

**LA PET AMB ¹¹C-METIONINA COM A
FACTOR PRONÒSTIC I EN LA
CARACTERITZACIÓ DELS GLIOMES**

TESI DOCTORAL

Antoni Mestre i Fusco



Universitat Autònoma de Barcelona

LA PET AMB ¹¹C-METIONINA COM A FACTOR PRONÒSTIC I EN LA CARACTERITZACIÓ DELS GLIOMES

Tesi presentada per

Antoni Mestre i Fusco

per optar al grau de Doctor per la Universitat Autònoma de Barcelona

Tesi dirigida per

Dr Joan Castell i Conesa, Servei de Medicina Nuclear, Hospital de la Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona. Dr Gerard Conesa i Bertran Servei de Neurocirurgia, i Dr Francesc Alameda i Quitllet, Servei d'Anatomia Patològica. Hospital del Mar, Parc de Salut Mar.

Programa de Doctorat en Medicina Interna. Barcelona, 2015

Doctorand: Antoni Mestre Fusco

Directors de la Tesi:

Dr. J. Castell Conesa

Dr. G. Conesa Bertran

Dr. F. Alameda Quitllet

DEPARTAMENT DE MEDICINA

UAB

Universitat Autònoma de Barcelona

Per als meus pares

“Absence of evidence is not evidence of absence”

Carl Sagan



AGRAÏMENTS

La tasca d'investigar requereix esforç i constància. I molt sovint es necessita molt de suport, tant logístic com personal.

Arribar al cim no és fàcil. No obstant hi ajuda molt totes aquelles persones que t'acompanyen en el viatge.

Per això vull expressar el meu agraïment a tots els col·legues de la professió que m'han ajudat desinteressadament.

En primer lloc als directors de tesi: Al Dr. Gerard Conesa, pels seus suggeriments i bons consells, al Dr. Joan Castell, per la seva dedicació inestimable per poder desenvolupar-ho, i al Dr. Francesc Alameda, que es va oferir a guiar-me en aquest projecte i va encoratjar-me a tirar endavant. Gràcies a ells un projecte que semblava molt difícil va prosperar.

En segon lloc m'agradaria expressar el meu sincer agraïment als col·legues del Comitè de Neurooncologia de l'Hospital del Mar ja que el treball multidisciplinari és fonamental tant en l'assistència hospitalària diària com en la investigació.

Voldria fer especial menció als doctors Jaume Capellades, Luis del Carpio, Sofia G. Ortiz, Santi Medrano, Maria Martínez, Gloria Villalba i Ada Ruiz Ripoll, pel seu inestimable suport.

També voldria agrair el treball del Dr. Carlos Trampal, responsable de la PET durant el període en el que es va desenvolupar l'estudi al centre CIM del PRBB.

Donar les gràcies als col·legues de medicina nuclear que han estat a prop per donar-me un cop de mà: Marina Suárez, Pedro Plaza, Jordi Fuertes, Montse Negre, Montse Ysamat, Alba Rodríguez, Marta Milà, Marc Simó, Eli Rivera, David Carrera, JR Garcia, Xavier Setoain i Sergi Vidal-Sicart.

També vull expressar el meu agraïment a tots els companys de feina de l'Hospital del Mar del servei de medicina nuclear així com de radiologia; metges, personal d'infermeria, tècnics, auxiliars i administratius, així com als

companys de professió de medicina nuclear de l'Hospital de la Vall d'Hebron, on vaig formar-me.

Voldria destacar l'ajuda fonamental d'en Sergi Mojal del departament d'estadística i d'assessorament en investigació biomèdica de l'IMIM, PRBB.

Evidentment voldria agrair també el suport dels meus amics de la colla de la universitat i del cau.

Finalment, i no menys important, a tota la meva família; en Xavi, en Joan, en Xavier; a pares, avis i nebots; Josep, Joana Maria, Antonio, Lourdes, Marina, Joan, Raquel, Roger, Nayara i Guillem, i evidentment a tota la resta de la família, per estar sempre al meu costat.

INDEX

Agraïments	<i>pàgina v</i>
Glossari	xi
Índex de figures i taules	xv
1. Introducció	<i>pàgina 1</i>
1.1. Estructura i funció cerebral	1
1.2. Epidemiologia i etiologia dels gliomes	4
1.2.1. Epidemiologia dels gliomes	4
1.2.2. Etiologia dels gliomes	4
1.2.3. Presentació clínica	5
1.3. Estudi anatomopatològic en gliomes	6
1.3.1. Histopatologia dels gliomes: Classificació WHO i grau tumoral	6
1.3.2. Variables de pronòstic anatomopatològic en gliomes	8
1.3.3. La proliferació cel·lular: Ki67 %	12
1.3.4. Estudi molecular: mutació IDH-1	13
1.3.5. Estudi molecular: metilació MGMT	15
1.3.6. Estudi molecular: LOH 1p/19q	16
1.3.7. Altres marcadors immunohistoquímics i moleculars	18
1.4. Diagnòstic per la imatge: RM	22
1.4.1. Fonaments de la RM	22
1.4.2. Protocol d'estudi de la RM en gliomes	23
1.4.3. Captació de contrast	25
1.4.4. Perfusió. Índex rCBV	26
1.4.5. Espectroscòpia	27
1.5. Diagnòstic per la imatge: PET amb ¹¹ C-metionina	29
1.5.1. Fonaments de la PET	29
1.5.2. PET en gliomes	32
1.5.3. Utilització de la PET amb ¹¹ C-metionina en gliomes	37
1.5.4. Valoració visual i semiquantitativa.	40
1.5.5. Ratio T/N i <i>cut-off</i> .	43
1.5.6. Coregistre i fusió d'imatges RM i PET	44
1.6. Algoritme diagnòstic en gliomes	46

1.7. Terapèutica en gliomes	49
1.7.1. Planificació quirúrgica	49
1.7.2. Neuronavegador, <i>mapping</i> i 5-ALA en el maneig quirúrgic	51
1.7.3. Radioteràpia en gliomes	54
1.7.4. Quimioteràpia en gliomes	56
1.7.5. Teràpia antiangiogènesi en gliomes	57
1.8. Factors pronòstics en gliomes i <i>follow-up</i>	59
1.9. Comitè de neurooncologia	64
2. Hipòtesi de treball	65
3. Objectius	67
4. Metodologia	69
4.1. Població d'estudi	69
4.2. Procediments	71
4.3. Mostra de pacients per a cada variable d'estudi	76
4.4. Anàlisi de les imatges	77
4.5. Dades clíniques i seguiment	80
4.6. Anàlisi estadística	82
4.7. Consideracions ètiques i conflictes d'interès	85
5. Resultats	86
5.1. Resultats globals i descriptius	86
5.2. La PET amb metionina per a definir el grau tumoral en gliomes	94
5.3. Relació entre la PET, la proliferació cel·lular i el perfil molecular	97
5.4. Relació entre la PET i el perfil immunohistoquímic	99
5.5. Relació entre les troballes de la RM i de la PET	103
5.6. Anàlisi de la supervivència de la PET amb metionina en gliomes	108
5.7. Anàlisi dels factors pronòstic en gliomes	116
6. Discussió	119
6.1. Indicacions de la PET amb metionina en gliomes	119
6.2. La PET amb metionina per definir el grau tumoral en gliomes	123
6.3. Relació entre la PET, la proliferació cel·lular i el perfil molecular	127
6.4. Relació entre la PET i el perfil immunohistoquímic	132
6.5. Relació entre les troballes de la RM i de la PET	136
6.6. Anàlisi de la supervivència de la PET amb metionina en gliomes	140
6.7. Factors pronòstic en gliomes	145

6.8. Limitacions de l'estudi	152
7. Conclusions	153
8. Bibliografia	155
9. Annexes	177
9.1. Protocol d'estudi del centre d'investigació molecular	177
9.2. Condicions d'ús autoritzat de l'agència espanyola del medicament	179
9.3. Formulari de recollida de dades PET amb metionina	182
9.4. Document CEIC Parc de Salut Mar	183

GLOSSARI

A: Astrocitoma

AA: Astrocitoma anaplàstic

ADC: *Apparent diffusion coefficient*.

5-ALA: 5-Aminolevulinic acid hydrochloride (Gliolan®).

B₀: Camp magnètic.

BCNU: Carmustina (Gliadel®).

BEV: *Bevacizumab*, tractament antiangiogènesi (Avastin®).

BHE: Barrera hematoencefàlica.

CD34: Marcador de membrana de vascularització.

CD44: Marcador de membrana per a iniciació tumoral i l' adherència cel·lular.

CD133: Marcador de membrana de "cèl·lula mare" o *stem cell*.

Cho/Cr: Índex colina/creatinina per espectroscòpia.

Cho/Naa: Índex colina/aspartat per espectroscòpia.

CE: *Contrast enhancement* o captació de contrast a la RM.

CI: *Confidence interval* o interval de confiança.

¹¹C: Carboni 11.

¹¹C-MET: Molècula de ¹¹C enllaçada amb metionina. Traçador PET.

CPT-11: Irinotecan.

CTV: *Clinical target volume*.

DE: Desviació estàndard. (*SD*)

DWI: *Diffusion-weighted imaging*, seqüència de difusió de la RM.

E: Especificitat.

EGFR: *Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase domain*.

EORTC: *European Organization for Research and Treatment of Cancer*.

ESMO: *European Society of Medical Oncology*.

¹⁸F: Fluor 18.

FDA: *US Food and Drug Association*. Administració d'Aliments i Fàrmacs dels Estats Units.

FDG: *2-fluoro-2-desoxi-D-glucosa* o fluoro-desoxiglucosa.

FET: *O-(2-[18F]fluoroethyl)-L-tyrosine* o fluoro-etil-tirosina.

FISH: Tècnica d'hibridació in situ fluorescent per a l'estudi molecular de la cèl·lula tumoral.

FLAIR: *Fluid-attenuated inversion recovery signal*. Seqüència de la RM.

FLT: *F-fluoro-L-thymidine* o fluoro-timidina.

FN: Fals negatiu.

FP: Fals positiu.

FSE: seqüència *fast spin echo* de la RM.

GBM: Glioblastoma multiforme o glioblastoma.

Gd-DTPA: Medi de contrast amb gadollinium en RM.

GE: seqüència gradient echo de la RM.

GFAP: *Glial fibrillary acid protein*. Marcador de glia.

GTV: *Gross tumor volume*.

GTR: *Gross tumor resection* o resecció total.

Gy: unitat de mesura de dosi d'irradiació, grays.

HGG: *High grade glioma* o glioma d'alt grau.

H&E: Tinció en hematoxilina-eosina.

IDH-1 *mutation*: Mutació del gen *isocitrate dehydrogenase-1* en gliomes.

k: índex kappa de concordança entre dos o més observadors.

Ki67 (o Ki67-MIB1 LI): Antigen que expressa la proliferació cel·lular. En %.

KPS: *Karnofsky performance status* o índex de Karnofsky.

LCR: Líquid cefaloraquidi.

LGG: *Low grade glioma* o glioma de baix grau.

LOH: *Loss of heterozygosity*. Pèrdua o deleció del gen supressor tumoral.

M1: Metàstasi.

MBq: unitat de mesura de radiació en megabecquerels.

mCi: unitat de mesura de radiació en milicuries. 1 mCi = 37 MBq.

MET: *methionine* o metionina.

MGMT *promoter methylation* (o MGMT): Metilació del promotor del gen de la *methyl-guanine methyltransferase* o metilguanil-metiltransferasa, en gliomes.

MIB-1: Anticòs de Ki67. També com a Ki67-MIB1 LI.

NCCN: *National Comprehensive Cancer Network*. Guia americana de pràctica clínica en oncologia.

NTR: *Near total resection* o resecció subtotal.

OA: Oligoastrocitoma.

OD: Oligodendroglioma.

OLIG2: *oligodendrocyte transcription factor 2*.

OS: *overall survival* o supervivència global.

p: valor de significació estadística.

PACS: *Picture Archiving and Communication System*.

PCR: *Polymerase chain reaction*.

PET: *Positron emission tomography*. Tomografia per emissió de positrons.

PFS: *Progression-free survival*.

PCV: Tractament quimioteràpic amb procarbacin, lomustina i vincristina.

ppm: parts per milió.

p16: gen o proteïna p16.

p53: gen o proteïna p53.

1p/19q: LOH o co deleció dels al·lels a cromosomes 1p i 19q, en gliomes.

QT: quimioteràpia.

RANO: *Response Assessment in Neuro-Oncology Working Group*. Criteris RANO per a la valoració de recurrència per RM de tumors cerebrals.

Ratio T/N: Mètode de càlcul de l'activitat metabòlica tumoral per la PET.

rCBV: Índex de perfusió de la lesió tumoral / fons (*tumor/background*) en la RM.

RM: Ressonància magnètica.

ROC: *Receiver operating characteristics curve*. Corba ROC.

ROI: *Region of Interest*.

RT: radioteràpia.

RTOG: *Radiation Therapy Oncology Group*.

r: Correlació en la funció Spearman's rho i en la correlació de Pearson.

S: Sensibilitat.

SD: *Standard deviation*. (DE)

SE: Seqüència *spin echo* de la RM.

SNC: Sistema nerviós central.

STUPP: Protocol de tractament en glioblastomes.

SUV: *Standard uptake value* o activitat metabòlica estàndard.

SUVavg: Activitat metabòlica SUV *average* o mitja.

SUVmax: Activitat metabòlica SUV *maximum* o màxima.

T: Característiques del tumor; mida, infiltració.

T: Tesla, en unitats de mesura del camp magnètic.

T1 i T2: imatges potenciades de la RM.

TC: Tomografia computada (*CT computed tomography*).

T/N Ratio: Valoració semiquantitativa, índex SUV *tumor* / SUV *background*.

TMZ: Tractament quimioteràpic amb temozolamida (*temozolamide*).

VEGF: *Vascular endothelial growth factor*. Marcador de creixement vascular.

VPN: Valor predictiu negatiu.

VPP: Valor predictiu positiu.

VP-16: Etopòsid.

WHO *criteria*: classificació de la OMS d'agressivitat tumoral en gliomes.

WT1: *Wilms tumor suppressor gene*. Gen supressor de Wilms.

INDEX DE FIGURES I TAULES

Figura 1. Representació cerebral de les àrees anatomo-funcionals.

Figura 2. Representació cel·lular del teixit nerviós.

Figura 3. Secció anatomopatològica d'un glioma en tinció H&E.

Figura 4. Cascada de modificacions, mutacions, delecions i metilacions en el desenvolupament d'un glioblastoma primari o secundari.

Figura 5. Secció anatomopatològica d'una secció de glioma amb immunohistoquímica Ki67/MIB-1 LI.

Figura 6. Esquema del mètode PCR.

Figura 7. Metilació MGMT per mètode PCR.

Figura 8. LOH 1p/19q, per mètode FISH.

Figura 9. Oligodendrogliomes anaplàstics, relació LOH 1p/19q, mutació IDH i metilació MGMT.

Figura 10. Cascada d'alteracions genètiques i proteiques en gliomes.

Figura 11. Equip RM Philips Achieva 3 Tesla.

Figura 12. Seqüències RM d'un glioma.

Figura 13. Espectroscòpia. Pics de colina, aspartat i creatina.

Figura 14. Ciclotró IBA Molecular Cyclone 18/9.

Figura 15. Aniquilació d'un positró amb un electró.

Figura 16. Tomògraf PET Siemens E-CAT EXACT.

Figura 17. PET cerebral amb 18F-FDG i 11C-metionina en la detecció d'una recurrència.

Figura 18. Quantificació de la lesió amb ROI sobre el tumor T i càlcul del Ratio T/N.

Figura 19. Talls axials de la RM en T2, de la PET amb metionina i de la fusió RM-PET.

Figura 20. Algoritme diagnòstic en tumors cerebrals.

Figura 21. Algoritme terapèutic en gliomes.

Figura 22. Neuronavegador Medtronic Stealth Station.

Figura 23. Esquema de mapatge per a valorar àrees eloqüents.

Figura 24. Glioma marcat amb 5-ALA.

Figura 25. Esquema de planificació de RT en un glioma.

Figura 26. Cronograma PET amb ^{11}C -metionina.

Figura 27. Anàlisi i coregistre d'imatges PET i RM.

Figura 28. Correlació Ratio T/N^{MCU} i Ratio T/N^{CA}

Figura 29. Relació entre la PET i el grau tumoral (Box plots).

Figura 30. Corba ROC Ratio T/N, *cut-off* en la gradació tumoral.

Figura 31. Correlació Ratio T/N i Ki67/MIB-1.

Figura 32. Perfil immunohistoquímic. Relació entre Ratio T/N i la immunohistoquímica.

Figura 33. Correlació Ratio T/N i rCBV.

Figura 34. Corbes de Kaplan-Meier: Global, i segons les variables: tipus de prova, edat, grau tumoral i Ratio T/N.

Figura 35. Corbes de Kaplan-Meier segons: mutació IDH1, Ki67, MGMT i grau tumoral.

Figura 36. Corbes de Kaplan-Meier segons: Mida, creament línia mitja, KPS quirúrgic, i captació de contrast.

Figura 37. Corbes de Kaplan-Meier segons: Cirurgia, complicacions quirúrgiques, 5-ALA i mapatge.

Figura 38. Pacient nº 12. Troballes d'imatge i anatomopatològiques.

Figura 39. Comparació Ratio T/N PET ^{11}C -metionina per autors (*cut-off*).

Figura 40. Pacient nº 33. PET inicial i de seguiment, RM i estudi anatomopatològic.

Figura 41. Esquema de factors pronòstic.

Formula 1. Càlcul de l'activitat segons la SUV.

Formula 2. Mètode de càlcul de la Ratio T/N.

Taula 1. Classificació modificada WHO per gliomes.

Taula 2. Característiques del grau tumoral (WHO) i alguns dels marcadors en gliomes.

Taula 3. Característiques dels marcadors moleculars principals en gliomes.

Taula 4. Resum de les principals alteracions moleculars i citogenètiques en gliomes.

Taula 5. Valor diagnòstic i pronòstic de la RM multiparamètrica.

Taula 6. Característiques bàsiques dels principals traçadors PET en tumors cerebrals.

Taula 7. Indicacions de la PET en l'estudi de gliomes.

Taula 8. Traçadors PET no FDG en l'estudi de gliomes.

- Taula 9. Mètodes de valoració de la PET amb metionina.
- Taula 10. Resum de terapèutica en gliomes.
- Taula 11. Factors pronòstic, positiu o negatiu, estudiats en gliomes.
- Taula 12. Índex de Karnofsky pel grau de severitat del pacient.
- Taula 13. Variables clíniques de l'estudi.
- Taula 14. Taula descriptiva global.
- Taula 15. Pacients: Edat i sexe, troballes PET, característiques del tumor, perfil molecular i tractament.
- Taula 16. Pacients: simptomatologia.
- Taula 17. Taula de contingència entre les troballes moleculars i la PET.
- Taula 18. Pacients: PET i perfil immunohistoquímic.
- Taula 19. Pacients: PET, RM i *follow-up*.
- Taula 20. Taula de contingència entre les troballes de la RM i la PET.
- Taula 21. Variables de supervivència. Descripció dels resultats de les corbes de supervivència de Kaplan-Meier de la sèrie.
- Taula 22. Factors pronòstic: distribució segons variables.
- Taula 23. Anàlisi multivariant dels factors pronòstic.
- Taula 24. Bibliografia de la PET amb metionina en pronòstic i supervivència.

1. INTRODUCCIÓ

1.1. ESTRUCTURA I FUNCIÓ CEREBRAL

L'encèfal, dins del SNC, és l'estructura anatòmica per mitjà de la qual es desenvolupa tota l'activitat neural. El conjunt de l'estructura i la funció és el que configura la xarxa d'aquesta activitat. L'encèfal es divideix en tres parts: el cervell que regula les funcions superiors, el cerebel que regula el funcionament motor i el tronc de l'encèfal que inclou el mesencèfal, la protuberància i el bulb raquidi, i que regula, a més d'altres, les funcions cardíaques, respiratòries o el cicle de la son. L'estructura cerebral es constitueix pels lòbuls frontal, el de major mida, el temporal, el parietal i l'occipital on s'ubiquen les àrees funcionals (figura 1) [1].

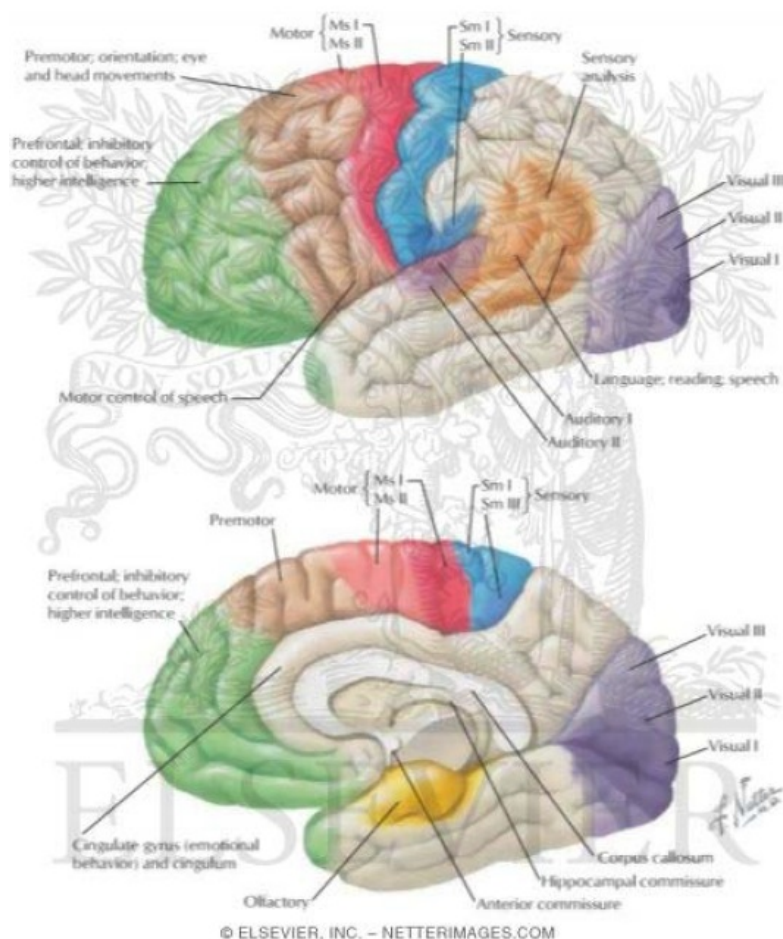


Figura 1. Representació cerebral de les àrees anatomo-funcionals, en color localització. Font: www.netterimages.com

El cervell presenta una part més superficial que és el còrtex o estructura cortical i una de més profunda o subcortical. En cada una d'aquestes estructures s'ubiquen les funcions motora, sensitiva, el llenguatge que es controla per les àrees de Broca i de Wernicke, la memòria i aprenentatge, la visió, l'audició, orientació, comprensió i habilitats apreses, així com la personalitat [2]. El concepte de distribució funcional en l'estructura cortical cerebral és el que s'ha definit com àrees eloqüents. Una àrea eloqüent és l'estructura neuro-anatòmica on s'ubica una funció superior. La lesió d'alguna d'aquestes àrees eloqüents, com per exemple per la presència d'un tumor, comporta dèficits neuronals o cognitius associats específicament a aquesta àrea [2] [3].

El teixit nerviós està format fonamentalment per dues microestructures cel·lulars; les neurones i les cèl·lules glials. Aquestes dues classes de cèl·lules presenten característiques molt diferents tant per la seva funció, constitució, i potencial de diferenciació i creixement cel·lular. Les neurones representen el 10% del total de cèl·lules del SNC. Són cèl·lules madures, diferenciades, molt especialitzades, encarregades de generar els potencials d'acció i d'enllaçar-se entre elles en xarxa mitjançant les perllongacions i les sinapsis.

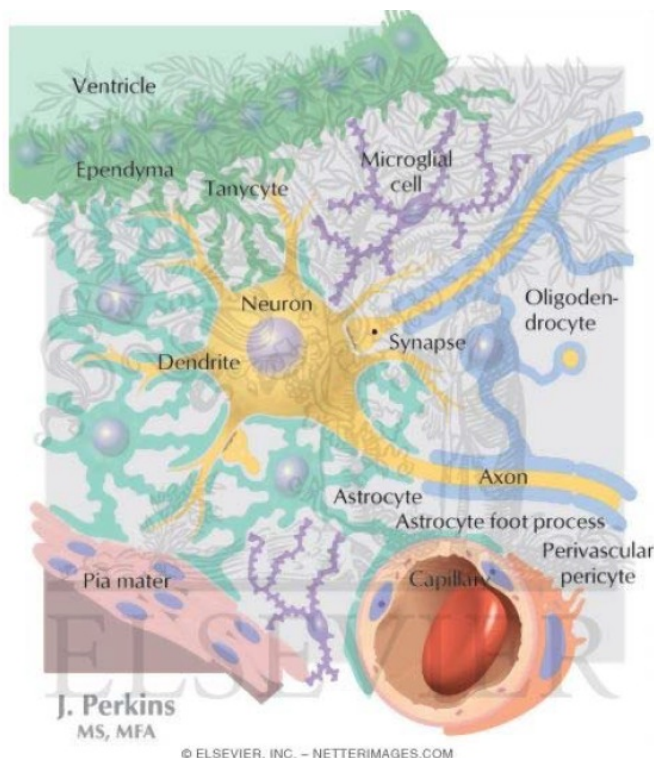


Figura 2. Representació cel·lular del teixit nerviós. Font: www.netterimages.com

Per altra banda les cèl·lules glials representen el 90 % del total, tenen funcions de suport, de síntesi de mielina, i de control metabòlic i de l'equilibri del líquid cefaloraquídi o LCR i de la barrera hematoencefàlica (BHE). Recentment s'ha descrit un ventall de noves funcions com la seva plasticitat estructural i d'activitat sinàptica o de distribució de senyal [4]. Aquestes cèl·lules tenen molt potencial de divisió cel·lular i configuren la major part de la macroestructura neuro-anatòmica. Les cèl·lules glials són el substrat del que es generen els tumors glials o gliomes en determinades circumstàncies. La glia és dividida en tres tipus de cèl·lules: els oligodendròcits que s'ocupen del procés de la mielinització, els astròcits que expressen múltiples proteïnes específiques i representen la major part del volum cel·lular de característiques cito-estructurals molt heterogènies, i finalment les cèl·lules endimàries que regulen el LCR.

En les últimes dècades [5] s'han desenvolupat tècniques de immunohistoquímica per a l'estudi dels neurotransmissors i marcadors cel·lulars que defineixen el comportament de la cèl·lula glial. Existeix material disponible per a la recerca en nombroses universitats i hospitals per a l'estudi neuropatològic i en l'àmbit de les neurociències (www.brainnet-europe.org, www.intbbrn.org). Aquest fet ha permès entendre millor els mecanismes de senyal cel·lular, creixement o síntesi proteica, la resposta al dany cel·lular o del teixit. A més ha contribuït a desenvolupar nous mètodes de cribratge o *screening* en el diagnòstic anatomo-patològic [6]. S'han identificat múltiples marcadors proteics en les cèl·lules glials com són el GFAP, S100, vimentina, VEGF, EGFR, EMA o β catenina i Cathepsina B [7] entre d'altres. Alguns d'aquests marcadors, a més, s'han estudiat en els tumors glials per a definir-ne la seva agressivitat [8].

1.2. EPIDEMIOLOGIA, ETIOLOGIA I CLÍNICA DELS GLIOMES

1.2.1. Epidemiologia dels gliomes

Els tumors cerebrals representen aproximadament un 2 % del total de tumors en adults [9], i es divideixen en metastàtics (M1) i en tumors primaris. Les lesions intracranials més freqüents són degudes a la presència de M1 [10] i representen més del 50 % del total de tumors cerebrals. S'ha descrit que fins a un 30 % de pacients amb tumors sistèmics, com són el càncer de pulmó, de mama, de còlon, de ronyó o el melanoma com a primaris més freqüents, presenten M1 cerebrals. Per altra banda els tumors primaris cerebrals es divideixen en glials i no glials. Els tumors glials representen fins al 80 % del total de tumors primaris al SNC [11] [12] [13] [14]. Els tumors d'origen glial s'anomenen gliomes i es classifiquen segons el tipus de cèl·lula en oligodendrogliomes, astrocitomes, ependimomes i mixtes, oligoastrocitomes per la *World Health Organization* (WHO) [15]. A més els astrocitomes es classifiquen en 4 graus: I, II, III i IV. Els gliomes de grau IV són els glioblastomes. El grau defineix l'agressivitat del tumor i a més grau, més agressivitat i pitjor pronòstic [14].

El pic de major incidència dels gliomes és entre els 35 i els 45 anys [12] si bé poden aparèixer en qualsevol edat, i de fet l'edat mitja d'aparició es troba entre els 53 i 56 anys [13]. S'ha observat una major prevalença en homes que en dones [13] [14], així com variacions geogràfiques [13]. La variació geogràfica s'explica per les diferències entre els factors medi ambientals [14] [16].

1.2.2. Etiologia dels gliomes

Existeixen múltiples factors causants de l'aparició d'un glioma, genètics i hereditaris, medi ambientals i per professions, immunològics, nutricionals, per exposició a determinats virus, exposicions a radiacions ionitzants o a la radioteràpia i fins i tot per l'estatus socioeconòmic per exposició ocupacional [16]. En la interacció entre factors genètics i ambientals en el desenvolupament i agressivitat dels gliomes s'ha descrit la importància dels polimorfismes. El polimorfisme o variabilitat genètica indiquen una major susceptibilitat de desenvolupar un glioma en funció de l'expressió o no d'un determinat marcador

cel·lular o proteic, per exemple l'expressió d'interleuquines que regulen el sistema immunològic, alteració de gens que altera la reparació de l'ADN com per exemple el MGMT, o de la mort cel·lular programada o apoptosi, com és el cas de les variacions gèniques de la MDM2, o de mutacions que regulen les quinases, com la del EGFR. En resum la combinació entre els factors carcinògens i la predisposició gènica i de la variabilitat d'expressió de polimorfismes, fan que el desenvolupament d'un tumor glial sigui d'etiologia multifactorial [13] [14] [16].

1.2.3. Presentació clínica dels gliomes

La simptomatologia més freqüent en la presentació clínica dels tumors cerebrals primaris és la crisi epilèptica, especialment en el cas dels gliomes de baix grau, que poden presentar-se com a únic símptoma o bé associada a dèficits neurològics i a l'efecte de l'augment de pressió intracranial a mesura que la lesió tumoral cerebral va creixent [17]. Els dèficits neurològics que presenten els pacients amb tumors cerebrals depenen de la localització del tumor, de la seva mida així com de l'afectació o no d'àrees eloqüents [2]. Així doncs, la presentació clínica mostra quadre més o menys florit de símptomes que en el cas dels gliomes d'alt grau inclou, entre d'altres, la cefalea, nàusees o vòmits, canvis de personalitat, dèficits cognitius, parèsia, hipoestèsia o disminució de la sensibilitat, afàsia, alteracions visuals, incontinència urinària i alteració de la marxa i dismetria o trastorns de moviment. En aquest sentit sovint els professionals sanitaris que es troben inicialment els pacients amb tumors cerebrals malignes, inclosos els gliomes, són els metges de família, els especialistes en medicina interna i els metges dels serveis d'urgència [18].

Una altra simptomatologia que pot presentar-se en tumors cerebrals és la simptomatologia psiquiàtrica que inclou els trastorns orgànics no psicòtics o de la personalitat, els trastorns orgànics psicòtics i els trastorns de l'espectre afectiu. Aquests es classifiquen segons la CIM-9-MC (Classificació Internacional de Malalties 9a edició Modificació Clínica o *ICD-9-CM: International Classification of Diseases 9th revision Clinical Modification*).

1.3. ESTUDI ANATOMOPATOLÒGIC EN GLIOMES

1.3.1. Histopatologia dels gliomes: Classificació WHO i grau tumoral.

D'acord amb la classificació de tumors cerebrals 'WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System' de 2007 [15] els gliomes es divideixen en ependimomes, astrocitomes, oligodendrogliomes i oligoastrocitomes, si bé més recentment [19] es van afegir nous canvis en la gradació tumoral fet que es van designar noves categories com per exemple els oligoastrocitomes anaplàstics, els tumors del plexe coroïdal, tumors pineals, gangliogliomes, liponeurocitoma cerebel·lós i hemangiopericitomes, o noves entitats com el tumor rabdoide associat a síndromes.

El grau tumoral dels gliomes es basa en la presència de les següents troballes: Densitat cel·lular, atípies cel·lulars, mitosis, formació de palissades, hiperplàsia i proliferació endotelial i necrosi tumoral. Aquestes troballes es descriuen en la tinció d'hematoxilina eosina (H&E), (figura 3) [9] [15].

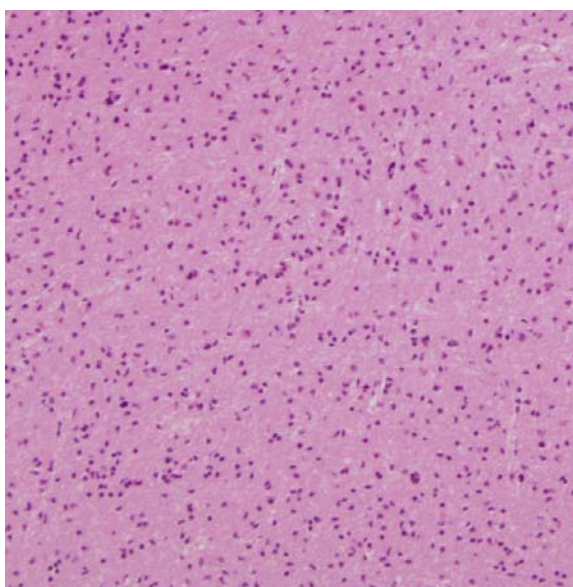


Figura 3. Secció anatomopatològica d'un glioma en tinció H&E (x40).

D'acord amb la presència de les troballes descrites es defineix no només el tipus de glioma sinó també la gradació tumoral dels gliomes (taula 1).

Els astrocitomes es divideixen en l'astrocitoma pilocític (grau I), els astrocitomes difusos (grau II), en astrocitomes anaplàstics (grau III) i en glioblastomes multiforme (grau IV). Els oligodendrogliomes (OD), que

presenten la imatge característica en “ou ferrat” o “*fried egg*” per la seva aparença, també es divideixen en OD de baix grau (grau II) o d’alt grau (III, oligodendrogliomes anaplàstics). Per altra banda els oligoastrocitomes són astrocitomes amb component oligodendrocític, fet que els fa tenir un comportament d’agressivitat diferent als astrocitomes o als oligodendrogliomes. La classificació més recent [19] afegeix complexitat: es defineixen els gliomes angiocèntrics (grau I), els gangliogliomes (graus I o III).

A més els glioblastomes, que són els gliomes més agressius, tenen comportaments de supervivència o agressivitat diferent en funció dels elements cel·lulars i moleculars. Així es poden subdividir en glioblastomes amb component oligodendrocític, en glioblastomes de cèl·lules gegants o de cèl·lules petites, des del punt de vista cel·lular, i en clàssics, mesenquimàtics, proneurals i neurals segons el patró immunohistoquímic [9]. Totes aquestes característiques porten a definir el concepte del *variants or patterns of differentiation*. Els tumors mostren morfologies o marcadors cel·lulars diferents i això té una implicació en el comportament del tumor; en la seva agressivitat, en la resposta a un determinat fàrmac o en el potencial de creixement o desdiferenciació tumoral [19].

Glioma	WHO grade	Classification	Prognosis
pilocytic A	I	LGG	best
A or OD or OA	II		
AA or anaplastic OD	III	HGG	worst
or anaplastic OA			
GBM with oligo component	IV		
Other GBM			

Taula 1. Classificació modificada WHO per gliomes, basada en la literatura [15] [19].

1.3.2. Variables de pronòstic anatomopatològic en gliomes.

A més a més del grau tumoral i de les característiques histopatològiques dels gliomes, segons la classificació de la WHO 2007 i de la revisió de 2008, com a factors pronòstic, s'han descrit nombrosos marcadors biològics (taula 2) [8], i alteracions genètiques com mutacions o delecions que influeixen en la supervivència d'aquest tumors [9]. La variabilitat genètica d'aquests marcadors i dels patrons de diferenciació dels gliomes confereixen una marcada heterogeneïtat dels tumors glials [20] [9].

En aquesta mateixa línia d'investigació s'han estudiat seqüències genòmiques dels gliomes malignes per diferenciar-ne la seva agressivitat i la possibilitat de recurrència post-tractament, i de fet en gliomes de baix grau recentment s'ha publicat, la seqüència de mutacions que provoquen aquesta recurrència [21]. Els gliomes de baix grau si bé tenen millor pronòstic que els d'alt grau, tenen un elevat potencial de progressió o transformació en gliomes més agressius o glioblastomes 'secundaris' [22] [23], especialment quan són gliomes difusos [24] així com de recurrència una vegada tractats. Els gliomes d'alt grau presenten un curs evolutiu invariablement fatal amb una baixa supervivència. Mentre la mitja de supervivència dels gliomes de baix grau es troba entre 3 i 10 anys [25], si bé existeix una enorme variabilitat segons els estudis publicats [13] [17], en el cas dels gliomes d'alt grau és molt menor. Els astrocitomes anaplàstics [26], mostren una supervivència entre 2 i 3 anys [18], i en els glioblastomes s'ha observat una supervivència mitja entre els 12 i 18 mesos [27] i pot arribar a ser de només 3 mesos sense tractament [13] [28].

Pel que fa a la histopatologia dels gliomes s'ha observat una major supervivència per als gliomes amb component oligodendrocític que per aquells que presenten fonamentalment component astrocític [18], tant per als de grau II com per als d'alt grau com els glioblastomes mixtes o amb component oligodendrocític [9].

En l'estudi molecular, per immunohistoquímica, dels gliomes les mutacions IDH1 i IDH2, les codelecions o LOH 1p/19q i la metilació del promotor MGMT són els tres marcadors moleculars més utilitzats de rutina pel seu valor diagnòstic i pronòstic [20]. Altres marcadors que s'han utilitzat per a valorar

l'agressivitat del tumor són l'expressió del receptor del factor de creixement epidèrmic EGFR, les proteïnes CD34, CD44, CD56, CD68, CD133, la β catenina, la VEGF que té relació amb la angiogènesi tumoral, la GFAP, els protooncògens c-Myc c-MER, Ras, Bcl2, la mutació dels gens supressors p53, p21, p16, PTEN i WT1, les alteracions de les integrines, de la MDM2 o les mutacions BRAF (en l'astrocitoma I), entre d'altres [7] [8] [9] [20] [21] [24] [26] [18] [29] [30].

Histopathology		
WHO grade glioma	Characteristics	Prognosis
II	1 or 2 findings except necrosis	Low grade
III	3 findings except necrosis	High grade
IV	Necrosis & other findings	Poor prognosis (III & IV)
Immunohistochemistry	Prognostic markers	Outcome
IDH-1 mutation	Mutation in isocitrate dehydrogenase 1	Progression to GBM
IDH-2 mutation	Mutation in isocitrate dehydrogenase 2	Progression to GBM
MGMT	Methylation	Worst if negative
LOH 1p/19q	Loss of heterozygosity of 1p/19q	Worst if negative
Ki67 / MIB-1	Index of cellular proliferation (%)	Poor if high %
p53 (mutation)	Tumor suppressor gene	Progression to GBM
VEGF	Vascular endothelial growth factor	Higher in larger tumor size
GFAP	Glial fibrillary acid protein	Lower in dedifferentiation glioma
Vimentin	Precursor of GFAP	
kallikrein 6	Protein of secretory epithelial cells	Low expresion in GBM
CD68	Marker for macrophage and microglia	Elevated in dedifferentiation glioma
CD4	Protein of T-cells	Progression to GBM
EGFR	Epidermal growth factor receptor, tyrosine kinase domain	Poor prognosis (in GBM)
Cathepsin B	Connective protein	Highly elevated expression in GBM
synaptophysin	Marker of neuroendocrine tumor	Negative in glioma
S100	Family of calcium-binding proteins	Negative in glioma
leukocyte esterase	Neutrofil infiltration	Higher in high gliomas

Taula 2. Característiques del grau tumoral (WHO) i d'alguns dels marcadors en gliomes, modificat de [7] i [8].

En astrocitomes grau II [12] i grau III trobem mutacions del gen p53 i són molt més freqüents les mutacions IDH1, IDH2, les codelecions LOH 1p/19q o la metilació MGMT, molt menys freqüent en glioblastomes [20].

Les alteracions en EGFR, en canvi, s'han associat a glioblastomes primaris, amb una major proliferació cel·lular i pitjor supervivència [31], alteracions molt menys freqüentment en gliomes de grau II i III [20].

La presència o no dels marcadors moleculars mutacions IDH1/IDH2, LOH 1p/19q, la metilació del promotor MGMT i l'expressió de EGFR, tenen implicació pronòstic (taula 3) [12] [20] [31].

	Mutation IDH-1	LOH 1p/19q	MGMT promoter methylation	EGFR Mutation
Method assessment	Immunohistochemistry for IDH1 R132H, (pyro) Sequencing / PCR	FISH analysis LOH	MSP or bisulfite Sequencing / PCR	PCR
Frequency				
Diffuse astrocytoma	70-80 %	15%	40-50 %	
OD / OA	70-80 %	30-60 %	60-80 %	
AA	50-70 %	15%	50%	
anaplastic OD / OA	50-80 %	50-80 %	70%	
GBM*	5-10 %*	< 5%	35%*	25-30 %
Diagnostic role	Differential diagnosis between diffuse glioma & gliosis	Strong association with oligodendroglial component		Strong association with GBM
Prognostic role	Positive prognostic factor Absence of mutation suggests predictive role for MGMT	Favourable for oligodendroglial tumours treated with RT or alkylating agent chemotherapy or both	Prognostic for anaplastic Glioma patients (possibly with IDH mutation) treated with RT or alkylating drugs	Negative prognostic factor

Taula 3. Característiques dels marcadors moleculars principals en gliomes. Modificat de [20]. GBM* = els percentatges depenen que es tracti d'un glioblastoma primari o secundari.

Per altra banda, s'ha estudiat i descrit la cascada de mutacions o *genetic pathways* que tenen lloc en el desenvolupament en glioblastomes primaris i secundaris [24] [23]. En aquest sentit s'ha realitzat un enorme esforç de recerca d'investigació en xarxa en l'estudi de les alteracions moleculars en el glioblastoma que inclouen les alteracions en l'ADN amb pèrdues o guanys, les metilacions d'ADN i l'expressió gènica i mutacions per *The Cancer Genome Atlas* (TCGA) [32]

S'ha definit el glioblastoma primari com aquell tumor glial diagnosticat per biòpsia o cirurgia, sense evidència de lesió clínica o histològicament previ al diagnòstic. S'ha definit de glioblastoma secundari aquell tumor glial que presenta criteris de glioblastoma i que ha progressat o s'ha transformat a partir d'una lesió que histològicament o per neuroimatge es tractava d'un glioma de baix grau o un astrocitoma anaplàstic prèviament [23] (figura 4).

