

Título: PRESERVACIÓN DEL PATRÓN METABOLÓMICO DE TEJIDOS MEDIANTE FIJACIÓN POR IRRADIACIÓN CON MICROONDAS FOCALIZADAS. APLICACIÓN AL ESTUDIO DEL TEJIDO CEREBRAL NORMAL Y PATOLÓGICO MEDIANTE ESPECTROSCOPIA HRMAS Y METODOLOGÍAS DE RECONOCIMIENTO DE PATRONES.

Nombre: Dávila Huerta, Myriam

Universidad: Universidad Autónoma de Barcelona

Departamento: BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR

Fecha de lectura: 04/04/2014

Programa de doctorado: Bioquímica, Biología Molecular y Biomedicina

Dirección:

- > **Director:** Carles Arús Caraltó
- > **Codirector:** ANA PAULA CANDIOTA SILVEIRA

Tribunal:

- > **presidente:** Juan José Acebes Martín
- > **secretario:** pau nolis fañanas
- > **vocal:** IGNASI BARBA VERT

Descriptor:

- > RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR
- > ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA MAGNETICA

El fichero de tesis ya ha sido incorporado al sistema

- > 2014daviiprese.pdf

Localización: BIBLIOTECA DE COMUNICACIÓN Y HEMEROTECA GENERAL UAB

Resumen: Los tumores cerebrales se desarrollan dentro del sistema nervioso central y pueden ser originados por células del mismo sistema nervioso, o bien tratarse de una metástasis con origen en un órgano distinto. Representan menos de un 2% del total de casos de cáncer diagnosticados cada año a nivel mundial, pero a pesar de ello, constituyen una fuente importante de mortalidad y discapacidad. El diagnóstico de este tipo de tumores generalmente se lleva a cabo mediante técnicas de imagen (IRM) y espectroscopía (ERM) por resonancia magnética nuclear (RMN) gracias a sus características morfológicas y aspectos bioquímicos diferenciales. La ERM está considerada como el método no invasivo que permite estudiar más adecuadamente el metabolismo de los seres vivos ya que puede determinar cualitativa y cuantitativamente una gran variedad de metabolitos en el tejido intacto, proporcionando una información extensa sobre su composición. Sin embargo queda limitada por una baja resolución espectral, en comparación con la resolución que se puede llegar a obtener con los análisis in vitro. En ese sentido, la evaluación in vitro de biopsias de tumores cerebrales mediante la técnica de espectroscopía de alta resolución ¿high resolution magic angle spinning spectroscopy¿

(HRMAS) complementa la información bioquímica obtenida in vivo y en muchos casos puede contribuir a mejorar el diagnóstico no invasivo y manejo de la enfermedad.

La espectroscopía HRMAS consiste en hacer girar una muestra a altas velocidades en un ángulo de 54,7° respecto al campo magnético principal. Este tipo de adquisición reduce la anchura de las señales detectadas en el espectro de RMN que viene principalmente causada por las interacciones dipolares entre núcleos de la muestra, con contribuciones adicionales de la heterogeneidad de la muestra y parámetros residuales anisotrópicos.

Los métodos de manipulación de muestras de tejido para su análisis por HRMAS son relevantes y pueden interferir en los resultados. La obtención, conservación y temperatura a la que están sometidas las muestras pueden ser determinantes y desencadenar el metabolismo post mortem. A ese respecto, el uso de la irradiación por microondas focalizadas (FMW) puede ser una opción eficiente, actuando rápidamente y causando la inactivación de dicho metabolismo postmortem. Este método es ampliamente utilizado para el sacrificio de animales y capaz de preservar el metaboloma de muestras o tejidos.

En esta tesis se han desarrollado distintas optimizaciones y estudios alrededor de la irradiación por FMW. En un primer momento, se estudió la influencia del método de sacrificio (sobredosis de anestesia vs. irradiación por FMW) en el patrón espectral HRMAS de tejidos obtenidos de modelos preclínicos de tumor glial de alto grado (GL261) y de isquemia cerebral en rata. Luego, se ha desarrollado una estrategia para minimizar los cambios en el patrón espectral de tejido cerebral y patológico mediante protocolos de fijación por irradiación FMW previa al análisis HRMAS, en muestras que habían sido sometidas a la congelación. Dicho método se desarrolló con vistas a su aplicación a biopsias de tumores cerebrales humanos.

Paralelamente, se llevaron a cabo estrategias de reconocimientos de patrones espectrales con espectros HRMAS adquiridos de muestras de tumores cerebrales humanos. Estas estrategias, aparte de validar el uso del programa SpectraClassifier (desarrollado en el grupo de investigación) como herramienta para reconocimiento de patrones, en el caso de espectros HRMAS también estudió la posible influencia de la temperatura y secuencias de adquisición sobre el rendimiento de los clasificadores desarrollados. Se ha comprobado además que la irradiación por FMW de las biopsias de tumores, aunque no se refleja en una mejora sustancial en el rendimiento del clasificador, no parece tener una influencia negativa sobre éste y puede ser utilizada como método de preservación del patrón espectral de las biopsias investigadas.