυττώματα τύπου IV κατά τον ΠΟΥ . Η μονοετής επιβίωση των κακοήθων όγκων του ΚΝΣ ανέρχεται στο 56 % ενώ η πενταετής επιβίωση στο 31%. Τα γλοιώματα αποτελούν μια ετερογενή νοσολογική οντότητα με επίπτωση 6/100.00/έτος με σημαντικά μικρότερη επίπτωση στους μη καυκάσιους πληθυσμούς.

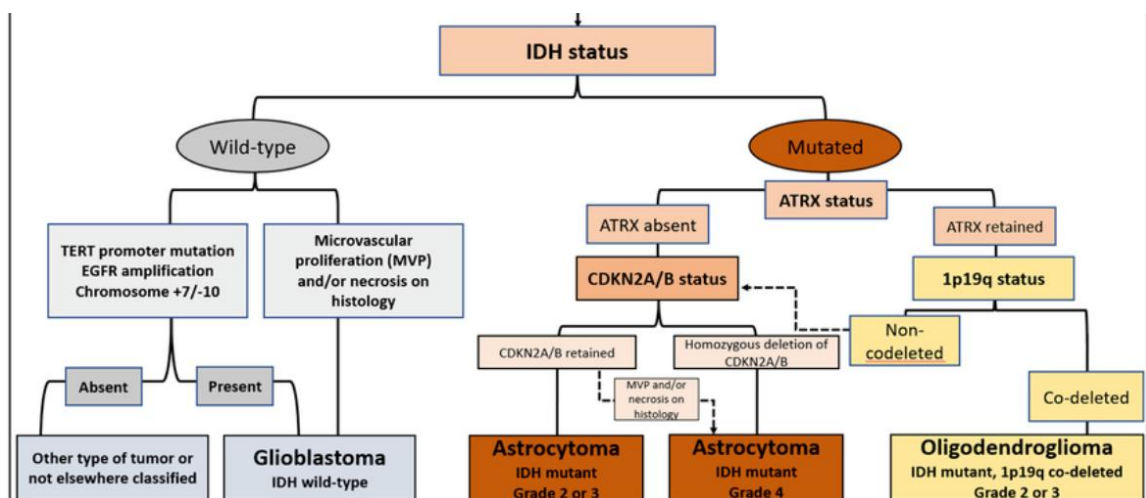
Δεν υπάρχει σαφής επιδημιολογική συσχέτιση των όγκων του ΚΝΣ με άλλες παθήσεις ενώ έχει θεωρηθεί συσχέτιση με την αποπία/ αλλεργία, την ιονίζουσα ακτινοβολία καθώς και με την νευροϊνωμάτωση τύπου 1 και 2 (NF 1-2) . Η νεότερη κατάταξη του παγκοσμίου οργανισμού υγείας κατηγοριοποιεί τους όγκους του εγκεφάλου όχι μόνο με βάση τα δομικά χαρακτηριστικά και το ιστολογικό τους προφίλ αλλά και με βάση το μοριακό προφίλ του όγκου και γενετικές μεταλλάξεις που τυχόν φέρουν , συγκεκριμένα όσον αφορά την ισοκιτρική αφυδρογονάση (IDH) καθώς και την διαγραφή ή όχι του γονιδίου 1p/ 19q.

7.ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΓΛΟΙΩΜΑΤΩΝ ΚΑΤΑ ΤΟΝ ΠΑΓΚΟΣΜΙΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ ΥΓΕΙΑΣ (2021)

Τα γλοιώματα αποτελούν μία ετερογενή οντότητα όγκων του ΚΝΣ που προκύπτουν από τα νευρογλοιακά κύτταρα, τα οποία είναι δομικά κύτταρα που στηρίζουν τους νευρώνες. Τα γλοιώματα αφορούν τόσο των παιδιατρικό όσο και τον ενήλικο πληθυσμό. Τα διάχυτα γλοιώματα (diffuse gliomas) αποτελούν κατά βάση νοσολογική οντότητα των ενήλικων και μπορεί να είναι τόσο καλοήγη όσο και κακοήγη.

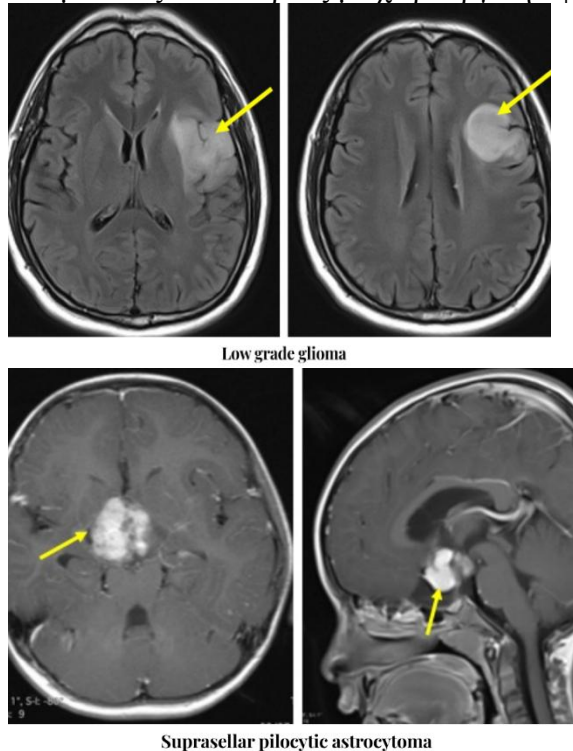
Η νεότερη κατάταξη του Παγκοσμίου Οργανισμού Υγείας (ΠΟΥ) λαμβάνει υπόψη πέρα από χαρακτηριστικά του όγκου όπως η ατυπία, η μιτωτική δραστηριότητα, και η νέκρωση και το μοριακό και γενετικό προφίλ του όγκου. Πιο συγκεκριμένα μεταλλάξεις στο γονίδιο της ισοκιτρικής αφυδρογονάσης(IDH 1- 2) ενός ενζύμου που συμμετέχει στον κύκλο του Krebs έχει βρεθεί στο 12% των γλοιοβλαστωμάτων. Η μετάλλαξη αυτή έχει συσχετιστεί με καλύτερη πρόγνωση των γλοιωμάτων που φέρουν αυτή την μετάλλαξη σε σύγκριση με εκείνα που δεν το φέρουν (IDH wild type). Η μετάλλαξη στο γονίδιο της IDH έχει συσχετιστεί με μικρότερα επίπεδα NADPH το οποίο δρα προστατευτικά στα καρκινικά κύτταρα έναντι των παραγόμενων ελευθέρων ριζών. Επομένως έλλειψη της μετάλλαξης σχετίζεται με μεγαλύτερα επίπεδα NADPH, επομένως λιγότερη απόπτωση των καρκινικών κυττάρων από τις ελεύθερες ρίζες και χειρότερη πρόγνωση. Επιπλέον ένας άλλος μοριακός δείκτης που λαμβάνει υπόψη η νεότερη κατάταξη του ΠΟΥ είναι η διαγραφή ή όχι του γονιδίου 1p/19q η οποία σχετίζεται με καλύτερη πρόγνωση και απάντηση στη θεραπεία. Η διαγραφή αυτού του γονιδίου έχει βρεθεί στα περισσότερα ολιγοδενδρογλοιώματα και έχει συσχετιστεί κατά βάση με αυτά. Έχουν ληφθεί υπόψη και άλλες μοριακές και γενετικές αλλαγές όπως αυτές: μεθυλίωση προαγωγών του MGMT, BRAF, H3K227M.