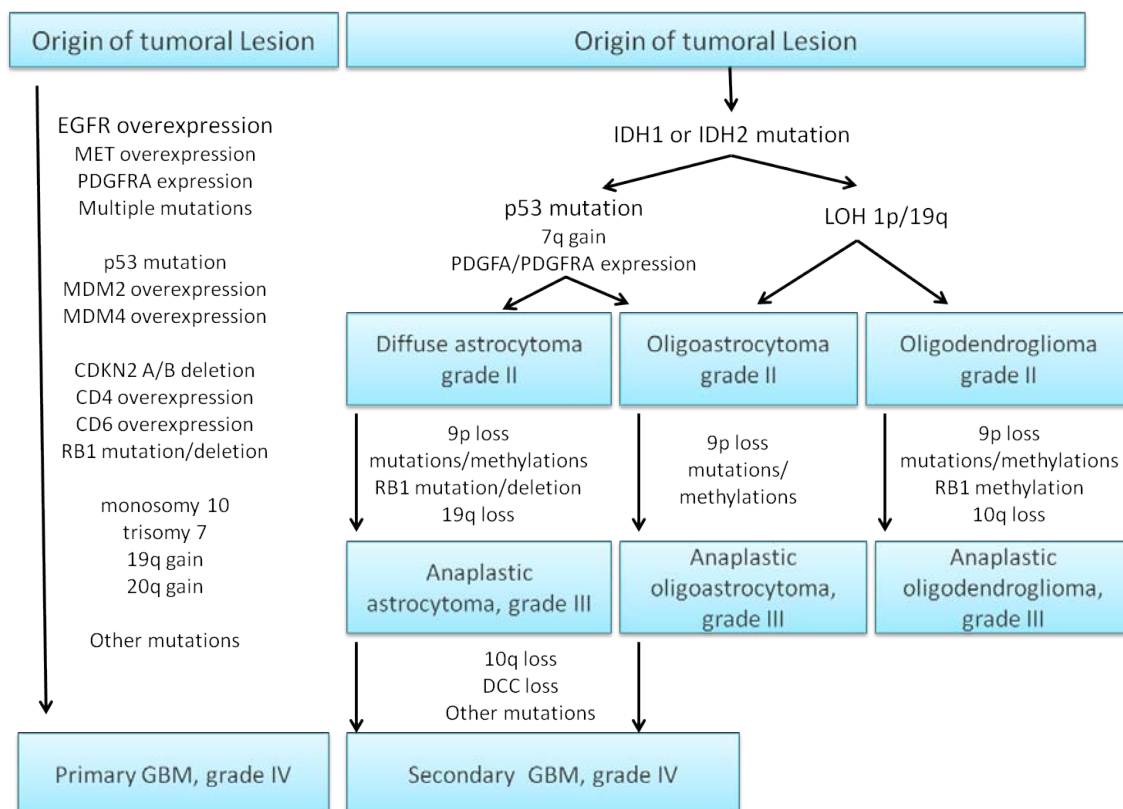


Figura 4. Cascada (*pathway*) de modificacions, mutacions, delecions i metilacions en el desenvolupament d'un glioblastoma primari o secundari. Modificada de [24].

En l'estudi d'agressivitat tumoral s'ha estudiat àmpliament el valor pronòstic i com a marcador predictiu del Ki67, antigen que expressa la proliferació cel·lular en càncer [33]. En el cas dels gliomes l'ús del Ki-67 *labelling index* o MIB-1 s'ha utilitzat com a marcador pronòstic i en la valoració de la supervivència [34] [35].

Finalment s'ha postulat si la presència incrementada de macròfags al tumor, micròglia o limfòcits, és un factor protector o potenciador del glioma. Els macròfags tenen una acció tumoricida, alliberant interleuquines (IL) i altres immunosupressors que regulen el sistema immunitari i així controlen el creixement i expansió del glioma. No obstant, s'ha vist com la presència elevada de macròfags al microambient tumoral del glioma a la llarga n'afavoreix la seva progressió [36].

1.3.3. La proliferació cel·lular: Ki67 %

El Ki67 és un anticòs de classe monoclonal tipus IgG1 que fou descobert per Gerdes et al [37], que reconeix l'antigen present en la cèl·lula proliferativa i es troba absent en les cèl·lules aquiescents. L'antigen s'expressa en totes les fases del cicle cel·lular excepte en la fase G0 i a l'inici de la fase G1. L'expressió de l'antigen varia en funció de la fase del cicle en que es troba. No obstant la valoració de l'expressió del Ki67 va comportar problemes tècnics ja que únicament es podia estudiar en teixit fresc o congelat, en cas contrari perdia la seva tinció. El descobriment de l'anticòs MIB-1 va permetre de valorar l'antigen Ki67 que, un cop fixat el teixit tumoral en estudi en formalina i inclòs en parafina, permetia fer múltiples seccions del mateix amb una bona detecció del Ki67 [34]. Les cèl·lules amb tinció marró són les que expressen el Ki67 (figura 5). El càlcul de cèl·lules en proliferació es realitza contant el total de cèl·lules positives respecte la mostra de teixit tumoral per camp i s'extreu el percentatge (%).

Existeixen múltiples treballs que fan referència al valor pronòstic i de supervivència del Ki67/MIB-1 LI en astrocitomes [34] [35], si bé amb resultats variables [38] [39] [40]. No obstant, malgrat les discrepàncies, existeix consens en que els gliomes que presenten un major percentatge de cèl·lules amb expressió Ki67, mostren un pitjor pronòstic [34]. Tot i així no hi ha acord en quin és el punt de tall o *cut-off* per a diferenciar entre gliomes amb comportament

més o menys agressiu. Per aquest motiu s'ha consensuat que el valor del Ki67 cal avaluar-ho conjuntament amb la resta dels paràmetres que defineixen l'agressivitat del glioma i cada laboratori de referència o centre d'estudi ha de definir el seu protocol per integrar-ho dins de l'algoritme diagnòstic i pronòstic [34] [35].

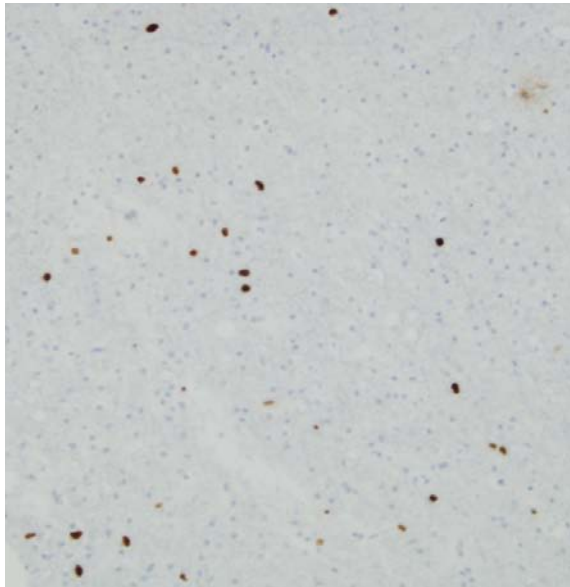


Figura 5. Secció anatomopatològica d'una secció de glioma amb immunohistoquímica Ki67 / MIB-1 LI (x40).

1.3.4. Estudi molecular: mutació IDH-1

La IDH o isocitrat deshidrogenasa és un enzim del cicle de Krebs que juga un paper cabdal en la regulació de metabolisme cel·lular catalitzant la descarboxilació oxidativa amb la conversió de l'isocitrat a α -quetoglutarat que genera NADPH a partir de NADP en el seu procés, fet que protegeix la cèl·lula dels agents oxidants [20] [41]. Les mutacions en els gens de les IDH les trobem en els gliomes des d'un inici de la seva formació i s'activen amb la mutació de l'arginina al codó 132 de la IDH-1 (R132H, Arg¹³²→His), i en el codó 172 (R172) de la IDH-2 [42]. La IDH-1 mutant inhabilita la funció de la IDH-1 no mutant o salvatge (*wild-type*) i converteix l' α -quetoglutarat en 2-hidroxiglutarat que afavoreix la progressió tumoral. El 2-hidroxiglutarat altera els factors de transcripció de la hipòxia cel·lular i afavoreix el creixement de la cèl·lula glial i la seva transformació maligne i recurrència [21] ja que altera la síntesi de la NADPH i per tant la funció cel·lular. De fet es comporta com un oncometabòlit

que quan s'acumula en grans proporcions es pot detectar per espectroscòpia en la RM [20]. Per altra banda la mutació de la IDH-1 altera el metabolisme glucídic via HIF-1 α que regula el factor de transportador de glucosa 1 (Glut-1) i el factor de creixement endotelial (VEGF) [41].

La mutació de la IDH-1 permet classificar els gliomes en adults en dos grups: els de la forma salvatge o IDH-*wild-type* versus els mutants o IDH-*mutant*. Així mentre en gliomes grau I o astrocitoma pilocític i en glioblastomes primaris trobem la IDH-1 no mutant, la mutació IDH-1 la trobem en la majoria dels astrocitomes grau II i III, en els oligodendrogliomes i en els oligoastrocitomes [24], i també en uns pocs glioblastomes secundaris [20].

Per contra s'ha vist que els gliomes amb la variant no mutant o IDH-*wild-type* mostren una cascada d'alteracions moleculars en el tumor diferent a la regulada per la IDH-1 mutant, on hi intervenen altres cascades de mutacions diferents a la de les IDH. Els gliomes grau II, III o IV que presenten la variant IDH-*wild-type* o no mutant presenten un pitjor pronòstic que aquells d'igual grau tumoral però amb la variant IDH mutant, probablement perquè la població tumoral és més heterogènia i més indiferenciada [20] [21]. S'ha observat que els astrocitomes grau III i IV que presenten la mutació IDH-1 mostren una major supervivència, fet que no s'ha demostrat tant clarament en el cas dels astrocitomes grau II [43]. La figura 6 mostra l'esquema de l'estudi molecular per PCR, mitjançant gel d'electroforesi, usada en l'estudi de la mutació IDH-1.

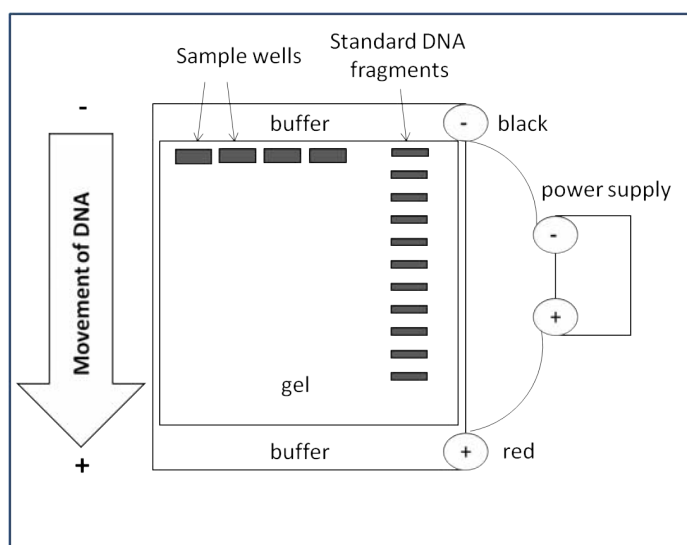


Figura 6. Esquema del mètode PCR. Estudi molecular per gel d'electroforesi.

En l'actualitat l'estatus de mutació IDH-1, mutant *versus* no mutant (figura 6) no té una implicació en la decisió clínica del glioma [20] [24].

1.3.5. Estudi molecular: metilació MGMT

Una de les modificacions gèniques més estudiades en humans és la metilació de l'ADN. La metilació de l'ADN es controlada per la família d'enzims conegudes com a ADN metiltransferases. Aquests enzims catalitzen la transferència d'un grup metil de la S-adenosil-metionina a l'ADN i són els responsables de mantenir el patró de metilació durant la replicació del material genètic. Els patrons de metilació s'han estudiat àmpliament en els gliomes i especialment en els glioblastomes, com a fenòmens implicats en el seu desenvolupament. L'enzim O⁶-metilguanina-ADN-metiltransferasa o MGMT pertany a la família de les metiltransferases i és un dels marcadors més estudiats en el desenvolupament dels gliomes [43].

El gen de la MGMT es localitza al cromosoma 10q26 i codifica l'expressió de reparació enzimàtica que elimina els grups alquil de la posició O⁶ de la guanina. Per aquest motiu la MGMT protegeix les cèl·lules sanes dels carcinògens. No obstant també protegeix les cèl·lules tumorals dels efectes de la quimioteràpia amb agents alquilants com la temozolamida (TMZ). La metilació de la MGMT transforma l'efecte normal de la MGMT i fa sensible els gliomes a la TMZ [43] [44].

En aquest sentit la metilació del promotor del gen de la MGMT és un dels factors que prediuen la supervivència en gliomes [41] (figura 7). Stupp et al. [45] van demostrar que els glioblastomes amb presència de metilació de la MGMT que es tractaven amb radioteràpia (RT) combinada amb temozolamida (TMZ) presentaven major supervivència que aquells que no ho presentaven.

La metilació del promotor de la MGMT es troba en el 35 dels gliomes malignes grau IV i és més freqüent en els oligoastrocitomes i oligodendrogliomes fins a un 60 - 80% siguin de grau II o III [20].

Per altra banda s'ha associat la presència de la metilació de la MGMT a la mutació de la IDH-1, segons Wick et al. [46]. Aquests autors van demostrar que

la supervivència dels gliomes tractats amb RT i TMZ amb metilació de la MGMT era major independentment de la presència o no de la mutació de la IDH-1 i que en gliomes que combinaven de la metilació de la MGMT i de la mutació de la IDH-1, la supervivència s'incrementava més.

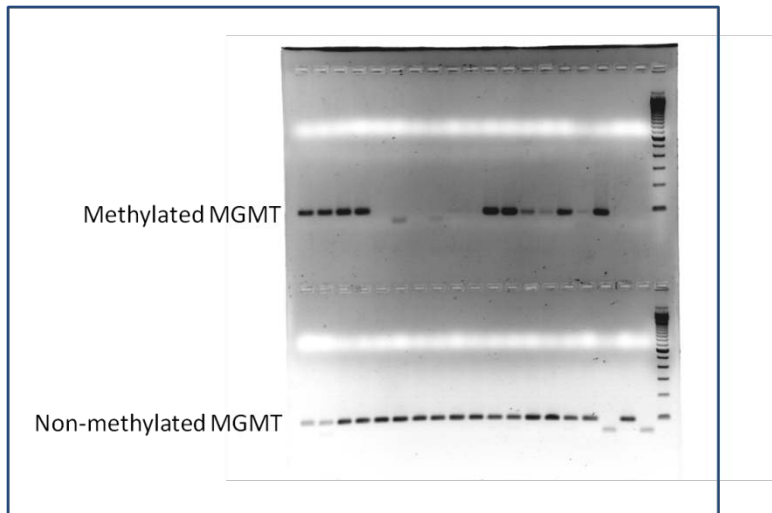


Figura 7. Estudi de la metilació del promotor de la MGMT per mètode PCR.

1.3.6. Estudi molecular: LOH 1p/19q

La pèrdua o deleció combinada dels braços cromosòmics 1p i 19q com a resultat d'un desequilibri en la translocació $t(1;19)(q10;p10)$ comporta la pèrdua del cromosoma híbrid i per tant a la pèrdua de l'heterozigosi [47].

L'estudi de la co-deleció (*loss of heterozygosity* o LOH) de 1p/19q es realitza utilitzant la tècnica FISH per als al·lells als cromosomes 1p36 i 19q13 (figura 8). Aquesta alteració genètica s'ha associat amb la histologia oligodendroglià i rarament la trobem en altres tumors. A més la majoria dels oligodendrogliomes amb LOH 1p/19q mostren alhora mutacions al gen *CIC*, un homòleg del gen *capicua* de la mosca del vinagre *Drosophila* que ha obert noves línies d'investigació [20]. En general s'ha trobat la LOH 1p/19q en el 80% dels oligodendrogliomes grau II, en aproximadament el 60% dels oligodendrogliomes anaplàstics grau III i entre el 30-50% dels oligoastrocitomes i el 20-30% dels oligoastrocitomes anaplàstics. Per contra únicament s'ha trobat en el 10% dels astrocitomes difusos i rarament en els glioblastomes [24].

La importància de la presència de la LOH 1p/19q en els tumors oligodendroglials es deu a la seva major sensibilitat al tractament amb radioteràpia o als agents alquilants. Concretament dos estudis, el de l'*European Organization for Research and Treatment of Cancer* (EORTC) 26951 [48] i el del *Radiation Therapy Oncology Group* (RTOG) 9402 [49], van demostrar que la combinació de la procarbacina, lomustina i vincristina (PCV) abans o després de la RT millorava la supervivència d'aquests pacients.

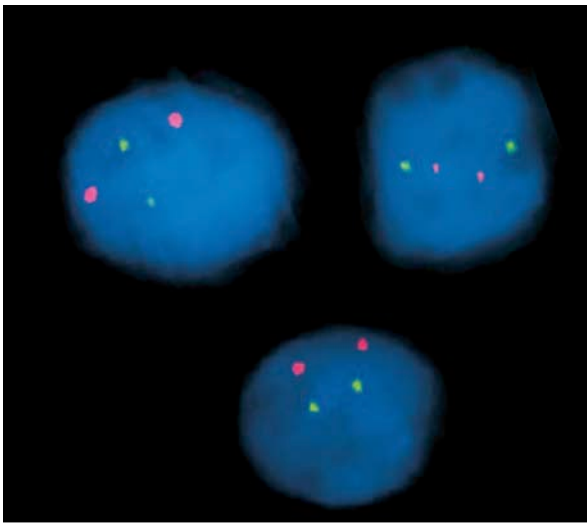


Figura 8. LOH 1p/19q per mètode FISH.

Per aquest motiu es considera que la presència de la LOH 1p/19q té valor pronòstic en oligodendrogliomes o tumors amb component oligodendrogliàl [20] [24]. A més recentment s'ha descrit una possible relació entre la captació amb la PET amb 11C-metionina i la presència de la LOH 1p/19q en tumors oligodendroglials [50].

Una altra troballa de l'estudi EORTC 26951 [48] fou observar que en glioblastomes anaplàstics existia una estreta correlació entre la presència de LOH 1p/19q i la metilació MGMT i la mutació IDH-1. Pràcticament tots els tumors que eren LOH 1p/19q + eren IDH-1 + i tots els que eren IDH mutants mostraven metilació de la MGMT. Això no succeïa a la inversa (figura 9).

Per altra banda en els pacients diagnosticats de tumors oligodendroglials que no presenten la co-deleció s'ha proposat el protocol Stupp [27] si bé la pauta de tractament encara no està ben definida.

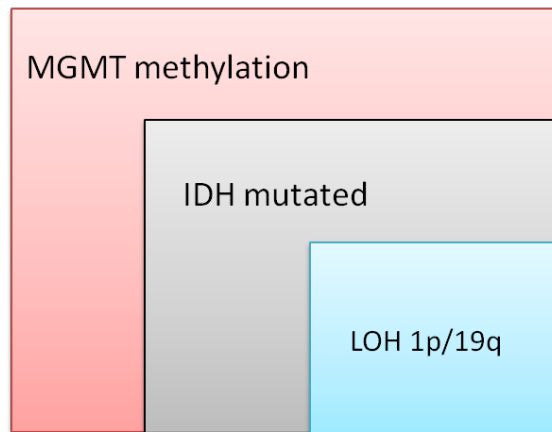


Figura 9. Oligodendrogliomes anaplàstics, relació LOH 1p/19q, mutació IDH i metilació MGMT. Font: Manual GEINO 2013.

1.3.7. Altres marcadors immunohistoquímics i moleculars

Les alteracions genètiques i proteiques relacionades amb el desenvolupament del glioma inclouen quatre grans grups: les alteracions en oncògens, la dels gens supressors, les alteracions genètiques de senyal en cascada o *signaling pathway* i un grup de miscel·lània. L'enorme complexitat de les interaccions genètiques entre els oncògens, els gens supressors, les alteracions de senyal de la cèl·lula glial i els fenòmens en cascada o *pathway* que hi intervenen es pot observar en la figura 10 [44].

Les alteracions dels oncògens, dels gens supressors i les del senyal en cascada propicien la inhibició de l'apoptosi, l'alteració de la reparació de l'ADN cel·lular, la proliferació i angiogènesi del tumor, la seva migració i la transformació maligna del glioma [44] [41].

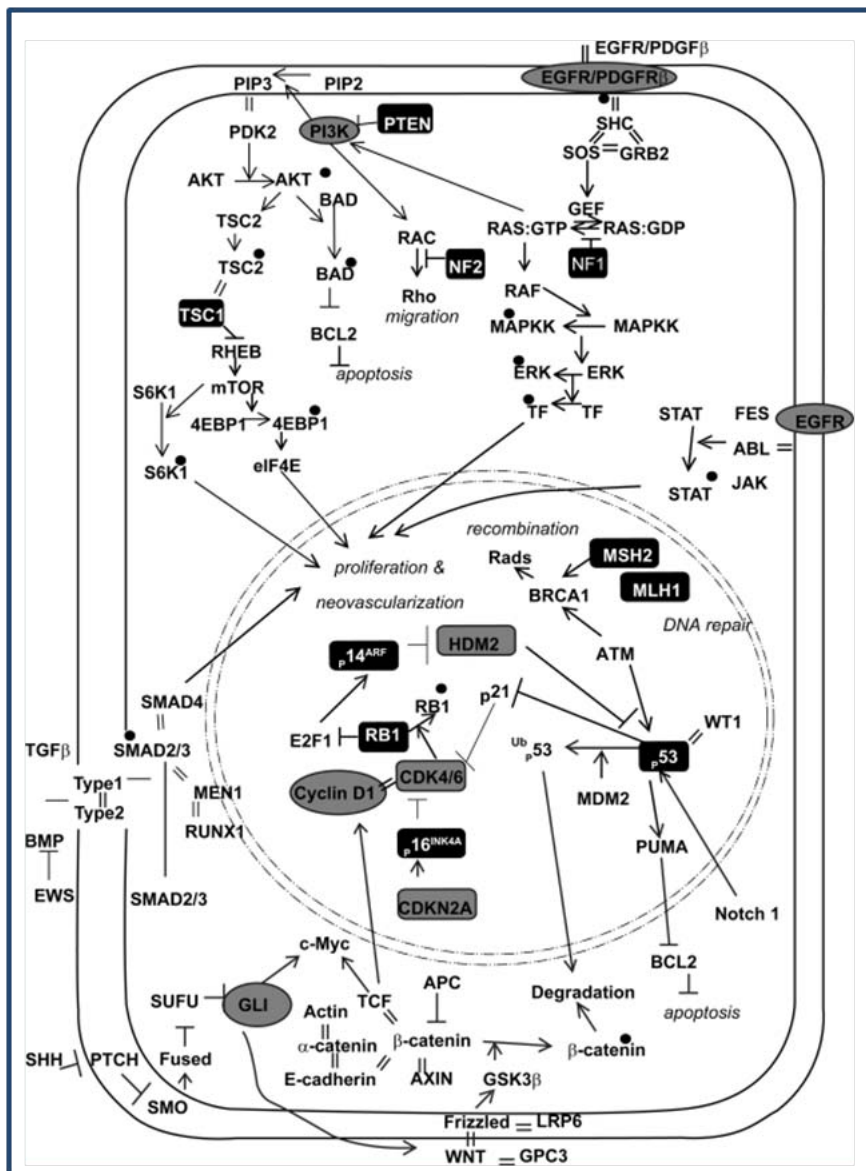


Figura 10. Cascada d'alteracions genètiques i proteiques en gliomes [44]. Gens supressors, en quadre negre. Oncògens, en cercle gris. Grups fosfats, bola negra. Interaccions proteiques, signes =.

En síntesi l'esquema general d'alteracions genètiques que indueixen en la formació del glioma inclou les següents [44] [41]:

- Alteracions cromosòmiques: Pèrdues o delecions d'al·lels de 1p, 6q, 7q, 9p, 10p, 10q, 13q, 14q, 15q, 17p, 18q, 19q, 22q. Codelecions o pèrdues combinades com la LOH 1p/19q.
- Alteracions cromosòmiques: Guanys per amplificació, duplicació o mutació cromosòmica, de 7q, 19q, 20q entre d'altres.

- Sobre expressió gènica de marcadors o molècules de superfície cel·lular CD (*cluster of differentiation*) com el CD4, CD34, CD44, CD56, CD68 o el CD133 entre d'altres.
- Metilacions de grups com la MGMT.
- Mutacions en proteïnes IDH, enzims relacionats amb el metabolisme cel·lular: la IDH-1, la més estudiada, i la IDH-2.
- Amplificacions de protooncògens a oncògens com el c-Myc, Ras o el Bcl-2.
- Alteracions en factors de creixement o del cicle cel·lular com en VEGF i EGFR.
- Alteracions en l'expressió de la β catenina.
- Alteracions en gens supressors de creixement: p53, p21, p16, PTEN, RB1, WT1, entre d'altres.
- Alteracions de la senyal en cascada o *pathway* com el PI3K, JNK, p50, p65, MDM2, MDM4, entre d'altres.

A més a més existeix un altre factor que afavoreix l'agressivitat tumoral i l'heterogeneïtat dels gliomes i que en dificulta el seu tractament que són les *glioma stem cells* o 'cèl·lules mare'. Les *stem cells* representen una petita fracció dins de la població cel·lular tumoral, per les seves característiques multipotencials poden diferenciar-se en múltiples línies cel·lulars fet que configura encara més l'heterogeneïtat del tumor i en dificulta el seu tractament. Les *stem cells* s'agrupen formant illes o nínxols molt vascularitzats que permet una bona nutrició del tumor i el protegeix dels mecanismes d'apoptosi cel·lular que en cas contrari s'activarien i les destruirien [51]. El marcador molecular més utilitzat en l'estudi de les *stem cells* en gliomes és el CD133. Els marcadors OLIG1 i especialment el OLIG2 s'han relacionat amb l'amplificació cel·lular en la oligodendroglia [41].

Donada la dificultat d'estudi dels marcadors moleculars, mutacions, delecions, metilacions i factors diagnòstic i pronòstic que intervenen en els gliomes (taula 4) i el seu cost, la valoració immunohistoquímica i molecular s'aplica de forma personalitzada per a cada tumor.

Oncogenomics in glioma				
	Function	Mechanism	Pathway	Tumor
Oncogens				
Bcl-2	cell apoptosis	Over expression	apoptosis/necrosis	Migration & invasion
c-Myc	transcription factor	amplified		Angiogenesis
Ras	migration	activating mutation	NF1-Ras / Ras-PI3K	Migration tumor
c-MER	tyrosine protein kinase	amplified	MERKT	Progression
Supressor genes				
NF1, NF2	Ras expression regulation	inactivating / deleted	NF1-Ras	Migration tumor
p14	cell cycle regulation	deleted / methylated	p14 ^{ARF}	Proliferation
p16	cell cycle regulation	deleted / methylated	p16 ^{INK4a}	Proliferation
p53, WT1	/apoptosis	inactivating mutation	p53-MDM2-p14 ^{ARF}	Proliferation
PTEN	apoptosis	inactivating mutation	PTEN-PI3K-Akt-1	Migration tumor
RB1	cell cycle regulation	inactivating mutation	RB1-p16 ^{INK4a}	Proliferation
Phosphate Group				
β catenin	cell adhesion	degradation	PIK3-Akt-Bcl-w / EGFR	Progression
Others				& angiogenesis
Growth factors				
EGFR	apoptosis	amplified	multiple pathways	Tumor growth
TGFβ	tumorigenesis	altered signal growth	multiple pathways	Migration & invasion
VEGF	angiogenesis		multiple pathways	Angiogenesis
Cell markers Cell Surface Proteins				
CD4, CD56, CD68		Over expression		Dedifferentiation
CD34		Vessel expression		Vascularization
CD133, CD44		Over expression		Tumor initiation
Stem Cells Glioma Stem Cells (GSC)				
CD markers		Over expression		Glioma progression
OLIG1, OLIG 2	myelinating oligodendroglia		OLIG2-p21	OD, OA proliferation
Pathway Cell Signaling Pathways				
JNK		activating mutation	JNK-p53	Glioma survival
MDM2, MDM4		amplified	p53-MDM2-p14 ^{ARF}	Proliferation
PI3K		activating mutation	Ras-PI3K / PI3K-PTEN	Prolif. & migration
p65/p50		gene activation	NF-κB	Migration & invasion
Main mutations				
IDH-1	cell hypoxia	inactivating mutation	2-hydroxyglutarate	Reduced hypoxia
IDH-2	cell hypoxia	inactivating mutation	2-hydroxyglutarate	Reduced hypoxia
BRAF	cell duplication	activating mutation	MAPK pathway	Astrocytoma I
Methylations				
MGMT	DNA replication	methylated		Astrocytomas
Main deletions				
LOH 1p/19q		loss of heterozygosity		OD, OA
Cell proliferation				
Ki-67 / MIB-1	cell cycle expression			Cell Proliferation

Taula 4. Resum de les principals alteracions moleculars i citogenètiques en gliomes [9][20][24] [30] [44] [41] [51].

1.4 DIAGNÒSTIC PER LA IMATGE: RM

1.4.1. Fonaments de la RM

La utilització de la ressonància magnètica o RM neix de la investigació, en les ciències físiques i químiques, de l'anàlisi de la matèria. La matèria està formada per gran quantitat d'àtoms d'hidrogen (H_2) amb espín magnètic en concret de molècules d'aigua (H_2O) i lípids. La propietat d'espín de determinats nuclis atòmics, especialment de l'hidrogen, és el fonament de la RM: Quan s'aplica un camp magnètic B_0 sobre els àtoms es manipula els seus espins magnètics, alterant-ne el seu moment magnètic μ . El camp magnètic orienta el moment magnètic dels nuclis i els obliga a girar al voltant de l'eix de B_0 en un moviment que es coneix com a precessió de Larmor. La radiació electromagnètica a la freqüència de Larmor en presència del camp magnètic B_0 canvia la orientació del camp. Quan cessa la radiofreqüència la magnetització recupera la orientació inicial desprenent l'energia absorbida en la fase de relaxació o temps d'eco. Aquest fet permet detectar la senyal de moviment que emeten els nuclis, concepte que s'anomena '*spin echo*' [52].

L'ús dels camps magnètics en el camp clínic gràcies al desenvolupament de les bobines el descriu Mansfield el 1977 [53] [54]. Els camps magnètics es generen al passar una corrent elèctrica a través de les bobines present a l'equip RM. Per tal de generar el camp magnètic s'utilitzen potents imants que són els que determinen no només la capacitat de l'equip RM sinó també el seu cost. La senyal de la RM depèn del grau de magnetització de l'espín i de la intensitat del camp magnètic que depèn del imant. De fet a les últimes dècades s'han desenvolupat diferents imants, com els electroimants, els resistius i els superconductors. Són precisament els superconductors els que han permès crear camps d'alta energia.

La unitat de mesura d'intensitat del camp magnètic és el Tesla (T) en el sistema internacional d'unitats o SI (*Système International d'Unités* o *International System of Units*). Els més utilitzats en la pràctica clínic són els de 1 T i de 1,5 T i més recentment els de 3 T i de 4 T. Els de 3 T (figura 11) [55] i els de 4 T es van desenvolupar amb la finalitat d'estudi de les neurociències.



Figura 11. Equip RM Philips Achieva 3 Tesla.

1.4.2. Protocol d'estudi de la RM en gliomes

Existeix una bateria de seqüències en l'estudi de tumors cerebrals (figura 12) que depèn del temps de repetició o TR i del temps d'eco o TE. Així s'obtenen imatges potenciades en T1 (TR i TE curts) o en T2 (TR i TE llargs). Existeixen dues seqüències bàsiques que s'han modificat per obtenir la multiplicitat de seqüències de la que es disposa en l'actualitat. Aquestes dues seqüències bàsiques són la SE (*spin echo*) i la GE (*gradient echo*). Sigui quina sigui la seqüència que s'usi, les imatges es troben igualment potenciades o ponderades en T1 o en T2 [52] [56].

Seqüència SE potenciada en T1: Permet estudiar millor l'estructura anatòmica ja que la substància blanca del cervell, més rica en greix, es veu millor que la gris, més rica en aigua. A més la seqüència T1 SE permet usar medis de contrast endovenós per estudiar la patologia.

Seqüència SE potenciada en T2: Realça els teixits amb més aigua, com la substància gris, i el LCR, i permet valorar millor les lesions cerebrals riques en aigua.

Seqüència FLAIR (*Fluid attenuated inversion recovery*) és en realitat una imatge potenciada en T2 atenuant les estructures riques en aigua, de manera que les lesions patològiques es veuen hiperintenses [56] .

La seqüència GE és una seqüència sensible a la heterogeneïtat en el camp magnètic i realça per exemple lesions hemorràgiques o transformacions hemorràgiques de les lesions.

La seqüència FSE (*fast spin echo*) és molt més ràpida que la SE i permet estudiar millor algunes lesions.

La seqüència de difusió (DWI) es basa en el moviment de les molècules d'aigua, que pot estar restringida en patologia isquèmica o en tumors del SNC. S'ha utilitzat el valor ADC (*apparent diffusion coefficient*). La presència d'edema pot interferir en el càlcul de l'ADC o en la seva valoració [57].

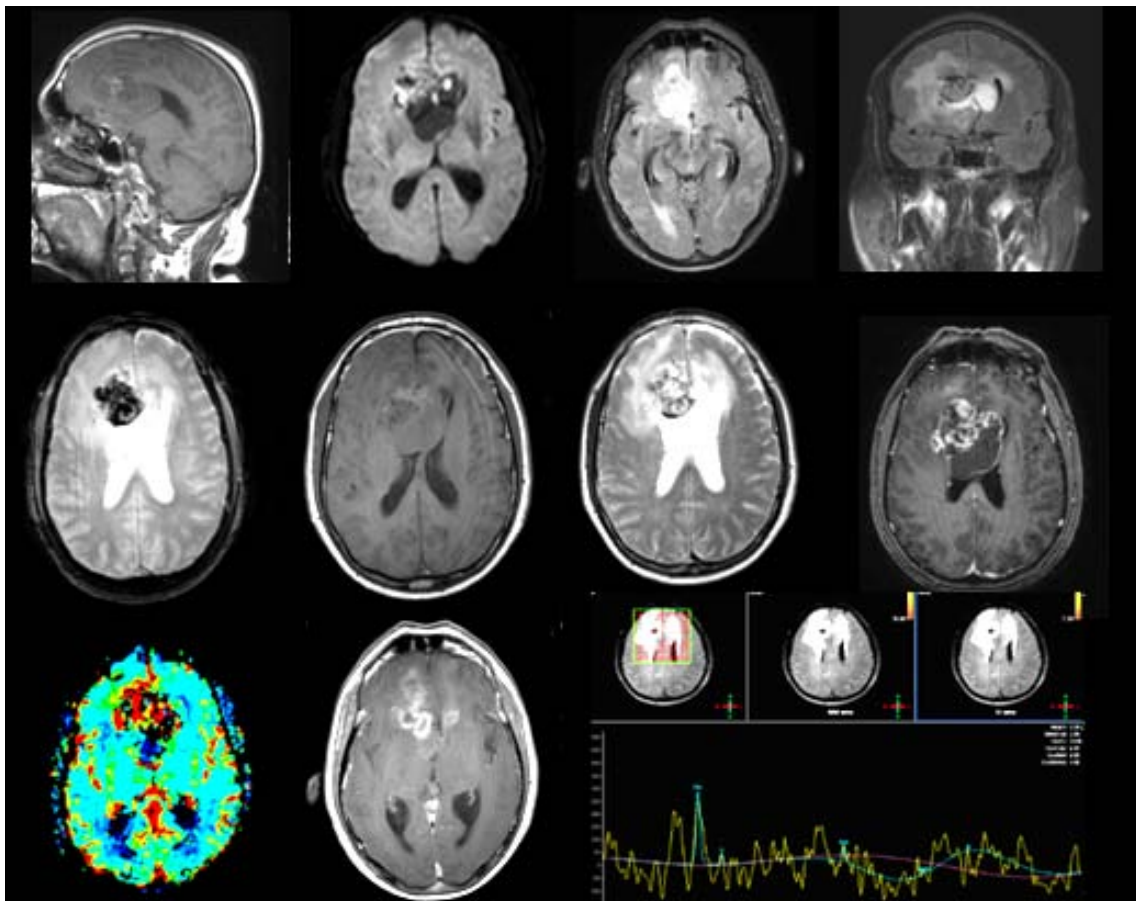


Figura 12. Seqüències RM d'un glioma. En T1 SE sagital, DWI, T2 FLAIR axial i coronal, T2 GE axial, T1 SE axial, T2 FSE axial, T1 GE axial, perfusió, T1 post-contrast i espectroscòpia (de dalt a baix i d'esquerra a dreta).

1.4.3. Captació de contrast

L'administració d'agents de contrast en els estudis per RM és un mètode establert i rutinari per al diagnòstic dels tumors cerebrals. Per al seu ús clínic és necessari que presentin una baixa toxicitat i que tinguin una especificitat per l'òrgan estudiat. Els compostos injectats via endovenosa es distribueixen a l'espai extracel·lular del teixit tumoral a través de les lesions que provoquen ruptura de la barrera hematoencefàlica. Alguns dels factors que influeixen en la distribució del contrast a la lesió tumoral són el grau de ruptura de la BHE, l'agent de contrast utilitzat, les seves propietats magnètiques i la vascularització de la lesió [58].

L'agent de contrast habitualment utilitzat en tumors cerebrals és el gadolinium (Gd-DTPA). La captació de contrast o *contrast enhancement* (CE) en seqüència T1 de les lesions tumorals, no obstant, és variable. Així s'ha observat que existeix variabilitat en la captació de contrast tant en el diagnòstic inicial del glioma com en la valoració de resposta i diferenciació entre recurrència o radionecrosi en el seguiment segons els criteris Macdonald [59] [60] [61]. Molts gliomes de baix grau presenten absència de CE [62] i en gliomes d'alt grau la captació és heterogènia [63] [57]. S'ha observat que alguns tumors glials mostren infiltració del teixit sa que no és observable en seqüència T1 post-contrast [64] [65] [66].

Per altra banda també s'ha utilitzat el contrast amb gadolinium en gliomes per la seva valoració pronòstic [63] [62]. A més s'han estudiat nous mètodes de valoració amb estudi dinàmic amb contrast o *DCE T1-weighted permeability imaging* [67], que es basen en el concepte de la permeabilitat microvascular del tumor per tal de millorar la valoració de resposta de gliomes tractats i diferenciar entre recurrència i radionecrosi així com en la valoració de la gradació tumoral. No obstant aquest model té limitacions, pot estar compromès per l'alteració de la microvasculatura i per la perfusió del tumor i depèn de diversos factors com el temps d'injecció, el càlcul de l'àrea sota la corba de l'estudi dinàmic, i les característiques de l'equip detector i del protocol d'adquisició de la seqüència [57].

1.4.4. Perfusió. Índex rCBV

L'anàlisi multiparamètrica per RM dels tumors cerebrals inclou les seqüències de perfusió i difusió així com l'espectroscòpia [67]. L'anàlisi multiparamètrica en gliomes s'ha utilitzat per a l'estudi dels gliomes en el diagnòstic *de novo*, per al seu seguiment i valoració de resposta i per a valorar la recurrència [57] [68].

En tumors cerebrals la perfusió mesura el grau d'angiogènesi tumoral i la permeabilitat capil·lar del tumor. Aquestes dues variables, angiogènesi i permeabilitat defineixen la vascularització tumoral. Són marcadors de malignitat i per tant poden ajudar a diferenciar entre tumor i no tumor, d'agressivitat tumoral per contribuir a valorar el grau tumoral i com a factor pronòstic [67]. La vascularització tumoral aporta els nutrients i O₂ al glioma i li dóna possibilitat que creixi i s'infiltri al teixit sa.

La perfusió és basa en la distribució del contrast de Gd-DTPA a l'àrea tumoral en estudi dinàmic en seqüència GE. La valoració de la perfusió pot ser visual i quantitativa. L'índex que es considera més robust en la valoració quantitativa de la perfusió tumoral és el rCBV (*relative cerebral blood volume*) o volum relatiu de vascularització cerebral, definit per Zierler et al [69]. De fet l'índex rCBV s'ha utilitzat en molts estudis [57] [70] per a valorar la vascularització tumoral, especialment en la diferenciació entre una recurrència tumoral i una 'pseudoprogressió' tumoral i en la 'pseudoresposta' per la RM. A més s'ha proposat un valor de tall o *cut-off* de 1,75-2 per a diferenciar entre tumors menys agressius o més agressius i de menor supervivència [71], o per a diferenciar entre gliomes de baix i d'alt grau [68].

No obstant com que la valoració multiparamètrica, com és l'espectroscòpia o la perfusió, depenen de la quantificació vòxel a vòxel del tumor presenten limitacions. Així les lesions petites que es troben al límit de la resolució de l'equip o les lesions properes a estructures òssies, a vasos o a aire poden dificultar la seva valoració no només visual sinó també quantitativa. Per altra banda cal tenir en compte que els gliomes són tumors molt heterogenis i la distribució del contrast en fases dinàmiques de perfusió pot ser complexa i la rCBV presenta variacions dins del volum tumoral [57].

1.4.5. Espectroscòpia

L'espectroscòpia és una tècnica no invasiva en l'anàlisi multiparamètrica de la RM que permet mesurar la presència de diferents metabòlits cerebrals *in vivo*. L'espectre protònic en parts per milió o ppm reflecteix els processos bioquímics intracel·lulars específics. Així, per exemple, l'aspàrtic és un marcador neuronal i disminueix quan s'afecta la integritat neural, el lactat un producte de la glicòlisi anaeròbica, els lípids disminueixen amb la presència de necrosi, la creatina mesura l'emmagatzematge energètic cel·lular i la colina mesura l'increment de *turn-over* o duplicació cel·lular i per tant es troba augmentat en tumors i en processos inflamatoris. Tanmateix moltes molècules o metabòlits no són observables en l'espectre de la RM: L'ADN, l'ARN, la majoria de proteïnes i enzims, i els fosfolípids no es poden valorar. Tampoc es poden valorar correctament molts neurotransmissors com l'acetilcolina, la dopamina o la serotonina [72]. Concretament la valoració dels metabòlits per espectroscòpia inclou l'aspàrtic o *N-acetyl aspartate* (NAA a 2,02 ppm), la colina o *choline* (Cho, a 3,2 ppm), la creatina o *creatine-phosphocreatine* (Cr a 3 ppm), el lactat o *lactate* (Lac a 1,33 ppm), els lípids (Lip en un rang de 0,9-1,5 ppm) i l'inositol o *myo-inositol* (ml a 3,56 ppm) [62]. L'estudi d'aquests metabòlits, no obstant, no exclou l'ús de l'espectroscòpia en l'anàlisi d'altres molècules com per exemple el 2-hidroxiglutarat en la valoració de la mutació IDH-1 en gliomes [73].

Es considera que els tumors cerebrals primaris, que inclou els gliomes, mostren pics elevats de colina, lactat, lípids i inositol i pic de senyal reduïda per a l'aspàrtic [74] (figura 13). En canvi per a metàstasis, limfomes cerebrals, abscessos, malalties desmielinitzants o encefalitis, l'espectre divergeix, amb diferents pics en ppm d'aquestes molècules.

Per a una valoració quantitativa en el comportament d'aquests metabòlits en el tumor cerebral en estudi s'han utilitzats índexs o *ratio* que proporcionen una mesura més exacta. Els més utilitzats són els *ratio* Cho/NAA, Cr/NAA i Cho/Cr.

L'ús d'aquests *ratio* s'han utilitzat en el diagnòstic diferencial dels tumors cerebrals i en el cas dels gliomes per a valoració la seva agressivitat o grau tumoral així com a complement a la resta de l'anàlisi multiparamètrica de la RM

d'aquest tumors [72][74][75]. Cal tenir en compte que de la mateixa manera com passa amb la valoració de la perfusió l'espectroscòpia presenta les seves limitacions i es continua investigant la seva aportació en el conjunt de dades de la RM en l'estudi dels tumors cerebrals [67]. Recentment, a més, s'ha postulat que la valoració conjunta de la RM multiparamètrica i de la PET amb metionina aporta un valor afegit en l'estudi dels gliomes [76].

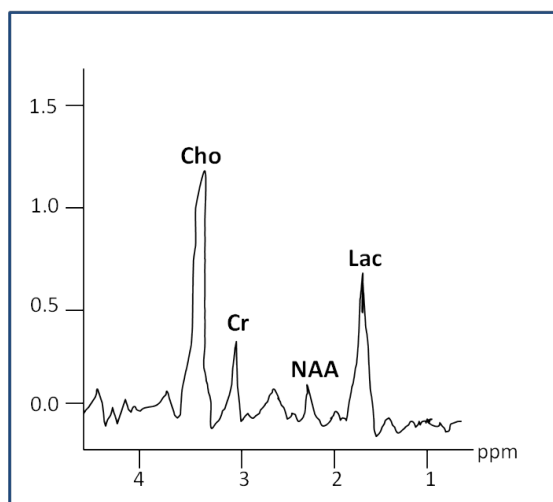


Figura 13. Espectroscòpia en gliomes. Pics Cho, Cr, NAA en un GBM.

Multiparametric MRI in Brain Tumor MRI parameter	Features	Low grade glioma	High grade glioma	Other tumors
FLAIR	Invasiveness	variable	usually infiltrant	variable
Contrast enhancement	Contrast in tumor tissue	usually low or non enhancing	enhancing, heterogeneous	variable
Perfusion rCBV ratio K _{trans}	Microvessels Angiogenesis	low usually ≤ 2	high usually > 2	variable/low
Diffusion DWI ADC value (mm ² /s)		high values	low values	variable
Proton MR spectroscopy				
Choline signal (ppm)	elevated		high	elevated
Creatine signal (ppm)	elevated		high	elevated
NAA signal (ppm)	reduced		low	reduced
Lactate signal (ppm)	elevated		high	elevated
Myoinositol signal (ppm)	variable	high		variable
Spectroscopy Ratio	Abnormal:			
Cho/NAA	> 1.2	low values	high values	
Cr/NAA	< 1.6			
Cho/Cr	> 1.5	usually 1.5-2	usually > 2	

Taula 5. Valor diagnòstic i pronòstic de la RM multiparamètrica [67] [72] [57].

1.5 DIAGNÒSTIC PER LA IMATGE: PET AMB 11C-METIONINA

1.5.1. Fonaments de la PET

La tomografia per emissió de positrons o PET és basa en la utilització de radionúclids d'alta energia que són sintetitzats en un ciclotró (figura 14). El ciclotró fou un dels primers equips acceleradors de partícules i s'utilitza actualment per a la síntesi de radionúclids com el ^{18}F , ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O entre d'altres. El seu funcionament es basa en el moviment de les partícules en acceleració circular mitjançant un potent camp magnètic. El camp magnètic accelera les partícules injectades al centre com protons o deuterons que des de la profunditat es mouen en una determinada freqüència i a mesura que acceleren guanyen energia fins a impactar en una diana on es creen els radionúclids [77]. Immediatament després aquests radionúclids es combinen amb molècules com la FDG o aminoàcids com la metionina, entre d'altres, per sintetitzar els lligands, traçadors o radiofàrmacs que s'injectaran al pacient via endovenosa per a la posterior adquisició en un tomògraf PET. Els traçadors més utilitzats en la neurologia, i específicament en l'estudi de tumors cerebrals són la ^{18}F -FDG, els aminoàcids i nucleòsids amb ^{11}C o ^{18}F (taula 6).



Figura 14. Ciclotró IBA Molecular Cyclone 18/9.

Font: www.iba-cyclotron-solutions.com

PET in brain tumors, the most used						
Target	Ligand	Acronym	t ½ min	Energy max MeV	Cyclotron in situ	Clinical or investigation
Glucose	18F-FDG	FDG	109	0.63		Used in M1 / primary brain tumor
Amino acid	11C-methionine	MET	20.4	0.96	yes	Mostly in gliomas
	18F-tyrosine	FET	109	0.63		Mostly in gliomas
	18F-phenylalanine	FDOPA		0.63		Few studies in gliomas
DNA proliferation	18F-thymidine	FLT	109	0.63		Mostly in gliomas
Choline	11C-Choline	CHO	20.4	0.96	yes	Only oligodendroglial tumors
	18F-Choline	FCH	109	0.63		
Receptor	68Ga-DOTATOC	DOTA	68.1	1.90		Neuroendocrine tumors
pH	11C-CO2	CO2	20.4	0.96	yes	Investigation
Hypoxia	18F-FMISO	FMISO	109	0.63		Investigation
Blood flow	H215O	water	2.04	1.74	yes	Investigation
Ammonia	13N-ammonia		9.9	1.20	yes	Investigation

Taula 6. Característiques bàsiques dels principals traçadors PET en tumors cerebrals. Adaptat de [78] i de: PJ Ell, SS Gambhir. Nuclear Medicine in Clinical Diagnosis and Treatment, p. 352. 2004, Third edition. Elsevier Limited.

El diagnòstic per la PET es fonamenta per tant en dos aspectes: En el traçador molecular o radiofàrmac i en l'equip de detecció o tomògraf PET. El traçador està format pel radionúclid, que és inestable, i el fàrmac, com la FDG o la metionina, entre d'altres. Els radionúclids emissors de positrons presenten un dèficit de neutrons al seu nucli. Per tal d'aconseguir l'estabilitat els radionúclids es transformen de protons a neutrons alliberant un positró β^+ i un neutrí ν . El positró β^+ impactarà amb un electró β^- en un procés d'aniquilació mútua per a crear dos fotons γ d'igual energia, cada un d'ells de 511 KeV que viatjaran en la mateixa direcció i en sentits oposats, de manera que poden ser detectats simultàniament en detectors situats en oposició per mitjà d'un circuit de coincidència en un anell de detecció [79] (figura 15).

La unitat bàsica del tomògraf PET és el bloc de cristalls detectors fixats a tubs fotomultiplicadors. Existeixen equips PET com el tomògrafs PET *neuro-dedicats* (figura 16) i els equips híbrids PET-TC. La millora dels cristalls de

centelleig, de la tècnica de vol o *time of flight* (TOF) que augmenta la senyal, de la sensibilitat i resolució del tomògraf, la correcció d'atenuació que permet visualitzar amb major nitidesa les estructures profundes així com la millora del *software* amb els algorismes de reconstrucció de les imatges han permès una evolució de la tecnologia PET i PET-TC i les seves aplicacions clíniques [80].

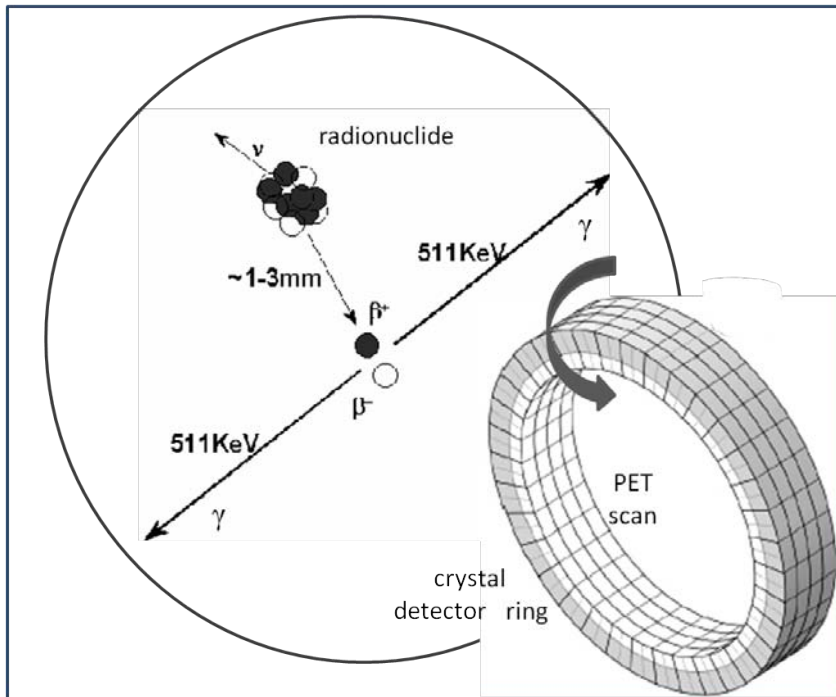


Figura 15. Aniquilació d'un positró amb un electró.



Figura 16. Tomògraf PET Siemens E-CAT EXACT.

Els isòtops de vida mitja (t1/2) curta, com són: ^{15}O de 2 minuts; ^{13}N de 10 minuts; ^{11}C de 20 minuts, permeten múltiples estudis en una mateixa instal·lació radioactiva. No obstant el seu ús es restringeix en aquells centres assistencials o d'investigació que disposen un ciclotró *in situ*, en una àrea annexa al tomògraf PET. Per contra els isòtops de vida mitja llarga com és el cas del ^{18}F amb una vida mitja d'aproximadament 110 minuts permeten la seva comercialització ja que es poden utilitzar en un centre assistencial localitzat a certa distància del lloc on es troba el ciclotró [78] [81].

1.5.2. PET en gliomes

En l'estudi dels tumors cerebrals i específicament en gliomes s'han utilitzat múltiples traçadors isotòpics o radiofàrmacs en funció de les indicacions o objectiu d'estudi per a cada pacient. Així s'ha proposat l'ús de radiofàrmacs PET, especialment la PET amb ^{18}F -FDG i la PET amb ^{11}C -metionina, en les següents indicacions: En diagnòstic inicial o *de novo*, en la valoració de la recurrència tumoral en pacients ja tractats, en valoració del grau tumoral o gradació, en la planificació terapèutica com en el cas de la radioteràpia, per a dirigir la biòpsia i fins i tot en la valoració o seguiment de la resposta al tractament (taula 7) [11] [12] [81] [82] [83] [84] [85] [86].

PET indications in glioma			
Indication	Main PET tracers used	Studies	References
Diagnosis			
Initial diagnosis	FDG, MET	many	[87][88][89][90][91][92][93][94]
Recurrence	FDG, MET, FET	many	[95][96][97][98][99][100][101][102][103][104]
Tumor characterization			
Grade / Proliferation / Extension / Cell density / microvessels	FDG, MET, FET, FLT, FDOPA	many	[105][106][107][108][109][110][111][50][112][113][114][115][116][117][118]
Treatment planning			
Biopsy planning	FDG, MET, FET, FLT	few	[84][119][120]
Surgery planning	MET, FET	few	[64][121][85][122][123]
Radiotherapy planning	MET, FET, FLT	few	[124][125][126][127]
Monitoring			
PET for follow-up	MET, FET	few	[128][108][129]
Prognosis	FDG, MET, FET	few	[25][130][131]

Taula 7. Indicacions de la PET en estudi de gliomes.

El traçador PET més àmpliament utilitzat en la valoració dels tumors cerebrals és la ^{18}F -FDG o 2-[^{18}F]-fluoro-2-desoxi-D-glucosa, una molècula anàleg de la glucosa que mesura el metabolisme glucídic al SNC i representa una via estàndard de mesurar l'activitat neuronal. La molècula ^{18}F -FDG injectada es distribueix des del compartiment vascular a l'espai intersticial i es transportada dins les cèl·lules mitjançant l'acció de les proteïnes transportadores de glucosa o GLUT. Un cop a l'interior de la cèl·lula la ^{18}F -FDG seguint la via de la glicòlisi experimenta una fosforilació per l'acció de l'enzim hexoquinasa a ^{18}F -FDG-6-fosfat i resta en bona part atrapada dins de la cèl·lula. Les cèl·lules tumorals expressen gran densitat de receptors GLUT, especialment les proteïnes GLUT-1 i GLUT-3, a les seves membranes fet que provoca una major acumulació de la ^{18}F -FDG al seu interior [81] [86]. Seguint aquest principi Di Chiro et al. [132] varen demostrar la utilitat de la PET amb ^{18}F -FDG en la valoració diagnòstica i en el seguiment, per a diferenciar entre recurrència i radionecrosi, en tumors cerebrals. A més s'ha estudiat la PET amb FDG en la valoració de resposta al tractament o en la guia de biòpsies. No obstant la PET amb FDG presenta limitacions com són la dificultat en la valoració de tumors de baix grau o en la delimitació tumoral degut al metabolisme elevat en àrees normals corticals, en ganglis de la base o en el tàlem i també la possibilitat de falsos positius en processos inflamatoris i infecciosos que també mostren un major consum de glucosa [81] [86].

L'ús de la PET amb aminoàcids en la valoració dels tumors cerebrals s'ha demostrat molt útil en la valoració de resposta al tractament i en el diagnòstic diferencial entre recurrència tumoral i la radionecrosi (figura 17); La PET amb ^{11}C -metionina és superior a la PET amb ^{18}F -FDG en la valoració de recurrència de tumors cerebrals ja tractats [12]. En l'estudi del creixement tumoral s'han utilitzat els traçadors PET amb aminoàcids com la metionina, tirosina o fenilalanina. De la combinació d'aquests aminoàcids amb l'isòtop ^{11}C o ^{18}F s'obtenen els traçadors PET com la ^{11}C -metionina (^{11}C -MET o MET), la ^{18}F -fluorotirosina (^{18}F -TYR o TYR), la fluoroetiltirosina (^{18}F -FET o FET), la ^{18}F -fluorometiltirosina (^{18}F -FMT o FMT) i la ^{18}F -fluorodopa (^{18}F -DOPA o FDOPA). D'aquests traçadors els més utilitzats són la MET, FET i la FDOPA (taula 7) [81] [133].

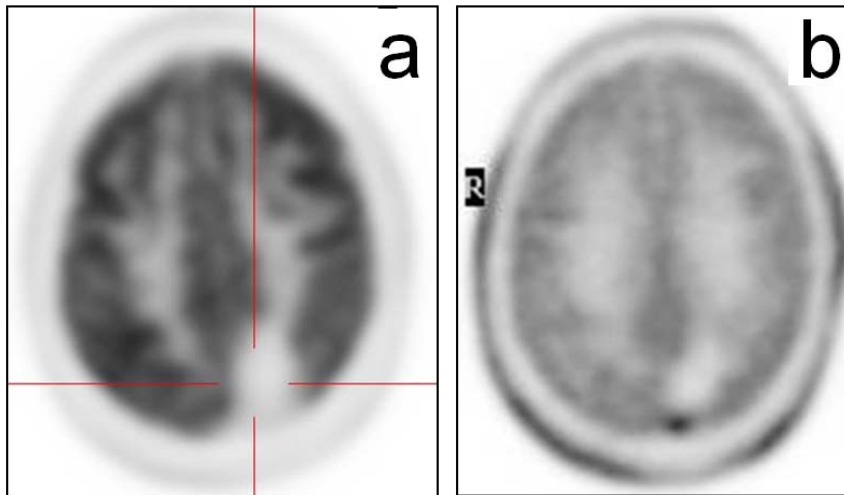


Figura 17. PET cerebral amb ^{18}F -FDG (a) i ^{11}C -metionina (b)

en la detecció d'una recurrència. Recurrència d'un tumor cerebral rabdoide [134].

Altres traçadors PET que s'han introduït en el maneig dels tumors cerebrals i dels gliomes en concret són la PET amb nucleòsids com la ^{18}F -fluorotimidina o ^{18}F -FLT, la PET per a la biosíntesi de membrana cel·lular com la PET amb colina marcada amb fluor; la ^{18}F -fluorocolina o ^{18}F -FCH i la PET amb acetat o ^{11}C -ACE. També s'ha estudiat la hipòxia cel·lular del tumor amb la PET amb ^{18}F -fluoromisonidazol o ^{18}F -FMISO [57]. D'aquests el traçador PET més estudiat en gliomes és la PET amb ^{18}F -FLT.

La PET amb fluoroetiltirosina o ^{18}F -FET (taula 8) permet una bona delimitació del tumor, valora l'agressivitat tumoral i diferencia entre baix i alt grau i mostra una bona especificitat en la valoració de resposta al tractament [98] [135]. S'han descrit unes indicacions de la ^{18}F -FET similars a la PET amb metionina. El mecanisme d'incorporació del traçador a la cèl·lula és similar a la PET amb metionina i es basa en la síntesi de proteïnes en la cèl·lula tumoral, n'avalua el seu creixement així com la seva vascularització [81] [57]. Tal com passa en la PET amb metionina, la PET amb tirosina també presenta falsos positius en el diagnòstic diferencial amb la patologia no tumoral com malalties desmielinitzants, abscessos o infarts cerebrals extensos i vasculitis [136].

El concepte de la PET amb ^{18}F -fluoro-L-Dopa o ^{18}F -DOPA també es basa en el transport dels aminoàcids i en la síntesi proteica, tal com passa amb la

metionina i amb la tirosina encara que la L-Dopa no es un aminoàcid pròpiament sinó un anàleg. La proliferació i creixement cel·lular del tumor glial impliquen una major síntesi de proteïnes i per aquest motiu el tumor requereix una major incorporació dels aminoàcids dins de la cèl·lula. En aquest sentit Becherer et al [89] en un estudi amb pacients diagnosticats de gliomes o de metàstasis equiparen el valor diagnòstic de la FDOPA a la de la metionina en la valoració de tumors cerebrals. De fet la L-Dopa (L-3,4-hidroxifenilalanina) és el producte d'un aminoàcid essencial, la L-tirosina, i alhora com a precursor de la dopamina intervé en la síntesi de les catecolamines motiu pel que s'ha estudiat tant en els trastorns de moviments com el parkinsonisme com en tumors neuroendocrins en relació al sistema APUD (*amine precursor uptake and decarboxylation*) [57]. Fou arrel de la recerca en aquestes patologies que més recentment s'ha utilitzat en la valoració de tumors cerebrals si bé en l'actualitat encara es disposa de pocs estudis de PET amb FDOPA en gliomes [78].

Per altra banda més recentment s'ha descrit el valor de la PET amb ^{18}F -FLT en gliomes [78] [113] sintetitzat a partir d'un anàleg del nucleòsid timidina. La molècula 3-desoxi-3-fluorotimidina o FLT combinada amb ^{18}F és un traçador PET que valora l'activitat proliferativa cel·lular del tumor. Es produeix una fosforilació de la FLT per la timidina quinasa (*thymidine kinase-1* o TK1), un enzim clau en la síntesi de l'ADN, i una acumulació dins de la cèl·lula tumoral. Gràcies a la baixa captació cerebral d'aquest traçador al teixit sà la ^{18}F -FLT permet avaluar les lesions tumorals cerebrals que mostren una captació incrementada de ^{18}F -FLT [81].

Main PET non-FDG tracers in glioma				
Tracer	Target	Features	Strong Points	Limitations
11C-MET & 18F-FET	LAT1 & LAT2	protein synthesis, growth & neovessels	High S & high SP	cyclotron in situ some FP
18F-DOPA	APUD system	tumor viability	similar to MET or FET	few studies
18F-FLT	TK1	cell proliferation	High PPV	lower S in LGG
11C-ACE	Acetyl-CoA	cell membrane synthesis	grading tumors	cyclotron in situ non accurate
18F-FCH	Choline kinase		oligodendroglial	delineation
18F-FMISO	pO2	cell hypoxia	neoangiogenesis	lower S in LGG

Taula 8. Traçadors PET no FDG en l'estudi de gliomes. *S* = sensitivity. *SP* = specificity. *PPV* = positive predictive value. *FP* = false positive. *LGG* = low grade glioma.

La PET amb FLT s'ha utilitzat en la valoració del grau tumoral en gliomes, en el diagnòstic de recurrència tumoral [99] i concretament en la diagnosi de la transformació maligna del tumor cerebral [113]. No obstant la PET amb ^{18}F -FLT també presenta les seves limitacions com són per exemple la baixa sensibilitat en gliomes de baix grau, l'absència d'un valor de tall o *cut-off* definit en la quantificació i la presència de falsos positius en el diagnòstic diferencial entre els tumors cerebrals i les lesions cerebrals no tumorals que creen una disrupció de la barrera hematoencefàlica i poden captar amb ^{18}F -FLT [57] [137] (taula 8).

Els traçadors PET que valoren la síntesi de la membrana cel·lular tumoral com són la PET amb acetat o amb colina no es consideren traçadors de primera línia en la valoració dels gliomes com la FDG, els aminoàcids o els glucòsids. No obstant alguns treballs com [92] [111] han demostrat la seva utilitat. La colina és un precursor de la biosíntesi de la fosfatidilcolina o lecitina que és un element bàsic de la membrana cel·lular. L'increment del metabolisme dels elements de la membrana en cèl·lules tumorals implica la incorporació de la colina marcada amb fluor o carboni radioactiu i per aquest motiu pot ser valorat per PET amb colina. No obstant la captació de la PET amb colina es troba augmentada al plexe coroïdal, als sinus venosos i a la glàndula pituïtària i dificulta la delimitació del tumor proper a aquestes estructures. Per altra banda s'ha descrit la utilitat de la PET amb colina en tumors d'estirp oligodendrogial [81].

Pel que fa a la PET amb ^{18}F -fluoromisonidazol o ^{18}F -FMISO s'ha descrit la seva utilitat en la valoració de la hipòxia cel·lular en el tumor cerebral [133] [138] especialment en l'estudi de l'angiogènesi tumoral. Actualment encara es disposa de pocs treballs que avaluen la PET amb ^{18}F -MISO en gliomes i no s'ha definit el punt de tall o *cut-off*. Una limitació de la PET amb FMISO en gliomes és la seva menor sensibilitat en el diagnòstic de gliomes de baix grau [57] [81] (taula 8).

1.5.3. Utilització de la PET amb ^{11}C -metionina en gliomes

La metionina és un dels aminoàcids essencials (Arg, Val, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Trp, Thr). De nom químic àcid 2-amino-4-(metiltio)butíric i de fórmula $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{S}$ es designa internacionalment per l'abreviatura Met. Els bacteris i les plantes la sintetitzen a partir de l'àcid aspàrtic, però és un aminoàcid essencial en la nutrició dels mamífers, perquè no el sintetitzen. En la síntesi de proteïnes la metionina és l'aminoàcid iniciador de la cadena polipeptídica. Les funcions principals de la metionina són participar en la síntesi proteica, actuar com a precursora de la síntesi de les amines, que participen en el creixement i divisió cel·lular, i també com a precursora de múltiples cascades metabòliques entre les quals la cisteïna o el glutatió que actuen en el manteniment del potencial redox (reaccions de reducció i oxidació) intracel·lular. Al SNC els aminoàcids tenen un paper no només en la síntesi de proteïnes cerebrals i en el metabolisme neuronal sinó que a més contribueixen en la regulació dels neurotransmissors sinàptics [11].

Per entendre la distribució de la metionina al SNC cal fer esment al transport dels aminoàcids i al seu metabolisme intracel·lular. El transport dels aminoàcids a dins de la cèl·lula es produeix gràcies a sistemes de transport que depenen de la bomba sodi / potassi Na^+/K^+ ATPasa com els sistemes A (alanina), ASC (alanina, serina i cisteïna) i N (aminoàcids amb N), o bé amb un sistema independent de la bomba Na^+/K^+ com el sistema L (leucina) [139]. En el cas de la metionina s'utilitzen els sistemes L, A i ASC. Dins de les proteïnes de membrana cel·lular transportadores d'aminoàcids del sistema L s'han descrit tres subtipus: LAT 1, 2 i 3. Les LAT1 i LAT2 són expressades pels gliomes i aquest és un dels sistemes de transport cel·lular que utilitza la metionina per incorporar-se a l'interior de la cèl·lula tumoral en aquests tumors [11] [12]. L'altre sistema de transport principal que utilitza la metionina és el sistema A dependent de la bomba Na^+/K^+ que utilitzen altres aminoàcids com l'alanina, la serina, la glutamina i la glicina i que s'ha relacionat amb la proliferació cel·lular [11]. A més, si bé tots els aminoàcids travessen la barrera hematoencefàlica (BHE) els sistemes de transport prioritzen els aminoàcids essencials entre els que trobem la metionina. No obstant, en cas d'alteració de la BHE pot existir un increment en el pas dels aminoàcids al SNC [11] [12].

Els models d'estudi de cèl·lules tumorals *in vitro* han demostrat que existeix un increment del consum dels aminoàcids [11]. En el cas dels estudis amb línies glials tumorals es va observar un major consum de metionina associat a cèl·lules en proliferació. El consum de metionina per aquestes cèl·lules no anava associat únicament a la síntesi de proteïnes sinó també al metabolisme dels lípids i de l'ADN o ARN [140].

La PET amb ^{11}C -metionina o *L-[methyl- ^{11}C]methionine* (MET) és el mètode d'imatge metabòlica PET més utilitzat, juntament amb la PET amb FDG, en l'estudi dels tumors cerebrals inclosos els gliomes (veure taula 7) [11] [12] [81]. Tal com s'ha descrit en apartats previs, la PET amb metionina es contempla en les guies per al diagnòstic inicial dels gliomes, en la valoració de la seva recurrència, en la caracterització del tumor, en la planificació de la biòpsia tumoral i en el tractament tant quirúrgic com per a la radioteràpia, i finalment per al seu seguiment *follow-up* o control evolutiu [82].

S'ha observat que la PET amb metionina en els gliomes utilitza fonamentalment els sistemes de transport cel·lular LAT 1 i 2 [105] [141], i que la seva activitat metabòlica o el seu 'grau de captació' en gliomes es relaciona amb la proliferació cel·lular, amb el creixement tumoral i amb la vascularització o angiogènesi i amb l'increment de la densitat cel·lular dels tumors cerebrals (veure taules 7 i 8). També s'ha observat que per a un mateix grau tumoral els astrocitomes amb component oligodendrogial la captació amb metionina és major que en aquells que no presenten histològicament aquest component [109] [115].

Estudis de revisió sobre l'ús de la PET MET en gliomes [11][12][81] mostren que pot ser útil tant en la valoració del diagnòstic inicial o *de novo* del glioma, amb una alta sensibilitat i especificitat, així com en la valoració del grau tumoral o gradació. També s'ha demostrat la seva utilitat en el diagnòstic diferencial entre recurrència tumoral o bé radionecrosi o canvis post-tractament en el seguiment clínic del glioma. A més, s'ha descrit com a opció per a la planificació de la biòpsia, cirurgia i radioteràpia. I, respecte el seu valor pronòstic s'ha postulat la possibilitat d'utilitzar la PET amb metionina com a factor pronòstic o de valoració de supervivència en aquests tumors.

No obstant, tal com passa amb altres tècniques d'imatge, en la PET amb metionina s'han descrit casos de falsos positius (FP) i de falsos negatius (FN) en el diagnòstic dels gliomes. Els casos de FP són aquelles en que es pot observar lesions benignes que simulen tumors cerebrals i que presenten captació de metionina com en malalties desmielinitzants de grau moderat o sever, en abscessos o infeccions expansives i en lesions isquèmiques cerebrals [142] [143] [144]. La presència de gliosi associada o no a la ruptura de la barrera hematoencefàlica en aquestes patologies, podria ser la causa de FP en l'estudi de gliomes per PET amb metionina [11].

Els casos de FN s'han observat en lesions tumorals de petita mida, menor a la resolució del tomògraf PET i en alguns casos de gliomes de baix grau. La negativitat d'un estudi amb PET amb metionina en un pacient amb sospita de glioma no n'exclou completament el seu diagnòstic [12], si bé la sensibilitat de la PET MET és alta, com ja s'ha comentat.

Una altra de les limitacions és l'absència de diferenciació entre astrocitomes anaplàstics *versus* glioblastomes en funció del grau de captació de metionina per la PET. Així mentre s'ha descrit que la PET MET pot contribuir a establir un diagnòstic diferencial entre glioma de baix grau i d'alt grau, no és capaç de diferenciar entre grau III i IV [12] [86].

En un estudi recent, Takenaka S et al. [103] van demostrar la superioritat de la PET amb metionina *versus* la PET amb FDG o amb colina en el diagnòstic diferencial entre recurrència i radionecrosi de gliomes ja tractats.

La utilització de la PET, inclosa la PET MET, com a factor pronòstic en gliomes i el seu impacte en el maneig clínic d'aquest pacients continua en investigació [81], si bé s'ha demostrat el seu paper pronòstic especialment en l'avaluació de gliomes de baix grau [25] [108] [131] però també en els d'alt grau [97].

1.5.4. Valoració visual i semiquantitativa

L'avaluació dels estudis de la PET amb metionina comprenen la valoració visual o qualitativa i la valoració semiquantitativa.

La valoració visual es basa en la presència o absència de captació de metionina en la lesió estudiada així com la impressió de l'observador, d'una major o menor activitat metabòlica, ja sigui lleu, moderada o intensa. La captació fisiològica cerebral amb PET amb metionina és baixa en condicions normals, amb major captació a la glàndula hipòfisi localitzada a la base del cervell, i a les glàndules lacrimals [87] [145]. La valoració visual és relativament senzilla ja que qualsevol captació superior a la captació de fons (*background*) es considera potencialment patològica [12]. Tanmateix la valoració del 'grau de captació' de la PET generalment es complementa amb una valoració semiquantitativa.

Quantificar es defineix per extreure un valor numèric d'una imatge. La quantificació de l'activitat metabòlica per PET, com a mesura de la concentració en KBq/ml, depèn de múltiples factors com són: la dosi injectada al pacient, el pes del pacient, del temps entre la injecció i la detecció de la imatge al tomògraf PET tenint en compte a més el temps de decrement o *decay time* de l'activitat radioactiva del traçador PET i de les característiques de l'equip de detecció tomògraf PET. La valoració quantitativa del traçador PET en un òrgan o teixit concret però és molt complexa de realitzar ja que, a més, varia en funció del temps i de la perfusió de l'òrgan o teixit per a la distribució i fixació del traçador o fàrmac PET a un òrgan en concret segons el 'model cinètic compartimental' [146]. En aquest sentit habitualment en la pràctica clínica s'utilitza la valoració semiquantitativa que té en compte la resta de variables descrites prèviament.

Per a la valoració semiquantitativa s'usa l'índex SUV (*standard uptake value*) o valor de captació estàndard que és una mesura d'activitat metabòlica normalitzada a un òrgan o a una lesió diana, si bé la mesura SUV presenta les seves limitacions [147]. L'activitat SUV es defineix per la fórmula (fórmula 1):

$$\text{SUV} = \frac{\text{Concentració traçador a òrgan o lesió diana (KBq/ml)}}{\text{dosi injectada (KBq) / pes del pacient (g)}}$$

En oncologia la variable SUV més utilitzada és la SUVmax o activitat metabòlica màxima d'un òrgan o lesió diana. Una altra mesura SUV utilitzada és la SUVavg (o *average*), que és l'activitat SUV mitja. Per a la quantificació mitjançant el valor del SUV per PET, es dibuixa una ROI (*region of interest*) o regió d'interès sobre la lesió en estudi.

En l'avaluació semiquantitativa dels gliomes per PET s'ha utilitzat l'índex *ratio T/N*. El *ratio T/N* es calcula mitjançant una senzilla fórmula (fórmula 2) on de numerador hi consta el SUVmax de la lesió tumoral en estudi o valor 'T' i de denominador el SUV de l'activitat metabòlica normal o activitat de fons (*background*) o valor 'N' (figura 18). Fórmula 2:

$$\text{Ratio T/N} = \frac{\text{SUVmax de la lesió en estudi (T)}}{\text{SUVmax o avg background (N)}}$$

Existeixen diferents mètodes per al càlcul del *ratio T/N* [87][97][123][131][148][149]. De tots els càlculs de *ratio T/N* descrits els més utilitzats són els dos següents: $T/N^{LA/CA}$ i $T/N^{HS/MCU}$

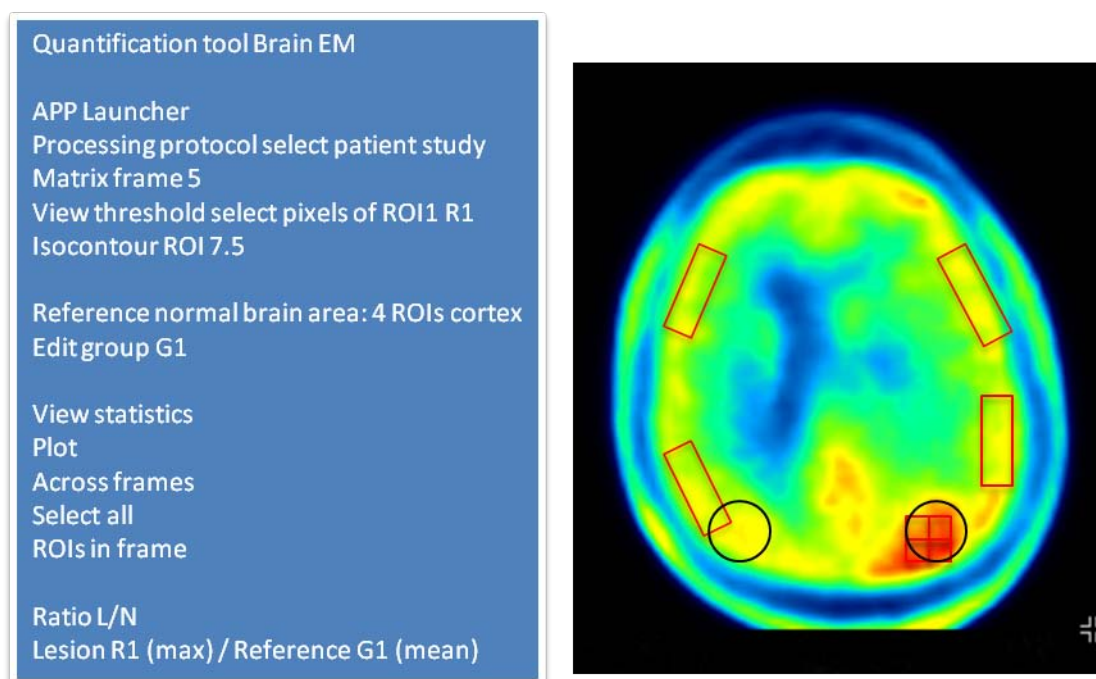


Figura 18. Quantificació de la lesió amb ROI sobre el tumor T i càlcul del ratio T/N. Segons mètodes de [87] [97] [123] [131].

L'índex *ratio* $T/N^{LA/CA}$ o T/N^{CA} depèn de les variables LA o *lesion activity* i CA o *contralateral activity* (ROIs de color negre, figura 18).

L'índex *ratio* $T/N^{HS/MCU}$ o T/N^{MCU} depèn de les variables HS o *hot spot* i MCU o *mean cortical uptake* (ROIs de color vermell, figura 18).

El càlcul de la LA i CA es realitza en funció del grau d'activitat o captació del traçador en unitats SUVmax en ROIs circular de 13 mm de diàmetre.

El càlcul del HS es mesura per la màxima activitat metabòlica del píxels de l'àrea del tumor en unitats SUVmax.

El càlcul de la MCU es mesura per l'activitat mitja en unitats SUVavg de les diferents àrees d'interès (de 4 a 6) sobre la cortical del teixit sà en ROIs rectangulars idèntiques, establertes pel programa de processat de superfície total equivalent a l'àrea de la ROI circular.

Aquests índexs (taula 9), i d'altres similars, s'han utilitzat en la valoració semiquantitativa per PET amb diferents traçadors metabòlics, fonamentalment per a la FDG i en els aminoàcids i nucleòsids. La utilització d'aquests índexs o *ratio* forma part tant de la pràctica assistencial habitual com en recerca.

PET 11C-MET Analysis			
Visual	Positive or Negative uptake In case of positive uptake of lesion : Low, moderate, intense		
Quantification	ROI (T)	ROIs (N)	Method or Formula
SUVmax (T)	1		Lesion uptake according to SUVmax
SUVavg (T)	1		Lesion uptake according to SUVavg
Ratio $T/N^{LA/CA}$	1	1	Lesion Activity / same Contralateral corresponding region Activity
Ratio $T/N^{HS/MCU}$	1	4-6	Hot Spot of lesion / Mean Cortical Uptake in healthy hemisphere
Ratio $T/N^{LA/CAf}$	1	1	Lesion Activity / Contralateral Activity in Frontal
Ratio $T/N^{AA/MCU}$	1	4-6	Average lesion Activity / Mean Cortical Uptake in healthy hemisphere

Taula 9. Mètodes de valoració de la PET amb metionina. T = tumor, N = teixit sà o normal, LA = *lesion activity*, HS = *hot spot*, CA = *contralateral activity*, CAf = *contralateral activity in frontal*, MCU = *mean cortical activity in healthy hemisphere* (4-6 ROIs). Habitualment no s'utilitza la valoració semiquantitativa mitjançant la SUVmax o SUVavg exclusivament, sinó mitjançant la Ratio T/N.

1.5.5. Ratio T/N i *cut-off*

S'han establert punts de tall o *cut-off* en l'avaluació semiquantitativa mitjançant l'índex Ratio T/N fonamentalment per a dues situacions: 1. Per al diagnòstic de tumors cerebrals ja sigui en diagnòstic inicial o bé en sospita de recurrència i progressió i 2. Per al diagnòstic diferencial entre gliomes de baix grau i d'alt grau.

Per al diagnòstic de tumor cerebral mitjançant la PET amb metionina s'accepta un llindar o *threshold* de 1,3 [87] [119] si bé s'ha publicat un rang de *cut-off* en el diagnòstic diferencial tumor *versus* no tumor de 1,2 a 1,9 [12]. La sensibilitat de la PET amb metionina en el diagnòstic inicial de gliomes es troba entre un 83 % i un 100 %. Aquesta sensibilitat varia en funció de la proporció de gliomes de baix grau al total de la mostra i del punt de tall o *cut-off* que s'utilitza. Així en l'estudi de Herholz et al. [88] la sensibilitat és menor a la de la resta de treballs publicats, amb una sensibilitat del 76 %, ja que en aquest estudi s'inclouen fonamentalment gliomes de baix grau.

Per altra banda en el diagnòstic de sospita de recurrència en gliomes Van Laere et al. [97] descriuen un *cut-off* de 1,4 mentre que Tripathi et al. [101] estableixen el *cut-off* òptim en 1,9. En contraposició, Terakawa et al. [150] defineixen un *cut-off* de 1,58 com a valor òptim en aquests pacients. En aquest sentit no s'ha definit un valor llindar definitiu per al diagnòstic de la recurrència o progressió dels gliomes ja tractats [12].

L'altra situació en què s'utilitza la valoració semiquantitativa de la PET amb metionina mitjançant la Ratio T/N és en el diagnòstic diferencial entre gliomes de baix grau (I i II) i d'alt grau (III i IV) [123] [131]. Els gliomes amb major agressivitat o de major grau presenten una Ratio T/N superior als gliomes de menor grau [12] [102] [111] [112] [118]. Kaschten et al. [123] defineixen un *cut-off* de 2,1 entre gliomes graus II/III i gliomes grau IV, si bé observen solapament entre els graus II i III pel que conclouen que la valoració mitjançant la Ratio T/N no permet diferenciar entre baix grau (II) i alt grau (III) mentre que si permet diferenciar els més agressius, grau IV amb un *cut-off* > 2,1, de la resta. Ceysens et al. [108] observen resultats similars, amb diferències entre els subgrups però amb solapament entre els graus II i III.

Una altra troballa característica en l'avaluació dels gliomes per la PET amb metionina és la d'una major activitat metabòlica en gliomes que presenten component "*oligo*", ja sigui oligoastrocitomes com en oligodendrogliomes, mesurada tant per la SUV com per a la Ratio T/N independentment del seu grau d'agressivitat. Així els gliomes amb component *oligo* presenten una major supervivència [9] [18] i en canvi mostren una major Ratio T/N [97] [123] [131].

En l'anàlisi de la supervivència dels gliomes, Ribom et al. [131] observen una pitjor supervivència en gliomes de baix grau amb *cut-off* > 2 amb component astrocític mentre que en el cas dels oligodendrogliomes observen diferències significatives en la supervivència amb un *cut-off* > 2,2. En aquest sentit l'ús de la Ratio T/N en la PET amb metionina pot ser útil com a factor pronòstic en gliomes [12] [130].

1.5.6. Correlació i fusió d'imatges RM i PET

En l'avaluació dels gliomes s'ha utilitzat la fusió d'imatges entre la RM i la PET per a la planificació de la biòpsia de la lesió tumoral, per a la cirurgia i per a la radioteràpia.

La fusió de les imatges es pot realitzar mitjançant un *software* de processat previ a la cirurgia o a la radioteràpia o bé per mitjà d'un neuronavegador que permet integrar les imatges dels dos estudis en l'acte quirúrgic (figura 19).

La correlació de les imatges entre els dos estudis habitualment es realitza per mitjà d'un sistema PACS (*Picture Archiving and Communication System*) per a la seva valoració anatòmica conjunta. Amb el PACS es poden valorar simultàniament les troballes de la RM amb les de la PET, delimitar l'àrea hipermetabòlica i comparar els resultats.

Per altra banda, més recentment, s'han desenvolupat equips híbrids PET/RM que permeten l'adquisició simultània i sincronitzada dels dos estudis, de la PET i de la RM, en una mateixa sessió fet que facilita la integració de les imatges i permet realitzar ambdós estudis en una única visita al centre hospitalari [151].

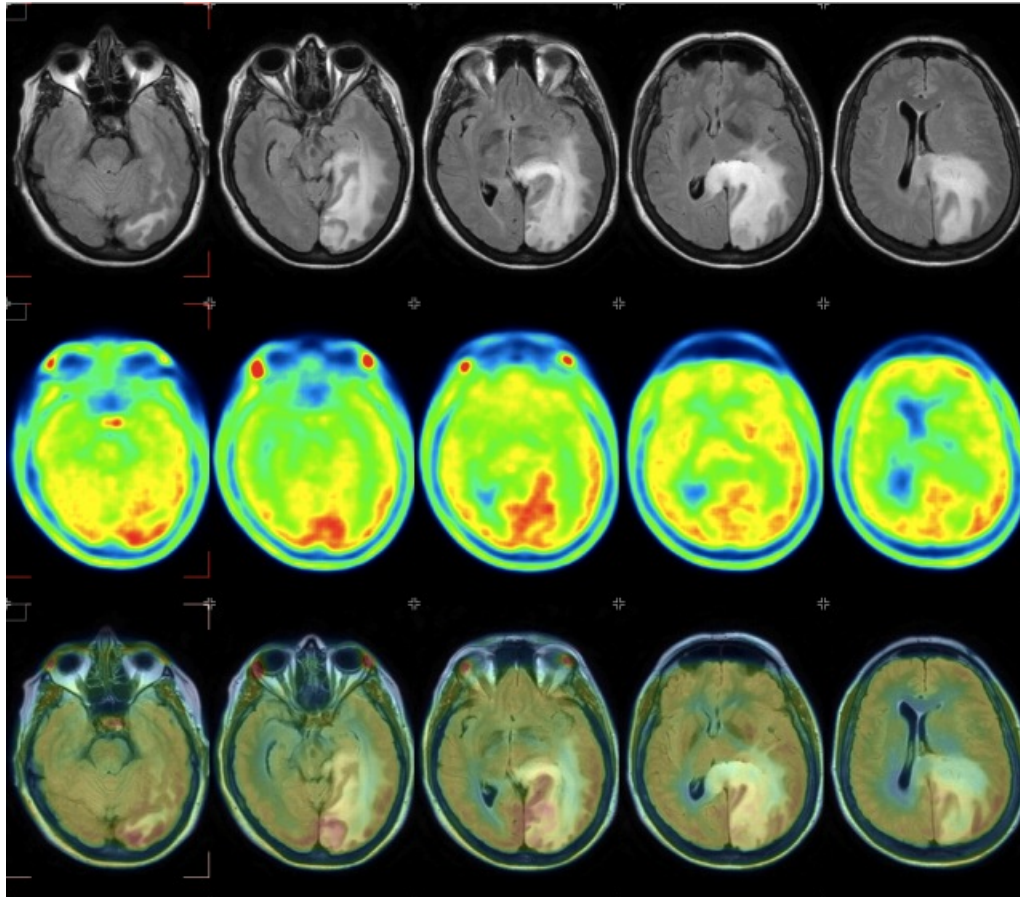


Figura 19. Talls axials de la RM en T2 (fila superior), de la PET amb metionina (fila del mig) i de la fusió d'imatge RM-PET (fila inferior) en un glioma.

No obstant el coregistre d'imatges entre la PET i la RM en cervell, adquirides en equips diferents i en moments diferents, mitjançant *software* de processat, ha mostrat una gran fiabilitat en la seva aplicació en el camp de la neurologia i en la neurooncologia degut a la rigidesa de l'estructura anatòmica del crani i de la potència dels algorismes matemàtics que s'utilitzen en aquest programes [152]. Així, tal com s'observa a la figura 19, el *software* de processat permet una correlació excel·lent entre els dos estudis en un pacient diagnosticat de glioma.