Συγκεκριμένα η νεότερη κατάταξη των γλοιωμάτων είναι η εξής :



The 2021 WHO classification of adult-type diffuse gliomas

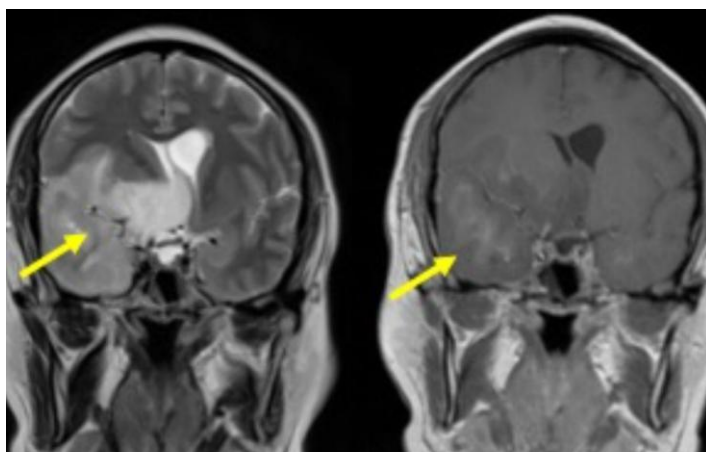
Grade I: Πιλοκυτταρικό αστροκύτωμα. Ευδιάκριτα όρια, χαμηλή αναπαραγωγική δραστηριότητα. Συνήθως επηρεάζουν παιδιά ή νέους ενήλικες. Καλή πρόγνωση αντιμετωπίζονται κυρίως με χειρουργική αφαίρεση.



Grade II: IDH mutant αστροκύτωμα, IDH mutant + 1p/19q codeletion
ολιγοδενδρογλοίωμα.

Τα κύτταρα είναι ελαφρώς ανώμαλα και τείνουν να διεισδύουν στους γύρω ιστούς. Δεν έχουν πάντα ευδιάκριτα όρια. Κίνδυνος μεταβίβασης σε grading III, IV

Grade III: αναπλαστικό αστροκύτωμα, αναπλαστικό ολιγοδενδρογλοίωμα. Υψηλή κυτταρική ανωμαλία, πυρηνική παραλλακτικότητα. Αυξημένη μιτωτική δραστηριότητα (διαίρεση των κυττάρων). Περισσότερο διηθητικά και επιθετικά. Συχνά απαιτείται συνδυασμένη θεραπεία (χειρουργείο, χημειοθεραπεία, ακτινοθεραπεία). Η πρόγνωση ποικίλει αλλά είναι λιγότερο ευνοϊκή σε σχέση με τον Βαθμό II.



Anaplastic astrocytoma

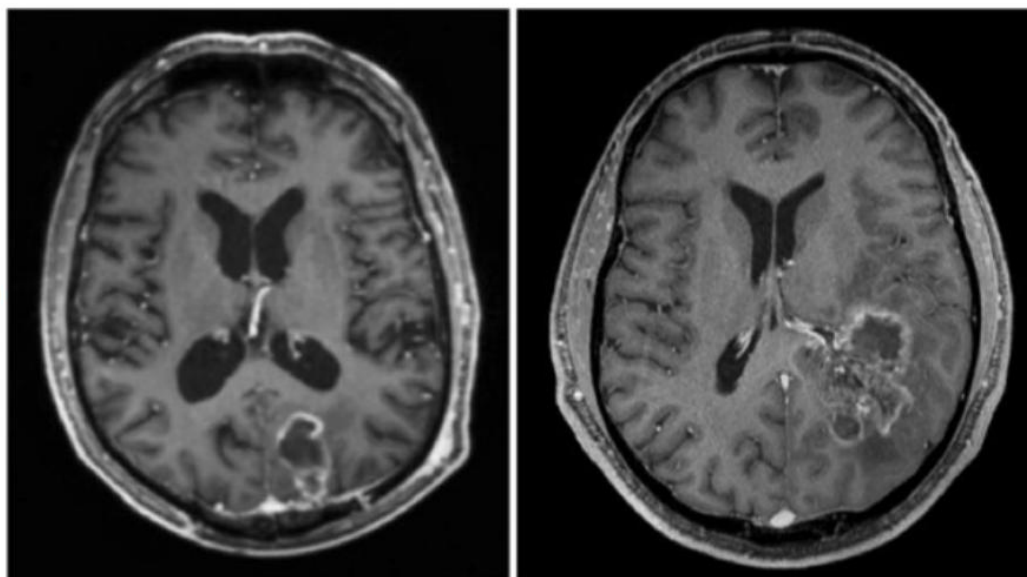
Grade IV : Πολύμορφο γλοιοβλάστωμα (GBM) . Πολύ κακή πρόγνωση.

Ταχέως αναπτυσσόμενα με έντονη νέκρωση και αυξημένη αγγειογένεση (δημιουργία νέων αιμοφόρων αγγείων). Τα κύτταρα παρουσιάζουν υψηλά επίπεδα γενετικών μεταλλάξεων και ανωμαλιών, όπως ενίσχυση του γονιδίου EGFR και μεταλλάξεις του γονιδίου TP53. Εκτεταμένη διηθητική συμπεριφορά, εξαπλώνεται σε όλο τον εγκέφαλο. Η θεραπεία συχνά περιλαμβάνει χειρουργική αφαίρεση, ακτινοθεραπεία και χημειοθεραπεία, αλλά η πρόγνωση παραμένει φτωχή, με επιβίωση συνήθως 12-15 μήνες.

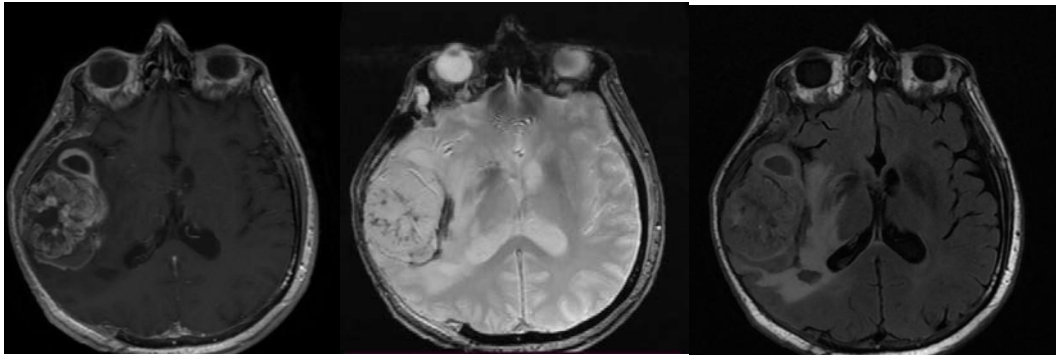
8.ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΗΣ ΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΤΟΜΟΓΡΑΦΙΑΣ ΣΤΗΝ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ FOLLOW UP ΤΩΝ ΓΛΟΙΩΜΑΤΩΝ

Η MRI (Magnetic Resonance Imaging) αποτελεί μια μη επεμβατική μη ιονίζουσα απεικονιστική εξέταση η οποία έχει συμβάλει σημαντικά τα τελευταία χρόνια στην διάγνωση , την χαρτογράφηση καθώς και την διαφορική διάγνωση των όγκων του κεντρικού νευρικού συστήματος .

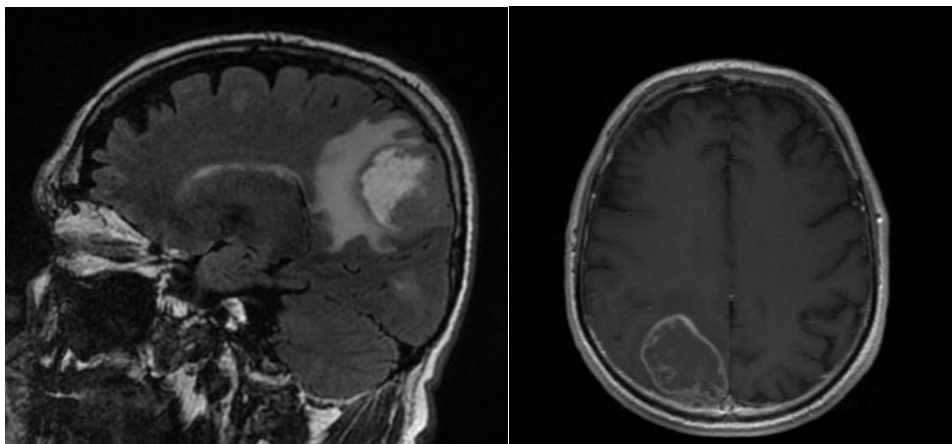
Η MRI αποτελεί πλέον την εξέταση εκλογής (gold standard) στην απεικόνιση των γλοιωμάτων όσον αφορά την διάγνωση , την προ εγχειρητική απεικόνιση , την απεικόνιση για το πλάνο της ακτινοθεραπείας καθώς και την απεικόνιση στο πλαίσιο του μετεγχειρητικού follow up. Οι βασικές δομικές -ανατομικές ακολουθίες της μαγνητικής τομογραφίας(T1 , T2 pre and post contrast , T2 *) προσφέρουν μια πληθώρα πληροφοριών για τα δομικά χαρακτηριστικά ενός όγκου κυρίως όσον αφορά την μακροσκοπική απεικόνιση αυτού. Η ακολουθία T1 απεικονίζει τα μακροσκοπικά ανατομικά όρια του όγκου καθώς και την σύσταση του όγκου (συμπαγή στοιχεία, κυστικά στοιχεία, στοιχεία νέκρωσης) ενώ η ακολουθία T2 (FLAIR) μπορεί να απεικονίσει τη μεταβολή στον πέριξ εγκεφαλικό ιστό είτε λόγω του περιβάλλοντος αγγειογενούς οιδήματος είτε λόγω μικροσκοπικής καρκινικής διήθησης .