1.6. ALGORITME DIAGNÒSTIC EN GLIOMES

A les guies internacionals, com la NCCN *Guidelines* (www.nccn.org version 2.2013), l'eina indispensable per a la una correcta valoració diagnòstica dels tumors cerebrals és la RM, que és la prova *gold standard* o de referència en neurooncologia [67] (figura 20). L'algoritme diagnòstic en gliomes es basa, per tant, en la RM multiparamètrica que inclou la captació de contrast, la valoració de la difusió, de la perfusió i l'espectroscòpia [58] [66] [75] [68].

Per altra banda s'ha utilitzat àmpliament la PET amb ^{18}F -FDG en la valoració dels tumors cerebrals [123] [82] i si bé presenta limitacions en la sensibilitat i especificitat i en la valoració de gliomes de baix grau, on poden donar falsos negatius [86], les guies com la NCCN la recomanen com a prova complementària a la RM. Més recentment s'ha demostrat la utilitat de la PET amb aminoàcids com la metionina o la tirosina i amb nucleòsids com la timidina com a proves superiors a la PET amb FDG [12] [78] [101] [153] [98] [81].

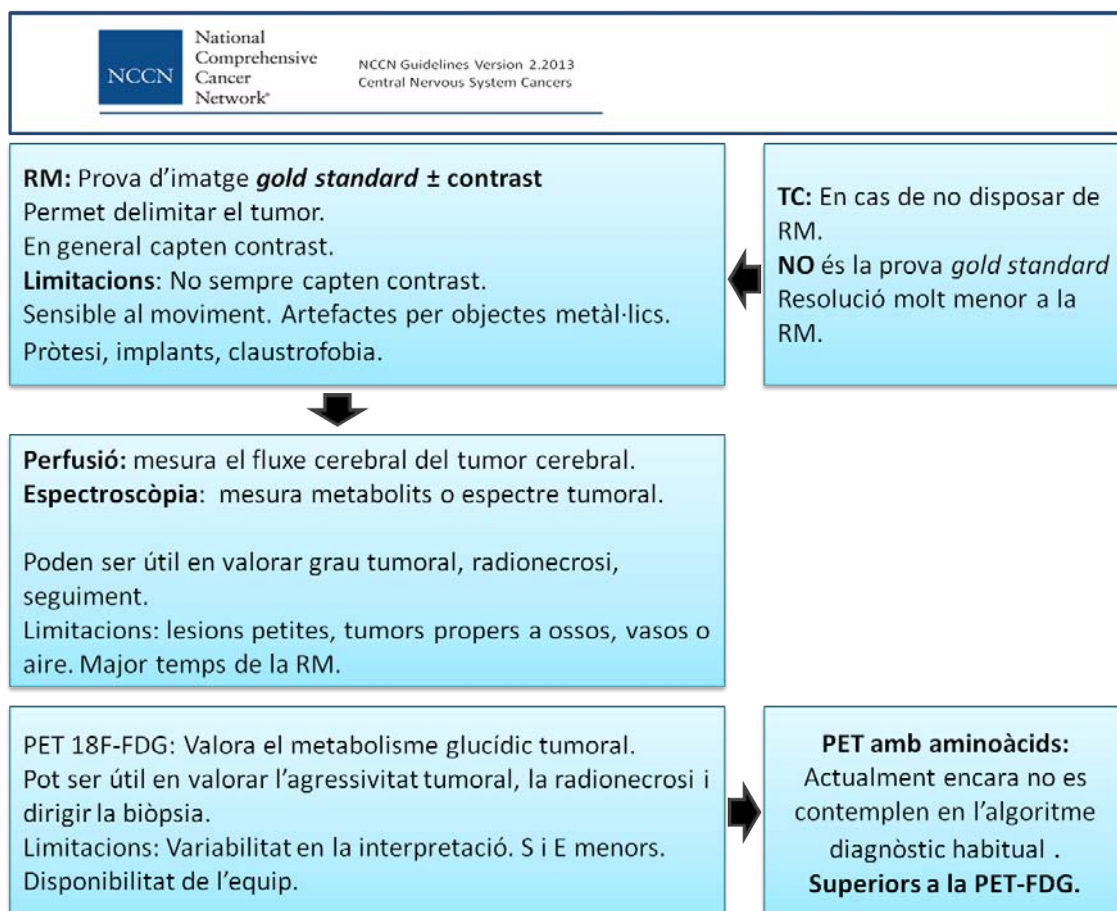


Figura 20. Algoritme diagnòstic en tumors cerebrals. Modificat de les guies NCCN, 2013 [154] [58] [59]. La PET amb aminoàcids [78] no està inclosa a la guia actualment.

En aquest sentit la utilització de la PET amb aminoàcids o amb nucleòsids no s'inclouen en les guies com a ús rutinari per al diagnòstic o bé per al seguiment dels tumors cerebrals primaris. En la valoració específica dels gliomes existeix molta recerca en l'ús de diferents traçadors cerebrals per a la valoració oncològica dels tumors que inclouen tècniques d'imatge funcional o metabòlica de medicina nuclear convencional com és la SPECT amb ^{201}Tl , $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI, ^{123}I -*alpha-methyl tyrosine* o IMT o de PET fonamentalment amb ^{18}F -FDG. Fins a inicis del segle XXI fou la utilització dels traçadors ^{201}Tl i ^{18}F -FDG els qui varen demostrar la seva utilitat en la valoració diagnòstica i de seguiment dels tumors cerebrals i en concret dels gliomes [86] com a proves complementàries a la RM.

No obstant en l'actualitat s'accepta que la PET amb aminoàcids, com la metionina, la tirosina, la fenilalanina o amb nucleòsids com la timidina poden ser superiors a les altres tècniques d'imatge metabòlica o funcional com és la SPECT amb diferents traçadors o la PET amb ^{18}F -FDG (veure taula 7) [81].

La RM continua essent la tècnica de referència o *gold standard*, si bé presenta algunes limitacions (figura 20). La valoració multiparamètrica de la RM amb les imatges de difusió o de perfusió i l'espectroscòpia permet una millor caracterització del tumor cerebral en estudi (veure taula 5) [74].

En el diagnòstic diferencial dels gliomes a més de les metàstasis cerebrals, cal considerar patologia no tumoral, com infeccions i abscessos, patologia inflamatòria, malalties desmielinitzants, patologia vascular i posttraumàtica que poden presentar alteracions en la RM multiparamètrica i en la captació de contrast [18].

D'altra banda en la valoració de la recurrència i de la progressió tumoral i en l'avaluació de canvis post-radioteràpia o radionecrosi, s'han utilitzat els criteris MacDonald que es basen en la captació del contrast, i els criteris RANO que inclouen altres paràmetres. En la valoració de resposta i seguiment per RM dels tumors ja tractats s'han descrit els conceptes de la 'pseudoprogressió' [61] i de la 'pseudoresposta' al tractament en el gliomes [155].

Es defineix la pseudoprogressió com un increment de la lesió tumoral ja tractada captant de contrast seguida de milloria o estabilització de la mateixa sense cap tractament adjuvant. Aquest canvi en la RM que simula una progressió tumoral és el que es coneix com a pseudoprogressió que pot anar acompanyada o no de deteriorament clínic. La pseudoprogressió s'ha relacionat amb procés inflamatori, edema i alteració de la permeabilitat vascular, entre d'altres fenòmens. A més, mentre la progressió implica pitjor supervivència, en el cas de la pseudoprogressió no té perquè i fins i tot pot implicar una resposta al tractament. Patològicament la pseudoprogressió mostra gliosis i canvis post-radioteràpia amb absència de teixit tumoral viable [61][155].

La pseudoresposta, pel contrari, és deguda a una ràpida resposta radiològica al tractament, com és el cas de la resposta al tractament de l'antiangiogènesi com en el bezacizumab, amb reducció inicial de la lesió captant de contrast en la RM, seguida d'una progressió tumoral en el temps [155].

S'ha utilitzat la PET amb FDG o amb altres traçadors, especialment amb metionina, tant en el diagnòstic inicial de la lesió tumoral com en el diagnòstic diferencial entre recurrència i radionecrosi del tumor ja tractat, amb bona sensibilitat i especificitat. No obstant existeixen encara controvèrsies en la valoració diagnòstica ja sigui inicial com en l'avaluació de la resposta tumoral per PET [12].

En l'algoritme diagnòstic i de seguiment dels gliomes la valoració conjunta de la RM i de la PET aporta avantatges i obre noves perspectives [76].

1.7. TERAPÈUTICA EN GLIOMES

El tractament dels tumors cerebrals es fonamenta en tres pilars: la cirurgia, la radioteràpia (RT), la quimioteràpia (QT) [156] i la teràpia antiangiogènesi tumoral (taula 10, pàgina 58), a més a més del suport mèdic i farmacològic que inclou corticosteroides, antiepilèptics i altres fàrmacs, teràpia ocupacional, de rehabilitació, psicològica, educadora, i sovint tractament pal·liatiu.

L'algoritme terapèutic (figura 21) mostra les recomanacions de la guia NCCN *Guidelines* a seguir des del diagnòstic inicial del glioma o bé després de la detecció de la seva recurrència un cop ja estat tractat.

1.7.1. Planificació quirúrgica

En general es considera que en tumors cerebrals primaris la supervivència del pacient es relaciona directament amb la 'màxima resecció segura' del tumor amb la mínima morbiditat possible i amb l'obtenció d'una mostra el màxim de representativa del teixit tumoral que permeti un diagnòstic acurat i precís de la lesió cerebral. La decisió a l'hora de plantejar el tractament quirúrgic depèn de la impressió clínica i de les troballes de la RM i d'una sèrie de variables que inclouen: (a) L'edat del pacient i el seu estatus i funcions neurològiques, (b) la proximitat d'una àrea eloqüent, (c) la possibilitat d'una exèresi àmplia de la lesió i de la disminució de la càrrega tumoral i del 'efecte massa' (*debulking*), (d) el temps de l'última intervenció quirúrgica en cas de recurrència tumoral, i (e) el nombre d'intervencions quirúrgiques, entre d'altres factors [157].

Les opcions quirúrgiques inclouen la biòpsia oberta o per estereotàxia, la resecció parcial (< 90%), subtotal (> 90 % però amb resta tumoral) i la resecció completa o total (*gross total resection*). A més es recomana la valoració de la mostra de teixit per un patòleg experimentat així com d'una RM postoperatòria a les 24-72 hores de la cirurgia per a la valoració de l'exèresi i de les possibles complicacions quirúrgiques [3][156] [158] [159].

A més del tipus de resecció quirúrgica, alguns autors han plantejat l'ús de d'implants quirúrgics impregnats amb antineoplàstics com és la carmustina, del grup de les nitrosourees (BCNU), com a tractament complementari, especialment en els gliomes d'alt grau [160][161].

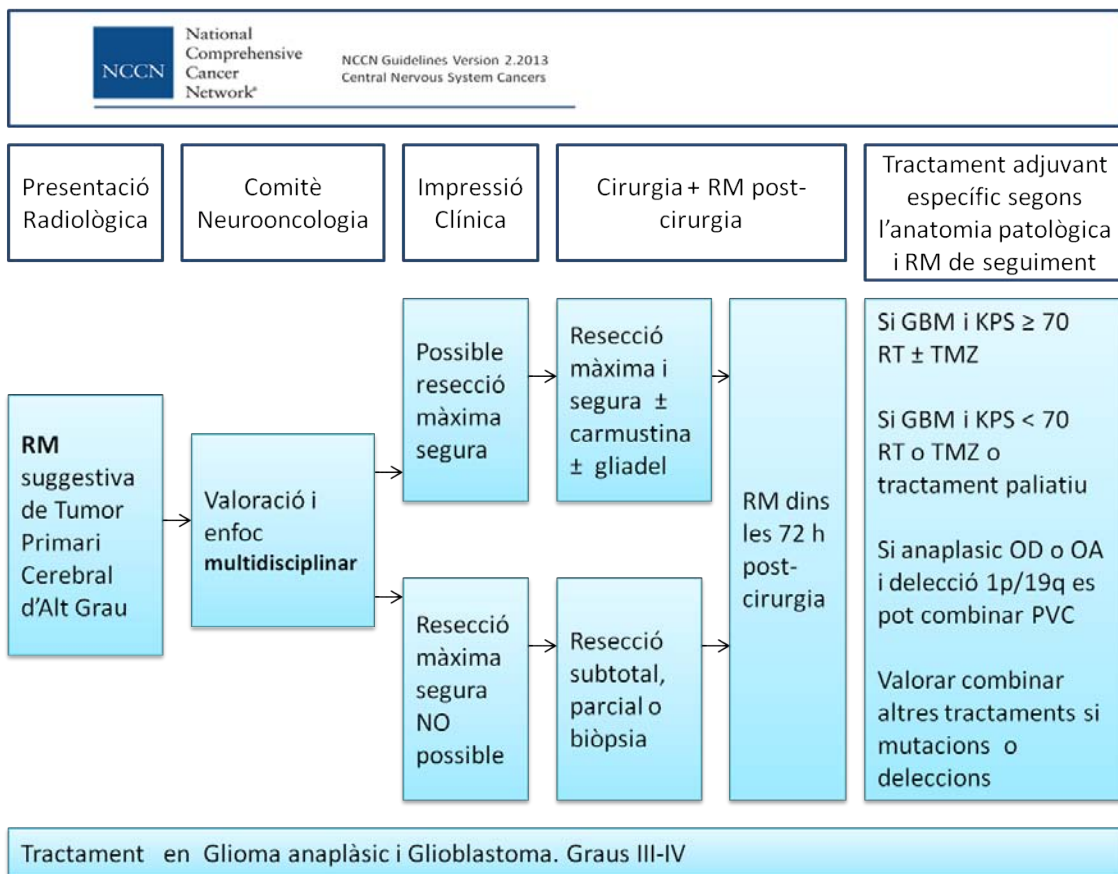
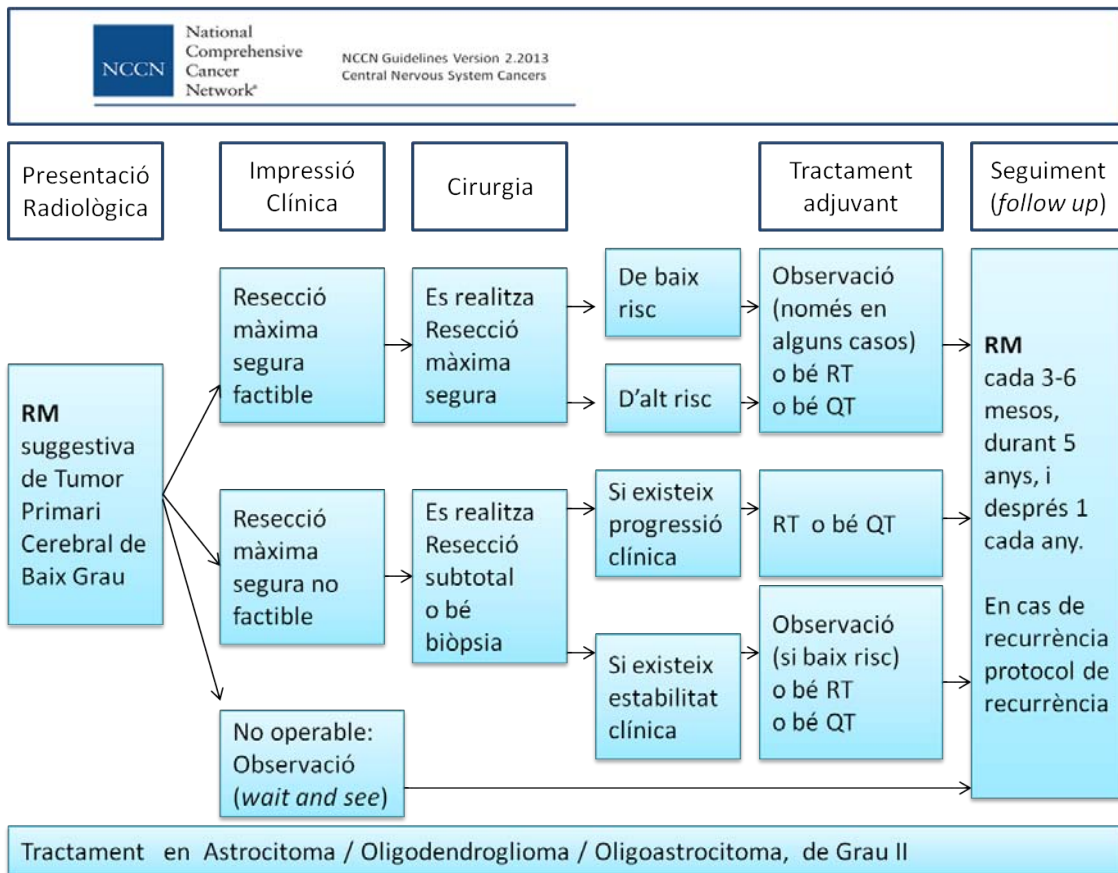
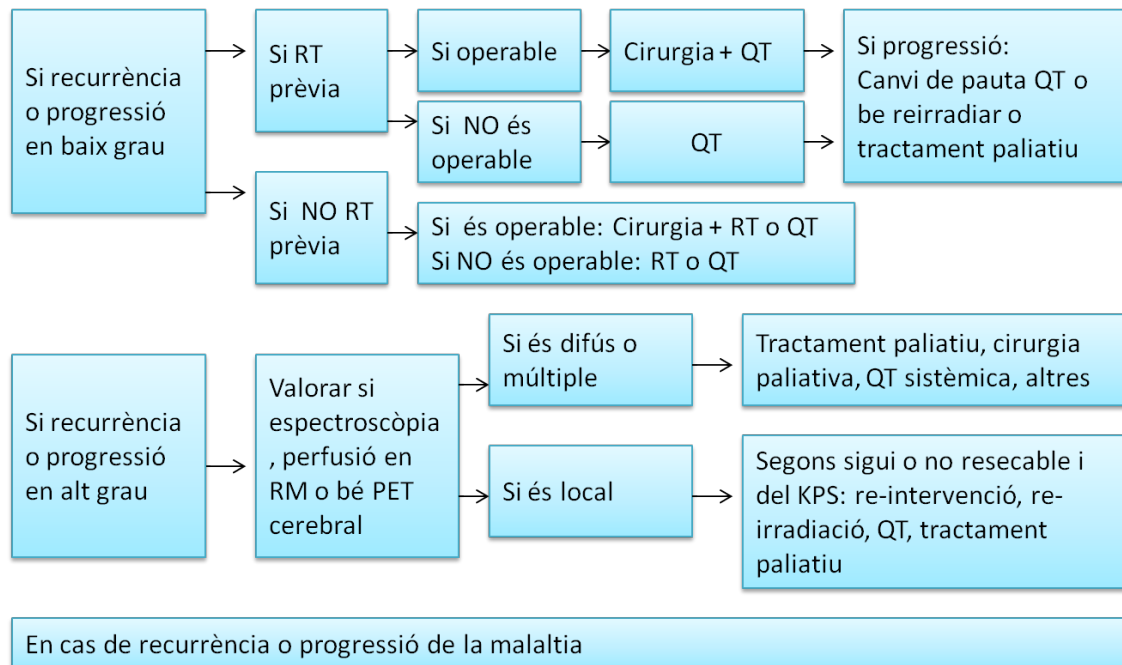


Figura 21. Algoritme terapèutic en gliomes de baix / alt grau. Modificat de NCCN 2013.

En alt grau el tractament varia en funció de la histologia i biologia molecular del tumor



En cas de recurrència o progressió de la malaltia

Figura 21. Algoritme terapèutic en gliomes (recurrència). Modificat de NCCN 2013.

1.7.2. Neuronavegador, mapatge i 5-ALA en el maneig quirúrgic

El model quirúrgic guiat per neuronavegador o neurocirurgia per estereotàxia va ser descrit inicialment per Roberts DW et al. [162]. Posteriorment aquest sistema s'ha anat integrant en la planificació quirúrgica dels tumors cerebrals inclosos els gliomes [163][164]. El model es basa en la utilització de les dades de la RM adquirides en 3D del pacient que són integrades en un *software de navegació*. Les imatges digitalitzades serveixen per indicar la localització exacta de les estructures anatòmiques del pacient amb una guia o sensor en l'acte quirúrgic en un sistema de coordenades tridimensional (figura 22). Per altra banda el sistema multimodal del neuronavegador permet integrar imatges adquirides prèviament en diferents modalitats; ja siguin múltiples seqüències de la RM o imatges metabòliques com la PET. La seqüència de passos en la 'neuronavegació' és la següent: (a) adquisició de les imatges (RM o PET) i (b) planificació quirúrgica prèviament a la intervenció al quiròfan. (c) Registre de

les imatges al software i (d) cirurgia amb neuronavegador en el moment de la intervenció quirúrgica [164].



Figura 22. Neuronavegador Medtronic StealthStation®

Font: www.medtronic.com

Per a la valoració de les àrees cerebrals eloqüents o àrees on presumptament es localitzen funcions crítiques com són les sensitivomotores o de llenguatge properes a una lesió tumoral [165], s'utilitza entre d'altres tècniques, el mapatge o *mapping* (figura 23). Aquesta tècnica, utilitzada en neurofisiologia, consisteix en 1. implantació d'elèctrodes i 2. Registre EEG per obtenir un mapa de representació cortical de les funcions crítiques prèviament a la cirurgia o bé intraoperatòriament [166]. La delimitació acurada de les àrees funcionals crítiques permet salvaguardar les àrees eloqüents en cas de resecció de teixit cerebral i, a més, facilita una major resecció del tumor proper a aquestes àrees. La tècnica del mapatge o *mapping* en la cirurgia dels tumors cerebrals ha demostrat també el seu valor pronòstic [167].

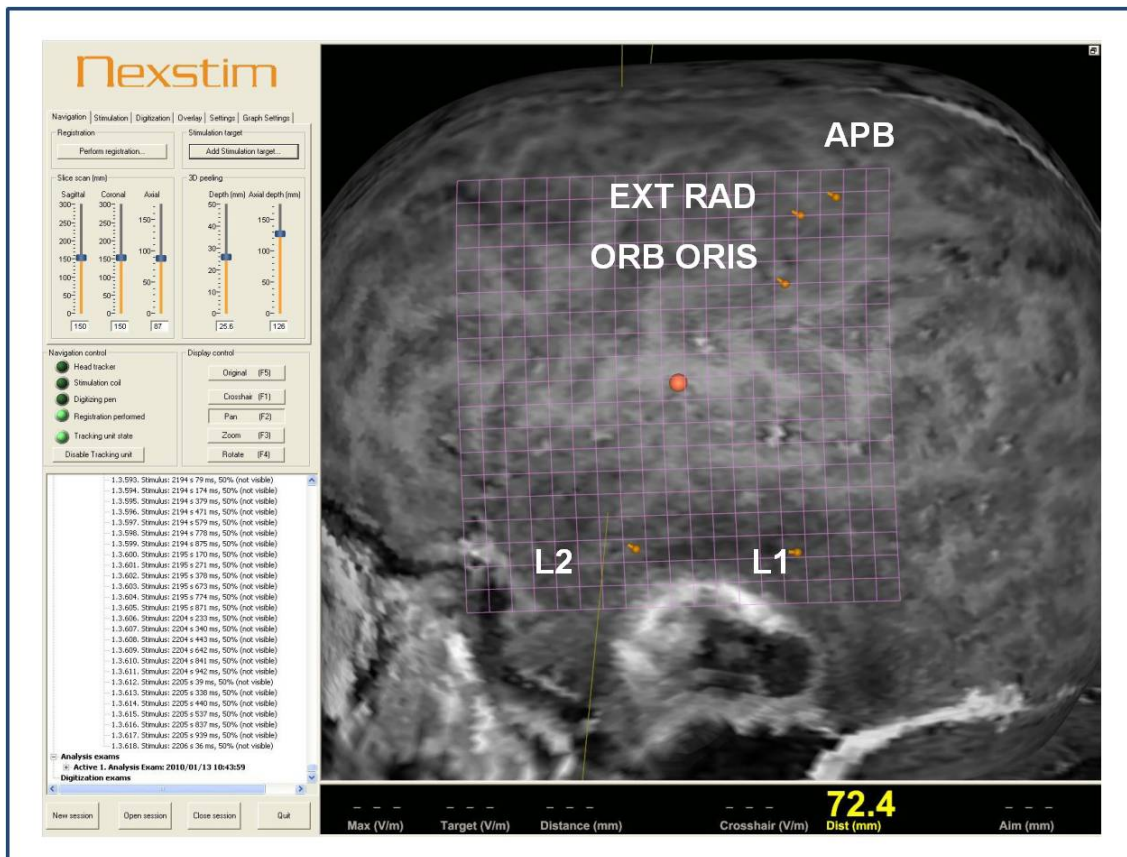


Figura 23. Esquema de *mapping* per a valorar àrees eloqüents. Representació d'àrees motores APB, EXT RAD (*extensor radialis*) i ORB ORIS (*orbicular oris*), i d'àrees del llenguatge L1, L2.

La molècula 5-ALA o δ -ALA o *5-aminolevulinic acid* és un precursor en la via de la síntesi de les porfirines fluorescentes (protoporfirina IX). Un cop la molècula 5-ALA s'acumula a l'interior de la cèl·lula glial maligna aquesta es consumeix i transforma en una porfirina que un cop s'allibera produeix fluorescència. És precisament la capacitat del tumor glial de consumir la 5-ALA i produir fluorescència el que permet detectar-ho en un microscopi de llum ultraviolada. Aquesta propietat de la 5-ALA (Gliolan®) és la que ha permès la detecció i delimitació intraoperatòria del tumor cerebral i específicament del glioma (figura 23)[122] [163][168][169][170]. La tècnica de fluorescència de la 5-ALA en gliomes s'ha utilitzat tant en el cas dels gliomes de d'alt grau com en els de baix grau, tot i que la indicació més habitual és en gliomes d'alt grau [168].

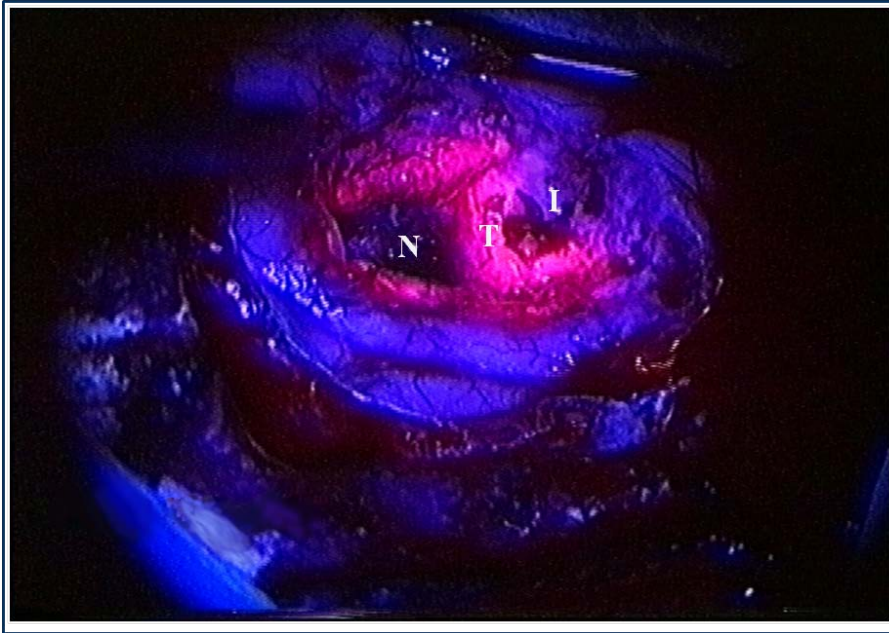


Figura 24. Glioma marcat amb 5-ALA. Codi de colors del 5-ALA: En color blau teixit sà, normal. En roig i rosa, tumor sòlid (T). En rosa pàl·lid, tumor infiltrant (I). Sense fluorescència, necrosi i sang (N). Mesura de grau histològic i d'activitat tumoral *in vivo* [171].

1.7.3. Radioteràpia en gliomes

El tractament amb radioteràpia (RT) és un dels altres dels pilars bàsics en el maneig terapèutic dels gliomes. La unitat de mesura en RT són els Grays (Gy). El volum tumoral a irradiar es defineix amb la imatge de la RM, habitualment amb la imatge ponderada en FLAIR o bé en T2. Cal diferenciar entre el volum tumoral total o *gross tumor volume* (GTV) i en volum de teixit que s'irradia o *clinical target volume* (CTV) que inclou un marge de seguretat al voltant del volum tumoral. El volum total irradiat o clínic CTV, que inclou el marge de seguretat, difereix segons es tracti de gliomes de baix o d'alt grau. Així el marge se situa entre 1-2 cm en el cas dels gliomes de baix grau [172] o sigui CTV en baix grau: GTV + 1-2 cm, i se situa entre 2-3 cm en el cas de gliomes d'alt grau o sigui CTV en alt grau: GTV + 2-3 cm [173]. Per altra banda cal tenir en compte estructures especialment radiosensibles en la planificació de la radioteràpia del tumor a irradiar així com àrees més radioresistents. A la figura 25 es mostra un dels esquemes de planificació d'un pacient amb un glioma localitzat al lòbul frontal dret.

Pel que fa a la dosi de RT també difereix en funció que es tracti d'un glioma de baix grau o d'alt grau. Així en els de baix grau la dosi oscil·la entre els 45 i 54 Gy en fraccions de 1,8 a 2 Gy [172] mentre que en els d'alt grau la dosi habitual és de 60 Gy, també fraccionades en tandes de 1,8 a 2 Gy, si bé es poden plantejar dosis menors en cas de pacients amb un estatus vital pobre [173].

Existeixen discrepàncies respecte si cal un tractament amb RT immediatament després de la cirurgia o bé si es pot demorar en els gliomes de baix grau [174]. En els pacients diagnosticats de glioma de baix grau amb factors d'alt risc o de pitjor pronòstic es considera que el tractament més adequat seria la irradiació immediatament després de la cirurgia. Pel que fa als gliomes d'alt grau la RT post-quirúrgica es considera el tractament adjuvant estàndard [175].

En l'algoritme terapèutic segons les *Guidelines* es proposa la RT en el cas de recurrència o progressió de gliomes no irradiats prèviament (figura 21). No existeixen estudis prospectius concloents respecte a la reirradiació de gliomes recurrents o en progressió ja irradiats prèviament si bé s'ha descrit en estudis retrospectius [176] la possibilitat d'usar la RT fraccionada per estereotàxia.

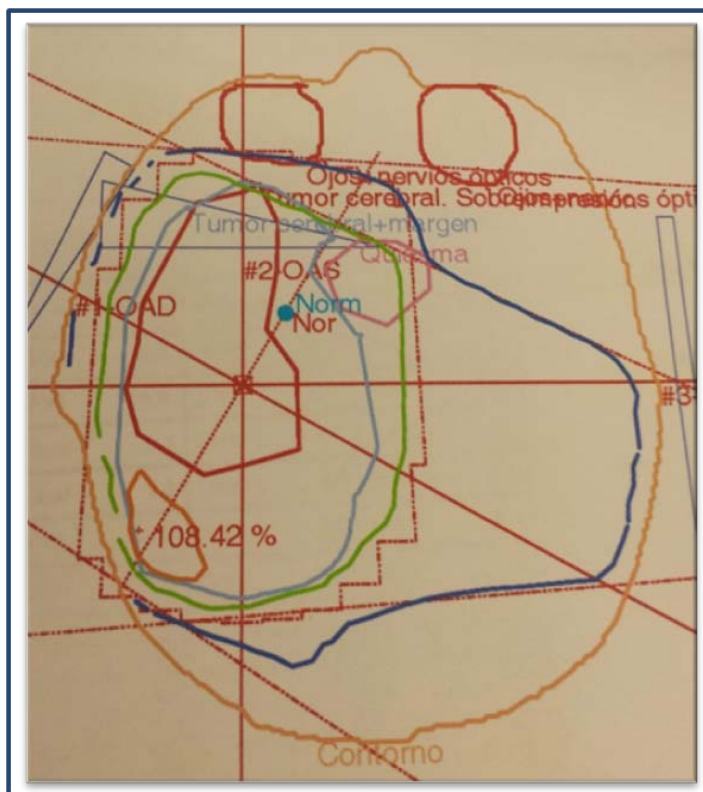


Figura 25. Esquema de planificació de RT en un glioma al lòbul frontal dret.

1.7.4. Quimioteràpia en gliomes

En gliomes de baix grau la quimioteràpia (QT) no es considera com a tractament de primera línia. En aquests pacients el tractament de primera línia és la cirurgia mentre que la radioteràpia o bé la quimioteràpia es consideren com a segona opció. Tot i així el tractament adjuvant ja sigui amb RT o amb QT es plantegen en pacients diagnosticats de gliomes de baix grau amb factors d'alt risc [177]. Els factors d'alt risc inclouen: pacients d'edat avançada, índex de Karnofsky ≤ 70 , tumor de $> 5-6$ cm, dèficit neurològic, i alguns marcadors moleculars com l'absència de deleció 1p/19q o de la mutació IDH. També es planteja el tractament adjuvant, amb RT o bé amb QT, en gliomes de baix grau en els que s'ha realitzat només biòpsia o resecció parcial de la lesió tumoral i existeix progressió clínica o simptomatològica.

El tractament adjuvant o de suport amb QT com és el cas del tractament amb temozolamida (TMZ) s'ha considerat especialment en cas de recurrència o progressió tumoral en gliomes de baix grau ja tractats prèviament [178][179]. Altres possibilitats de tractament QT adjuvant són les nitrosourees, platí, i la pauta PVC que és una combinació de procarbicina, lomustina i vincristina. En cas de progressió malgrat la QT les opcions que es contempen inclouen canvi de pauta de QT, reirradiació o tractament de suport o pal·liatiu (figura 21).

En gliomes d'alt grau el tractament adjuvant amb QT inclou la TMZ, la pauta PVC, les nitrosourees, l'irinotecan, el platí, la ciclofosfamida i l'etopòsid. A més a més la pauta de QT es pot combinar amb el tractament amb RT i amb teràpia contra l'angiogènesi tumoral com és el cas del bevacizumab.

La temozolamida, TMZ, és un agent alquilant amb efecte tumoricida que actua alterant la reparació de l'ADN cel·lular. La combinació de RT postquirúrgica i TMZ en el que es coneix com a 'protocol Stupp' es considera, en l'actualitat, el tractament adjuvant estàndard en pacient joves o amb bon estatus vital [27] [45]. Els pacients diagnosticats de gliomes d'alt grau i tractats amb el protocol Stupp mostraven un increment de la supervivència del 10% al 26% als 2 anys. A més s'ha descrit una major eficàcia del tractament amb TMZ en els gliomes amb component oligodendrogial i presència de metilació MGMT [43]. Pel que fa als pacients d'edat avançada s'ha observat neurotoxicitat per RT. És per

aquest motiu que en els pacients de > 65 anys amb mal estatus vital es recomana l'ús de TMZ enlloc de RT [180].

La pauta o protocol PVC pot ser una alternativa al tractament amb TMZ. En concret es recomana la combinació de la PVC amb la RT en gliomes anaplàstics amb component oligodendroglial que presenten la deleció LOH 1p/19q [48] [174].

L'irinotecan (CPT-11) és un fàrmac antineoplàstic que inhibeix l'enzim topoisomerasa I, i interfereix amb la síntesi de l'ADN o ARN. S'ha utilitzat com a tractament QT de segona línia en cas de gliomes d'alt grau resistents al tractament amb TMZ, en recurrència [181]. A més s'ha utilitzat la combinació de la CPT-11 amb el bevacizumab pel tractament de la recurrència en glioblastomes [182].

La carmustina (BCNU) és un agent alquilant que pertany al grup de les nitrosourees. La utilització d'implants intraquirúrgics de carmustina mitjançant un polímer biodegradable (*wafer*) col·locat a la cavitat quirúrgica en el tractament de recurrència de gliomes d'alt grau va mostrar la milloria de la supervivència en aquests pacients [183], fet pel que es va aprovar la seva utilització en aquests casos per la FDA (*US Food and Drug Administration*). Posteriorment s'ha demostrat la seva utilitat com a tractament adjuvant en la cirurgia de gliomes d'alt grau en el diagnòstic inicial [160].

La quimioteràpia amb ciclofosfamida [184], platí o bé amb etopòsid (VP16) [185] s'han descrit com a tractaments de segona línia de QT quan existeix resistència al tractament en recurrència o progressió de gliomes d'alt grau.

1.7.5. Teràpia antiangiogènesi en gliomes

El tractament amb bevacizumab (BEV, Avastin®) [186] s'ha aprovat per la FDA per al tractament de glioblastomes en recurrència en què el tumor és refractari al tractament inicial. La diana terapèutica del bevacizumab és el factor de creixement vascular endotelial o VEGF. Així doncs, actua com un anticòs monoclonal en contra del VEGF. Per altra banda, si bé la teràpia antiangiogènesi només es va utilitzar en recurrència, posteriorment s'ha instaurat la teràpia amb bevacizumab en el tractament inicial dels glioblastomes

[18]. En el cas de tractament inicial en glioblastomes la teràpia amb BEV s'ha utilitzat combinada amb radioteràpia i amb quimioteràpia, fonamentalment amb TMZ (AVAGLIO *study*) [187] o bé amb irinotecan [182]. Per contra no s'ha definit el paper del tractament amb BEV en gliomes de grau III o astrocitomes anaplàstics [186].

També s'ha utilitzat la teràpia amb BEV combinada amb corticosteroides. S'ha observat com l'ús de BEV disminueix la necessitat de dosis altes de corticosteroides en el tractament dels glioblastomes (BRAIN *study*) [188][189].

En contrapartida s'han descrit complicacions pel tractament amb BEV com són un major risc de tromboembòlies, d'hemorràgia cerebral, de dehiscència de la ferida quirúrgica, fatiga, proteïnúria i hipertensió, entre d'altres. Per altra banda existeixen mecanismes de resistència al tractament de BEV per part del glioblastoma [186].

Glioma treatment	Characteristics	Recommendation
Surgery		
Exeresis	Total, subtotal, partial	maximal safe resection
Biopsy	Open or stereotactic	using neuronavigation
5-ALA	fluorescence removal	if possible
Carmustine wafers*	surgical implant	
Adjuvant treatment		
Radiotherapy (RT)		
Dose (Gy)	depend on grade tumor	fractionated RT
Chemotherapy (CHE)		
TMZ	First line chemotherapy	Recurrence / Progression
PVC	Second line [†]	
CPT-11, VP16, others	Second line [†]	TMZ-resistant glioma
Carmustine (BCNU)	can be used in surgery*	High grade glioma
Combined RT + CHE		
TMZ + RT	Stupp protocol	High grade glioma
PVC + RT		if LOH 1p/19q
Antiangiogenesis	Bevacizumab (BEV)	treatment-resistant GBM
Other treatment		
Palliative / Suport care	Corticosteroids, AEDs**	Uncontrolled or progressive symptoms
Immunotherapy	clinical research trials	

*BCNU surgical implant or wafer. **AEDs : antiepileptic drugs. Second line[†] = in study or investigation.

Taula 10. Resum de terapèutica en gliomes

1.8. FACTORS PRONÒSTIC EN GLIOMES I FOLLOP UP

Existeixen múltiples estudis d'investigació en els que s'ha valorat els factors pronòstic que influeixen en transcurs evolutiu dels gliomes tant pel que fa als de baix grau [190] com en el glioblastomes [28]. Entre els factors pronòstic i de supervivència que intervenen s'han descrit els següents (taula 11): L'edat del pacient, l' estatus del pacient que inclou la simptomatologia neurològica amb la presència o no de dèficits i l'índex de Karnofsky o KPS (taula 12), les característiques del tumor que inclou la seva mida, infiltració i creuament de la línia mitja cerebral, les característiques anatomo-patològiques com el grau tumoral, les característiques histològiques, de immunohistoquímica i els marcadors moleculars, el tractament quirúrgic i adjuvant del tumor, la recurrència o la progressió del glioma ja tractat, i les característiques de les tècniques de imatge com la RM o la PET que en defineixen la seva agressivitat.

En síntesi els factors pronòstic del glioma es resumeixen en set grups:

- Els factors que depenen del pacient com són l'edat i l' estatus neurològic i vital.
- Els factors que depenen del tumor macroscòpicament com són la seva mida, localització i extensió.
- Els factors que depenen de les característiques anatomo-patològiques, de immunohistoquímica i moleculars del glioma.
- El tractament quirúrgic i les seves complicacions.
- El tractament adjuvant que inclou radioteràpia, quimioteràpia, teràpia antiangiogènesi i immunoteràpia.
- La recurrència o la progressió del tumor.
- Les troballes de les tècniques de diagnòstic per la imatge.

L'edat del pacient és un factor establert en l'avaluació de la supervivència en gliomes en adults. Així en gliomes de baix grau una edat superior als 40 anys es considera un factor de risc de mal pronòstic [190]. En el cas dels glioblastomes en adults els pacients que presenten una edat superior als 65 anys al moment del diagnòstic mostren un pitjor pronòstic [16] [28]. Schwartzbaum JA et al [14] en un article de revisió descriuen la combinació de l'edat del pacient al moment del diagnòstic amb el tipus histològic de glioma

com a factor pronòstic fonamental. Així si l'edat del diagnòstic es troba en la franja dels 20 als 44 anys la supervivència és major en tots els subtipus i disminueix dràsticament a partir dels 65 anys.

L' estatus del pacient al moment del diagnòstic és una altra variable que s'ha descrit que té implicació en la supervivència [28] [190] [158]. Empitjoren el pronòstic la presència de dèficit neurològic al moment del diagnòstic i especialment de crisis epilèptiques, i els pacient amb un baix índex de Karnofsky, menor al 70 % [159].

La mida del tumor es considera un factor pronòstic en gliomes. En cas de gliomes de baix grau els de més de 6 cm [190] mostren pitjor pronòstic, i en glioblastomes de més de 6 cm el pronòstic és infaust [28]. Per altra banda els tumors que traspassen la línia mitja cerebral [190] i aquells que presenten múltiples focus, si bé existeix certa controvèrsia [3], mostren una pitjor evolució [18] [28].

La histopatologia i immunohistoquímica del tumor formen part de les principals variables a l'hora de definir la supervivència dels pacients diagnosticats de glioma. Una de les més importants és el grau tumoral [14] [18]. Els gliomes de baix grau (I i II) mostren una major supervivència que els d'alt grau (III i IV). A més, tal com s'ha descrit en seccions prèvies (veure apartat 1.3.2. Variables de pronòstic anatomopatològic), la histologia i la biologia molecular dels gliomes té una implicació en el pronòstic i supervivència [14] [20] [24] [26][44]. L'índex de proliferació cel·lular [34][35], les mutacions IDH [42] i la metilació MGMT [46] són altres factors pronòstic que intervenen en la seva evolució i supervivència.

La cirurgia és un dels punts clau en el tractament dels gliomes (veure figura 21) especialment en el seu diagnòstic inicial i també al moment de la recurrència i progressió. Les variables de pronòstic en relació a la cirurgia inclouen el tipus de resecció, la localització i extensió del tumor així com l'afectació d'àrees eloqüents [159], i la possibilitat d'utilitzar 5-ALA i carmustina en el seu procediment (taula 10). El tipus de resecció en el moment del diagnòstic; total, subtotal o per biòpsia, és el factor quirúrgic més acceptat en l'avaluació de la supervivència en tumors cerebrals primaris [3] [158], especialment en els glioblastomes [18] [28] [60].

Predictors of long-term survival patients with glioma			
	Classification	Predictor	Reference
Patient			
Age (years)	if < 65 (adults)	Positive	[191] [28]
KPS	if > 70	Positive	[191] [28][60][159]
Histology, grading			
OD	if LGG OD	Positive	[18]
WHO grade			
II	A (LGG)	Positive	[190]
III- IV	AA-GBM (HGG)	Negative	[18]
Progression to secondary GBM		Negative	[23]
Molecular predictors			
IDH-1 mutation	if present	Positive	[24]
MGMT methylation	if present	Positive	[24][43]
LOH 1p/19q in OD or mixed	if present	Positive	[50]
Ki67 %	if elevated	Negative	[35]
β catenin	if elevated	Negative	[30]
Tumor			
Size of tumor volume (cm)	< 4-6		
	> 4-6	Negative	[28] [190] [159]
Surgery			
Total or subtotal resection		Positive	[191] [60][3]
Partial or biopsy		Negative	[158]
Neurological deficits pre surgery	if LGG A	Negative	[190]
Location	if crossing midline	Negative	[190]
Involment eloquent regions	if yes	Negative	[159] [2]
Multifocal	if yes	Negative	[3] [192]
Carmustine (gliadel®)	if used (HGG)	Positive	[161] [160]
5-ALA (gliolan®)	if used (HGG)	Positive	[193]
Adjuvant treatment			
Radiotherapy alone	if GBM	Negative	[28]
Early RT post surgery	if low grade	Positive	[174]
Radiotherapy combined TMZ	if GBM	Positive	[27] [45]
Bevacizumab (avastin®)	First-line use in GBM or combined	Not yet demonstrated	[194]
		Not yet dem.	[195]
Imaging			
CE MRI (enhancement)	if highly	negative	[63] [62] [192]
Multiparametric MRI (perfusion, spectroscopy)	if highly	negative	[71] [68]
PET methionine Ratio T/N	if highly, in LGG	negative	[25][131]

Taula 11. Factors pronòstic, positiu o negatiu, estudiats en gliomes, segons les següents variables: dependent del pacient, del tumor, de la histologia i marcadors moleculars, la cirurgia, el tractament adjuvant i el diagnòstic per la imatge.

En la cirurgia dels tumors cerebrals s'ha utilitzat la tècnica 5-ALA i el tractament amb carmustina com a tractament complementari a la resecció tumoral. Des de que es va iniciar la utilització de la tècnica 5-ALA per Stummer et al. [196] com a tècnica quirúrgica en la resecció del glioma d'alt grau, aquesta tècnica s'ha anat perfeccionant. Més recentment s'ha proposat com a factor de supervivència en glioblastomes [193] [163]. Un altre tractament que pot tenir valor pronòstic és la carmustina [161] [160].

Les complicacions postquirúrgiques s'han descrit com a factor pronòstic negatiu en el curs evolutiu dels glioblastomes. Així la supervivència d'aquests pacients és pitjor en cas de deteriorament cognitiu després de la cirurgia [28].

El tractament adjuvant com la radioteràpia pot tenir implicacions en la supervivència especialment en els gliomes d'alt grau si bé no està completament demostrat que una dosi superior als 60 Gy millori la supervivència [197]. Per altra banda en gliomes de baix grau el tractament precoç de la radioteràpia pot allargar el període del pacient sense progressió del tumor si bé no s'ha demostrat que aquest fet suposi una milloria en la seva supervivència global [174].

La combinació de la radioteràpia amb la quimioteràpia, com és el cas de la temozolamida en el 'protocol Stupp', en glioblastomes millora la supervivència [27][45] especialment en cas de presència de metilació MGMT [43]. Per altra banda, tal i com ja s'ha comentat en anteriors apartats, la combinació de la radioteràpia amb la quimioteràpia en protocol PVC millora la supervivència en tumors oligodendroglials que presenten la LOH 1p/19q [48][49].

El tractament amb bevacizumab, que té un efecte d'inhibició de l' angiogènesi del glioma [186] i pot combinar-se amb irinotecan [198], milloraria la supervivència tal com s'ha descrit en glioblastomes en recurrència [199]. Tot i així encara no està completament provat el seu ús com a primera línia en glioblastomes [194].

La recurrència i la progressió tumoral en el seguiment o *follow-up* i especialment la transformació dels gliomes de baix grau en glioblastomes secundaris són factors de mal pronòstic [18].

Altres factors pronòstic menys estudiats en gliomes són els marcadors en sèrum i les tècniques de diagnòstic per la imatge. S'han descrit diferents marcadors en sèrum que poden tenir un valor pronòstic o de supervivència en gliomes [28].

S'ha estudiat el valor pronòstic de la RM en gliomes. S'ha associat la mida tumoral en FLAIR, la presència de múltiples focus o 'multifocalitat' i el grau de captació de contrast, amb la supervivència dels gliomes d'alt grau [62][63][66][192]: La supervivència empitjora a major captació del contrast al glioma. A més també s'ha estudiat la relació de les variables de la RM multiparamètrica, com la perfusió i l'espectroscòpia, amb el pronòstic d'aquests pacients [68] [71]. Tot i així, en el cas dels gliomes de baix grau s'ha vist que el creixement tumoral en el seguiment per RM als 6 mesos és un factor pronòstic més important que les troballes per la RM multiparamètrica [200].

Finalment s'han proposat les tècniques d'imatge metabòliques com la PET com a factor pronòstic en gliomes. És el cas de la PET amb FDG [201], de la PET amb aminoàcids com és la tirosina [202] o bé la metionina [25][107] [130] [131] i, més recentment, la PET amb nucleòsids com és la PET amb FLT [203].

Índex de Karnofsky (KPS)	
Puntuació (en %)	Significat
100	Sense simptomatologia
90	Capaç de portar a terme una activitat normal amb mínima simptomatologia
80	Activitat normal amb esforç. Mínims signes o símptomes de malaltia.
70	Pren cura de si mateix, sense poder portar a terme una activitat normal.
60	Requereix assistència ocasional. Pot portar a terme les activitats bàsiques.
50	Requereix assistència sovint i atenció mèdica freqüentment.
40	Discapacitat.
30	Severament discapacitat.
20	Molt malalt. Tractament de suport.
10	Moribund.

Taula 12. Índex de Karnofsky pel grau de severitat del pacient. S'ha demostrat un factor pronòstic positiu en els pacients que presenten un KPS preoperatori > 70 [28].

1.9. COMITÈ DE NEUROONCOLOGIA

D'acord amb les indicacions de les guies internacionals, la *NCCN Guidelines* (www.nccn.org version 2.2013, *principles of brain tumor management*) en tumors del SNC, la valoració multidisciplinària és un dels pilars per un bon maneig dels pacients diagnosticats de tumor cerebrals [156]. El comitè en neurooncologia és fonamental en l'arbre de decisions diagnòstiques i terapèutiques. La interacció entre tots els especialistes que hi intervenen facilita integrar millor el conjunt de dades clíniques i quirúrgiques, el tractament radioteràpic o quimioteràpic, la possibilitat d'entrar en assajos clínics, la valoració psicològica, familiar i social del pacient i la valoració de les proves d'imatge de què es disposa. Les recomanacions de les guies inclouen l'equip multidisciplinari format per oncòlegs mèdics i radioteràpics, neurocirurgians, neuròlegs, neuroradiòlegs o especialistes en la neuroimatge, patòlegs especialitzats, psiquiatres i psicòlegs i terapeutes ocupacionals, sempre que sigui possible.

2. HIPÒTESI

La PET amb ^{11}C -metionina ofereix una orientació en la valoració del pronòstic en els gliomes. Aporta informació complementària a la RM i orienta en el grau tumoral dels gliomes, així com en la seva proliferació cel·lular i en l'estudi molecular o d'immunohistoquímica com a factors pronòstic. Per altra banda contribueix en la valoració de la supervivència dels pacients diagnosticats de glioma i en el seu maneig clínic.

3. OBJECTIUS

Objectiu principal:

Estudiar el valor pronòstic de la PET amb ^{11}C -metionina com a variable en gliomes i demostrar la seva utilitat en la informació de pronòstic i la seva relació respecte les tècniques *gold standard* d'anatomia patològica i de imatge RM, així com en la valoració de la supervivència.

Objectius específics:

Valorar la utilitat de la PET amb ^{11}C -metionina en l'estudi anatomo-patològic dels gliomes; en la gradació tumoral, proliferació cel·lular i estudi de immunohistoquímica i molecular.

Comparar diferents tècniques d'imatge, RM i PET, en el maneig diagnòstic i pronòstic en els gliomes i la seva relació segons paràmetres d'agressivitat tumoral.

Comparar tècniques de semiquantificació per a l'índex o l'índex ratio T/N de la PET amb ^{11}C -metionina en gliomes.

Definir un possible valor *cut-off* en la semiquantificació per a l'índex Ratio T/N de la PET amb ^{11}C -metionina en la gradació, en l'agressivitat tumoral en gliomes i en la supervivència.

Descriure les troballes de la PET amb ^{11}C -metionina en gliomes en el diagnòstic inicial o en la recurrència.

Descriure i comparar la interacció entre la PET amb ^{11}C -metionina i els factors pronòstic ja establerts. Estudi univariant i multivariant de supervivència de diferents factors pronòstic incloent la PET.

Descriure les indicacions en la utilització de la PET amb ^{11}C -metionina en el maneig terapèutic i en el seguiment en pacients diagnosticats de gliomes.

4. METODOLOGIA

4.1. POBLACIÓ D'ESTUDI

S'ha realitzat un estudi retrospectiu de 38 pacients d'un total de 43 pacients adults amb sospita clínica i radiològica de gliomes que es van remetre al Centre d'Investigació Molecular PET, ubicat al Parc de Recerca Biomèdic de Barcelona (PRBB) entre desembre de 2007 i juliol de 2011, per a la valoració diagnòstica o de seguiment de tumors cerebrals malignes d'estirp glial o gliomes.

PRBB, vegeu: http://www20.gencat.cat/docs/economia/ecocat/arxius/NE-97-98_C_Cami_Fickert.pdf

Els criteris d'inclusió de l'estudi van ser:

- **Diagnòstic inicial de glioma:** Pacients amb sospita clínica i per RM de glioma i que per indicació de Comitè de neurooncologia hospitalari es sol·licités la realització de la PET amb metionina.
- **Sospita de recurrència o progressió tumoral de glioma:** Pacients diagnosticats de glioma i que en el seguiment es sol·licités la realització de la PET amb metionina per avaluar la presència o no de viabilitat tumoral; recurrència o restes tumorals en progressió *versus* canvis post-tractament o radionecrosi, prèvia indicació de Comitè de neurooncologia hospitalari.

En ambdós casos es disposava de les dades de la RM, de l'estudi anatomo-patològic i del seguiment clínic o *follow-up* als 3-5 anys de la realització de la prova PET, data del tancament de l'estudi o bé fins a la data de l'èxitus.

Es van incloure les següents dades:

- PET amb 11C-metionina
- RM
- Estudi anatomo-patològic
- Seguiment clínic o *follow-up* als 3-5 anys o bé fins a l'èxitus.

Els criteris d'exclusió de l'estudi van ser els següents:

- La no disponibilitat de les dades de la PET amb metionina per a una correcta valoració.
- La no disponibilitat de les dades de la RM ni del seguiment clínic.
- La no disponibilitat de mostra histològica tumoral suficient en el cas de comparació de la PET amb l'estudi anatomo-patològic.
- Pacients menors als 18 anys.
- Pacients en els que es va sol·licitar la PET dins d'un assaig clínic o beca específica.
- Pacients en que se sol·licités la PET per a estudi de M1 per un altre tumor primari, no cerebral, i en aquells pacients amb diagnòstic de tumor primari cerebral no glial.
- Pacients que es van deixar de seguir a l' inici.

D'un total de 55 pacients estudiats consecutivament amb diagnòstic de sospita de glioma, en diagnòstic inicial o bé de recurrència tumoral, finalment es van incloure 43 pacients en el que s'havia realitzat PET amb 11C-metionina. La resta es va descartar perquè no complien els criteris d'exclusió. D'aquests 43, 38 disposaven de PET amb 11C-metionina, estudi anatomo-patològic, RM i seguiment als 3-5 anys. En 4 casos no es disposava de l'estudi anatomo-patològic ja que la PET va ser negativa i únicament es va seguir per RM i clínic. En un cas el resultat de la histopatologia fou de gliosi.

Dels 43 pacients inclosos, 37 van ser avaluats pel Comitè de neurooncologia de l'Hospital del Mar, del Parc de Salut Mar de Barcelona, i els altres 6 van ser avaluats pels comitès hospitalaris de l'Hospital Germans Trias i Pujol, Hospital de Bellvitge, Hospital Sant Joan de Reus i Mútua de Terrassa. El comitè va donar el vist-i-plau per a la realització de la prova com a ús compassiu segons estableix la normativa 'Condiciones de uso autorizadas temporalmente para L-Metionina' de la agencia española de medicamentos y productos sanitarios 2010 (veure annexes) i en funció de la normativa internacional [204] [205].

Es van registrar les següents dades clíniques i quirúrgiques:

- Edat i sexe.
- Troballes de la PET amb ^{11}C -metionina; visual i semiquantitativa.
- Troballes de la RM i seguiment per RM.
- Característiques del tumor: mida (en axial, no per volumetria).
- Troballes anatomo-patològiques segons la classificació WHO, grau, Ki67%, mutació IDH-1, metilació MGMT i LOH 1p/19q. Marcadors d'immunohistoquímica en cas de disposar de mostra: CD34, OLIG2, CD44, p53, WT1, p16, EGFR, β catenina.
- Variables quirúrgiques:
 - o Tipus d'intervenció: biòpsia dirigida per neuronavegador, exèresi total, subtotal o parcial. Nombre d'intervencions.
 - o Cirurgia amb 5-ALA.
 - o Cirurgia amb carmustina (implants de Gliadel®).
- Tractament adjuvant: quimioteràpia, radioteràpia, protocol Stupp, no tractament.
- Factors pronòstics del pacient (taula 11).
- Seguiment clínic, defunció i data de la mateixa o bé data de l'última visita (fins a tancament de l'estudi).
- Dades clíniques: simptomatologia neurològica de debut, post-cirurgia i psiquiàtrica associada.
- Valoració d'afectació tumoral a possibles àrees eloqüents. En els casos susceptibles d'afectació d'àrees eloqüents s'inclou si es va realitzar la cirurgia amb mapatge o *mapping* EEG.

4.2. PROCEDIMENTS

La síntesi de ^{11}C -metionina:

Per a la síntesi de la molècula de ^{11}C -MET es va utilitzar un equip ciclotró IBA Molecular Cyclone 18/9 (figura 14) ubicat al centre CIM del PRBB. 1. Producció del radionúclid ^{11}C i 2. Síntesi de la ^{11}C -MET en el mòdul de síntesi del radiofàrmac. La producció i control de qualitat del mateix es va realitzar seguint els protocols normalitzats de treball o PNT (veure annexes) del centre i les

guies internacionals de bones pràctiques clíniques de manufactura (GMP). La puresa radioquímica fou > 95 %.

La PET amb metionina:

Els estudis es van realitzar en un tomògraf PET Siemens ECAT EXACT HR+ en n = 41 pacients (CTI/Siemens, Knoxville) (figura 16) o bé en un tomògraf PET-CT GE Discovery ST en n = 2 pacients (GE, Milwaukee, USA), ubicats al centre CIM del PRBB.

El protocol d'adquisició de les imatges en tots els pacients va ser el següent:

- Explicació de la prova al pacient: informació bàsica sobre el procediment de l'exploració, duració i preparació necessària.
- En cas de pacients en edat fèrtil, descartar la possibilitat de gestació. En cas de lactància interrupció de la mateixa durant les 12 hores següents a la prova.
- Dejuni 4-6 hores [206].
- Canalització de via perifèrica amb sèrum fisiològic (5-10 ml) abans i després de la injecció de la ^{11}C -MET per assegurar una correcta administració.
- Bona hidratació i micció previ inici de la prova.
- Dosi administrada segons el pes a 4 MBq/Kg de pes (màxim 250 MBq o 6,75 mCi).
- Injecció a la llitera del tomògraf en repòs, decúbit supí i col·locació i fixació del cap al sistema.

Adquisició de les imatges: Matriu de 128x128, *slice* 4 mm, vòxel 1.95x1.95 mm, un sol camp o "FOV: *field of view*" d'exploració.

- Imatges de transmissió: amb fonts de germani-68. Per a la correcció d'atenuació dels teixits profunds. Abans de la injecció de ^{11}C -MET, de 10 minuts de duració. Pels dos pacients que es va relitzar l'estudi

amb l'equip híbrid PET-TC es van usar les imatges TC per a la correcció d'atenuació.

- Imatges d'emissió: Posteriorment a l'estudi de transmissió, injecció del radiofàrmac i inici d'adquisició als 20 minuts de la injecció [206]. Estudi dinàmic en mode 3 D (5 *frames*, duració total de 35 minuts).

La valoració visual i semiquantitativa de les imatges s'explica en l'apartat d'anàlisi de les imatges.

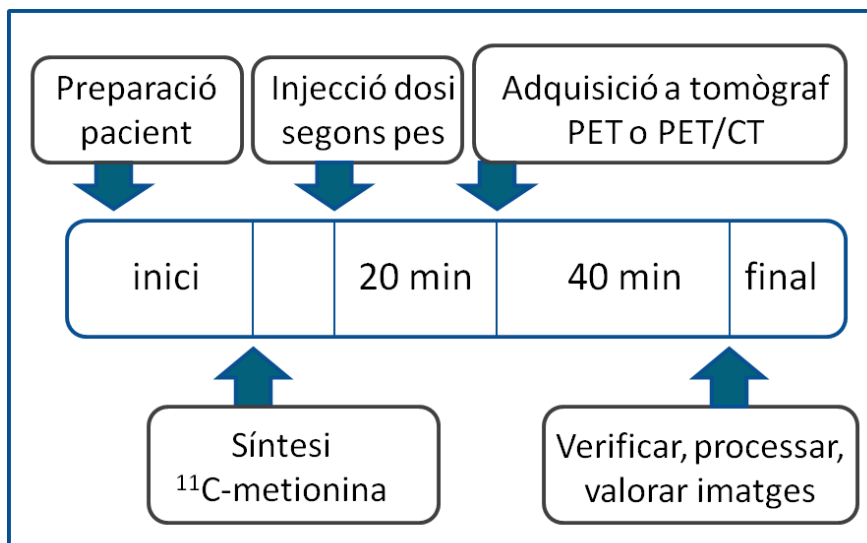


Figura 26. Cronograma PET 11C-metionina, segons protocol [83].

La RM:

Els estudis en 37 pacients es van realitzar en un equip RM Philips Achieva 3 Tesla (figura 7) ubicada al Hospital del Mar de Barcelona, diagnòstic per la imatge. Per a la realització de les proves es va realitzar el protocol de tumor cerebral que inclou les següents seqüències i processat:

- T1 SE sagital: 3 mm, TE 11.51, TR 1000.
- Difusió: 5 mm, TE 67.95, TR 1000, factor b 1000.
- T2 FLAIR axial: 5 mm, TE 120, TR 11000.
- T2 GE axial: 5 mm, TE 15, TR 500.
- T1 SE axial: 5 mm, TE 10, TR 600.
- T2 FSE axial: 5 mm, TE 80, TR 3000.

- Perfusió T2 EPI: 5 mm, TE 30, TR 500.
- T13D post-contrast: 1 mm, TE 50, TR 500.
- T1 SE post-contrast: 5 mm, TE 10, TR 600.
- Espectrometria o espectroscòpia multivoxel 3D: TE 144, TR 1000.

En 6 dels 43 pacients la RM no es va realitzar al mateix centre sinó en centres diferents utilitzant el mateix protocol.

Valoració anatomo-patològica:

Classificació WHO 2007 [15]:

A partir de diferents talls de la mostra en parafina i tinció amb hematoxilina-eosina (H&E) es procedia a la valoració de la lesió tumoral.

Es varen classificar els gliomes segons la WHO 2007 en: grau II, III i IV en funció de les següents característiques:

Troballes: atípies nuclears, proliferació microvascular, mitosi i necrosi.

- Si existien una o dos troballes, excepte necrosi, es classificava de grau II.
- Si existien tres troballes, excepte necrosi, es classificava de grau III.
- En cas de presència de necrosi i almenys alguna de les altres troballes es classificava de grau IV.

Índex Ki67% / MIB-1:

De la mostra estudiada en seccions, fixada amb formalina i en bloc de parafina, es va calcular l'índex de marcatge del Ki67/MIB-1 (Ki67 LI %) segons el mètode estàndard [34]. L'estimació del percentatge de Ki67/MIB-1 es va calcular per comptatge de cèl·lules amb tinció positiva (nuclis en mitosi) respecte el total de cèl·lules de la mostra.

Estudi molecular IDH-1:

L'estudi de mutacions del gen IDH-1 es va realitzar seguint el següent protocol: Extracció de l'ADN de la mostra, amplificació mitjançant la tècnica PCR que flanquegen el codó R132, seqüenciació directa amb *chain termination* marcats

amb BigDye v.3.1, i anàlisi per electroforesi capil·lar en un aparell de seqüenciació automàtic Applied Biosystems 3500 Dx. Es donava un resultat positiu o negatiu per a la mutació IDH-1.

Estudi molecular MGMT:

L'estudi de metilació del promotor del gen MGMT es va realitzar segons el protocol descrit a continuació: Extracció de l'ADN de la mostra, tractada amb bisulfit sòdic i posterior amplificació mitjançant la tècnica PCR utilitzant oligonucleòtids específics de l'estat de metilació del promotor del gen MGMT, i anàlisi del producte amplificat en gel d'agarosa i confirmació de si el patró de bandes és compatible o no amb la metilació del gen MGMT. Es donava un resultat positiu o negatiu per a la metilació del promotor de la MGMT.

Estudi molecular LOH 1p/19q:

Es va realitzar l'estudi de la codeleció (LOH) de 1p/19q utilitzant la tècnica FISH per als al·lels als cromosomes 1p36 i 19q13. El resultat es va donar com a positiu només en cas de presència de deleció d'ambdós components.

La LOH 1p/19q es troba al 70-80 % dels oligodendrogliomes o en els astrocitomes amb component oligodendroglià i únicament en el 10 % dels astrocitomes restant [20]. Per aquest motiu només es va realitzar la tècnica en els pacients seleccionats segons aquests criteris.

Altres marcadors

En 19 pacients s'ha analitzat els següents marcadors per immunohistoquímica: β catenina, CD34, CD44, OLIG2, p53, WT1, p16, EGFR. S'ha estudiat per segons la intensitat de la tinció en una dues o tres creus (+, ++, +++), o bé segons el percentatge respecte el global de la mostra. En EGFR s'expressa en funció del càlcul de la tinció (+, ++, +++) per el percentatge. Per a la β catenina els resultats s'expressen com a positiu o negatiu segons la presència o no de tinció.

4.3. MOSTRA DE PACIENTS PER A CADA VARIABLE D'ESTUDI:

- L'estudi anatomopatològic del grau és va realitzar en 39 pacients. En 4 no es va realitzar perquè el resultat de la PET fou negatiu i clínicament no es va considerar biopsiar-ho.
- Dels 39 pacients, 38 van ser diagnosticats de glioma.
- La valoració visual de la PET amb metionina i el càlcul de la Ratio T/N^{MCU} es va realitzar en tots els pacients. La Ratio T/N^{CA} es va realitzar en tots excepte en dos casos en que les imatges en format DICOM del disc òptic, on s'havien gravat els estudis, no estaven disponibles.
- Dels 38 pacients es disposen de dades de l'estudi molecular sobre la mutació IDH-1 en 29 pacients, i de l'estudi de la metilació MGMT en 28 pacients.
- L'estudi molecular de la LOH 1p/19q es va realitzar en aquells tumors oligodendroglials o que per immunohistoquímica presentaven OLIG2, en un total de 13 pacients.
- Dels 38 pacients, 6 es van excloure de la valoració per al grau i Ki67% ja que el temps entre la PET i l'anatomia patològica era superior als 12 mesos. A la resta de pacients, el temps entre la PET i l'anatomia patològica era de < 3 setmanes en 16 pacients, de entre 3 setmanes i 2 mesos en 9 pacients, i entre 3-5 mesos en 6 pacients. En un pacient l'interval fou de 10 mesos, un astrocitoma de grau II estable clínic i RM durant > 12 mesos des de la PET.
- En 32 pacients es va comparar el grau histològic i en 31 l'índex Ki67% amb la PET amb metionina (en un dels pacients no es disposava del valor del Ki67).
- Dels 32 pacients, es va estudiar el perfil immunohistoquímic que incloïa β catenina, CD34, CD44, OLIG2, p53, WT1, p16, EGFR en 19 pacients. De la resta de pacients no es disposava de mostra histològica del tumor.
- La valoració de l'índex CBV i de l'espectrometria en la RM es va realitzar en 22 i en 20 pacients, respectivament. Dels altres 18 pacients (del total de 38 diagnosticats de glioma) no es disposava del resultat. L'interval de temps entre la RM i la PET fou < 1 mes (rang 2-29 dies).

- En 16 pacients es va calcular l'índex rCBV sobre la zona de màxima captació de la PET amb metionina. En cas de més d'una àrea hipermetabòlica, en presència de multifocalitat, es va utilitzar el de major activitat.
- La valoració de captació de contrast es va fer en 42 pacients segons el resultat de la RM inicial.
- La valoració de la supervivència es va fer en tots els pacients amb glioma segons s'explica a l'apartat 4.4 dades clíniques i seguiment.
- Es va registrar les indicacions de l'estudi i la valoració de la progressió per a tots els pacients segons la clínica i del resultat de la RM.

4.4. ANÀLISI DE LES IMATGES

Valoració visual de la PET amb metionina

Es varen valorar tots els estudis PET visualment. El resultat es classificava de positiu; captació incrementada del traçador respecte la resta d'encèfal, o negatiu en cas d'absència de captació anòmala. En cas de positivitat es va donar com a lleu o intens.

Valoració semiquantitativa de la PET

La valoració semiquantitativa de la PET va incloure els següents paràmetres:

- SUVmax de la lesió en estudi (*maximum standard uptake value* o valor màxim de captació estàndard).
- Índex o *ratio* $T/N^{HS/MCU}$ o Ratio T/N^{MCU} (HS: *hot spot*. MCU: *mean cortical uptake*), amb píxels sobre l'àrea d'activitat màxima de la lesió respecte la mitja d'activitat *average* amb 4-6 ROIs (ROI: *region of interest*) sobre regions corticals sanes, segons mètode [131] utilitzant el programa software *Quantification Brain EM* (Siemens, figura 18).
- Índex o *ratio* $T/N^{LA/CA}$ o Ratio T/N^{CA} (LA: *lesion activity*. CA: *contralateral activity*), amb una ROI sobre la lesió i calculant el SUVmax respecte la mitja d'activitat *average* amb ROI al còrtex contralateral evitant la seva col·locació sobre ventricles i substància blanca, segons mètode descrit per [88] [97] (figura 18). Aquest càlcul es va realitzar amb el software Xeleris (GE, USA).

- Es va utilitzar l'índex Ratio T/N com a referència per classificar les lesions en baix (valor o grau 1) o alt grau (valor o grau 2).
- Per a la valoració quantitativa es van calcular els índexs Ratio T/N^{MCU} i T/N^{CA} . En cas trobar més d'una àrea de captació de metionina es va considerar com a valor de la Ratio T/N l'àrea més hipermetabòlica, amb el valor més alt de Ratio T/N.
- Per a la relació entre la Ratio T/N de la PET i la resta de variables en què es relaciona; anatomia patològica, estudi molecular i immunohistoquímica, RM, i per a la valoració de la supervivència o com a factor pronòstic s'ha usat la Ratio T/N^{MCU} .

Valoració de la RM, contrast, i càlcul d'índexs de perfusió i d'espectroscòpia

- La valoració visual i la quantificació dels paràmetres de perfusió i d'espectroscòpia, rCBV i l'índex Cho/NAA, la va realitzar un neuroradiòleg. Es varen calcular els índexs (*index map*) descrits sobre la lesió tumoral en estudi.
- RM Contrast (en n = 42 pacients): es va classificar en absència de captació, captació lleu, o intensa i/o heterogènia segons informe, corresponent a la RM inicial.
- Perfusió (en n = 22 pacients): Es va classificar segons la valoració visual i l'índex rCBV. En $rCBV > 2$ es considerava elevada (*high*), en $rCBV < 2$ i visualment positiva baixa (*low*), i en cas de visualment negativa com a prova negativa.
- Espectrometria (en n = 20 pacients): Segons el registre del pic de colina i l'índex Ratio Cho/Naa, es va classificar de negatiu o positiu; i en cas positiu augment lleu o intens.

Valoració conjunta RM amb PET

Es va realitzar la valoració conjunta de la lesió segons l'activitat metabòlica de la PET i la perfusió de la RM. Es va valorar les imatges conjuntes de la PET i de la RM, en n = 16 pacients per a la perfusió. En la resta de pacients no es va realitzar el coregistre en no disposar de les dades en format DICOM per a la seva valoració o bé perquè es trobaven malmeses o bé perquè l'estudi RM

s'havia realitzat en un altre centre i no disposàvem d'elles. Els estudis realitzats a cada pacient valorat, PET i RM, s'han revisat conjuntament utilitzant un sistema automàtic PACS (*Picture Archiving and Communication System*) per a la seva valoració anatòmica conjunta (figura 27), d'acord amb el mètode utilitzat en altres treballs [76]. L' estudi de perfusió en 16 pacients s'ha calculat segons l'índex rCBV al vòxel corresponent a l'àrea de màxima activitat metabòlica de la PET amb metionina, comparant les imatges al visor del PACS i calculant de nou la rCBV al *software* de processat de la RM (Extended MR Workspace, Philips Healthcare, The Netherlands).

Neuronavegador i valoració quirúrgica

Les imatges de la RM i de la PET amb metionina en els que es realitzava biòpsia dirigida de la lesió tumoral en estudi es transferien en format DICOM a un neuronavegador Stealthstation® Medtronic (Minneapolis, USA) per a la seva utilització com a guia durant l'acte quirúrgic (en 5 pacients).

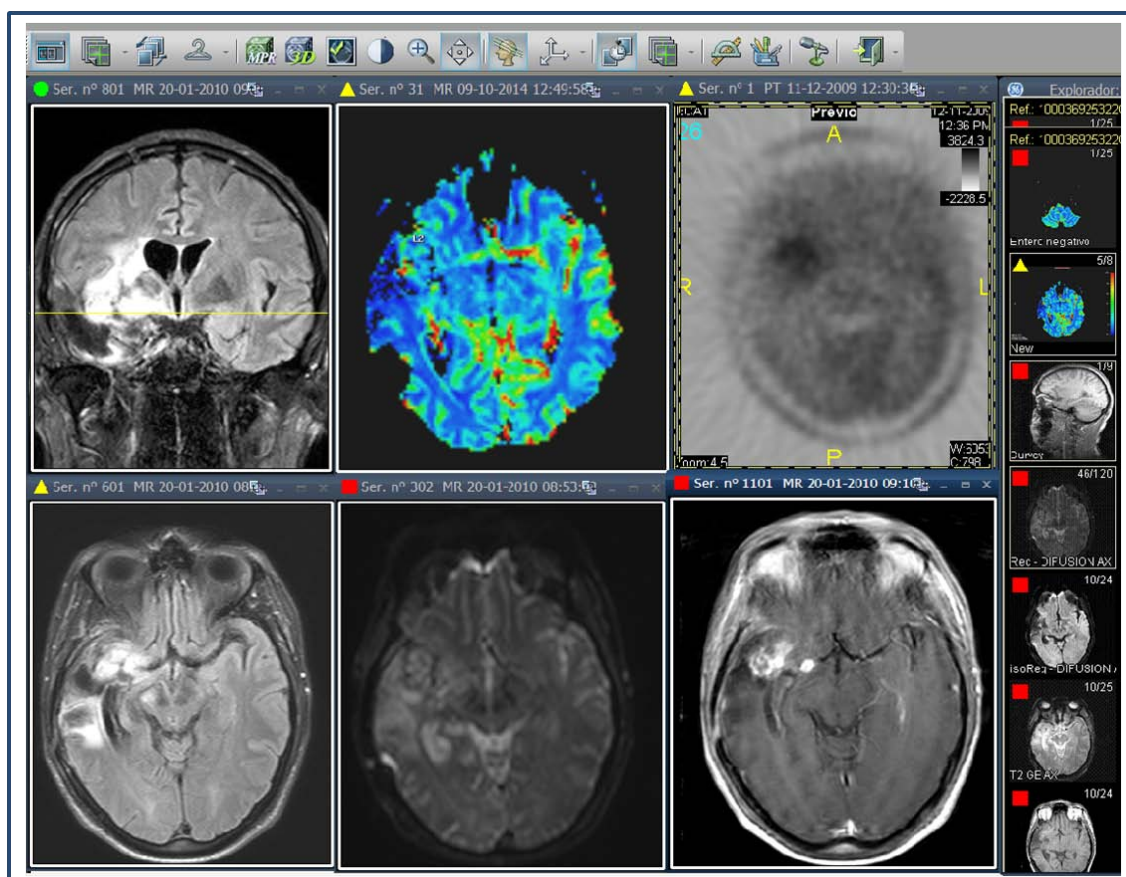


Figura 27. Anàlisi i coregistre d'imatges PET i RM (PACS).

4.5. DADES CLÍNiques I SEGUIMENT

Per a la valoració de les dades clíniques es va utilitzar el seguiment del curs clínic en la història de cada pacient i la valoració del comitè de neurooncologia del centre.

Es van registrar les dades comentades en els apartats anteriors i descrites en la taula 13.

Clinical data summary

Age at PET diagnosis (years)

Gender

Exitus and follow-up (months)

Tumor characteristics

Histopathology, grade, molecular and immunochemistry findings

Lesion localization

Treatment including surgery, radiotherapy, chemotherapy

MRI at the moment of PET and last MRI information

¹¹C-methionine PET findings

Reason of PET: Diagnostic *versus* Recurrence or Progression disease

Initial symptoms

Post-surgery symptoms or complications

Psychiatric symptoms

Karnofsky Performance Status (KPS) previously at surgery

Clinical status at the moment of closing study date

Taula 13. Variables clíniques de l'estudi.

- Edat al moment de la PET.
- Motiu per a la realització de la PET: prova diagnòstica ja sigui per a la planificació quirúrgica o de biòpsia, per valorar el grau tumoral o descartar lesió tumoral, i per a prova de seguiment; descartar recurrència o progressió.
- Gènere; masculí o femení.
- Èxitus o seguiment al tancament de l'estudi. Es van considerar valors censurats (*censored cs*) aquells del que no es disposen de dades clíniques abans del tancament de l'estudi. En concret 9 pacients; un d'ells es va perdre un any abans, 6 amb seguiment fins

a 6 mesos abans del tancament, i dos d'ells amb seguiment fins a un mes abans.

- Per al *follow-up* es va calcular els mesos de seguiment des del moment del diagnòstic PET i fins a la data del tancament de l'estudi o bé pel registre de la data de la defunció del pacient.
- Clínica i proves d'imatge que es disposaven al tancament de l'estudi en pacients vius o al moment de l'èxitus.
- Característiques del tumor: mida (en cm), creuament o no de la línia mitja, localització, multifocalitat, afectació o no d'àrea eloqüent (presumptament segons Berger et al. [165]).
- Troballes anatomopatològiques, índex de proliferació cel·lular (Ki67-MIB1 LI %), moleculars i estudi immunohistoquímic.
- Proves d'imatge: PET i RM (apartat 4.4).
- Simptomatologia inicial: Simptomatologia registrada al moment del diagnòstic.
- Cirurgia: Es va registrar la cirurgia segons resecció total, subtotal, parcial o biòpsia segons informe quirúrgic.
- Tractament adjuvant: Es va registrar el tractament amb carmustina, bevacizumab, protocol Stupp per als glioblastomes, altres protocols de quimioteràpia, i radioteràpia; 54 Gy en els gliomes de baix grau i 60 Gy en els gliomes d'alt grau, segons protocols terapèutics.
- Índex de KPS previ a la cirurgia.
- Es van considerar complicacions post-quirúrgiques :
Greus: hemiparèsia, alteració del llenguatge, parèsia facial, crisi epilèptica, meningitis, hipoestèsia, afàsia, fístula LCR
Lleus: Diplòpia, cefalea, lleu parèsia
Sense complicacions: Absència de simptomatologia
- Simptomatologia psiquiàtrica: Els pacients evaluats (31 pacients) es van classificar en dos grups segons la CIM-9-MC (ICD-9-CM *International Classification of Diseases 9th revision Clinical Modification*): (a) els que no es van diagnosticar (b) els que es van diagnosticar en: trastorns de l'espectre afectiu (depressió i ansietat), trastorn orgànic de la personalitat, trastorn psicòtic orgànic.

4.6. ANÀLISI ESTADÍSTICA

Per a l'anàlisi estadística de les dades de l'estudi s'ha utilitzat el programa SPSS *version* 18 (SPSS Inc., Chicago, Illinois).

1.- Estadística descriptiva: Descripció global de la sèrie segons les variables estudiades: edat, sexe, tipus de prova (diagnòstica o recurrència), grau tumoral, estudi molecular i immunohistoquímica, Ki67, localització del tumor, multifocalitat, afectació o creuament de la línia mitja, mida del tumor, KPS, tipus de cirurgia (al moment de la PET), afectació d'àrea eloqüent, ús de mapping, ús de 5-ALA, ús d'implants de carmustina, simptomatologia post-quirúrgica (complicacions), tractament adjuvant, ús de BEV complementària, troballes RM i seguiment, temps de seguiment (mesos) des de la PET fins a l'èxitus o tancament de l'estudi, èxitus o no, simptomatologia inicial i psiquiàtrica associada. Resultats de les variables discretes en nombre i percentatge (%) i el de les variables continues en mitjana \pm DE i rang mínim-màxim (*mean \pm SD, range*).

2.- Correlació de Pearson: Ratio T/N^{MCU} i Ratio T/N^{CA} (n = 41 pacients): Càlcul de coeficient de correlació r entre les dues variables. Valors de p < 0,05 es consideren com a estadísticament significatius.

3.- Relació entre la PET (Ratio T/N^{MCU}) i el grau tumoral (*Grade*) (n =32 pacients): Distribució per classes o Box Plots segons la Ratio T/N^{MCU} i càlcul de la mitjana \pm DE per a cada classe en dos gràfics: Primer gràfic: classes: no glioma, baix grau i alt grau. Segon gràfic: classes: no glioma, glioma grau II, grau III i grau IV.

4.- Corba ROC Ratio T/N^{MCU}, en el diagnòstic diferencial entre glioma de baix i alt grau (n = 32 pacients, s'exclouen els 5 pacients sense glioma i els 6 que no coincideixen en el temps PET i resultat de l'anatomia patològica): Càlcul de l'àrea sota la corba, error estàndard i límit inferior-superior. Càlcul de la sensibilitat i especificitat de la prova per a cada valor assignat de punt de tall o *cut-off* de la Ratio T/N^{MCU}.

5.- Correlació de Pearson: Variables Ratio T/N^{MCU} i Ki67/MIB-1 (n = 31 pacients): Càlcul de coeficient de correlació r entre les dues variables. Valors de p < 0,05 es consideren com a estadísticament significatius.

6.- Taules de contingència entre les troballes moleculars (IDH-1 *mutation*, MGMT *methylation*) i el grau tumoral definit per la PET segons la Ratio T/N (*Grade PET*): *Chi-Square test*. *Fisher exact test* per a una taula de contingència 2x2.

7.- Perfil immunohistoquímic (n = 19 pacients). Relació entre la PET Ratio T/N i les troballes immunohistoquímiques: CD34, p53, p16 i WT1. Distribució per classes o Box Plot segons la Ratio T/N^{MCU} i cada una de les variables de la immunohistoquímica descrites. Càlcul de la mitjana ± DE per a cada classe. *Mann-Whitney U test*. Valors de p < 0,05 es consideren com a estadísticament significatius.

Relació entre la negativitat o positivitat de la β catenina i l'expressió de CD34. Distribució per classes o Box Plot. *Mann-Whitney U test*. Valors de p < 0,05 es consideren com a estadísticament significatius.

8.- Taules de contingència entre les troballes de la RM (Ratio Cho/Naa i CBV ratio) i el grau tumoral definit per la PET (*Grade PET*): *Chi-Square test*. *Fisher exact test* per a una taula de contingència 2x2.

9.- Correlació de Pearson: Variables Ratio T/N^{MCU} i rCBV (n = 16 pacients): Càlcul de coeficient de correlació r entre les dues variables. Valors de p < 0,05 es consideren com a estadísticament significatius.

10.- Corbes de supervivència de Kaplan-Meier. *Log-Rank Mantel Cox*. *Chi-Square test*. Estudi de la supervivència global i per a les següents variables: Edat, mida del tumor, KPS prequirúrgic, cirurgia (tipus de resecció), complicacions quirúrgiques, creuament de la línia mitja, segons indicació de la prova PET (diagnòstic o recurrència), grau tumoral, Ki67-MIB1 LI, estatus mutacional IDH-1, estatus metilació MGMT, Ratio T/N^{MCU} de la PET MET, captació de contrast a la RM, ús de 5-ALA, ús de *mapping*.

El temps de supervivència s'ha definit com el temps entre la PET i el tancament de l'estudi o l'èxit del pacient. Per a l'anàlisi univariant de cada variable descrita prèviament s'ha usat el mètode de Kaplan-Meier. El valor pronòstic de cada una d'aquestes variables s'ha analitzat amb el test de probabilitat *Log-Rank Mantel Cox* i validat segons el *Chi-Square test*. S'ha calculat la mitja \pm DE, mediana \pm DE i l'interval de confiança al 95 %. Valors de $p < 0,05$ es consideren com a estadísticament significatius.

11.- Anàlisi multivariant per als factors pronòstic estudiats segons la supervivència. *Chi-Square test*. Per a l'anàlisi multivariant s'ha usat el model de Cox de risc relatiu o *Cox proportional hazard ratio model*. Valors de $p < 0,05$ es consideren com a estadísticament significatius.

4.7. CONSIDERACIONS ÈTIQUES I CONFLICTES D'INTERÈS

L'estudi ha estat avaluat pel Comitè Ètic d'Investigació Clínica del Parc de Salut Mar seguint els criteris del Codi de Bones Pràctiques Científiques (CBPC). Les dades es registren en una base sense identificació, de manera anònima. S'han seguit els criteris de la Declaració de Hèlsinki, última actualització de 2013 [205].

Els pacients inclosos en l'estudi signaren el full de consentiment informat de la prova PET segons els protocols mèdics del centre.

En aquest estudi no es declaren conflictes d'interès.

5. RESULTATS

5.1. RESULTATS GLOBALS I DESCRIPTIUS

Dels 43 pacients inclosos en l'estudi per possible glioma, en 38 es va confirmar histològicament el diagnòstic de glioma; en un d'ells per necròpsia. En un pacient estudiat en el context d'epilèpsia es va descartar el diagnòstic de glioma per biòpsia dirigida a la lesió.

- En 14 pacients dels 38 diagnosticats de glioma el motiu d'estudi va ser per valoració diagnòstica o per planificació quirúrgica o per a biòpsia. Un d'aquests 14 pacients es va estudiar per necròpsia ja que va morir abans d'iniciar tractament, per complicacions.
- En 24 pacients dels 38 el motiu d'estudi fou la valoració de recurrència o progressió tumoral.
- En un pacient el motiu d'estudi fou la valoració diagnòstica en el context d'epilèpsia i es va descartar la presència de glioma (pacient 39).
- En 4 pacients no es va realitzar estudi histològic i es va realitzar únicament seguiment clínic i per RM (pacients 40-43).

La taula 14, taula descriptiva global (*Descriptive Statistics Table*), mostra les característiques dels pacients agrupades per les següents variables:

- Edat al diagnòstic i gènere
- Les troballes de la PET amb metionina
- El grau histològic tumoral segons la classificació de la OMS (*WHO* 2007) [15] i les troballes moleculars i immunohistoquímiques
- Les característiques del tumor segons localització, multifocalitat, mida i creuament o no de la línia mitja
- L'índex de Karnofsky (KPS) previ a la cirurgia
- La cirurgia que inclou els següents paràmetres: tipus de resecció: total (*GTR*), subtotal (*NTR*), parcial (*partial*) o biòpsia (*biopsy*), afectació o no d'àrees eloqüents i en cas positiu utilització o no de mapatge (*mapping*) per a millorar la resecció, l'ús o no de 5-ALA, la

utilització o no de carmustina intraoperatòriament (Gliadel®, BCNU)
en el cas dels gliomes d'alt grau

- La simptomatologia o complicacions postquirúrgiques
- La teràpia adjuvant que inclou quimio i radioteràpia
- Les troballes de la RM
- La simptomatologia inicial al diagnòstic; neurològica i psiquiàtrica.
- La mortalitat i el seguiment clínic i per RM.