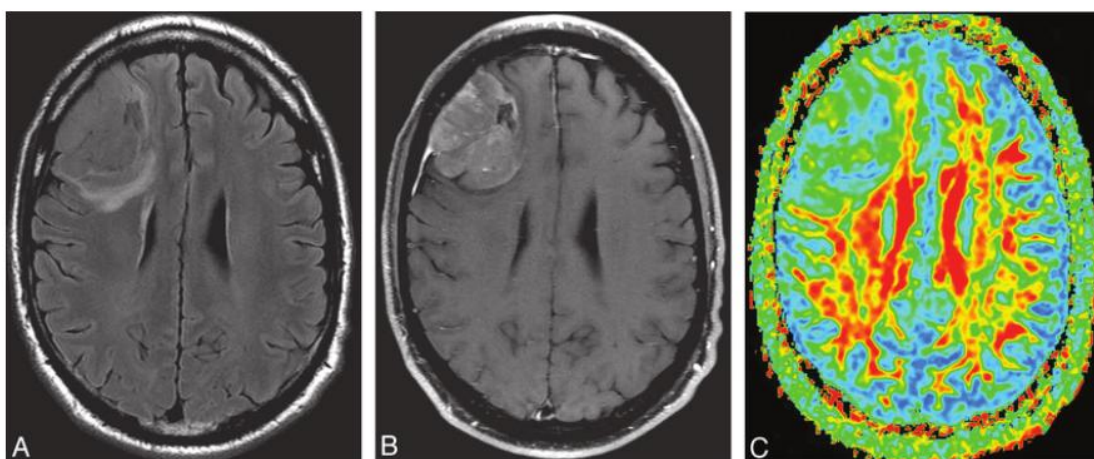
Glioblastoma on T1-weighted, post-contrast magnetic resonance images on the axial view. Tumor localization in the cortex without subventricular zone involvement (left). Glioblastoma with infiltration of the subventricular zone and subependymal spread (right).



Εικόνες από το αρχείο του εργαστηρίου του ΠΓΝΛ σε ασθενή με γλοιοβλάστωμα σε T1+C, T2, T2 FLAIR ακολουθίες από αριστερά προς τα δεξιά

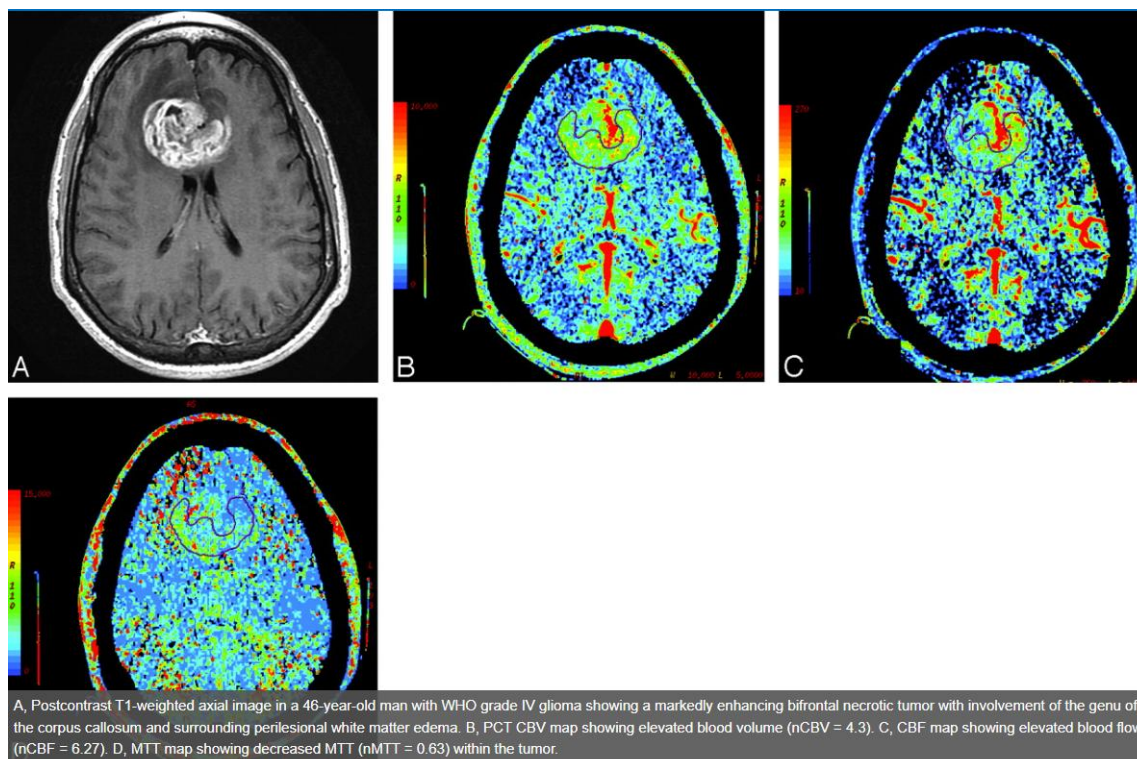


Εικόνες από το αρχείο του εργαστηρίου του ΠΓΝΛ σε ασθενή με γλοιοβλάστωμα σε T1+C, 2 FLAIR ακολουθίες από αριστερά προς τα δεξιά



A, T2-weighted MR image shows a grade III glioma. B, Postgadolinium axial T1-weighted image does not show obvious tumor contrast enhancement. C, FA map shows that the tumor has a warmer color tone (light green [arrow]) compared with that in Fig 2. Maximum FA, minimum FA, FA range, and maximum SD are 0.170, 0.0794, 0.0906, and 0.0507, respectively. Each value of the measurements for this grade III tumor is correspondingly larger than that for the grade II tumor shown in Fig 2.

Συμπληρωματικές ειδικές - λειτουργικές ακολουθίες όπως οι DWI/ADC (Diffusion-Weighted Imaging/Apparent Diffusion Coefficient), DTI (Diffusion Tensor Imaging), PWI (Perfusion-Weighted Imaging), μπορούν να μας δώσουν περισσότερες πληροφορίες όσον αφορά την κυτταροβρίθεια καθώς και την αιμάτωση του όγκου.



Ωστόσο πάρα την μεγάλη διακριτική ικανότητα που φέρει η MRI ως απεικονιστική μέθοδος, τα γλοιώματα φέρουν μεγάλη ετερογένεια ως προς τα απεικονιστικά χαρακτηριστικά τους καθώς και μεγάλου βαθμού overlapping των χαρακτηριστικών ανάλογα το στάδιο του όγκου (Grading II-IV) με αποτέλεσμα η ευαισθησία της μεθόδου στο Grading των γλοιωμάτων κυμαίνεται από 55% έως 83% .

Προκύπτει λοιπόν η ανάγκη για μία συμπληρωματική μέθοδο η οποία θα μπορεί να διακρίνει την μικροσκοπική διαφοροποίηση του περίξ του όγκου ιστού , την πιθανή διήθηση αυτού από καρκινικά κύτταρα , να μπορεί να προσφέρει περισσότερες πληροφορίες για το βιοχημικό προφίλ του όγκου καθώς και για τις γενετικές μεταλλάξεις που αυτός φέρει. Το κενό αυτό ήρθε να συμπληρώσει MRS (Magnetic Resonance Spectroscopy) η οποία αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη μέθοδο στην διάγνωση και κατάταξη των γλοιωμάτων .

9. Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΗΣ MRS ΣΤΗΝ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΩΝ ΓΛΟΙΩΜΑΤΩΝ

Η MRS αποτελεί μια νεότερη εξέλιξη της συμβατικής MRI η οποία έχει γνωρίσει μεγάλη εξέλιξη την τελευταία δεκαετία. Η MRS συμπληρώνει την ανατομική κυρίως απεικόνιση που προσφέρει η μαγνητική τομογραφία προσφέροντας πληροφορίες για το βιοχημικό προφίλ και την μεταβολική δραστηριότητα ενός ιστού .

Η MRS βασίζεται στο μοναδικό βιοχημικό φάσμα το οποίο λαμβάνεται από ένα ή περισσότερα voxel (single voxel mrs ή multi voxel mrs) .

Η Single Voxel MRS χρησιμοποιεί κάθε φορά ένα μοναδικό κυβικού σχήματος στοιχείο (voxel) και λαμβάνει φάσμα από αυτό σε αντίθεση με τη Multi Voxel MRS η οποία λαμβάνει ταυτόχρονα το βιοχημικό φάσμα από πολλαπλά στοιχεία – voxels και ονομάζεται αλλιώς MRSI (Magnetic Resonance Spectroscopic Imaging) η αλλιώς chemical shift imaging (CSI).

Τα χαρακτηριστικά της καμπύλης που λαμβάνουμε από την MRS τεχνική είναι χαρακτηριστικό για κάθε μεταβολίτη σε μια συγκεκριμένη συχνότητα (διαφορετικός μεταβολιτής διαφορετικό βιοχημικό προφίλ) καθώς το εμβαδόν που δημιουργείται κάτωθεν την καμπύλης αναδεικνύει την ποσότητα αυτού του μεταβολιτή στον ιστό .

Ο ανθρώπινος εγκέφαλος είναι ένα πολύπλοκο όργανο , το οποίο φέρει εξ ορισμού ετερογένεια στο παρέγχυμα του. Αντίστοιχα οι διαφορετικές περιοχές του εγκέφαλου φέρουν διαφορετικούς μεταβολίτες αρά και διαφορετικό βιοχημικό προφίλ , το οποίο διαφέρει ανάλογα και με την ηλικία του ασθενούς. Ωστόσο ένας συγκεκριμένο υγιές τμήμα του εγκεφάλου δε φέρει μεγάλες μεταβολές στο βιοχημικό προφίλ του εκτός αν υπάρχει κάποια υποκείμενη παθολογία. Σε θεωρητικό υπόβαθρο η MRS μπορεί να μετρήσει οποιοσδήποτε μεταβολίτη ωστόσο υπάρχουν συγκεκριμένα χημικά ισότοπα τα οποία φέρουν κλινική σημασία στους όγκους του εγκέφαλου και ιδιαίτερα στα γλοιώματα. Οι μεταβολίτες οι οποίοι μετρώνται συχνότερα με την MRS μέθοδο σχετικά με τα γλοιώματα είναι το N - acetylaspartate (NAA) , η χολίνη (Cho) , η κρεατίνη (Cr) , η μυοϊνσιτόλη (mins) , το γαλακτικό (Lac) και τα λιπίδια (Lip) . Επιπλέον έπειτα από την συσχέτιση των γλοιωμάτων με μεταλλάξεις στο γονίδιο ισοκυτρικής αφυδρογονάσης (IDH) πλέον αξιολογείται και ο μεταβολιτής 2-hydroxyglutamate μέσω της MRS. Μεγάλη κλινική σημασία φέρουν όχι μόνο οι μεταβολιτές αυτοί καθ' αυτοί αλλά κυρίως οι λόγοι μεταξύ των μεταβολιτών και ειδικότερα : Cho/ NAA, Cho/Cr, NAA/Cr.

Ας δούμε ωστόσο πιο αναλυτικά την σημασία του εκάστοτε μεταβολιτή :

N-acetyl aspartate :

Το N- ακετυλο ασπαρτικό (NAA) αποτελεί ένα σημαντικό νευροπεπτίδιο .Παράγεται στα μιτοχόνδρια του νευρικού συστήματος και ειδικότερα των νευρώνων , βρίσκεται τόσο στην φαιά όσο και στη λευκή ουσία και αποτελεί νευρωνικό δείκτη ή δείκτη την νευρικής πυκνότητας και βιωσιμότητας ενός ιστού. Είναι ένας από τους βιοδείκτες με την μεγαλύτερη συγκέντρωση στο ΚΝΣ με το φάσμα του να εμφανίζει peak στα 2.0 ppm αντιπροσωπεύοντας το συνολικό NAA (t NAA) το οποίο στο μεγαλύτερο μέρος αποτελείται από το NAA και σε μικρότερο βαθμό από το N-acetylaspartylglutamate (NAAG) .Το NAA φέρει πολλές λειτουργίες τόσο στον μεταβολισμό των νευρωνικών κυττάρων, στην παραγωγή των λιπιδίων της μυελίνης , στην μεταβίβαση σήματος καθώς και στην ισορροπία αζώτου στο εγκέφαλο. Το tNAA φέρει διαφορετική συγκέντρωση στον εγκέφαλο , εμφανίζει αύξηση στον νωτιαίο μυελό και στην λευκή ουσία ,και μείωση αυτού αναδεικνύει

σημαντική νευρική βλάβη όπως σε χωροκατακτητικές εξεργασίες, στην υποξία, την άνοια και την συστηματική σκλήρυνση. Η μείωση του NAA μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως προγνωστικός δείκτης καθώς υψηλό NAA σχετίζεται με καλύτερη πρόγνωση ενώ μείωση στο NAA δείχνει μετάπτωση του όγκου σε υψηλότερο grading . Το NAA μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ως διαφοροδιαγνωστικός δείκτης ανάμεσα σε πρωτοπαθείς όγκους εγκεφάλου , μεταστάσεις και μη νευρογενείς όγκους του ΚΝΣ , δηλαδή σε βλάβες με μη νευρωνική δραστηριότητα οι οποίες δεν φέρουν NAA. Εξαίρεση αποτελεί το γλοιοβλάστωμα όγκος του ΚΝΣ εξαιρετικά κακοήθης ο οποίος φέρει ωστόσο πολύ χαμηλά επίπεδα NAA.

Χολίνη (Cho) :

Η χολίνη αποτελεί δείκτη μεταβολικής δραστηριότητας της κυτταρικής μεμβράνης και φέρει peak στο 3.2 ppm. (t Cho) .

Ωστόσο ένα μόνο ισότοπο του κλάσματος της ολικής χολίνης (tCho) η φωσφοχολίνη (PCho) έχει συσχετιστεί με την ογκογένεση. Η πρωτεΐνη Ki67 (MKI67) η οποία είναι κυτταρικός δείκτης πολλαπλασιασμού έχει συσχετιστεί επίσης με τα επίπεδα χολίνης . Υψηλός δείκτης Ki -67 επομένως και υψηλός δείκτης χολίνης έχει συσχετιστεί θετικά με υψηλή κακοήθη συμπεριφορά των γλοιωμάτων. Ωστόσο αυξημένα επίπεδα χολίνης δεν είναι ειδικά κακοήθων βλαβών του ΚΝΣ καθώς και άλλες καλοήθειες - φλεγμονώδεις βλάβες με υψηλό πολλαπλασιασμό μπορούν να εμφανίσουν υψηλά επίπεδα χολίνης. Αντιθέτως χαμηλά επίπεδα χολίνης σχετίζονται με καταστάσεις οι οποίες χαρακτηρίζονται από αυξημένο ρυθμό απόπτωσης της κυτταρικής μεμβράνης όπως η ισχαιμία και οι απομυελινωτικές παθήσεις.

Κρεατίνη (Cr) : αποτελεί δείκτη ενεργού μεταβολισμού οπου παράγεται από αμινοξέα κυρίως στο συκώτι , και τους νεφρούς και μεταναστεύει στην κυκλοφορία. Η συνολική κρεατίνη αποτελείται από την φωσφοκρεατίνη (PCr) και την κρεατίνη που παράγεται από τα γλοιαδικά κύτταρα και τους νευρώνες , εμφανίζει high peak στα 3.0 ppm. Επειδή η κρεατίνη δεν αποτελεί μόνο ενδοκράνιο μεταβολίτη , η ποσότητα που ανιχνεύουμε μέσω της MRS επηρεάζεται από την περιφερική κατανομή της κρεατίνης και από άλλες συστηματικές παθήσεις . Αν και η μείωση στα ποσοστά της κρεατίνης στα υψηλής κακοήθειας γλοιώματα σχετίζεται με μεγαλύτερες ενεργειακές ανάγκες του όγκου, η κρεατίνη είναι ένας σχετικά σταθερός ενεργειακός μεταβολίτης στον εγκεφαλο και συχνά χρησιμοποιείται ως μεταβολίτης αναφοράς για τον υπολογισμό των λόγων άλλων μεταβολιτών όπως cho/cr, nna/cr, mins/cr, lip/cr.

Μυοινοσιτόλη(Mins): Αποτελεί έναν μονοσακχαρίτη ο οποίος μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης των αστροκυττάρων ή των γλοιαδικών κυττάρων στον ενήλικο εγκεφαλο διότι παράγεται από τα αστροκύτταρα και συμμετέχει στην οσμωτικότητα τους και θεωρείται ότι συμμετέχει στην διατήρηση του όγκου του εγκεφάλου. Με την βοήθεια της MRS η mins μπορεί να ανιχνευτεί ως ένα πολυφασικό peak με το κύριο κλάσμα του να ανιχνεύεται στα 3.5 ppm. Αύξηση στην μυοινοσιτόλη μπορεί να ανιχνευτεί σε παθήσεις του εγκεφάλου που σχετίζονται με αστρογλοίωση. Υψηλά επίπεδα mins εμφανίζονται σε low grade γλοιώματα με καλύτερη πρόγνωση ενώ μείωση αυτής εμφανίζεται σε γλοιώματα με υψηλότερα

ποσοστά γαλακτικού ως αποτέλεσμα μη αποδοτικού μεταβολισμού των γλοιοδικών κυττάρων (γλοιώματα grade III, κυρίως γλοιώματα IV.)

Γαλακτικό και λιπίδια (Lac and Lip): Αποτελούν δείκτες αναερόβιου μεταβολισμού. Το γαλακτικό αποτελεί δείκτη της αναερόβιας γλυκόλυσης και δεν ανιχνεύεται σε υγιή εγκεφαλικό ιστό. Υπάρχει σαφής συσχέτιση μεταξύ του διπλού peak που εμφανίζει το γαλακτικό στην MRS στα 1.31 ppm και στο στάδιο του γλοιώματος. Κακοήθης εξαλλαγή των γλοιοδικών όγκων σχετίζεται με αύξηση της κυτταροβριθείας τους και της σχετικής ισχαιμίας οδηγώντας σε υψηλότερα επίπεδα γαλακτικού. Όταν η ισχαιμία ενός ιστού προχωρήσει κι άλλο τότε το peak των λιπιδίων ανάμεσα στα 0.9 και 1.5 ppm αυξάνεται υποδηλώνοντας παρουσία νέκρωσης και απόπτωση της μυελίνης, γι αυτό το επίπεδο των λιπιδίων που ανιχνεύεται με την MRS αποτελεί δείκτη της βλάβης του ιστού. Παρά την μεγάλη διαγνωστική προοπτική που έχουν το γαλακτικό και τα λιπίδια για την σταδιοποίηση των γλοιωμάτων η αύξηση τους αποτελεί μη ειδικό δείκτη που αυξάνεται σε καταστάσεις μη αερόβιου μεταβολισμού και νέκρωσης, για παράδειγμα αύξηση στο γαλακτικό μπορεί να βρεθεί σε περιοχές ισχαιμίας ενώ αύξηση στα λιπίδια μπορεί να υπάρχει σε απόστημα εγκεφάλου.

2-Hydroxyglutarate (2-HG) : Αποτελεί έναν μεταβολίτη ο οποίος εμφανίζει peak στα 2.2- 2.4 ppm . και αποτελεί χαρακτηριστικό των IDH – mutant γλοιωμάτων. Αποτελεί σημαντικό προγνωστικό δείκτη καθώς με την νεότερη κατάταξη κατά ΠΟΥ τα IDH – mutant γλοιώματα κατατάσσονται σε grade II-III γλοιώματα και φέρουν καλύτερη πρόγνωση από ότι τα IDH wild type γλοιώματα.

Αφού λοιπόν αναλύσαμε τους μεταβολίτες τους οποίους κυρίως λαμβάνουμε υπόψη στην MRS εγκεφάλου ,ας αναλύσουμε το φυσιολογικό βιοχημικό προφίλ που αναμένουμε να λάβουμε όταν εξετάζουμε ένα φυσιολογικό εγκεφαλικό παρέγχυμα.

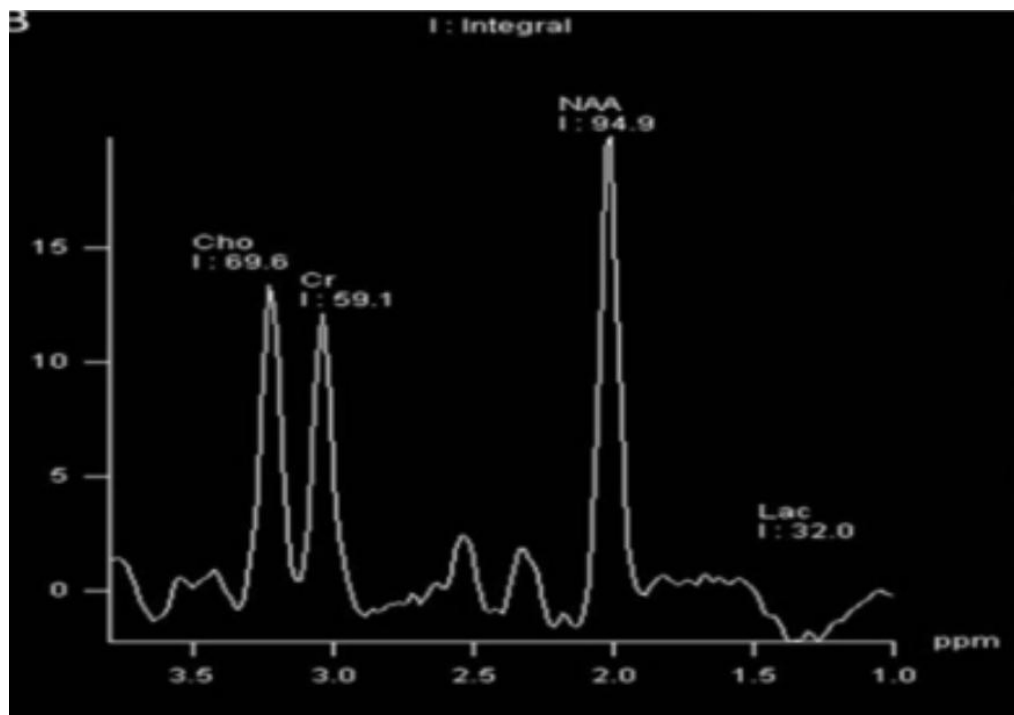
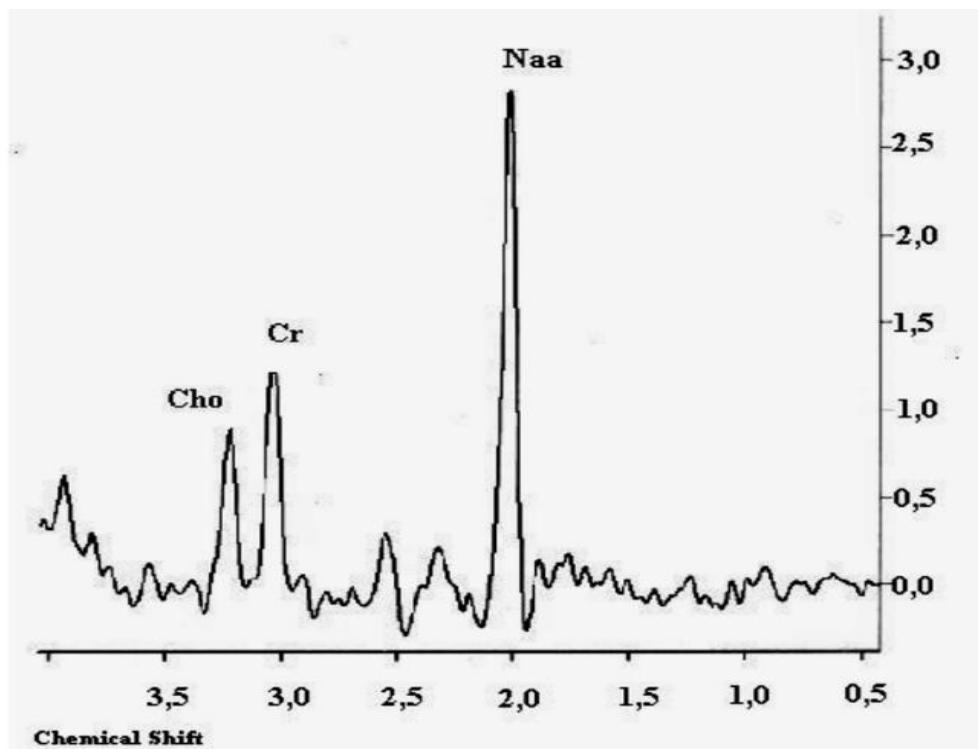
Οι κύριοι μεταβολίτες που εμφανίζουν σημαντικά peak στο φυσιολογικό εγκεφαλικό παρέγχυμα είναι το NNA , η κρεατίνη (Cr) και η χολίνη (Cho).