Descriptive Statistics Table				
Characteristic		Total no.	%	Mean ± Std Deviation, Range
Age at diagnosis	< 60 years	30 p.	81.4	49.6 ± 14.69 Range 22 to 78
	≥ 60 years	13 p.	18.6	
Gender	Male	29 p.	67.4	
	Female	14 p.	32.6	
PET 11C-MET	SUVmax	43 p.		3.7 ± 2.9 Range 0.8-13.66
	Ratio T/N _{MCU}	43 p.		2.25 ± 1.04 Range 0.78-5.27
	Ratio T/N _{CA}	41 p.		2.14 ± 0.93 Range 0.8-5
Diagnostic/Recurrence	Diagnostic (D)	19 p.	44.2	(14 p. glioma & 5 p. no glioma)
	Recurrence (R)	24 p.	55.8	
Exitus	Yes	29 p.	67.4	(5 p. without glioma)
	No	14 p.	32.6	
Follow-up	until dead or closing study			28.3 months Range 1.28-73.5
WHO classification				
LOW grade glioma	Grade II	10 p.	23.3	
Present component				
dendroglial (oligo)	OA II, OD II	4 out of 10 p.		
HIGH grade gl. (28 p)	Grade III	5 p.	11.6	
	Grade IV (GBM)	23 p.	53.5	
NO glioma	5 p. (1 p. glyosis finding by biopsy in epilepsy)			
Molecular findings	Ki67/ MIB-1 %	31 p.		13.96 ± 9.53 Range 1-32
	IDH-1 mutation	13 out of 29 p.		
	MGMT methylation	10 out of 28 p.		
	LOH 1p19q	5 out of 13 p.		
Immunocytochemistry	OLIG2 %	19 p.		40.21 ± 19.95 Range 2-80
	CD34 vessels %	18 p.		39.5 ± 20.75 Range 2-82
	CD44 %	19 p.		58.68 ± 29.52 Range 5-100
	p53	19 p.		6.53 ± 14.3 Range 0 (neg)-62
	p16	18 p.		12.67 ± 22.5 Range 0 (neg)-90
	WT1	19 p.		26.63 ± 31.8 Range 0 (neg)-100
	β catenin	19 p. (Neg 12 p. & Pos 7 p)		
EGFR	19 p.			

Taula 14. Taula descriptiva global (1/2). OA *Oligoastrocytoma*, OD *Oligodendrogloma*. GBM *Glioblastoma*, p = patient

Descriptive Statistics Table				
Characteristic		Total no.	%	Mean ± Std Deviation Range
Tumor Site	Left Cortex	20 p.		
	Right Cortex	19 p.		
	Midbrain/Pons	4 p.	(2 p without glioma)	
Multifocality	Yes	9 p.	23.7	
	No	29 p.	76.3	
Middle line affected	Yes	10 p.	26.3	
	No	28 p.	73.7	
Size (cm)	< 5	22 p.	57.8	4.63 ± 2.09 Range 1.5-8
	≥ 5 or diffuse	16 p.	42.2	
KPS (presurgery)	≤ 70	7 p.	18.4	84.8 ± 9.8 Range 60-100
	> 70	31 p.	81.6	
Surgery				
Extent of resection	GTR	12 p.	31.58	
	NTR	16 p.	42.1	
	Partial	4 p.	10.5	
	Biopsy	6 p. (3 p. Neuronavigation & PET)		
Eloquent area	Yes	24 p.	55.8	Mapping in 14 out of 24 p. (58.3 %)
	No	14 p.	32.6	
Post-surgery sympt	Yes	25 p.	65.8	
	No	14 p.	34.2	
5-ALA (in HG)	Yes	10 p.	23.3	(5-ALA indicated in 28 p)
	No	18 p.	65.1	
Carmustine (BCNU) <i>In HG gliomas</i>	Yes	12 out of 28 p.	42.85	(BCNU indicated in 28 p)
	No	16 out of 28 p.	57.15	
Adjuvant Therapy <i>In HG gliomas</i>	Stupp (GBM)	18 out of 23 p.		
	RT	34 p.	(54 Gy in LG & 60 Gy in HG)	
	CH	29 p.		
	No treatment	6 p.	(4 p. without glioma)	
	Adding BEV	9 out of 28 p.		
MRI				
	CE (diagnosis)	High CE: 17 out of 42 p.		
	Perfusion (rCBV)	High perfusión: 15 out of 22 p.		
	Spectroscopy (Cho/Naa)	Pos: 17 out of 20 p.		
Initial symptoms	Seizure	27 out of 43 p.	62.8	
Psychiatric symptoms <i>(according ICD-9-CM)</i>	Yes	10 p out of 31 p.	32.25	
	No	21 p out of 31 p.	67.75	

Taula 14. Taula descriptiva global (2/2). *GTR: Gross total resection. NTR: Near total resection. CH: chemotherapy. BEV: Bevacizumab. CE: Contrast enhancement at diagnosis. ICD-9-CM: International Classification of Diseases 9th revision Clinical Modification. HG: High grade. LG: Low grade. Pos: positive. GBM: Glioblastoma.*

La taula 15 mostra els pacients de la sèrie segons les característiques:

- Edat i sexe
- Troballes PET, característiques del glioma, grau tumoral, histologia, Ki67, troballes de l'estudi molecular
- Indicació: diagnòstic i recurrència / progressió
- Localització, mida, multifocalitat, KPS prequirúrgic, tipus de cirurgia, complicacions, ús de tècnica 5-ALA o d'implants de carmustina (BCNU), afectació d'àrea eloqüent i mapatge (*mapping*)
- Tractament adjuvant (quimioteràpia, radioteràpia)

Taula 15. Pacients: Edat i sexe, troballes PET, característiques del tumor, perfil molecular i tractament. Pacient (*patient*). Sexe (*sex*): M = masculí (male), F = femení (female). Edat (*age*) en anys al moment de la prova PET. Paràmetres de la PET amb ¹¹C-metionina: SUVmax (activitat SUV màxima) *dot* = dipòsit focal molt lleu (pacient 38), índexs de quantificació RatioT/NMCU (Ratio T/N^{MCU}) i RatioT/N^{CA} (Ratio T/NCA), i Grau del tumor segons el resultat de la PET (*Grade MET*), neg = prova negativa segons valoració visual de la PET. Localització (*Localization*): F = frontal, T = temporal, P = parietal, FT = frontotemporal, FP = frontoparietal, PO = parietooccipital, TO = temporooccipital. Resultat anatomia patològica (*pathology*): A = astrocitoma, OA = oligoastrocitoma, OD = oligodendroglioma, AA = astrocitoma anaplàstic, GBM = glioblastoma, GBM2 = Glioblastoma secundari, / = patró mixte, ► = canvi de grau (pacient 35), II^α = grau tumoral II al moment actual de la PET, n.b^β = àrea tumoral no biopsiada, GBM^δ i AII^δ = anatomia patològica al moment del diagnòstic (> 12 mesos abans de la PET). Indicació de la prova D or R: D = prova diagnòstica, R = valoració de recurrència o progressió tumoral. D^β = biòpsia dirigida per PET. D[†] = per a valorar grau tumoral. D[‡] = per a planificació quirúrgica. D[§] = per a valorar tumor glial *versus* M1, o bé absència de tumor. P.d^p = diagnòstic clínic i per RM probable (*probable diagnosis*). Ki67: % de Ki67-MIB-1. IDH-1: presència o no de mutació IDH1. LOH 1p/19q: presència o no de codeleció de 1p/19q. MGMT: presència o no de metilació MGMT. KPSpre = Índex de Karnofsky prequirúrgic (*presurgery Karnofsky performance status scale*). Resecció tumoral (*resection*): NTR = *near total resection* o resecció subtotal, GTR = *gross total resection* o resecció total, parcial (*partial*), biòpsia (*biopsy*). N. Surg = nombre d'intervencions quirúrgiques. Midline = creuament o no de la línia mitja. Size (cm) = mida tumoral no volumètrica, en cm, no measure = no mesurable. 5-ALA = ús o no de 5-ALA en la intervenció. BCNU = ús o no d'implants quirúrgics amb carmustina en la intervenció. Eloquent/mapping = Afectació o no d'àrea eloqüent pel tumor, i en cas afirmatiu mapatge o no. Post-surg symptoms = complicacions postquirúrgiques. BEV = ús de bevacizumab o no com a teràpia adjuvant. Teràpia adjuvant principal (*Adjuvant therapy*): Stupp = protocol Stupp, Ch = quimioteràpia sens especificar (*chemotherapy*), CCNU = Lomustina, PCV = pauta de quimioteràpia combinada de procarbicina + lomustina i vincristina, TMZ = temozolamida, RT = radioteràpia, NT = sense tractament (*no treatment*). not ind = no indicat (*not indicate*). n.a = no disponible (*not available*).

Patient	Sex/Age	SUVmax	Ratio T/NMCU	Ratio T/NCA	GradeMET	Localization	Multifocal	Pathology	Grade	Ki67	IDH-1	LOH 1p/19q	MGMT
1	F/56	7.59 / 13.66	2.93 / 5.27	n.a	2	Left P + Left ant mesial T thalamus	yes	GBM	4	20%	n.a	n.a	n.a
2	F/51	9.8	5.2	4.9	2	Right FT	no	GBM	4	25%	no	no	yes
3	M/29	8.02	4.28	4.5	2	Right FT (frontal, insula)	no	GBM	4	30%	yes	yes	no
4	M/22	6.76	3.67	3.5	2	Protuberancy mesencephal Right cortex	diffuse	GBMs	4	n.a	n.a	n.a	n.a
5	M/36	5.12	3.61	3.5	2	protuberancy + cerebellum	yes	GBM	4	15%	no	no	no
6	F/46	5.9	3.59	3.6	2	Left FP	yes	A II diffuse / GBM	4	20%	n.a	n.a	n.a
7	F/55	3.51	2.95	3	2	Left P parasagittal	no	AA III	3	15%	no	no	no
8	M/62	5.55	2.89 / 2.79	2.7 / 2.6	2	Left T posteromedial + L occipital	yes	GBM	4	15%	no	no	no
9	F/65	4.2	2.7	2.4	2	Right T	diffuse	AA III	3	32%	no	no	no
10	M/49	5.65	2.65	2.6	2	Right PO	no	GBMs	4	n.a	no	no	yes
11	M/37	6.01	2.64	2.5	2	Left F	no	GBM62	4	n.a	yes	yes	no
12	M/75	2.74	2.63	2.6	2	Right FP	no	GBM	4	30%	no	no	no
13	M/69	5.15	2.54	2.5	2	Right FT basal	no	GBM	4	10%	no	no	no
14	M/63	5.73	2.54	2.4	2	Left F + Left T	yes	GBM	4	15%	n.a	n.a	n.a
15	M/45	2.08	2.5	2.45	2	Right FT / insula	no	GBM	4	10%	no	no	yes
16	M/42	3.3	2.4	2	2	Left F insula	no	A II diffuse / GBM2	4	30%	yes	no	no
17	M/67	3.6	2.35	2.4	2	Left T	no	GBM	4	15%	n.a	n.a	n.a
18	M/37	2.81	2.26	2.2	2	Right FT	no	GBM2 / OD III	4	7%	yes	yes	yes
19	M/68	2.51	2.2	2.15	2	Left TO	no	GBM	4	15%	no	no	no
20	F/59	4.01	2.21	n.a	2	Right FT insula	yes	GBMs	4	n.a	n.a	n.a	n.a
21	M/30	3	2.2 / 2	2.4	2	Left FP (deep / superf)	no	non biopsed / A II	2	n.a	no	no	no
22	F/44	2.98	2.17	2.3	2	Left T basal	no	GBM	4	20%	no	no	no
23	M/70	2.8	2.15	2	2	Right FP	no	A II diffuse / GBM	4	8%	no	no	no
24	M/63	3	2.15	1.98	2	Right PT	no	A II / AA III	3	8%	n.a	n.a	n.a
25	M/58	1.85	2.13	2.1	2	Left P subcortical	no	GBMs	4	n.a	no	no	no
26	M/51	2.85	2.1	2	2	Right PO	yes	GBM	4	15%	no	no	no
27	M/78	2.25	2.05	1.92	1	Right FT insula basal ganglia	no	A II triple negative?	2	7%	no	no	no
28	M/60	12.2	1.97	2.27	1	Cerebellum + Left F	yes	GBM	4	30%	yes	no	no
29	F/31	2.47	1.91	1.85	1	Left P posterior	no	AA II/III	3	10%	yes	yes	yes
30	F/48	2.7	1.64	1.58	1	Right PO	no	OA II	2	2%	yes	yes	yes
31	F/46	1.7	1.55	1.43	1	Left F	no	A II	2	5%	yes	yes	yes
32	F/40	1.89	1.51	1.4	1	Right T mesial	no	OD II	2	6%	yes	yes	yes
33	F/58	1.5	1.47	1.35	1	Left PO + left T	no	A II	2	2%	yes	yes	no
34	M/44	2.34	1.4	1.5	1	Right F	no	AA III	3	8%	yes	no	n.a
35	M/69	1.42	1.39	1.4	1	Right F	no	AA III ▶ IIα	3 2	1%	n.a	n.a	n.a
36	F/38	1.5	1.35	1.3	1	Left F	no	OD II	2	4%	yes	yes	yes
37	M/42	1.25	1.24	1.23	1	Left FP	no	A IIδ	2	n.a	n.a	n.a	n.a
38	F/37	1.24 (dot)	1.22	1.22	1 (neg)	Right FT	no	OD II	2	2%	yes	no	yes
39	M/45	1	1.1	1.1	neg	Right FT	no	Gliosis	neg				
40	M/27	0.9	0.9	1	neg	Tectum mesencephal		n.a	Probable diagnosis: Hamartoma				
41	M/63	0.85	0.8	0.8	neg	Protuberancy		n.a	P.dp: Encephalopathy				
42	M/34	0.86	0.8	0.8	neg	Left F precentral		n.a	P.dp: Demyelinating lesion				
43	M/24	0.8	0.75	0.8	neg	Left P		n.a	P.dp: Ganglioglioma				

Patient	Ratio MET	Pathology	D or R	KPSpre	Resection	N. surg	Midline	Size (cm)	5-ALA	BCNU	Eloquent/mapping	Post-Surg symptoms	BEV	Adjuvant therapy
1	2.93 / 5.27	GBM	R	70	NTR	1	no	> 8	no	no	no	parexia, hipoestesia	no	STUPP
2	5.2	GBM	R	70	GTR + Partial	2	yes	7.3	no	yes	yes/no	mild hemiparesia	no	STUPP
3	4.28	GBM	D+	80	NTR	1	yes	8.1	yes	no	yes/no	none	yes	STUPP
4	3.67	GBM6	R	60	Ventriculostomy 1 + necropsy	1	yes	no measure	no	no	yes/no	seizure	no	NT
5	3.61	GBM	D+	80	Biopsy	1	yes	5.5	no	no	yes/no	diplopia	no	STUPP
6	3.59	A II / GBM	R	80	Partial	2 + necropsy	no	8	no	no	no	cefalea	yes	Ch / irinotecan
7	2.95	AA III	D#	80	NTR	1	no	3.2	yes	no	yes/yes	mild hemiparesia	yes	RT/TMZ
8	2.89 / 2.79	GBM	Dβ	80	Partial	1	no	3.3	no	no	yes/no	none	no	STUPP
9	2.7	AA III	D#	80	NTR	1	no	> 7	yes	no	no	none	no	RT/TMZ
10	2.65	GBM6	R	80	GTR	1	no	3.2	yes	yes	no	hemianopsia	no	STUPP
11	2.64	GBM6 2	R	100	NTR	2	yes	5.7	no	yes	yes/no	afasia	no	STUPP
12	2.63	GBM	D#	90	GTR	1	no	4	yes	no	yes/yes	mild paresia	no	RT
13	2.54	GBM	D+	90	NTR	1	yes	4.2	no	yes	no	facial paresia	yes	STUPP
14	2.54	GBM	R	90	NTR	2	yes	5.5	no	yes	no	none	no	STUPP
15	2.5	GBM	R	70	NTR	2	yes	4.4	no	no	yes/yes	hemiparesia, hemianopsia	no	STUPP
16	2.4	A II diffuse / GBM2	R	90	NTR	2	no	4	yes	no	yes/yes	facial paresia	no	STUPP + CCNU
17	2.35	GBM	Dβ	80	GTR	2	no	1.6	no	yes	yes/yes	none	no	STUPP
18	2.26	GBM2 / OD III	R	100	NTR	2	no	2.7	yes	no	yes/no	none	no	RT/PCV + CCNU
19	2.2	GBM	R	90	GTR	2	no	> 7	no	yes	no	meningitis	no	STUPP
20	2.21	GBM6	R	70	Partial	1	yes	3.1	no	yes	yes/no	cephalea, inestabilitat	yes	RT/TMZ
21	2.2 / 2	non biopsedβ / A II	R	80	Biopsy	1	no	5.1	not ind	not ind	yes/yes	hemiparesia	yes	RT/TMZ
22	2.17	GBM	R	90	GTR + NTR	2	no	5.7	yes	no	yes/yes	mild cephalaea	yes	STUPP
23	2.15	A II diffuse / GBM	R	80	GTR	2	yes	4	no	yes	yes/yes	meningitis	no	STUPP
24	2.15	A II / AA III	R	90	NTR	2	no	6	no	yes	no	none	yes	RT/TMZ
25	2.13	GBM6	R	70	GTR	1	no	2.5	no	yes	yes/no	language fail., hemiparesia	yes	STUPP
26	2.1	GBM	R	80	NTR + biopsy	2	no	5	no	no	no	none	no	STUPP
27	2.05	A II triple negative?	D†β	70	Biopsy	1	no	no measure	not ind	not ind	no	none	not ind	TMZ
28	1.97	GBM	R	80	GTR + Partial	2	no	3.9	yes	yes	yes/yes	right hemiparesia	no	STUPP
29	1.91	AA II/III	D#	80	GTR	1	no	4	yes	not ind	yes/no	cephalea, hemianopsia	not ind	RT
30	1.64	OA II	D#	80	GTR	2	no	7	not ind	not ind	yes/yes	hemianopsia	not ind	RT
31	1.55	A II	Dβ	90	GTR	1	no	1.5	not ind	not ind	no	none	not ind	RT
32	1.51	OD II	Dβ	90	Biopsy	1	no	2	not ind	not ind	no	none	not ind	RT/Ch
33	1.47	A II	D+	90	Partial	1	no	4	not ind	not ind	yes/yes	diplopia	not ind	TMZ/Fotomustine
34	1.4	AA III	R	90	NTR + biopsy	2	no	2.5	no	no	no	none	no	RT
35	1.39	AA III ▲ IIα	R	90	NTR + biopsy	2	no	1.5	not ind	not ind	yes/yes	mild paresia	not ind	RT
36	1.35	OD II	R	90	NTR + biopsy	2	no	3.5	not ind	not ind	yes/yes	cephalea	not ind	RT/PCV
37	1.24	A IIα	R	90	NTR	2	no	4.1	not ind	not ind	yes/yes	none	not ind	RT
38	1.22	OD II	R	90	NTR	2	no	2.4	not ind	not ind	no	LCR fistula	not ind	RT
39	1.1	Gliosis	Dβ	90	Biopsy	1	no	2.4	not ind	not ind	no	none	not ind	NT

La figura 28 mostra la correlació entre les variables de quantificació de la Ratio T/N de la PET amb metionina: Ratio T/N^{CA} i Ratio T/N^{MCU}. El valor promig de Ratio T/N^{CA} és de 2,14 (rang 0,8-4,9), mentre per a la Ratio T/N^{MCU} de 2,26 (rang 0,78-5,27). La relació entre les dues variables de quantificació de la PET per als 41 pacients en que es disposaven dels dos mètodes de càlcul mostren una excel·lent correlació $r = 0,9$, significativa $p = 0,01$. En 2 pacients només es disposava de la Ratio T/N^{MCU} (pacients 1 i 20).

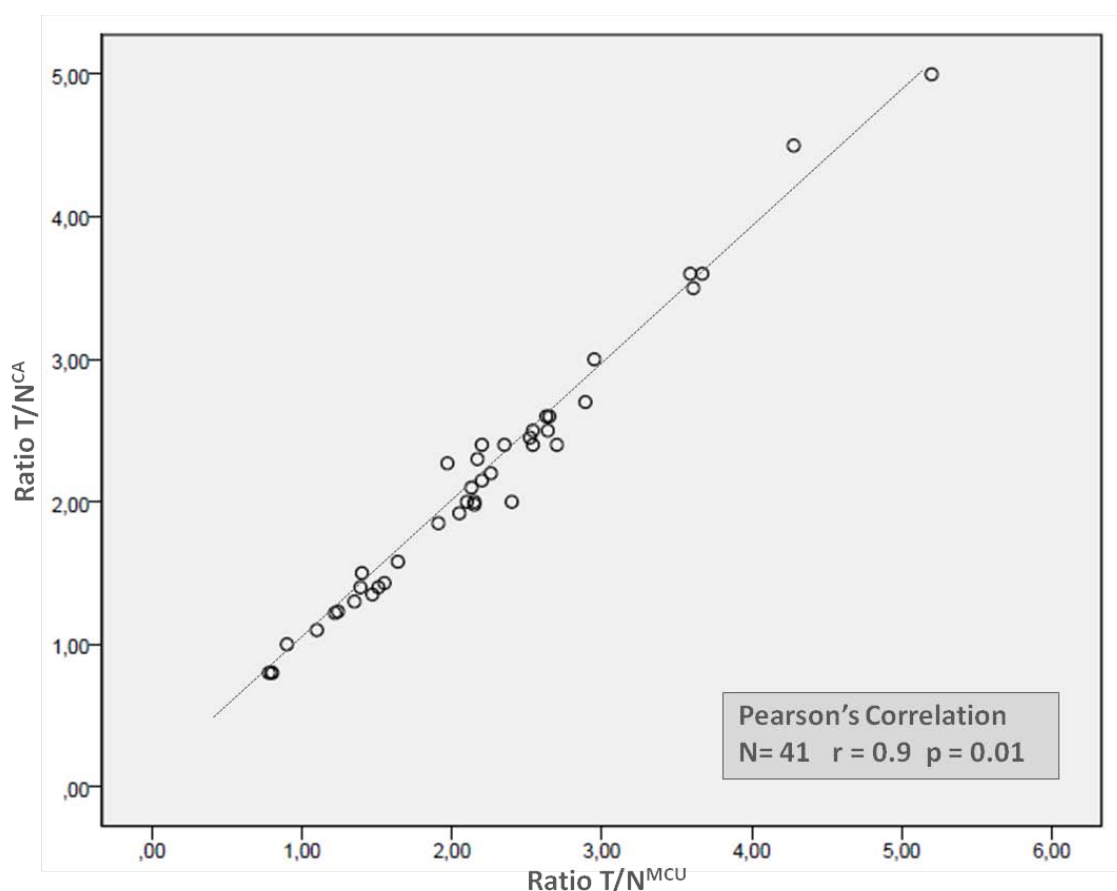


Figura 28. Correlació de Pearson: Ratio T/N^{MCU} i Ratio T/N^{CA}

La taula 16 mostra la simptomatologia inicial i psiquiàtrica de cada un dels pacients de la sèrie. Simptomatologia inicial: alteració del llenguatge, atàxia, cefalea, confusió, crisi epilèptica (*seizure*), diplopia, disfàsia, foto-sonofòbia, hemiparèsia, hidrocefàlia, parafàsies, parèsia. Simptomatologia psiquiàtrica: trastorns de l'espectre afectiu (depression & anxiety disorder), trastorn orgànic de la personalitat, trastorn orgànic psicòtic.

Patient	Sex/Age	Pathology	Initial symptoms	Psychiatric symptoms
1	F/56	GBM	visual deficit, ataxia	n.a
2	F/51	GBM	mild hemiparesia	depression & anxiety disorder
3	M/29	GBM	seizure	organic personality disorder
4	M/22	GBM	obstructive hydrocephalia	non diagnosed
5	M/36	GBM	ataxia, cephalea	non diagnosed
6	F/46	A II / GBM	seizure	depression & anxiety disorder
7	F/55	AA III	seizure	non diagnosed
8	M/62	GBM	seizure	non diagnosed
9	F/65	AA III	seizure	non diagnosed
10	M/49	GBM	seizure	non diagnosed
11	M/37	GBM	seizure	non diagnosed
12	M/75	GBM	mild hemiparesia	non diagnosed
13	M/69	GBM	seizure	non diagnosed
14	M/63	GBM	dysphasia, cephalea	n.a
15	M/45	GBM	alt conscience	organic psychotic disorder
16	M/42	A II / GBM	seizure	depression & anxiety disorder
17	M/67	GBM	cephalea, aphasia	n.a
18	M/37	GBM / OD III	seizure	non diagnosed
19	M/68	GBM	seizure, ataxia	non diagnosed
20	F/59	GBM	cephalea, seizure	non diagnosed
21	M/30	A II	seizure	non diagnosed
22	F/44	GBM	paraphasia	organic personality disorder
23	M/70	A II / GBM	insomnia, cephalea	organic psychotic disorder
24	M/63	A II / AA III	absence/seizure	n.a
25	M/58	GBM	seizure, apraxia, language fail.	organic personality disorder
26	M/51	GBM	cephalea, confusion	organic personality disorder
27	M/78	A II	sensitive seizure	non diagnosed
28	M/60	GBM	seizure	organic psychotic disorder
29	F/31	AA II/III	seizure	non diagnosed
30	F/48	OA II	seizure, diplopia	non diagnosed
31	F/46	A II	seizure	n.a
32	F/40	OD II	n.a	non diagnosed
33	F/58	A II	cephalea	non diagnosed
34	M/44	AA III	seizure	n.a
35	M/69	AA III ► II	seizure	non diagnosed
36	F/38	OD II	cephalea	n.a
37	M/42	A II	seizure	non diagnosed
38	F/37	OD II	cephalea, seizure	non diagnosed
39	M/45	Gliosis	seizure	n.a
40	M/27	n.a	cephalea	n.a
41	M/63	n.a	cephalea, foto-sonofobia	n.a
42	M/34	n.a	hemiparesia	n.a
43	M/24	n.a	seizure	n.a

Taula 16. Pacients: simptomatologia. El símptoma inicial més freqüent va ser la crisi epilèptica. 10 dels 31 pacients estudiats per simptomatologia psiquiàtrica presentaven clínica. n.a = *not available* , no estudiats.

5.2. LA PET AMB METIONINA PER A DEFINIR EL GRAU TUMORAL EN GLIOMES

La figura 29 mostra la relació entre la Ratio T/NMCI de la PET amb metionina i el grau tumoral dividida primer en dos gràfiques: La primera gràfica en negatiu, baix grau i alt grau i la segona gràfica dividida en no glioma (no tumor), grau II, grau III i grau IV.

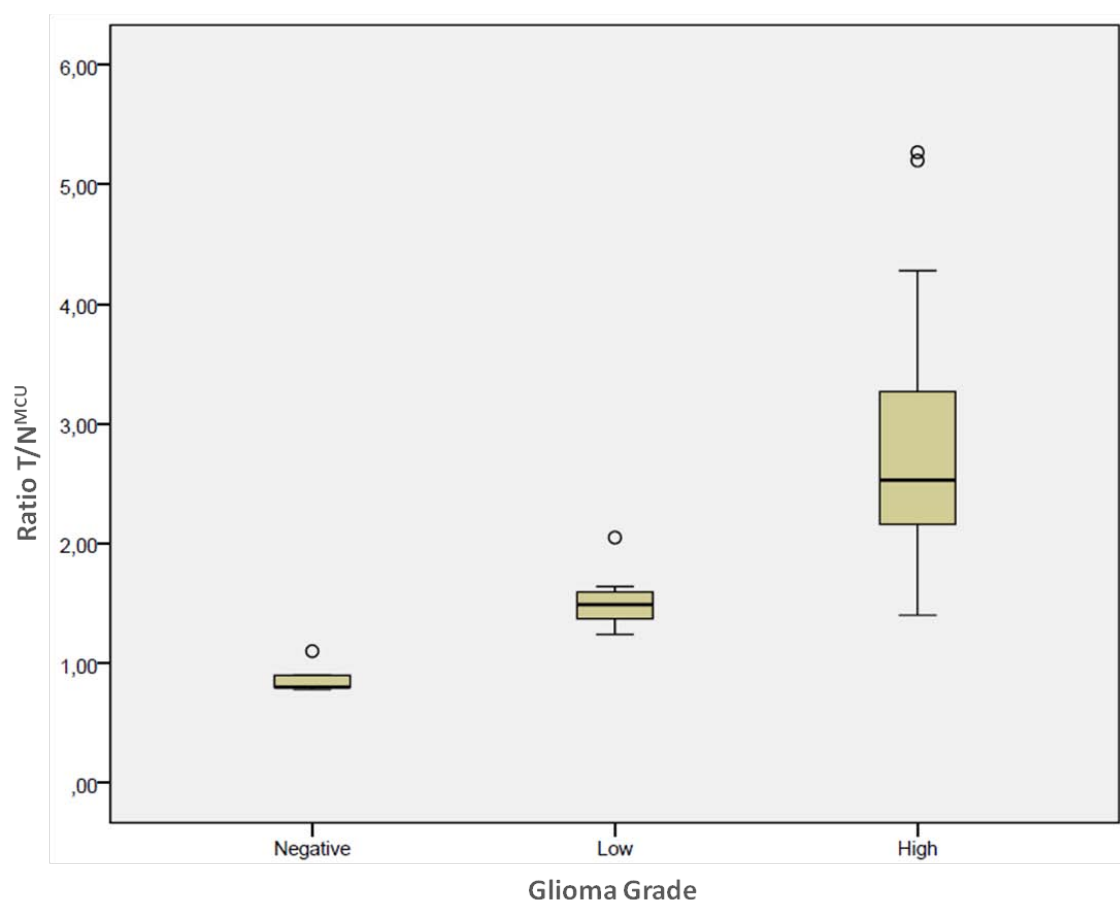


Figura 29. Relació entre la PET (Ratio T/N^{MCU}) i el grau tumoral (Grade).

Aquesta figura mostra com els pacients ($n = 5$) amb una Ratio T/NMCI $< 1,2$ es classificaven de no tumor. La mitjana \pm DE per als classificats com a PET negatiu, no glioma és de $0,87 \pm 0,13$. Els gliomes de baix grau segons anatomia patològica mostraven una major activitat metabòlica de la PET amb un índex Ratio T/N^{MCU} menor que en els gliomes d'alt grau. Els glioblastomes mostren una major captació de la PET amb metionina.

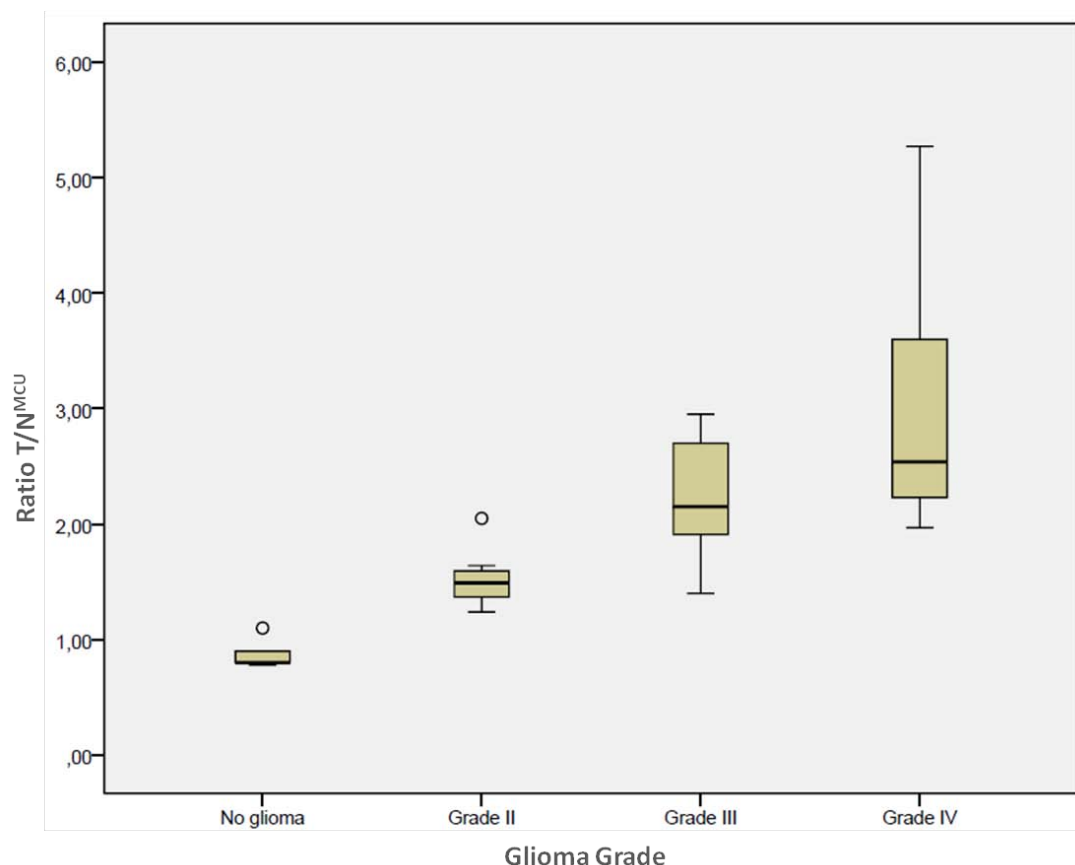


Figura 29. Relació entre la PET (Ratio T/N^{MCU}) i el grau tumoral (Grade).

Aquesta figura mostra la classificació segons graus II, III i IV. La mitjana \pm DE i n per a cada grup és la següent: Grau II: $1,52 \pm 0,24$, n = 8 pacients. Grau III: $2,22 \pm 0,61$, n = 5 pacients. Grau IV: $2,96 \pm 1,02$, n = 19 pacients. S'han exclòs 6 dels 38 pacients, en els que la PET i l'estudi anatomopatològic difereixen en el temps (> 1 any entre PET i anatomia patològica): els pacients 10, 11, 20, 21, 25 i 37.

A la figura s'observa solapament fonamentalment entre els gliomes de grau III i grau IV. En menor mesura també existeix un lleu solapament entre el grau II i el grau III.

Els pacients 28, 29 i 34 es classifiquen de baix grau per la PET i són d'alt grau per l'estudi anatomopatològic. La resta de pacients són classificats correctament per la PET.

La figura 30 mostra la corba ROC per al punt de tall o *cut-off* en el diagnostic diferencial entre glioma de baix grau i d'alt grau

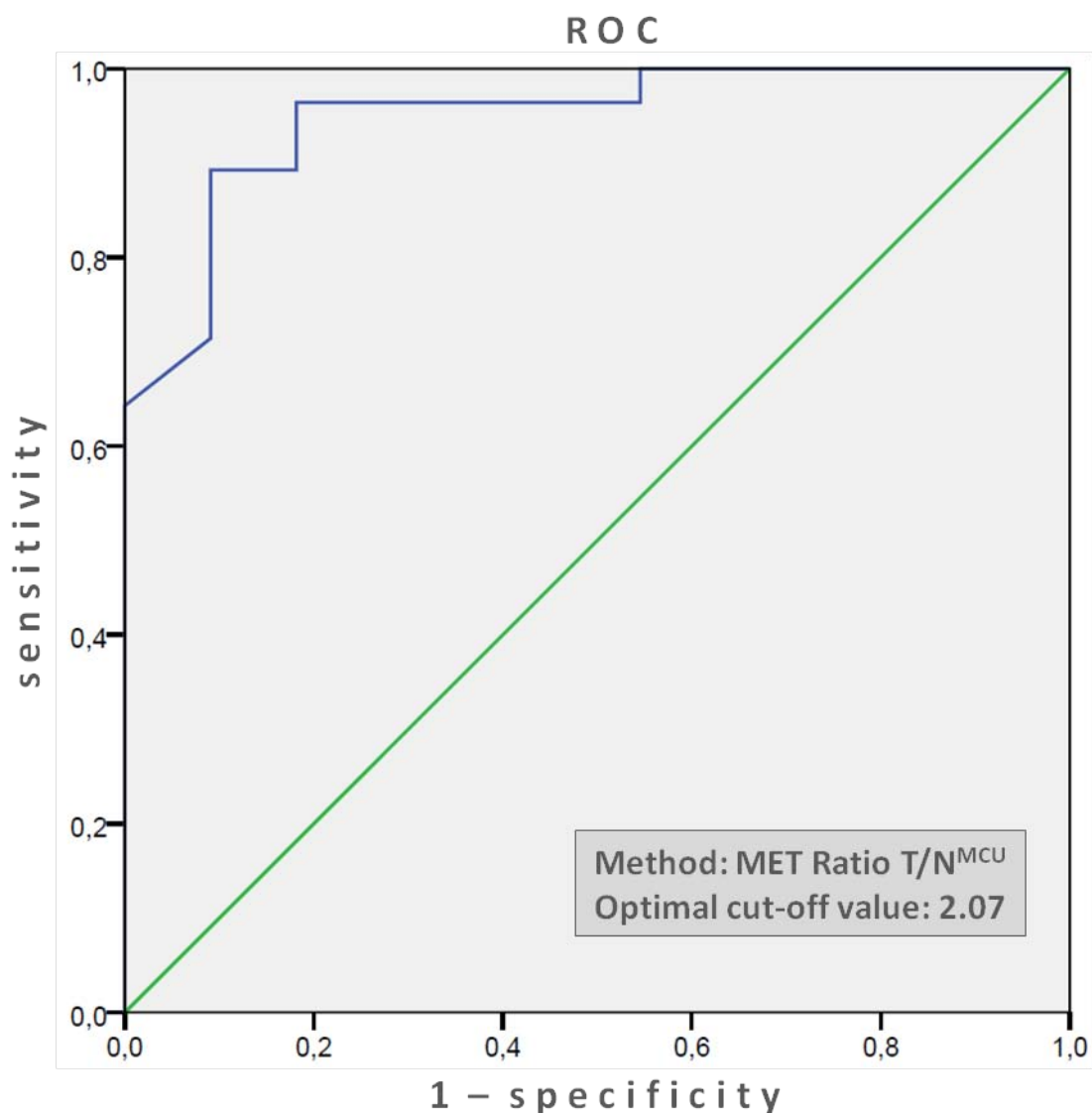


Figura 30. Corba ROC Ratio T/N^{MCU}, *cut-off* per a diferenciar entre glioma de baix i d'alt grau. Àrea sota la corba 0,91. Error estàndard: 0,036. Límit inferior: 0,87. Límit superior: 1. Cut-off òptim: 2,07 (S: 0,89 i 1-E: 0,091, E: 0,90). N = 32 pacients.

La corba ROC mostra el valor de Ratio T/N^{MCU} de 2,07 com a punt de tall òptim per a diferenciar entre glioma de baix i alt grau, amb una bona sensibilitat i especificitat en la mostra de 32 pacients en els que s'ha estudiat. S'han exclòs 6 dels 38 pacients, en els que la PET i l'estudi anatomopatològic difereixen en el temps: els pacients 10, 11, 20, 21, 25 i 37.

5.3. RELACIÓ ENTRE LA PET, LA PROLIFERACIÓ CEL·LULAR I EL PERFIL MOLECULAR

El valor promig de Ki67-MIB1 LI de la sèrie és de 14,3 % (rang 1-32 %) per als 31 pacients estudiats. La figura 31 mostra la recta de regressió entre les dues variables: Ki67 % i Ratio T/N^{MCU}. S'observa una correlació de Pearson significativa si bé existeixen valors allunyats de la recta, identificats als cercles blaus.

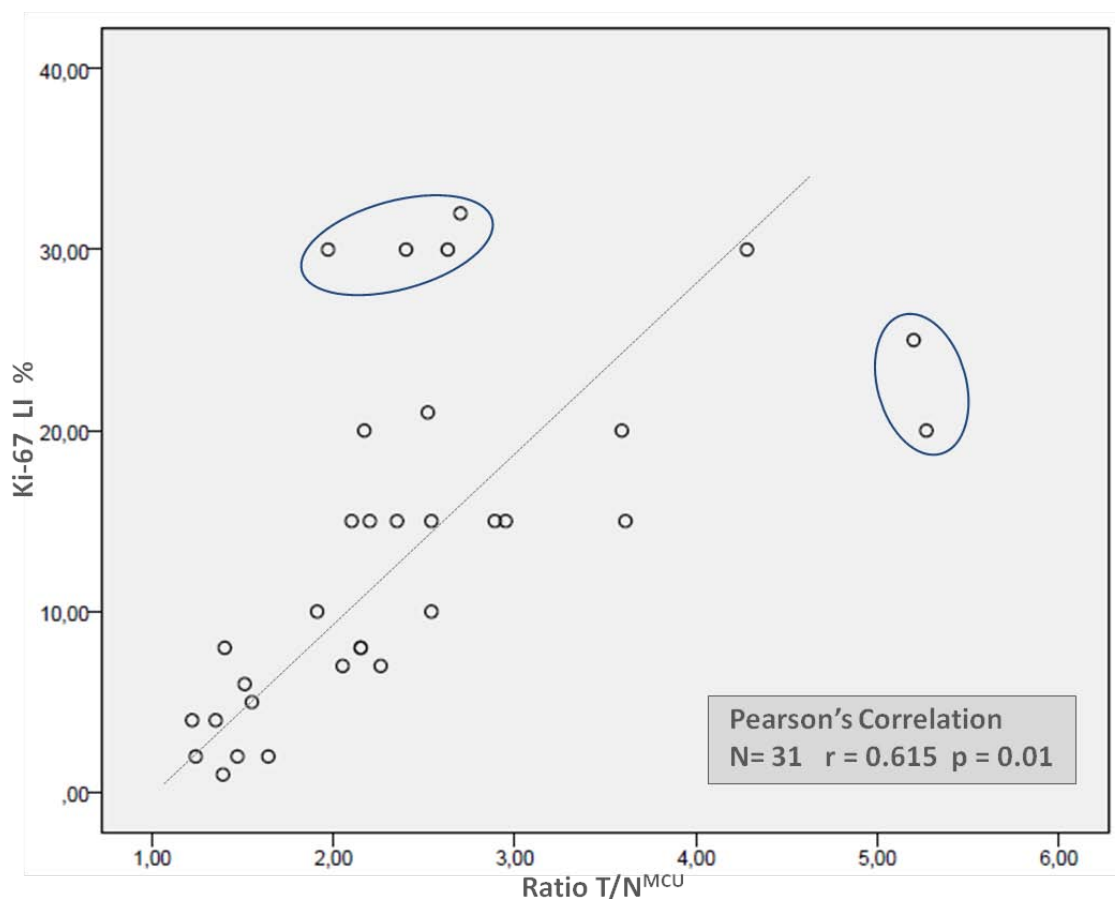


Figura 31. Correlació de Pearson: Variables Ratio T/N^{MCU} i Ki67/MIB-1. R = 0,615, p = 0,01. En cercle blau es troben els valors allunyats de la recta: Un AA III extens, cinc glioblastomes en recurrència o progressió i un glioblastoma molt vascularitzat en prova diagnòstica.

La taula 17 mostra la relació entre les troballes moleculars i el grau tumoral definit segons la PET. Trobem una relació significativa per a la relació entre l'estatus mutacional de la IDH-1 i el grau definit per la PET (p = 0,001), i no significativa per la metilació MGMT i la PET, p = 0,095 (χ^2 test, Fisher test per a taula de contingència 2 x 2).

El grau tumoral segons la PET segons el *cut-off* clàssic de 2 [97] classifica 12 pacients com a baix grau (grau 1) inclòs el pacient 27 (Ratio T/N = 2), i 26 pacients com a alt grau (grau 2). Dels pacients de la sèrie amb Ratio T/N^{MCU} ≤ 2,07, un no presenta mutació IDH-1 i els altres nou si que la presenten. Per contra, dels 19 pacients amb Ratio T/N ≥ 2,07 quinze no mostren mutació IDH-1 i quatre si.

Dels nou pacients classificats de baix grau per la PET, sis presenten metilació MGMT i tres no. Dels 19 amb Ratio T/N ≥ 2,07 o classificats d'alt grau per la PET (2), quinze no presenten metilació mentre que quatre si que la presenten.

Molecular findings & Grade PET: Contingency table

IDH-1 * Grade PET			Grade PET		Total
			Low	High	
IDH-1 mutation	Yes	N. patients	9	4	13
		% of IDH-1	70%	30%	100%
		% of Grade PET	90%	21%	44.8 %
	No	N. patients	1	15	16
		% of IDH-1	6.3%	93.7%	100%
		% of Grade PET	10%	79%	55.2%
Total	N. patients	10	19	29	
	% of IDH-1	34.5%	65.5%	100%	
	% of Grade PET	100%	100%	100%	

Chi-Square test. Fisher exact test for 2x2 table p = 0.001

MGMT * Grade PET			Grade PET		Total
			Low	High	
MGMT methylation	Yes	N. patients	6	4	10
		% of IDH-1	60%	40%	100%
		% of Grade PET	66.7%	21%	35.7%
	No	N. patients	3	15	18
		% of IDH-1	16.7%	83.3%	100%
		% of Grade PET	33.3%	79%	64.3%
Total	N. patients	9	19	28	
	% of IDH-1	32.1%	67.9%	100%	
	% of Grade PET	100%	100%	100%	

Chi-Square test. Fisher exact test for 2x2 table p = 0.095

Taula 17. Taules de contingència entre les troballes moleculars (*IDH-1 mutation*, *MGMT methylation*) i el grau tumoral definit per la PET (*Grade PET*). *N. Patients* = nombre de pacients. Low: baix grau. High: alt grau.

5.4. RELACIÓ ENTRE LA PET I EL PERFIL IMMUNOHISTOQUÍMIC

La taula 18 mostra els 19 pacients ens els que s'ha estudiat els paràmetres immunohistoquímics: expressió de CD34 en vasos (%) i tipus de vas predominant, β catenina, OLIG2 (%), CD44 (tinció; +, ++ i +++, i %), p53 (%), p16 (%) i WT1 (%). En cas de negativitat es considera 0%. L'expressió d'EGFR resultant del càlcul de tinció (+, ++, +++) i %. Per a Ratio T/NMCU < 2,07 o en gliomes de baix grau s'observa un clar predomini d'absència d'expressió de p53, p16 i WT1 (negativitat), mentre que per els GBM és molt variable. S'observa una gran variabilitat per al marcatge de OLIG2, CD44 i EGFR que no guarden cap relació amb la captació de la PET.

La primera part de la figura 32 (pàgina següent) mostra la distribució de les variables immunohistoquímiques en funció de la Ratio T/N^{MCU} de la PET amb metionina. El perfil immunohistoquímic de OLIG2, de EGFR i CD44 és marcadament heterogeni. Per a la resta de paràmetres s'observa una relació més linial en els gliomes de baix grau i marcadament dispersa o absència de relació en el cas dels glioblastomes o per a Ratio T/N^{MCU} > 2,07.

La segona part de la figura 32 mostra els resultats del test Mann-Whitney U dividint-ho en dos grups segons la Ratio T/NMCU amb un punt de tall de 2,07, per les següents variables: CD34%, p53, p16 i WT1. Trobem una relació significativa ($p < 0,05$) entre la Ratio T/N^{MCU} amb un *cut-off* de 2,07 i l'expressió d'aquestes tres variables. Existeix una major expressió de CD34% en vasos en Ratio T/NMCU < 2,07 i en el cas de > 2,07 aquesta és molt més variable. Existeix una menor expressió de p53, p16 i WT1 en cas de Ratio T/N < 2,07. Per a > 2,07 l'expressió de WT1 és molt variable.

Finalment es mostra la distribució de l'expressió de CD34 en funció de la positivitats o negativitats de la β catenina. S'observa una relació no significativa entre l'expressió de CD34 i la negativitat de la β catenina.

Patient	Sex/Age	Ratio MET	Pathology	CD34 vessel	CD34 tipe v	β catenin	OLIG2	CD44	CD44%	p53	WT1	p16	EGFR*
3	M/29	4.28	GBM	37	s & m	pos	26	1+	40	11	5	2	110
5	M/36	3.61	GBM	2	large	pos	45	2+	65	7	3	10	25
9	F/65	2.7	AA III	44	s & m	neg	40	3+	50	10	100	90	300
12	M/75	2.63	GBM	82	small	neg	53	2+	70	7	42	1	160
13	M/69	2.54	GBM	31	s & m	neg	2	2+	60	1	43	40	15
15	M/45	2.5	GBM	60	s & m	neg	11	3+	85	1	62	1	132
16	M/42	2.4	A II / GBM	13	m	pos	50	3+	30	19	15	25	11
18	M/37	2.26	GBM / OD III	32	s & m	neg	23	1+	25	1	7	4	113
19	M/68	2.2	GBM	25	s & m	neg	35	2+	90	2	47	2	110
22	F/44	2.17	GBM	14	m	pos	24	2+	60	62	73	1	27
23	M/70	2.15	A II / GBM	21	s & m	pos	55	3+	75	1	77	25	300
26	M/51	2.1	GBM	n.a	n.a	neg	50	2+	30	neg	neg	n.a	60
27	M/78	2.05	A II	68	s & m	neg	40	3+	100	neg	20	neg	120
29	F/31	1.91	AA II/III	58	s & m	pos	80	3+	10	neg	1	5	300
30	F/48	1.64	OA II	58	s & m	pos	60	2+	100	neg	5	20	100
33	F/58	1.47	A II	46	s & m	neg	60	1+	60	2	neg	neg	100
35	M/69	1.39	A II	46	s & m	neg	10	3+	100	neg	5	neg	160
38	F/37	1.24	OD II	41	s & m	neg	50	2+	60	1	neg	neg	180
39	M/45	1.1	Gliosis	33	s & m	neg	50	2+	5	neg	neg	2	neg

Taula 18. Pacients: PET i perfil immunohistoquímic. Sex: M = masculí (male), F = femení (female). Age = edat en anys. Pathology: GBM = glioblastoma, AA III = astrocitoma anaplàstic, OD = oligodendroglioma, OA = oligastrocitoma, A II = astrocitoma grau II. CD34 vessel = % de marcatge de CD34 en casos. CD34 tipe v = mida dels vasos, s = small, m = medium. EGFR* = % x intensitat (+, ++ o +++). pos = positiu, neg = negatiu.

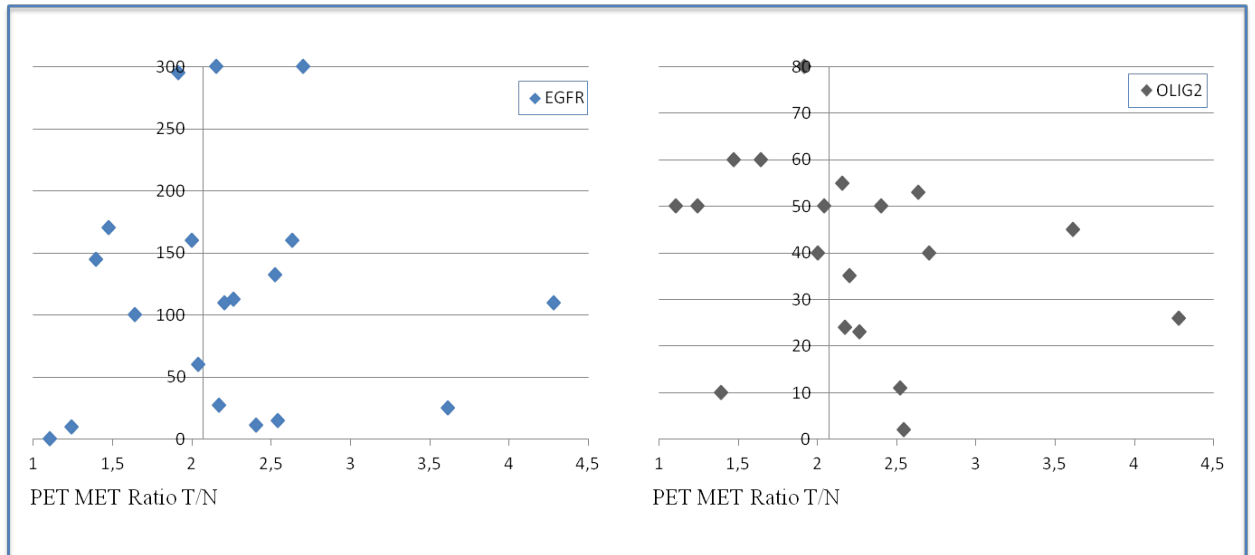


Figura 32. Perfil immunohistoquímic. Relació entre la PET Ratio T/N i l'expressió d'EGFR (% i intensitat en +) i OLIG2 (%).

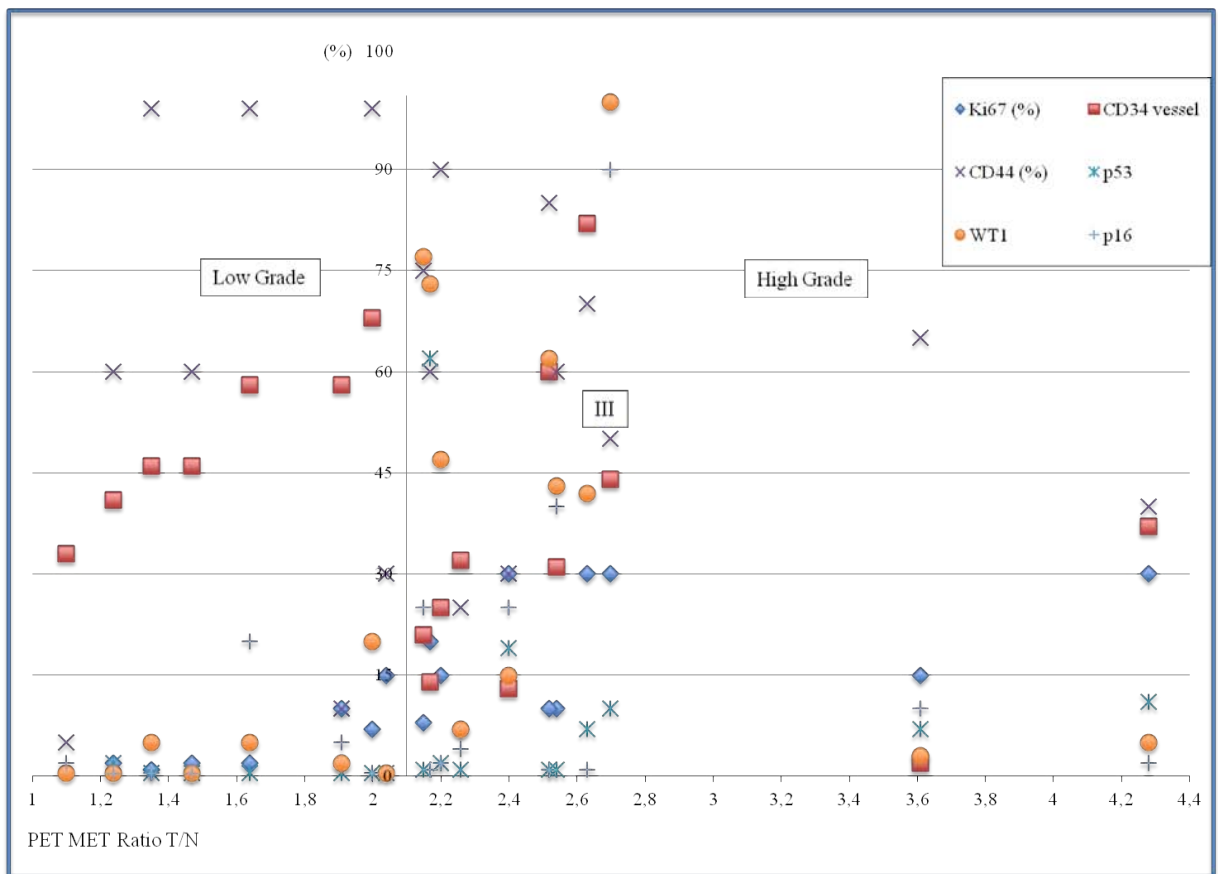


Figura 32. Perfil immunohistoquímic. Relació entre la PET Ratio T/N i les troballes immunohistoquímiques: CD34, CD44, p53, p16 i WT1. Inclou l'índex Ki67. Cada punt en l'eix de les x representa un dels pacients amb cada variable.

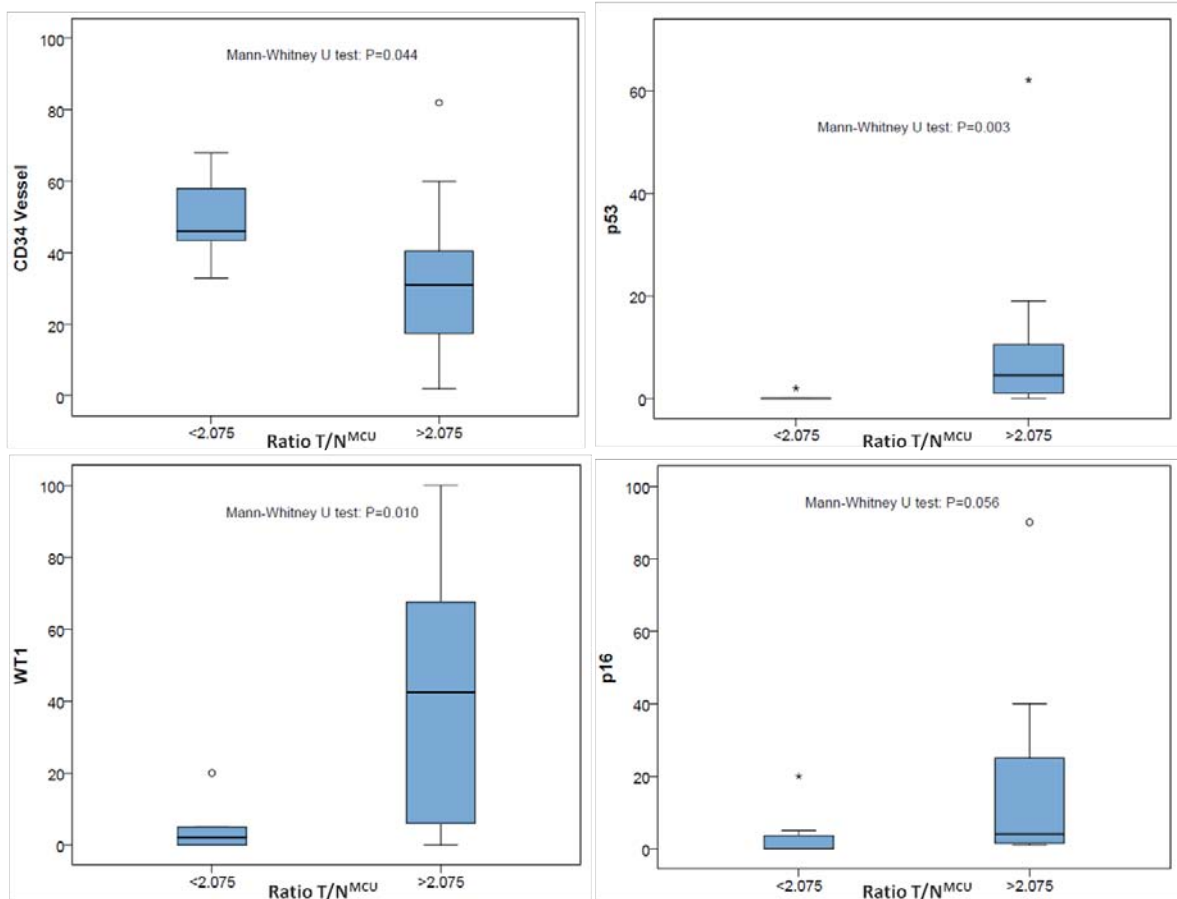
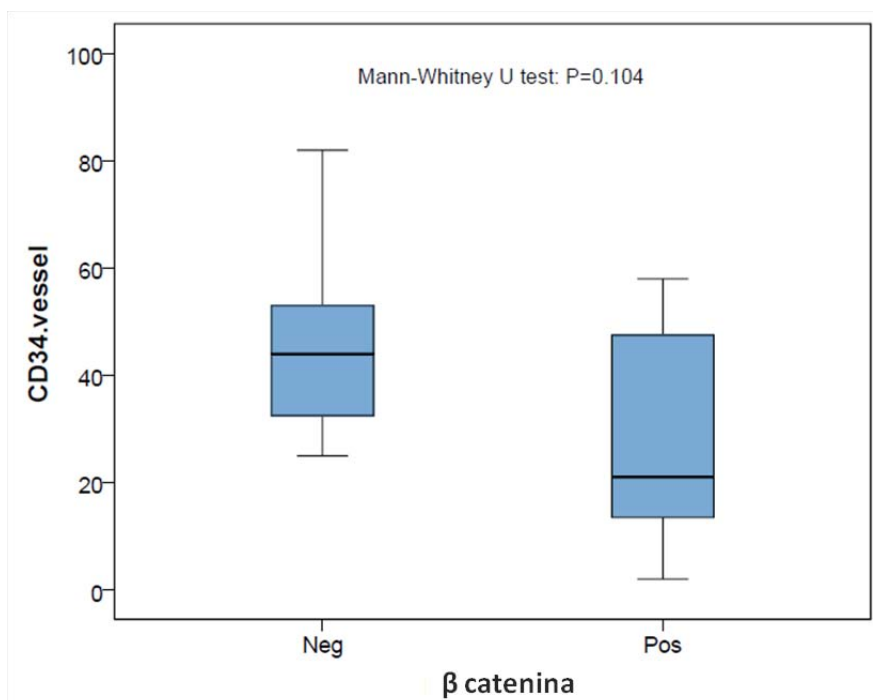


Figura 32. Perfil immunohistoquímic. Relació entre la PET Ratio T/N i les troballes immunohistoquímiques: CD34(%), p53(%), p16(%) i WT1(%), (valors significatius). A sota relació entre la negativitat o positivitat de la β catenina i l'expressió de CD34 en vasos (no significativa).



5.5. RELACIÓ ENTRE LES TROBALLEES DE LA RM I DE LA PET

La taula 19 mostra les troballes de la PET; Ratio MET o Ratio T/N^{MCU} usada com a referència, de la histopatologia del glioma, del tipus de prova al moment de la PET; diagnòstic (D) o recurrència o progressió tumoral (R), de les troballes de la RM, PET de seguiment si es va realitzar, estat vital del pacient; èxitus o si encara es viu, i el seguiment en mesos des de la PET fins a l'èxitus o el tancament de l'estudi. Les troballes de la RM inclouen la captació o no de contrast a la primera RM de què disposem i que en cas de prova diagnòstica coincideix amb el temps amb la PET, de la perfusió i espectrometria a la RM coincident amb la PET, i de l'última RM realitzada al final de l'estudi on es definia com a progressió (P), sense canvis (NC), pseudoprogressió, pseudoresposta o bé radionecrosi.

Taula 19. Pacients: PET, RM i *follow-up*. Pacient (*patient*). Sexe (*sex*): M = masculí (*male*), F = femení (*female*). Edat (*age*) en anys al moment de la prova PET. Ratio MET = Ratio T/N^{MCU} de la PET amb metionina. Resultat anatomia patològica (*pathology*): A = astrocitoma, OA = oligoastrocitoma, OD = oligodendroglioma, AA = astrocitoma anaplàstic, GBM = glioblastoma, / = patró mixte, ► = canvi de grau (pacient 35), n.b = àrea tumoral no biopsiada. Indicació de la prova D or R: D = prova diagnòstica, R = valoració de recurrència o progressió tumoral. *First MRI CE* = Captació de contrast a la RM inicial disponible: high = captació intensa, heterogènia o en anell, low = captació lleu, neg = absència de captació de contrast. *rCBV* = Perfusió de la RM segons la ratio CBV: high = rCBV>2, low = perfusió augmentada amb una rCBV<2, neg = absència de perfusió. *rCBV value* = valor de la rCBV coincident amb l'àrea hipermetabòlica de la PET amb metionina. >2[‡] i <2[‡] = superior o inferior a 2 però no es disposa del valor exacte respecte l'àrea metabòlica de la PET. *Ratio Cho/Naa* = Càlcul de l'índex de pic de colina respecte el pic de aspartat per espectrometria: pos = Ratio Cho/Naa incrementada, low pos = Ratio Cho/Naa valorada com a discretament incrementada, neg = valorada com a negativa. *Last MRI follow-up* = última RM del pacient en el seguiment segons criteris RANO: P = progressió, NC = *no changes* o estable, Pseudoresp* = pseudoresposta, Pseudoprogr** = pseudoprogressió, Radionecrosis*** = radionecrosi o canvis posteriors al tractament amb radioteràpia, / = dues possibilitats diagnòstiques. *PET follow up* = PET amb metionina en els pacients en que es va fer al seguiment: pos = PET donada com a presència de captació tumoral, neg = donada com a prova negativa, 1. neg/ 2. pos = dues proves PET la primera negativa per resposta al tractament i la segona positiva per possible progressió (pacient 18). *Exitus* = estat vital del pacient: dead = mort, alive = viu al moment de tancar estudi. *Follow up (months)* = Mesos de seguiment des de la prova PET fins a la mort o tancament de l'estudi. n.a = dada no disponible (*non available*). ^{cs} = *censored*: l'última data de seguiment del pacient és anterior a la data del tancament de l'estudi. Els pacients 1, 8 i 21 tenen dues àrees diferenciades de captació de metionina. Al pacient 8 s'han usat els valors 2.89[†] i 7.4[†] per al càlcul estadístic de correlació entre la Ratio T/N^{MCU} i la ratio rCBV.

Patient	Sex/Age	Ratio MET	Pathology	D or R	First MRI CE	rCBV	rCBV value	Ratio Cho/Naa	Last MRI follow-up	PET follow-up	Exitus	Follow up (months)
1	F/56	2.93 / 5.27	GBM	R	high	n.a		n.a	P		dead	1,28
2	F/51	5.2	GBM	R	high	n.a		n.a	P		dead	3,51
3	M/29	4.28	GBM	D	low	high	>2†	pos	Pseudoresp* / P	pos	dead	21,18
4	M/22	3.67	GBM	R	high	n.a		pos	n.a		dead	1,48
5	M/36	3.61	GBM	D	low	high	>2†	pos	n.a		dead	1,93
6	F/46	3.59	A II / GBM	R	high	high	>2†	n.a	P		dead	12,39
7	F/55	2.95	AA III	D	high	high	12.5	pos	P		alive	48,39cs
8	M/62	2.89 / 2.79†	GBM	D	high	high	7.4/6.1†	pos	n.a		dead	8,85
9	F/65	2.7	A III	D	low	high	2.7	pos	P	pos	dead	8,82
10	M/49	2.65	GBM	R	high	n.a		n.a	P		dead	12,43
11	M/37	2.64	GBM	R	low	n.a		n.a	P		dead	6,79
12	M/75	2.63	GBM	D	high	high	5.1	pos	Pseudoprogr** / P		dead	9,51
13	M/69	2.54	GBM	D	high	n.a		n.a	P		dead	5,11
14	M/63	2.54	GBM	R	low	n.a		n.a	Radionecrosis*** / P		dead	11,67
15	M/45	2.5	GBM	R	low	high	3.38	n.a	n.a	pos	dead	36,39
16	M/42	2.4	A II / GBM	R	low	low	1.8	pos	P		dead	30,56
17	M/67	2.35	GBM	D	high	n.a		n.a	P		dead	40,95
18	M/37	2.26	GBM / OD III	R	low	high	4.8	pos	P	1. neg / 2. pos	alive	45,38
19	M/68	2.2	GBM	R	high	high	3.9	pos	P		dead	6,75
20	F/59	2.21	GBM	R	high	high	3.8	pos	P		dead	5,57
21	M/30	2.2 / 2	n.b / A II	R	low	n.a		n.a	P		dead	8,49
22	F/44	2.17	GBM	R	high	high	4.1	low pos	P		dead	16,92
23	M/70	2.15	A II / GBM	R	high	n.a		low pos	n.a		dead	5,61
24	M/63	2.15	A II / AA III	R	low	low	<2†	low pos	P		dead	8,75
25	M/58	2.13	GBM	R	low	n.a		n.a	P		dead	8,89
26	M/51	2.1	GBM	R	high	high	5.8	pos	P		dead	9,02
27	M/78	2.05	A II	D	low	high	3.2	neg	P		dead	35,54
28	M/60	1.97	GBM	R	high	n.a		n.a	P		dead	10
29	F/31	1.91	AA II/III	D	high	high	3.3	pos	NC	neg	alive	60,95
30	F/48	1.64	OA II	D	neg	n.a		n.a	P		dead	51,67
31	F/46	1.55	A II	D	low	n.a		n.a	NC		alive	36,9cs
32	F/40	1.51	OD II	D	neg	n.a		n.a	NC		alive	57,64cs
33	F/58	1.47	A II	D	low	low	1.75	pos	P	pos	dead	59,9
34	M/44	1.4	AA III	R	low	n.a		n.a	P		alive	39,74
35	M/69	1.39	AA III ► II	R	low	n.a		n.a	P		dead	12
36	F/38	1.35	OD II	R	neg	neg	-	n.a	n.a		alive	58,56cs
37	M/42	1.24	A II	R	low	low	1.9	neg	n.a		alive	63,64cs
38	F/37	1.22	OD II	R	neg	low	1.6	n.a	NC	neg	alive	61,64cs
39	M/45	1.1	Gliosis	D	low	neg	-	neg	NC		alive	53,48
40	M/27	< 1	n.a	D	low	low			NC		alive	61,8
41	M/63	< 1	n.a	D	n.a	n.a			NC		alive	53,9
42	M/34	< 1	n.a	D	low	low			NC		alive	50,2
43	M/24	< 1	n.a	D	neg	neg			NC		alive	73,5

Les troballes del contrast a la RM mostren que els gliomes de baix grau mostren o absència de captació o captació lleu, linial, nodular o focal, mentre que els gliomes d'alt grau poden mostrar captació lleu o intensa, definida aquesta com a intensa o heterogènia o en anell.

Dels gliomes en que s'ha estudiat la perfusió per RM, els d'alt grau mostren una perfusió incrementada, amb rCBV > 2 en tots els casos estudiats excepte en dos casos que és < 2, i en els de baix grau s'observen casos negatius, absència de perfusió, i incrementada amb valors que orienten a baix grau rCBV < 2 o a alt grau rCBV > 2.

La valoració de l'espectrometria pel pic de colina i ratio Cho/Naa mostra valors incrementats o positius per a alts graus, alguns molt discretament elevats, mentre que pels de baix grau s'observen casos positius i casos negatius.

A la majoria de casos de gliomes d'alt grau l'última RM avaluada dins del període de seguiment de l'estudi mostra progressió si bé en tres casos s'ofereixen varies possibilitats diagnòstiques: o progressió (P) o bé pseudoresposta o pseudoprogressió o radionecrosi. La pseudoresposta es considera progressió igualment. Els de baix grau presenten o bé progressió o bé estabilitat (sense canvis, *no changes* NC). Els quatre pacients amb PET negativa i amb sospita diagnòstica al seguiment de no glioma, continuen vius i a l'última RM mostren estabilitat.

En set pacients es va realitzar PET de seguiment per sospita de recurrència o progressió o per descartar-la. Els quatre pacients amb PET positiu al seguiment acaben progressant si bé el pacient 18 se li va fer un PET que va resultar negatiu després del tractament (valoració de resposta). Els pacients classificats inicialment com de baix grau per la PET al seguiment dos d'ells mostraven una PET negativa i segueixen vius. El pacient 33 malgrat ser un astrocitoma II, la PET de seguiment va ser positiva per a progressió i va ser èxitus.

Dels 38 pacients amb glioma, nou segueixen vius al tancament de l'estudi. La majoria d'ells de baix grau. Únicament tres casos amb glioma d'alt grau segueixen vius, inclòs el 33 classificat de baix grau per la PET.

La taula 20 mostra la relació entre les troballes: Grau tumoral definit segons la PET i l'espectrometria i perfusió per la RM. Trobem una relació significativa per a la relació entre el grau definit per la PET i l'espectrometria. $p < 0,05$ (χ^2 test, Fisher test per a taula de contingència 2 x 2). No obstant això trobem casos discordants: Tres pacients correctament classificats per la PET mostren una baixa ratio Cho/Naa. Un pacient és classificat de baixa captació per PET i és un alt grau amb positivitat de la Ratio Cho/Naa. Un pacient amb pic de colina molt elevat és classificat de baix grau per PET i és un A II.

MRI & Grade PET: Contingency table

Ratio Cho/Naa * Grade PET			Grade PET			Total
			Neg	Low	High	
Ratio Cho/Naa	Neg	N. patients	1	2	3	6
	/Low	% of Ratio Cho/Naa	16.7%	33.3%	50%	100%
		% of Grade PET	100%	50%	20%	30%
High	N. patients		0	2	12	14
	% of Ratio Cho/Naa		-	14.3%	85.7%	100%
	% of Grade PET		-	50%	80%	65%
Total	N. patients		1	4	15	20
	% of Ratio Cho/Naa		5%	20%	75%	100%
	% of Grade PET		100%	100%	100%	100%

Chi-Square test. Fisher exact test 2x2 table $p = 0.035$

CBV ratio * Grade PET			Grade PET		Total
			Low	High	
CBV ratio	Neg	N. patients	2	0	2
		% of CBV ratio	100%	-	100%
		% of Grade PET	28.6%	-	9%
Low	N. patients		3	2	5
	% of CBV ratio		60%	40%	100%
	% of Grade PET		42.8%	13.3%	22.8%
High	N. patients		2	13	15
	% of CBV ratio		13.3%	86.7%	100%
	% of Grade PET		28.6%	86.7%	68.2%
Total	N. patients		7	15	22
	% of CBV ratio		30%	70%	100%
	% of Grade PET		100%	100%	100%

Chi-Square test. Fisher exact test 2x2 table $p = 0.02$

Taula 20. Taules de contingència entre les troballes de la RM (Ratio Cho/Naa, espectrometria, i CBV ratio) i el grau tumoral definit per la PET (Grade PET).

També s'observa una relació significativa per a la relació entre el grau definit per la PET i la rCBV, $p < 0,05$ (χ^2 test, Fisher test per a taula de contingència 2 x 2). La majoria són classificats correctament per la PET i rCBV de baix grau o negatius (5 casos) o d'alt grau (13 casos). Trobem quatre casos discordants.

La figura 33 mostra la recta de regressió entre les dues variables: rCBV i Ratio T/N^{MCU}. S'observa una correlació de Pearson significativa si bé existeixen valors allunyats de la recta, identificats amb les fletxes. Dels quatre casos destaquen dos pacients menys vascularitzats i agressius (fletxes blaves), i dos pacients molt perfosos (fletxes grises): El pacient 26, molt perfós i agressiu però amb una Ratio T/N no excessivament alta (2,1) i el pacient 7 amb un índex rCBV i una Ratio T/N incrementades que segueix viu.

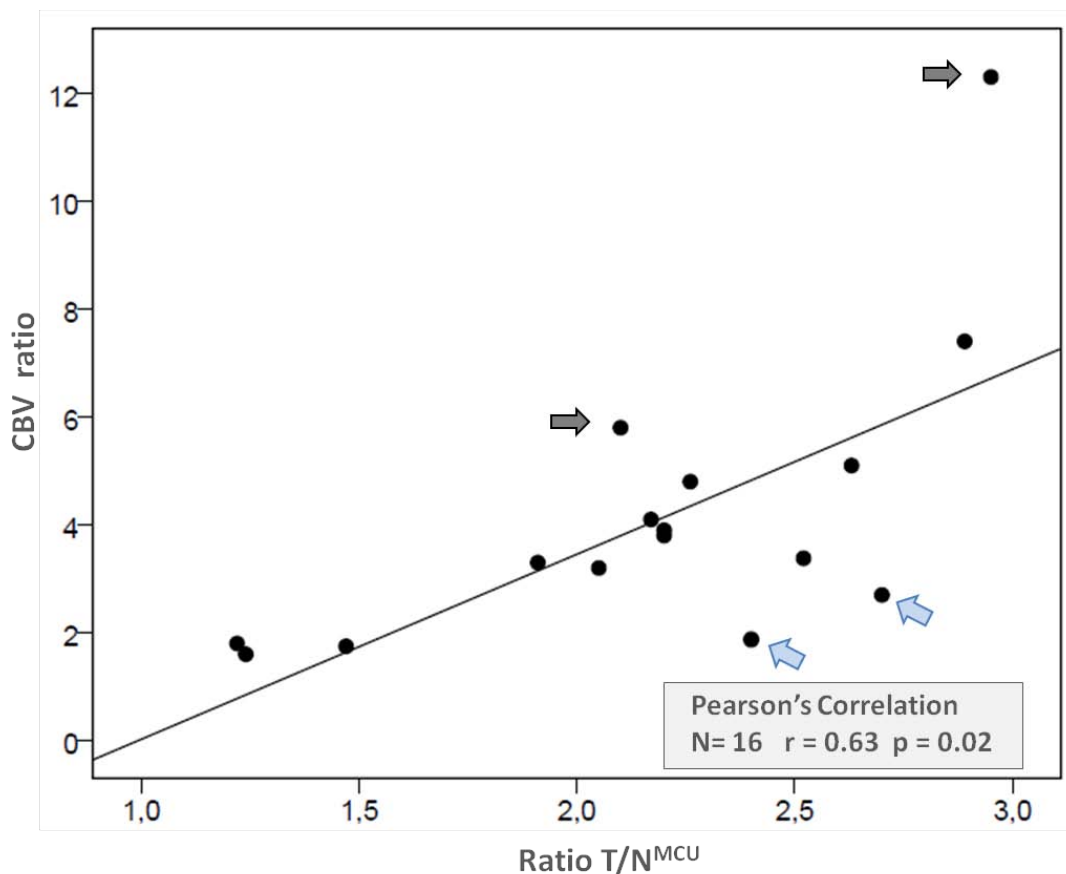


Figura 33. Correlació Ratio T/N i rCBV. Les fletxes grises i blaves corresponen a valors allunyats de la recta de regressió.

5.6. ANÀLISI DE SUPERVIVÈNCIA DE LA PET AMB METIONINA EN GLIOMES

El seguiment promig en mesos al total dels 43 pacients fou de 28,3 mesos (rang 1,28-73,5) i en el cas dels 38 pacients diagnosticats de glioma fou de 24,3 mesos (rang 1,28-63,64). El seguiment promig dels pacients diagnosticats de gliomes i que seguien vius al tancament de l'estudi fou de 52,5 mesos o 4,4 anys (rang 37-63,6). Dels nou pacients que seguien vius al final del seu seguiment, cinc es van seguir fins a 5-6 mesos abans de la data del tancament de l'estudi (taula 19; *follow up (months)*^{CS} = *censored*). Dos pacients més es van seguir fins a un mes abans del tancament (pacients 18 i 36). Un pacient es va perdre 1 any abans del tancament (pacient 31). El seguiment mínim als pacients vius per a gliomes de baix grau fou de 3 anys (pacient 31) i el mínim per a gliomes d'alt grau fou de 39,7 mesos o 3,3 anys (pacient 34). El promig de seguiment pels pacients amb èxitus al final de l'estudi, 29 pacients (67,4 % del total), fou de 15,6 mesos. El promig de seguiment pels pacients amb indicació de la prova PET per sospita de recurrència o progressió versus radionecrosi o estabilitat (n = 24 pacients) fou de 22 mesos.

La taula 21 mostra el resum dels resultats per a les corbes de supervivència de Kaplan-Meier per a les variables estudiades. Les corbes de supervivència es representen a les figures 34, 35, 36 i 37. La primera corba de Kaplan-Meier representa la supervivència del grup total en gliomes. La resta de gràfiques representen la supervivència en mesos dividida en 2 o 3 grups segons cada variable estudiada.

Les figures 34-37 mostren les corbes de supervivència per a la supervivència segons les variables següents: Ratio T/N^{MCU} de 2,07, grau tumoral classificat en baix grau i alt grau i també per classes: II-IV, edat del pacient al moment de la PET (en anys), mida del tumor (en cm, no volumètric), creuament o no de la línia mitja, captació de contrast, Ki67-MIB LI, mutació o no d' IDH-1, KPS pre-quirúrgic, ús de 5-ALA (en tumors indicats d'alt grau), ús o no de *mapping* (quan estava indicat per sospita d'afectació d'àrea eloqüent), complicacions post-quirúrgiques i tipus de cirurgia (en cas de prova diagnòstica).

De les variables descrites, trobem diferències significatives en la supervivència en la majoria de les variables (taula 21).

Per al subgrup de > 50 anys la supervivència és menor que pel subgrup de ≤ 50 anys, $p < 0,05$ (*Age in years, at the moment of PET*).

Pels 7 pacients amb un índex de KPS prequirúrgic de < 70 la supervivència és menor, $p < 0,05$ (*KPS presurgery*).

Pels pacients amb tumors de mida ≥ 5 cm o difusos, la supervivència és menor, $p < 0,05$ (*Size in cm*).

Els pacients en que el tumor creua la línia mitja mostren menor supervivència, $p < 0,05$ (*Crossing midline*).

Quan es presenten complicacions post-quirúrgiques especialment en el cas de complicacions greus la supervivència és menor, $p > 0,05$ (*Postsurgical compl.^S*).

En cas de resecció parcial o biòpsia la supervivència és discretament menor. En l'estudi realitzat en els 14 pacients amb prova diagnòstica (excloent cirurgia a la recurrència *Surgery[†]*) la supervivència és major en cas de resecció total, $p > 0,05$.

Els pacients amb prova per descartar recurrència mostren menor supervivència encara que no significativa, $p > 0,05$ (*Diagnosis or Recurrence**).

En els que es realitza *mapping* quan existeix sospita d'afectació d'àrea eloqüent la supervivència és major que si no es realitza, $p > 0,05$ (*Mapping[£]*).

En els gliomes d'alt grau (28) l'ús de 5-ALA millora la supervivència, $p < 0,05$ (*5-ALA[‡]*).

Els gliomes d'alt grau, i especialment en cas de GBM, mostren menor supervivència, $p < 0,05$ (*Glioma Grade¹* = classificació en baix i alt grau, *Grade²* = II, III, IV).

En cas de Ki67 alt (*cut-off* Ki67% ≥ 15%) la supervivència és menor, $p < 0,05$.

La captació de metionina elevada a la PET (*cut-off* RatioT/N^{MCU} ≥ 2,075) disminueix el temps de supervivència, $p < 0,05$.

En cas de mutació IDH-1 o de presència de metilació MGMT, la supervivència és major, $p < 0,05$ (*IDH-1 mutation, MGMT methylation*).

L'alta captació de contrast o un patró en anell o heterogeni a la RM és un factor negatiu per a la supervivència, $p < 0,05$ (*MRI CE = RM amb contrast*).

Survival variables		Mean & Median for survival time (months)							Log-Rank Mantel Cox	
Variable	n (cs* = 9)	Estimated	SE	95% CI	Estimated	SE	95% CI	Chi-square	p-value	
Overall Survival	38	26.538	3.884	18.925-34.150	12.025	1.823	8.452-15.597			
Age at PET (years)	38									
≤50	19	37.095	5.743	25.839-48.351	36.468	19.000	0-73.708	8.983	0.003	
>50	19	16.304	4.197	8.079-24.530	8.903	0.191	8.530-9.277			
KPS presurgery	38									
<70	7	12.977	5.789	1.632-24.323	5.585	2.710	0.274-10.897	6.146	0.013	
≥70	31	29.600	4.423	20.931-38.269	12.452	5.302	2.060-22.844			
Size (cm in axial)	38									
<5	22	36.788	5.396	26.212-47.365	36.468	21.114	0-77.852	12.041	0.001	
≥5 or diffuse	16	12.789	3.319	6.283-19.294	8.772	0.329	8.128-9.416			
Crossing midline	38									
Yes	10	9.945	3.467	3.150-16.740	5.585	0.390	4.822-6.349	12.949	0.000	
No	28	32.464	4.652	23.346-41.581	16.953	14.017	0-44.425			
Postsurgical compl.	38									
No	13	34.632	6.698	21.504-47.760	33.610	15.286	3.649-63.571			
Yes, mild s	8	28.004	9.754	8.887-47.121	12.025	5.250	1.734-22.315	3.070	0.215	
Yes, serious s	17	19.260	4.929	9.600-28.920	8.903	2.254	4.486-13.321			
Surgery †	38									
GTR or NTR	26	28.314	4.747	18.009-36.618	12.025	4.377	3.447-20.603	0.403	0.426	
Partial or Biopsy	12	24.750	6.986	11.057-38.443	9.035	3.386	2.399-15.671			
Surgery in diagnosis †	14									
GTR	5	38.706	8.020	22.987-54.424	41.462	24.509	0-88.500	0.450	0.502	
NTR, Partial, Biopsy	9	28.109	8.040	13.351-43.867	21.224	14.161	0-48.980			
Diag or Recurrence*	38									
Diagnosis	14	32.773	5.794	21.416-44.130	33.610	16.049	2.154-65.066	0.888	0.346	
Recurrence	24	23.155	4.975	13.405-32.905	10.086	1.830	6.500-13.673			
Mapping ε	24									
Yes	14	33.436	5.903	21.866-45.007	30.620	18.255	0-66.400	2.021	0.155	
No	10	17.948	7.019	4.191-31.706	6.801	1.818	3.237-10.364			
5-ALA ‡	28									
Yes	10	29.293	6.864	15.840-42.746	16.953	6.935	3.360-30.545	8.763	0.003	
No	18	10.280	2.742	4.906-15.653	6.801	1.555	3.753-9.849			
Glioma grade ¹	38									
Low	10	47.926	6.604	34.982-60.870	60.025	8.128	44.094-75.955	7.860	0.005	
High	28	18.709	3.686	11.485-25.933	9.035	0.826	7.416-10.653			
Glioma grade ²	10	47.926	6.604	34.982-60.870	60.025	8.128	44.094-75.955			
III	5	40.168	11.452	17.722-62.614	-	-	-	15.516	0.000	
IV	23	13.579	2.614	8.456-18.702	9.035	1.312	6.464-11.606			
Ki67-MIB1 LI	32									
<15%	15	45.180	6.173	33.080-57.279	60.025	9.272	41.851-78.198	11.227	0.001	
≥15%	17	16.365	3.375	9.750-22.980	10.086	1.826	6.508-13.664			
Ratio T/N _{mcu}	38									
<2.075	12	50.584	5.684	39.444-61.724	60.025	-	-	16.161	0.000	
≥2.075	26	14.610	2.738	9.244-19.976	8.838	0.335	8.181-9.494			
IDH-1 mutation	29									
Yes	13	46.561	5.715	35.359-57.763	60.025	7.981	44.381-75.668	14.168	0.000	
No	16	13.977	3.255	7.598-20.357	8.838	0.394	8.065-9.611			
MGMT methylation	28									
Yes	10	48.235	6.224	36.036-60.434	-	-	-	14.321	0.001	
No	18	14.792	3.540	7.854-21.730	8.903	0.361	8.197-9.610			
MRI CE	38									
No	4	59.269	2.162	55.031-63.507	-	-	-			
Low	17	30.060	5.676	19.935-42.184	21.224	18.595	0-57.671	9.390	0.03	
High	17	15.182	4.346	6.665-23.700	7.885	2.404	3.172-12.598			

Taula 21. Variables de supervivència. Descripció dels resultats de les corbes de supervivència de Kaplan-Meier de les figures 34, 35, 36 i 37.