Το NAA εμφανίζει ένα υψηλό peak στα 2.0 ppm ενώ χαμηλότερα peak των Cr και Cho είναι εμφανή στα 3.0ppm και 3.2 ppm αντίστοιχα.

Το φυσιολογικό εγκεφαλικό παρέγχυμα δεν εμφανίζει σημαντικά διακριτό peak του γαλακτικού στα 1.3 ppm καθώς δεν αποτελεί μεταβολίτη του φυσιολογικού αερόβιου μεταβολισμού.

Το μοτίβο αυτό των μεταβολιτών εμφανίζει μια σχετική σταθερότητα και επαναληψιμότητα στο φυσιολογικό παρέγχυμα.

Ορισμένα παραδείγματα του φυσιολογικού φάσματος που μπορούμε να λάβουμε από την mrs είναι τα παρακάτω:



Σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις του εγκεφάλου το φάσμα αυτό εμφανίζει πολλαπλές διαφοροποιήσεις τόσο στον μεταβολίτες που εμφανίζονται όσο και το βιοχημικό shift αυτών.

Συγκεκριμένα όσον αφορά τα φλοιώματα ανάλογα με το grade αυτών αναγνωρίζουμε διαφορετικά βιοχημικά προφίλ τα οποία είναι σημαντικά διαφορετικά για το κάθε στάδιο του όγκου (grade I-IV).

Ας αναλύσουμε πιο συγκεκριμένα το βιοχημικό προφίλ που εμφανίζει κάθε grade του όγκου

Grade I – Πιλοκυτταρικό Αστροκυττωμα:

Πιθανά να υπάρχει μια ήπια αύξηση στα επίπεδα της χολίνης , η οποία ωστόσο μπορεί να είναι σταθερή .Αναγνωρίζουμε μείωση στο NNA , φυσιολογική ή ελαφρώς μειωμένη κρεατίνη . Συνυπάρχει απουσία λιπιδίων, πιθανή αύξηση της μυοινοσυτολης ενώ μπορεί να υπάρξει αύξηση του γαλακτικού ειδικά στα κυστικά σημεία του όγκου. Όσον αφορά τώρα τους λόγους των μεταβολιτών ο λόγος Cho/ NAA μπορεί να εμφανίσει ήπια αύξηση.

Grade II – Low Grade Gliomas:

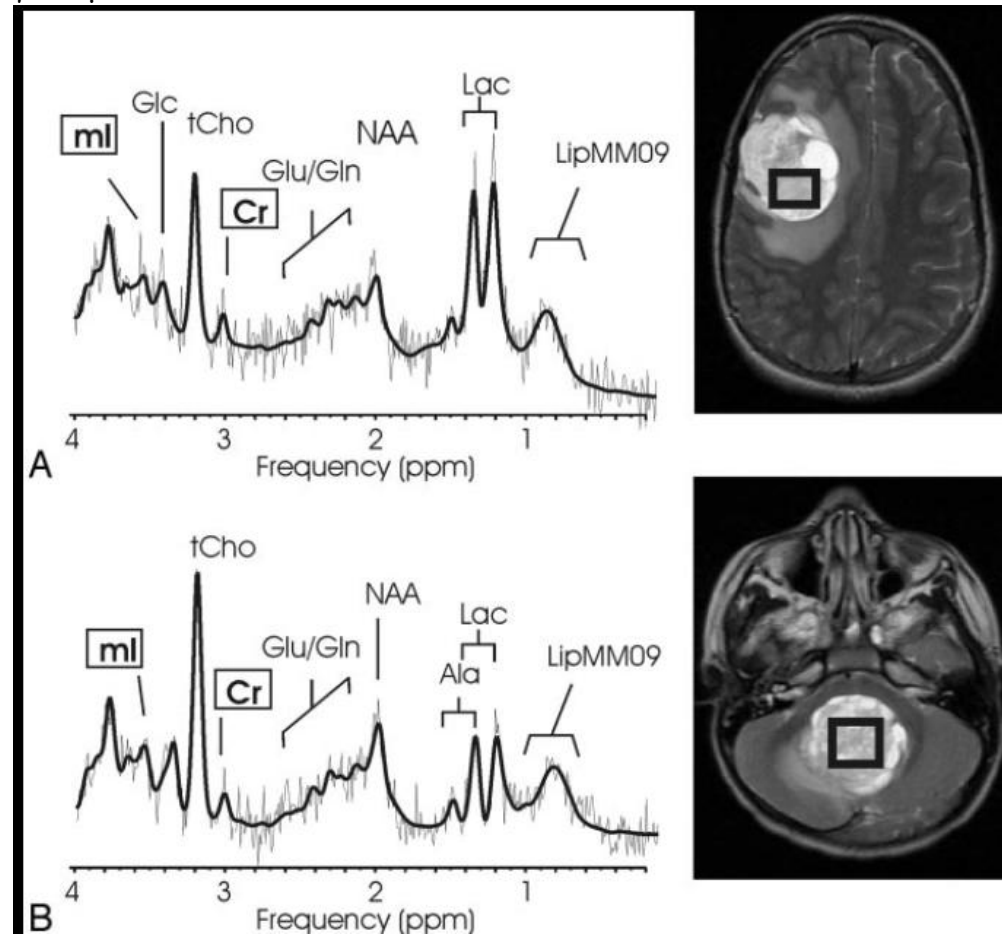
Όσον αφορά τα χαμηλής κακοήθειας γλοιώματα αναγνωρίζουμε αύξηση στη χολίνη , μείωση στο NAA ,σταθερή ή ήπια μειωμένη Cr. Συνυπάρχει απουσία λιπιδίων, πιθανή ήπια αύξηση του γαλακτικού. Σε ορισμένα low grade gliomas πιθανόν να υπάρχει αύξηση της μυοινοσιτόλης. Όσον αφορά τους λόγους των μεταβολιτών έχουμε αύξηση του λόγου Cho/Naa ωστόσο όχι τόσο όσο σε υψηλότερης κακοήθειας γλοιώματα καθώς και ήπια μείωση στο λόγο Cho/Cr.

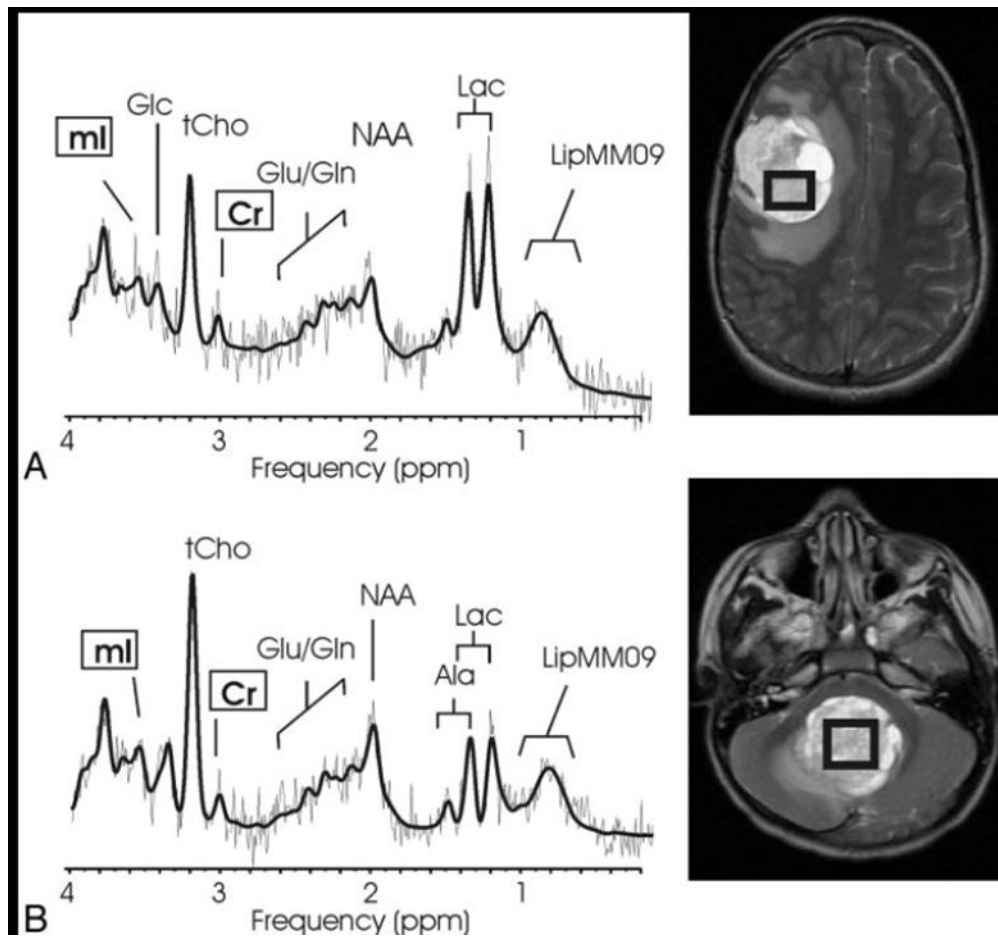
Grade III – Αναπλαστικά γλοιώματα:

Στα αναπλαστικά γλοιώματα αναγνωρίζουμε μια έντονη αύξηση της χολίνης , σημαντική μείωση του NAA , μείωση της κρεατίνης , αύξηση του γαλακτικού και πιθανή παρουσία λιπιδίων.

Όσον αφορά τους λόγους των μεταβολιτών ο λόγος Cho / NAA εμφανίζει αύξηση καθώς και ο λόγος Cho/ Cr εμφανίζει μεγαλύτερη αύξηση σε σχέση με τα Grade II

γλοιώματα.

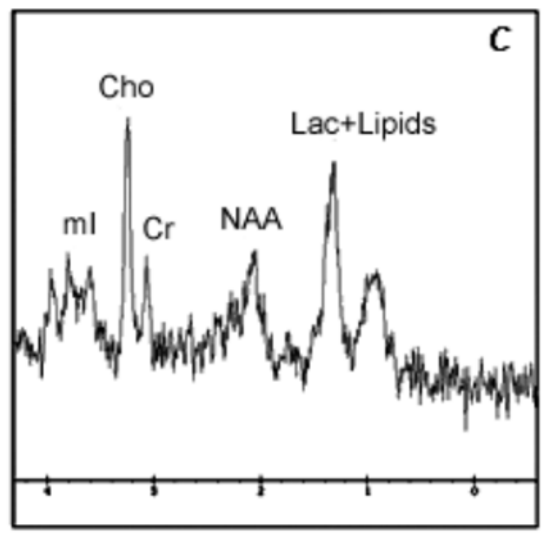
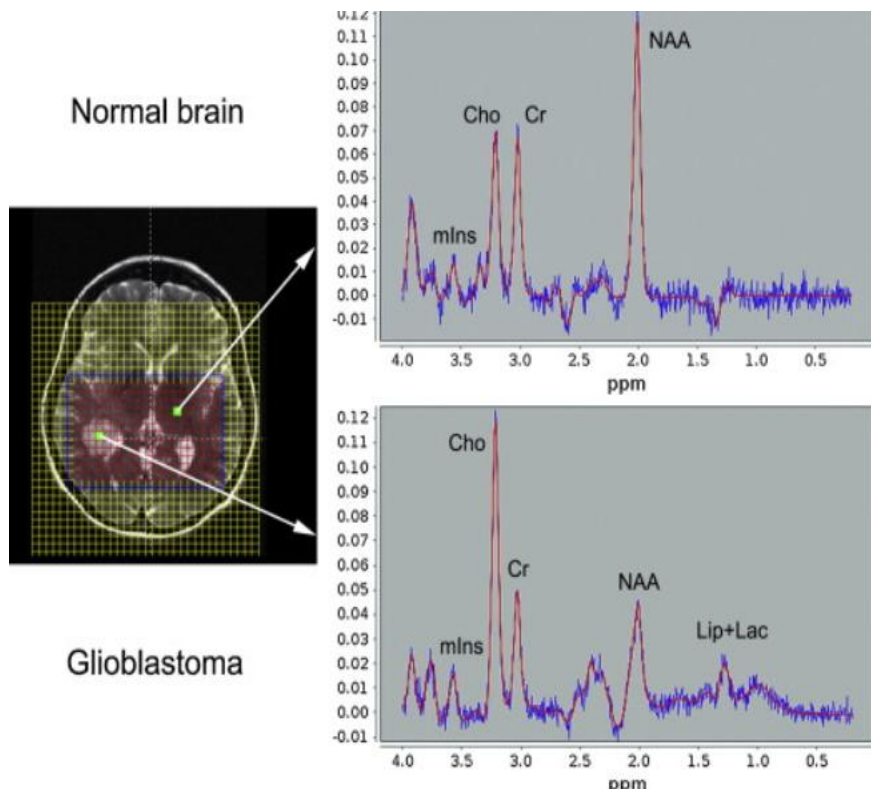




Grade IV – Πολύμορφο Γλοιοβλάστωμα (GBM):

Στο πολύμορφο γλοιοβλάστωμα αναγνωρίζουμε μια σημαντική αύξηση της χολίνης, σημαντική μείωση του NNA , μείωση της Cr και αύξηση του γαλακτικού με παρουσία σημαντικού peak καθώς και αύξηση των λιπιδίων με παρουσία ευρέος φάσματος.

Ο λόγος Cho /NAA εμφανίζει σημαντική αύξηση στα GBM γλοιώματα.



10. ΣΥΖΗΤΗΣΗ- ΑΝΑΓΚΗ ΓΙΑ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟ

Όπως προαναφέρθηκε η ειδικότητα και η ευαισθησία της συμβατικής

MRI στην διάγνωση των γλοιωμάτων κυμαίνεται από 55% έως 83%. Γεγονός που καθιστά αναγκαία την ύπαρξη μιας συμπληρωματικής μεθόδου . Μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος που ήρθε να συμπληρώσει αυτό το κενό αποτελεί η MRS, η οποία αποτελεί μια μέθοδο που φέρει ωστόσο και εκείνη τους δικούς της περιορισμούς. Η MRS μπορεί να συμβάλει ως συμπληρωματική μέθοδος στην διάγνωση των γλοιωμάτων καθώς φέρει ως μέθοδος μεγάλη ευαισθησία που φτάνει το 97.5% για ορισμένους μεταβολίτες ωστόσο φέρει πολύ χαμηλή ειδικότητα ως ανεξάρτητη μέθοδος σε επίπεδο 12.5 %.

Όπως προαναφέρθηκε τα γλοιώματα φέρουν μεγάλη απεικονιστική ετερογένεια καθώς και over lapping των απεικονιστικών τους χαρακτηριστικών . Ωστόσο υπάρχουν μεταβολίτες οι οποίοι εμφανίζουν μεγάλη διαφορά στη συγκέντρωση τους ανάλογα με το grading του όγκου και μπορούν να συμβάλουν ουσιαστικά στη διαφοροδιάγνωση των όγκων αυτών .

Ένας σημαντικός παράγοντας που μπορεί να μειώσει την ευαισθησία της μεθόδου MRS αποτελεί το μέγεθος της βλάβης (όσο μικρότερη η βλάβη τόσο μεγαλύτερη η πιθανότητα επιμόλυνσης του voxel από περιβάλλοντα ιστό . Επίσης μπορεί να συμβεί επιμόλυνση του ισοτόπου ενδιαφέροντος από τον περιβάλλοντα ιστό πχ οίδημα και η μη σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Ωστόσο ο μη επεμβατικός χαρακτήρας της MRS την καθιστά θεμιτή μέθοδο στο προεγχειρητικό grading στων ασθενών , όταν ειδικά δεν είναι τόσο επιθυμητή ή δυνατή λήψη βιοψίας όπως πχ στους παιδιατρικούς ασθενείς ή σε μη προσβάσιμους ανατομικά όγκους.

Ακόμα η MRS μπορεί να χρησιμοποιηθεί για το targeting των στερεοτακτικών βιοψιών σε νευροχειρουργικές επεμβάσεις αυξάνοντας την διαγνωστική ακρίβεια της μεθόδου από 67-79% σε 90-100%.

Καταληκτικά μιλώντας επί του παρόντος η MRS αποτελεί ένα πολύ σημαντικό απεικονιστικό εργαλείο που λειτουργεί ως συμπληρωματική της MRI μεθόδου , αποτελώντας μια πολλά υποσχόμενη μέθοδο που θα γνωρίσει σημαντική εξέλιξη τις επόμενες δεκαετίες.

11. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Alshiekh Nasany, R., & de la Fuente, M. I. (2023). Therapies for IDH-Mutant Gliomas. In *Current Neurology and Neuroscience Reports* (Vol. 23, Issue 5, pp. 225–233). Springer. <https://doi.org/10.1007/s11910-023-01265-3>
2. Bai, J., Varghese, J., & Jain, R. (2020). Adult glioma WHO classification update, genomics, and imaging: What the radiologists need to know. In *Topics*

- in Magnetic Resonance Imaging* (Vol. 29, Issue 2, pp. 71–82). Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1097/RMR.0000000000000023>
3. Barnholtz-Sloan, J. S., Ostrom, Q. T., & Cote, D. (2018). Epidemiology of Brain Tumors. *Neurologic Clinics*, 36(3), 395–419. <https://doi.org/10.1016/J.NCL.2018.04.001>
 4. Bulik, M., Jancalek, R., Vanicek, J., Skoch, A., & Mechl, M. (2013). Potential of MR spectroscopy for assessment of glioma grading. In *Clinical Neurology and Neurosurgery* (Vol. 115, Issue 2, pp. 146–153). <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2012.11.002>
 5. Byun, Y. H., & Park, C.-K. (2022). Classification and Diagnosis of Adult Glioma: A Scoping Review. *Brain & Neurorehabilitation*, 15(3). <https://doi.org/10.12786/bn.2022.15.e23>
 6. Cadrien, C., Sharma, S., Lazen, P., Licandro, R., Furtner, J., Lipka, A., Niess, E., Hingerl, L., Motyka, S., Gruber, S., Strasser, B., Kiesel, B., Mischkulnig, M., Preusser, M., Roetzer-Pejrimovsky, T., Wöhrer, A., Weber, M., Dorfer, C., Trattinig, S., ... Hangel, G. (2024). 7 Tesla magnetic resonance spectroscopic imaging predicting IDH status and glioma grading. *Cancer Imaging*, 24(1). <https://doi.org/10.1186/s40644-024-00704-9>
 7. de Stefano, F. A., Morell, A. A., Smith, G., Warner, T., Soldozy, S., Elarjani, T., Eichberg, D. G., Luther, E., & Komotar, R. J. (2023). Unique magnetic resonance spectroscopy profile of intracranial meningiomas compared to gliomas: a systematic review. In *Acta Neurologica Belgica* (Vol. 123, Issue 6, pp. 2077–2084). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s13760-022-02169-8>
 8. Elena Laino, M., Young, R., Beal, K., Haque, S., Mazaheri, Y., Corrias, G., Karimi, S., & Thakur, S. B. (2020a). *Magnetic resonance spectroscopic imaging in gliomas: clinical diagnosis and radiotherapy planning 1,2*.
 9. Haydar, N., Alyousef, K., Alanan, U., Issa, R., Baddour, F., Al-shehabi, Z., & Al-janabi, M. H. (2022). Role of Magnetic Resonance Imaging (MRI) in grading gliomas comparable with pathology: A cross-sectional study from Syria. *Annals of Medicine and Surgery*, 82. <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2022.104679>
 10. Hirschler, L., Sollmann, N., Schmitz-Abecassis, B., Pinto, J., Arzanforoosh, F., Barkhof, F., Booth, T., Calvo-Imirizaldu, M., Cassia, G., Chmelik, M., Clement, P., Ercan, E., Fernández-Seara, M. A., Furtner, J., Fuster-Garcia, E., Grech-Sollars, M., Guven, N. T., Hatay, G. H., Karami, G., ... Hangel, G. (2023). Advanced MR Techniques for Preoperative Glioma Characterization: Part 1. In *Journal of Magnetic Resonance Imaging* (Vol. 57, Issue 6, pp. 1655–1675). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/jmri.28662>
 11. Kousi, E., Tsougos, I., Tsolaki, E., Fountas, K. N., Theodorou, K., Fezoulidis, I., Kapsalaki, E., & Kappas, C. (2012). Spectroscopic evaluation of glioma grading at 3T: The combined role of short and long TE. *The Scientific World Journal*, 2012. <https://doi.org/10.1100/2012/546171>
 12. Maudsley, A. A., Andronesi, O. C., Barker, P. B., Bizzi, A., Bogner, W., Henning, A., Nelson, S. J., Posse, S., Shungu, D. C., & Soher, B. J. (2021). *Advanced magnetic resonance spectroscopic neuroimaging: Experts'*

- consensus recommendations. In *NMR in Biomedicine* (Vol. 34, Issue 5). John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/nbm.430>
13. McCarthy, L., Verma, G., Hangel, G., Neal, A., Moffat, B. A., Stockmann, J. P., Andronesi, O. C., Balchandani, P., & Hadjipanayis, C. G. (2022). Application of 7T MRS to High-Grade Gliomas. In *American Journal of Neuroradiology* (Vol. 43, Issue 10, pp. 1378–1395). American Society of Neuroradiology. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A7502>
 14. Phillips, K. A., Fadul, C. E., & Schiff, D. (2018). Neurologic and Medical Management of Brain Tumors. *Neurologic Clinics*, 36(3), 449–466. <https://doi.org/10.1016/J.NCL.2018.04.004>
 15. Ricci, R., Bacci, A., Tugnoli, V., Battaglia, S., Maffei, M., Agati, R., & Leonardi, M. (2007). Metabolic findings on 3T 1H-MR spectroscopy in peritumoral brain edema. *American Journal of Neuroradiology*, 28(7), 1287–1291. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A0564>
 16. Stephenson, M. C. (2011). Applications of multi-nuclear magnetic resonance spectroscopy at 7T. *World Journal of Radiology*, 3(4), 105. <https://doi.org/10.4329/wjr.v3.i4.105>
 17. Tiwari, S., & Gyawali, I. (2024). Magnetic Resonance Spectroscopy of Intra-axial Gliomas With Histopathological Correlation in a Tertiary Care Center of Eastern Nepal. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.54287>
 18. <https://ascopubs.org/doi/full/10.1200/JCO.2005.04.7233>