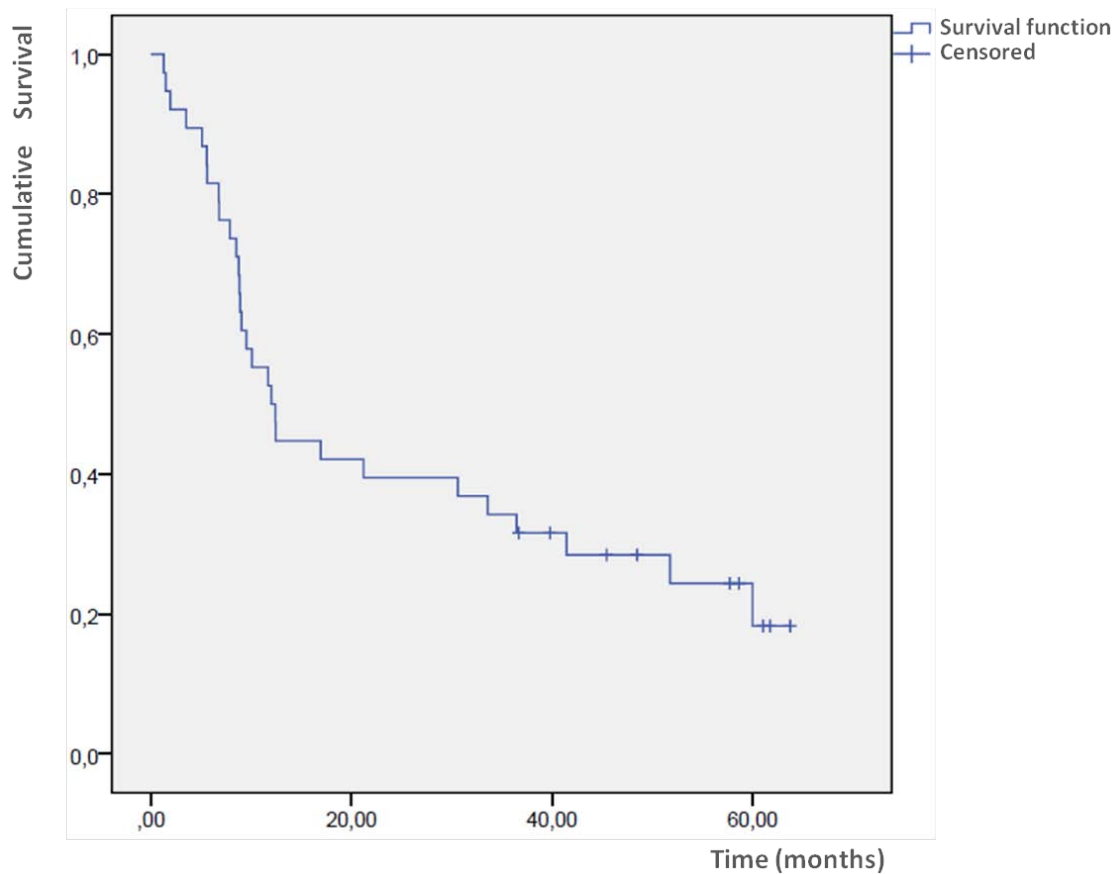


Figura 34. Corbes de supervivència de Kaplan-Meier: Supervivència Global.

La figura 34 mostra les corbes de supervivència global (a dalt), i per les variables (pàgina següent): Segons prova diagnòstica (D) versus per sospita de recurrència o progressió tumoral (R), segons l'edat del pacient al moment de realitzar la prova PET, segons el grau tumoral classificat en baix i alt grau, i segons la Ratio T/NMCU de la PET amb metionina amb un punt de tall de 2,07.

El traçat blau mostra una major supervivència que el traçat verd.

Els valors que creuen en vertical la línia (-+-) corresponen als valors censurats (*censored*^{cs}).

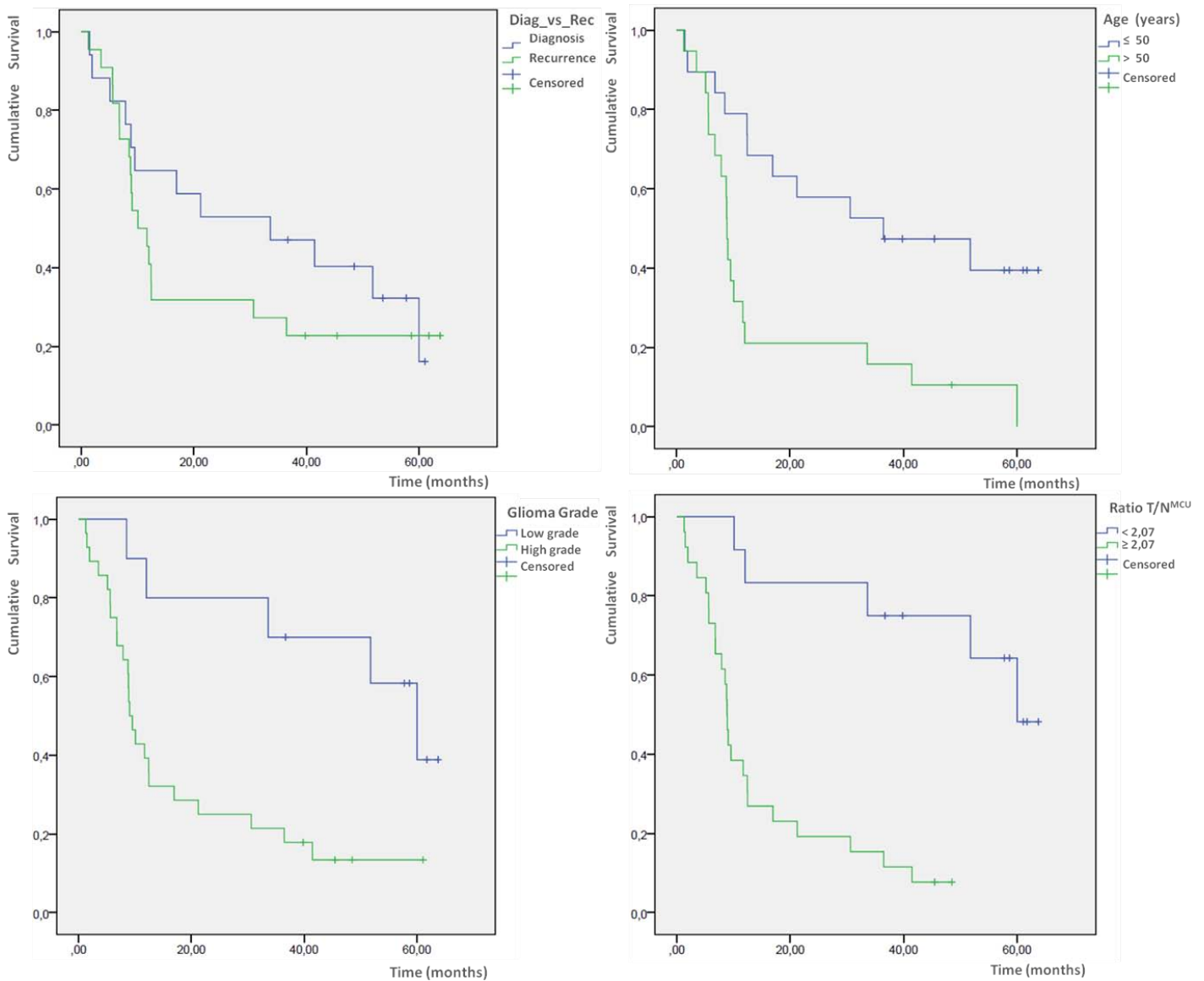


Figura 34. Corbes de supervivència de Kaplan-Meier segons: tipus de prova, edat del pacient, el grau tumoral (baix i alt grau), i la PET amb metionina (Ratio T/N^{MCU}).

La figura 35 (pàgina següent) mostra les corbes de supervivència per a les variables: estatus mutacional de la IDH-1, metilació o no del promotor de la MGMT, Ki67-MIB1 LI %, i el grau tumoral classificat en grau II, III i IV. El traçat blau correspon als pacients que viuen més mentre que el traçat verd i groc mostra els pacients amb menor supervivència.

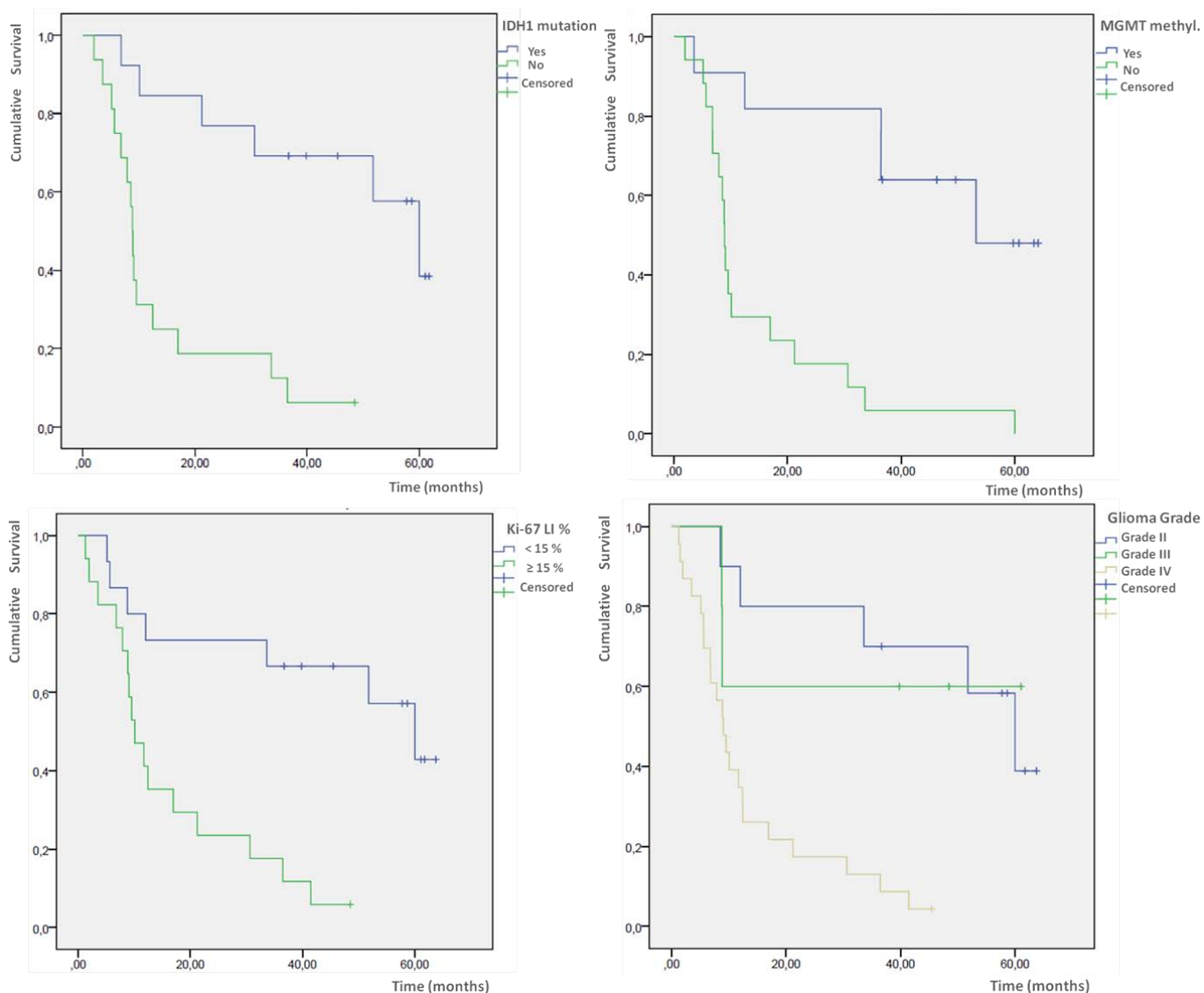


Figura 35. Corbes de Kaplan-Meier segons estudi molecular: estatus mutacional IDH-1 i estatus de metilació MGMT, Ki67% i grau tumoral classificat en classes; II, III i IV.

La figura 36 (pàgina següent) mostra les corbes de supervivència per a les variables: mida tumoral (en cm), creuament o no de la línia mitja, captació de contrast (absència de captació en 4 pacients, lleu i intensa/heterogènia/en anell), i KPS prequirúrgic. Per a la mida el traçat blau correspon a major supervivència i en verd menys. Per al contrast, en blau major supervivència (n = 4 pacients) i els traçats verd i groc mostren els pacients que viuen menys al seguiment. Per al creuament o afectació de la línia mitja i el KPS prequirúrgic el traçat verd correspon a major supervivència.

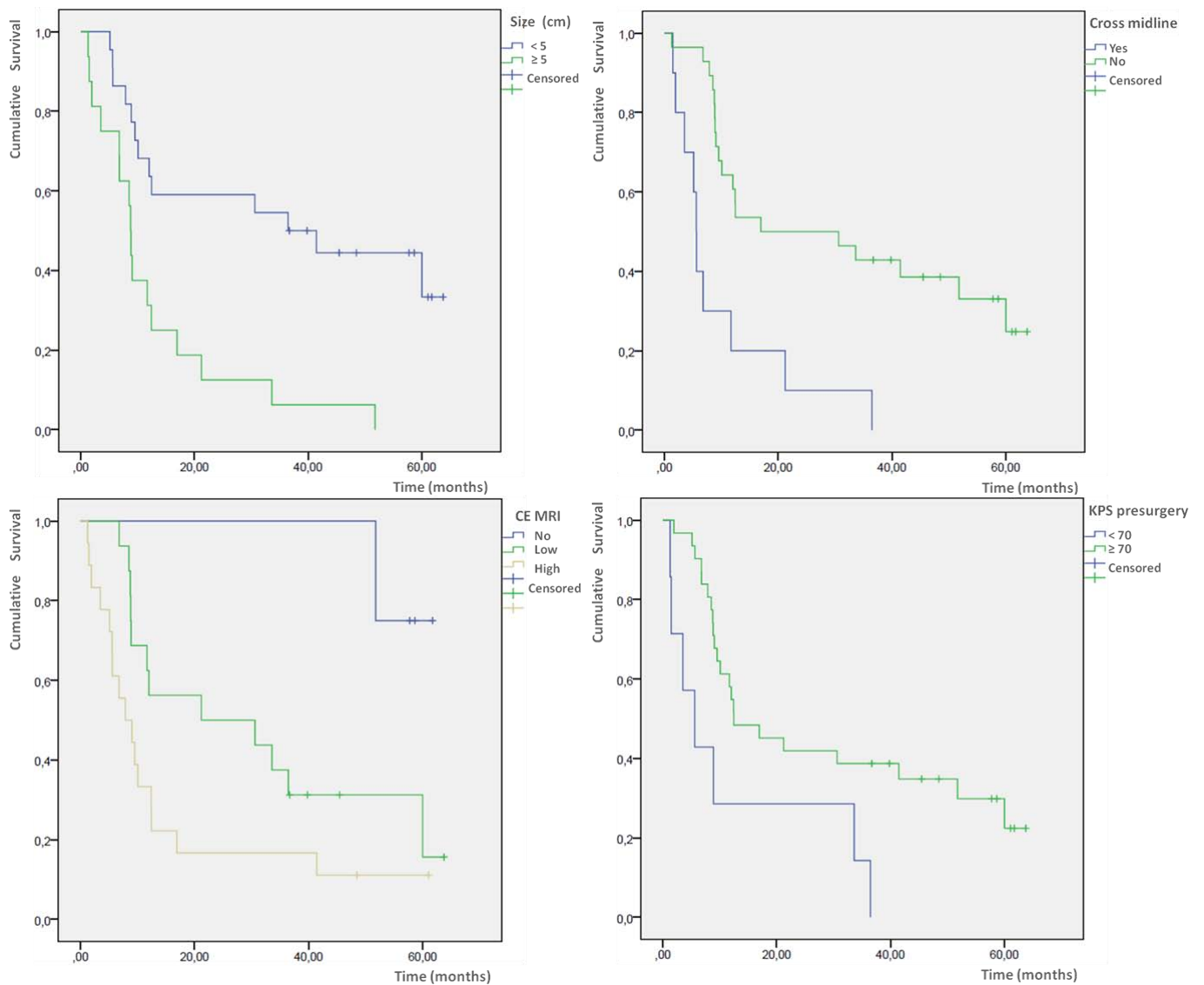


Figura 36. Corbes de Kaplan-Meier segons mida tumoral, creuament de la línia mitja, captació de contrast i KPS prequirúrgic.

La figura 37 mostra les corbes de supervivència per a les variables següents: Cirurgia total *versus* no total en el subgrup de pacients en el que es va realitzar la PET al moment diagnòstic del glioma o cirurgia inicial (traçat verd, major supervivència), Complicacions post-quirúrgiques es divideixen en 3 subgrups: els pacients amb absència de complicacions (traçat blau, major supervivència), complicacions lleus o mínimes (traçat verd) i complicacions greus (traçat groc, menor supervivència). Les altres dues variables de la figura corresponen a l'ús de la tècnica *mapping* o mapatge i de la 5-ALA. L'ús de tècnica *mapping* en cas de pacients amb tumors que afecten àrees eloqüents millorava la

supervivència. L'ús de la tècnica 5-ALA en els gliomes d'alt grau on podia indicar-se millorava la supervivència. *Mapping* i 5-ALA: el traçat blau correspon als pacients amb major supervivència.

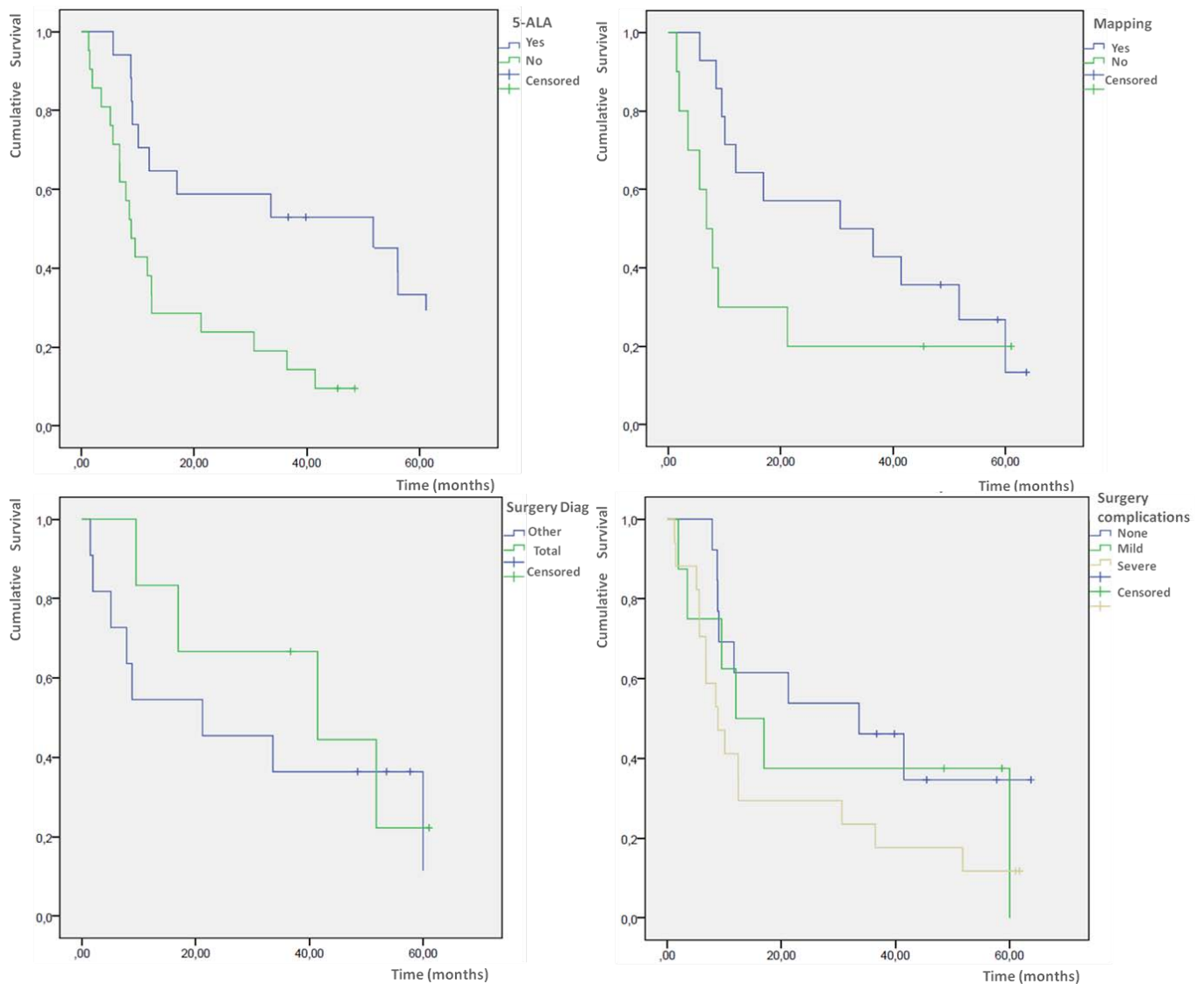


Figura 37. Corbes de Kaplan-Meier segons la cirurgia (en cas de prova diagnòstica o cirurgia inicial), les complicacions post-quirúrgiques, el mapatge (mapping) en cas de tumors en àrees eloqüents, i la resecció amb 5-ALA en gliomes d'alt grau.

5.7. ANÀLISI DELS FACTORS PRONÒSTIC EN GLIOMES

Els factors pronòstic que s'han valorat corresponen als descrits a la secció 5.6. Anàlisi de la supervivència, a la taula 21.

Segons l'anàlisi univariant les variables descrites a la taula 22 representen els factors pronòstics associats a la sèrie tenint en compte la supervivència. Els factors pronòstic s'han analitzat en el grup total dels 38 pacients amb glioma o bé en cada un dels subgrups estudiats amb un nombre n de pacients més reduït: Cirurgia inicial al moment de la PET o PET com a prova diagnòstica en el moment de la cirurgia ($n = 14$), ús de tècnica *mapping* en cas que el tumor es localitzi presumptament en àrea eloqüent ($n = 24$), ús de tècnica 5-ALA en cas de poder estar indicada, en gliomes d'alt grau ($n = 28$), i els marcadors moleculars en cas que s'hagin estudiat metilació MGMT ($n = 28$) i estat mutacional de la IDH-1 ($n = 29$).

No s'ha estudiat la incidència en la supervivència o com a factor pronòstic aquelles variables que podien trobar-se clarament esbiaixades per tipus d'estudi, retrospectiu i que inclou pacients amb prova per recurrència, com és el tractament adjuvant: quimioteràpia i radioteràpia. Tampoc s'ha estudiat la relació entre pronòstic i supervivència entre les troballes immunohistoquímiques del glioma ni per a variables RM, excepte pel contrast. No s'han trobat diferències significatives per a l'ús o no de la carmustina (BCNU) en aquesta sèrie.

Els dos pacients amb localització fonamentalment infratentorial del tumor presenten una molt baixa supervivència (pacients 4 i 5). No s'han trobat diferències significatives segons localització dreta / esquerra.

Per a la PET amb metionina segons la Ratio T/N^{MCU} trobem la major significació estadística per a un *cut-off* de 2,07. També s'han trobat resultats significatius en cas quan s'usa un *cut-off* de 2 que és el valor clàssic amb una $p = 0,001$. En canvi no s'han trobat diferències significatives per a *cut-off* de 1,5 ni de 2,5. No s'han analitzat altres punts de tall per la valoració de la supervivència.

Prognostic factors		n
Age (years)	≤ 50	19 p.
	> 50	19 p.
KPS presurgery	≥ 70	31 p.
	< 70	7 p.
WHO glioma grade	LG	10 p.
	HG	28 p.
Molecular predictors		
IDH-1 mutation	yes	13 p.
	no	16 p.
MGMT methylation	yes	10 p.
	no	18 p.
Ki67-MIB1 %	< 15%	15 p.
	≥ 15%	17 p.
Tumoral size (cm)	< 5	22 p.
	≥ 5 or diffuse	16 p.
Midline crossing	no	28 p.
	yes	10 p.
Surgery at the PET time [†]	NTR or GTR	26 p.
	Partial or biopsy	12 p.
Surgery in case of diagnosis [†]	Total (GTR)	5 p.
	Other (NTR, partial, biopsy)	9 p.
5-ALA in HG [‡]	yes	10 p.
	no	18 p.
Post-surgery complications	no	13 p.
	yes, mild [§]	8 p.
	yes, serious [§]	17 p.
Mapping in case of eloquent area	yes	14 p.
	no	10 p.
Contrast on MRI	no	4 p.
	yes, low	17 p.
	yes, high	17 p.
Ratio T/N ^{MCU} PET methionine	< 2,07	12 p.
	≥ 2,07	26 p.

Taula 22. Factors pronòstic de la sèrie. Distribució dels pacients (n) segons els factors pronòstic estudiats a la sèrie en funció de les següents variables: edat, KPS, grau tumoral (WHO LG = low grade HG = high grade), IDH-1, MGMT, Ki67%, mida del tumor, creuament de la línia mitja, cirurgia (PET time[†] = corresponent al tipus de resecció coincident amb la PET), ús de 5-ALA (HG[‡] = en els gliomes d'alt grau), complicacions quirúrgiques ([§] = lleu *mild* o severa *serious*), *mapping* o mapatge en cas d'afectació d'àrea eloqüent, captació de contrast a la RM, i Ratio T/N^{MCU} de la PET amb metionina.

L'anàlisi multivariant pels factors pronòstic o predictius de supervivència valorats en l' estudi mostra a la taula 23 les variables associades a un increment del risc relatiu (*hazard ratio*) en aquesta sèrie.

L'edat del pacient (al moment de la prova PET) > 50 anys, i la mida tumoral ≥ 5 cm o difusos són factors que incrementen el risc relatiu molt significativament.

Les complicacions post-quirúrgiques greus i una elevada activitat metabòlica a la PET amb metionina, Ratio T/N^{MCU} ≥ 2,07 són factors que incrementen el risc relatiu significativament.

En cas de glioma d'alt grau existeix un increment del risc relatiu. Aquest factor en l'anàlisi multivariant és marginalment significatiu.

Finalment un Ki67-MIB1 LI ≥ 15 % també s'associa a un major risc, però en l'anàlisi multivariant d'aquesta sèrie no és estadísticament significatiu.

La resta dels factors valorats en l'estudi no mostren resultats significatius en l'anàlisi multivariant.

Multivariate analysis for prognostic factors				
Factor	B	Hazard ratio	95% CI	p-value
Age (years) > 50	1.998	7.371	2.557-21.251	0.001
Tumor Size (cm) ≥ 5 or diffuse	2.391	10.928	3.571-33.447	0.000
Ki67-MIB1 LI ≥ 15%	1.340	3.953	1.238-18.291	0.09
Postsurgical complications				
Serious complication	2.630	13.875	3.972-48.471	0.04
Ratio T/N ^{MCU} ¹¹ C-MET ≥ 2.07	1.712	5.539	0.817-37.543	0.05
High grade glioma	1.596	4.935	1.274-19.114	0.07

Taula 23. Anàlisi multivariant per a factors pronòstic. *Hazard ratio* = risc relatiu. CI = *Confidence interval* = interval de confiança.

6. DISCUSSIÓ

6.1. INDICACIONS DE LA PET AMB METIONINA EN GLIOMES

La PET amb metionina s'ha utilitzat fonamentalment per a la valoració de recurrència o progressió tumoral. També s'ha utilitzat en la guia de biòpsia i en la caracterització del tumor bàsicament per a definir el grau tumoral. En menor mesura s'ha usat per a la planificació del tractament, quirúrgic o amb radioteràpia i per al seguiment o valoració de resposta (veure taula 7).

A la nostra sèrie la principal indicació fou la valoració de recurrència o de progressió tumoral (taula 14), que fou la indicació en 24 pacients. Dels 19 restants, en quatre pacients es va realitzar la PET per a dirigir la biòpsia mitjançant el neuronavegador i la fusió de les imatges PET-RM (el pacient 27 a més per a valorar el grau tumoral), en sis per a descartar glioma o tumor cerebral (pacients 31 i del 39 al 43), en quatre per a valorar grau tumoral, i en cinc per a planificació quirúrgica o valorar extensió de la lesió prèvia a la cirurgia amb o sense 5-ALA. Per tant tot i que la indicació majoritària fou la valoració de recurrència o progressió també es va indicar per altres motius.

En la valoració visual de la PET amb metionina, sis pacients es van orientar com a prova negativa (pacients del 38 al 43, taula 15). D'aquests sis, els últims quatre pacients posteriorment es va descartar glioma per les troballes de la RM i el seguiment clínic pel que es consideren veritables negatius (VN). El pacient 39 es va biopsiar de forma dirigida en el context de clínica d'epilèpsia. Finalment el pacient 38 es tractaria d'un fals negatiu (FN) de la valoració visual de la PET en el context de recurrència o persistència de tumor, amb un dipòsit focal molt lleu de captació de metionina que es va donar de negatiu. L'estudi de la Ratio T/N d'aquest pacient donava un valor que orientaria a persistència de tumor de baix grau amb una Ratio T/N > 1,2 segons la literatura [110]. Per altra banda l'evolució clínic del pacient 38 fou excelent.

A la resta dels pacients de la sèrie la valoració visual i quantitativa de la PET es va valorar com a prova positiva. En cinc d'aquests pacients no es disposa d'estudi anatomopatològic coincident amb la PET en el temps (pacients 10, 11,

20, 21 i 25). Es va confirmar el resultat de presència de tumor a la resta dels casos pel que es consideren veritables positius (VP).

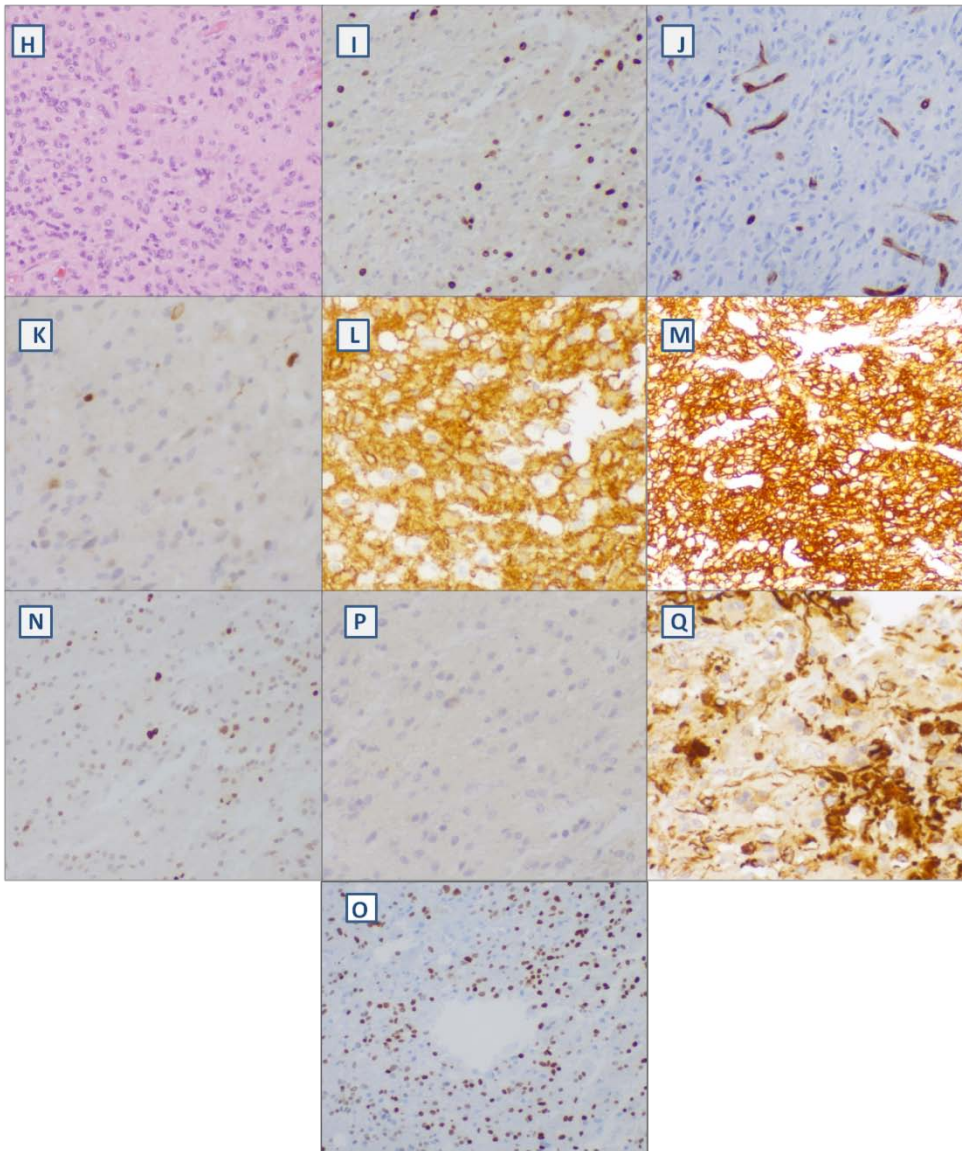
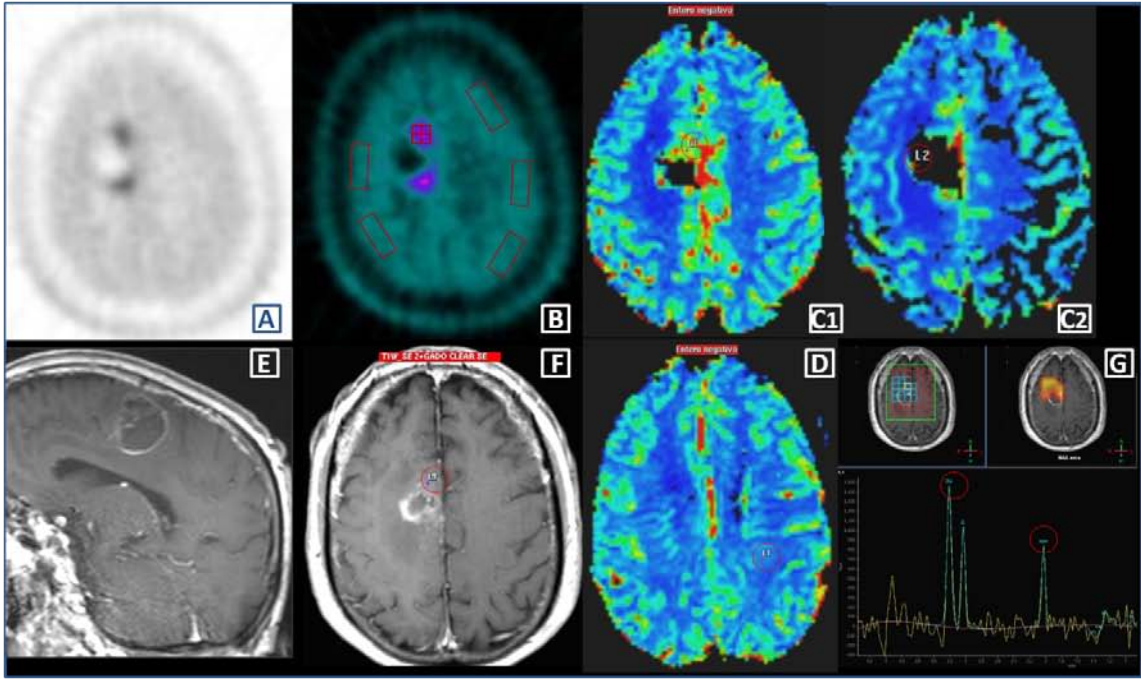
La principal indicació de la PET amb metionina a nivell assistencial és el diagnòstic diferencial entre recurrència o progressió *versus* estabilitat o no progressió [207]. En una metaanàlisi de 26 estudis que valoraven el valor de la PET amb metionina o d'altres traçadors PET per a la valoració de recurrència en gliomes, Nishida T et al. [95] observaven una sensibilitat global del 70% i una especificitat global del 93%. En la literatura s'ha descrit la utilitat de la PET amb metionina en la detecció de recurrència i la seva superioritat respecte altres tècniques PET. Van Laere et al. [97] en una sèrie de 30 pacients amb gliomes de grau II-IV demostren una alta sensibilitat de la PET MET i superior a la de la PET FDG en la detecció de recurrència. Pötzi et al. [129] obtenen resultats similars en un estudi amb 28 glioblastomes. Takenaka et al. [103] troben resultats similars en una sèrie amb gliomes graus III i IV. Aquests últims autors demostren la superioritat de la PET MET en la valoració de la recurrència o progressió en gliomes respecte la PET FDG o la PET amb colina.

La fusió de les imatges de la PET i RM en el neuronavegador en la planificació quirúrgica o de guia de biòpsies en gliomes també s'ha demostrat útil [64] [84] [121]. Pirotte B et al. [84] en un estudi amb 82 gliomes van demostrar la validesa de la tècnica PET amb metionina en la planificació quirúrgica. Per altra banda Braun et al. [121] realitzen un estudi amb 32 pacients per a planificació quirúrgica amb neuronavegador en gliomes, amb integració de les imatges PET amb metionina i de la RM. Els autors troben una major sensibilitat de la PET MET respecte la RM en la diferenciació entre tumor i gliosi o edema.

En la valoració del grau tumoral o de l'agressivitat del glioma la PET amb metionina ha demostrat també la seva utilitat [12]. Aquesta indicació es tractarà extensament en l'apartat 6.2.

La figura 38 mostra el pacient 12. Es va estudiar per a confirmar la sospita diagnòstica de glioma d'alt grau i per a planificar el tractament quirúrgic més adient. La RM del pacient mostrava una lesió frontoparietal dreta amb captació de contrast, perfusió incrementada, amb un índex rCVB de 5,1 i espectrometria amb pic de colina elevat en un dels voxels. Es va orientar com a M1 *versus* tumor glial de probable alt grau. La PET MET es va orientar de positiva visualment i l'índex Ratio T/N^{MCU} va ser de 2,63 i per tant de glioma d'alt grau o de tumor agressiu. El resultat de l'anatomia patològica va ser de glioblastoma amb un Ki67 del 30 %, molt elevat. La immunohistoquímica mostrava expressió de CD44, CD34, EGFR, p53 i WT1, amb negativitat per a la β catenina. L'estudi molecular fou d'absència de mutació IDH-1 i de metilació MGMT. Es va poder realitzar resecció total malgrat la localització a àrea eloqüent, amb l'ajuda de tècniques de *mapping* i de 5-ALA, i es va realitzar tractament adjuvant. No obstant, l'evolució clínica va ser d'èxitus als 9,5 mesos. L'alta captació de metionina, i els paràmetres d'estudi molecular i immunohistoquímics anaven a favor de tumor agressiu i de mal pronòstic. A i B: PET ¹¹C-metionina, B: Càlcul de la Ratio T/N^{MCU} = 2,63. C1, C2, D, E, F i G: RM al moment de la PET. C1: Perfusió RM de la lesió (L3). C2 fou el punt que es va prendre en consideració inicialment, abans de correlacionar les imatges PET i RM: Perfusió de la lesió *no coincident amb l'àrea de captació de la PET* amb rCBV = 3. D. Perfusió RM, *background* (L1), índex rCBV = 5,1. E. Contrast RM (sagital). F. Contrast RM àrea de lesió (L3). G. Espectrometria, elevació del pic de colina (Cho) respecte el pic de Naa al vòxel groc de la quadrícula. H. Tinció H/E: Les característiques mostren el patró de glioblastoma. I. Índex Ki67-MIB1 del 30 %. J. Expressió immunohistoquímica CD34 = 82 %. K. CD44 = 70 %. L. β catenina = negativa. M. EGFR = 160 (segons el producte de la tinció i el %). N. Expressió de la p53 = 7 %. O. Expressió OLIG2 = 53 %. P. Expressió p16 = 1%. Q. Expressió WT1 = 42%.

Figura 38 (pàgina següent): *pacient 12*. A i B. PET amb metionina. C1 i C2. Perfusió RM de la lesió (L3 i L2). D. Perfusió RM, *background* (L1). E i F. Contrast RM. G. Espectrometria. H. Tinció H/E: Glioblastoma. I. Ki67-MIB1. J. CD34. K. CD44. L. β catenina. M. EGFR. N. p53. O. OLIG2. P. p16. Q. WT1. (talls histològics x100 augments).



6.2. LA PET AMB METIONINA PER A DEFINIR EL GRAU TUMORAL

En la literatura s'ha descrit un major grau de captació de la PET amb ^{11}C -metionina per als gliomes d'alt grau, graus III i IV, que pels de baix grau, graus I i II [11] [12] [97] [112] [113] [123]. No obstant pot existir un solapament entre els graus III i IV [12] [108].

Els resultats de la nostra sèrie van en la mateixa línia (figura 29, taula 15). En la figura 29 s'observa una distribució de captació diferent quan es divideixen els pacients en PET negatiu, gliomes de baix grau i d'alt grau, així com quan es divideixen entre els graus II i III i IV. Els glioblastomes (IV) presenten una major captació que els astrocitomes anaplàstics (III) tot i que existeix un clar solapament en la diferenciació entre III i IV. Aquests resultats són similars als de la literatura. En la taula 15 els pacients 28, 29 i 34 es classifiquen de baix grau per PET malgrat que es tracta de gliomes d'alt grau. Els pacients 28 i 29 mostraven una Ratio T/N^{MCU} que és propera al punt de tall o *cut-off* de separació entre baix i alt grau. A més en el cas del pacient 28 la quantificació mitjançant els paràmetres SUVmax i Ratio T/N^{CA} corresponien més a un glioma d'alt grau que de baix grau. La mostra histològica del pacient 29 mostrava teixit tumoral de grau II i de grau III i per tant mostrava un patró mixt. En el cas del pacient 34 l'índex Ki67 % era més similar als de baix grau que als d'alt grau. El pacient 35 inicialment es tractava d'un glioma grau III però al moment de la PET el resultat de la cirurgia fou de grau II probablement com a resposta al tractament pel que es va considerar que la PET el va classificar correctament. El pacient 21 en teoria fou classificat erròniament per la PET com a glioma d'alt grau amb un resultat de la biòpsia de grau II. No obstant en aquest cas hi havia dues àrees hipermetabòliques: una de més superficial i de menor captació de metionina amb una Ratio de 2 que es va biopsiar, i una de més profunda a la que no es va poder accedir per la biòpsia, de major captació de metionina. L'evolució clínica d'aquest pacient fou la d'un glioma d'alt grau. Per altra banda, la PET va classificar correctament d'alt grau la majoria dels pacients de la nostra sèrie.

El punt de tall o *cut-off* segons la Ratio T/N de la PET per a diferenciar entre gliomes de baix i alt grau i l'evolució clínica o supervivència varia segons els autors (figura 39, caselles de color blau).

En la figura 30 la corba ROC mostra que un *cut-off* òptim, en la nostra sèrie, de 2,07 per a diferenciar entre els gliomes de baix i alt grau, amb una bona sensibilitat (S) i especificitat (E), per als 32 pacients de que disposem de dades anatomopatològiques correlatives en el temps amb la PET amb metionina. Si bé existeix un consens entre diferents autors per a un valor de *cut-off* proper a 2,1 en la diferenciació entre gliomes de baix i alt grau, el rang oscil·la entre 1,8 i 2,4 segons les sèries publicades. Aquesta variabilitat depèn no només del nombre de pacients inclosos en cada estudi (n), sinó també de la inclusió o no de pacients pediàtrics, de la inclusió o no de gliomes de grau I o d'altres tumors cerebrals no gials, la inclusió d'un major nombre de gliomes de baix o d'alt grau, de les característiques del tomògraf PET en què es varen realitzar les proves, i en el mètode de quantificació per a la Ratio T/N; segons la Ratio T/N^{CA} , de la Ratio T/N^{MCU} o d'altres variants de càlcul en la quantificació.

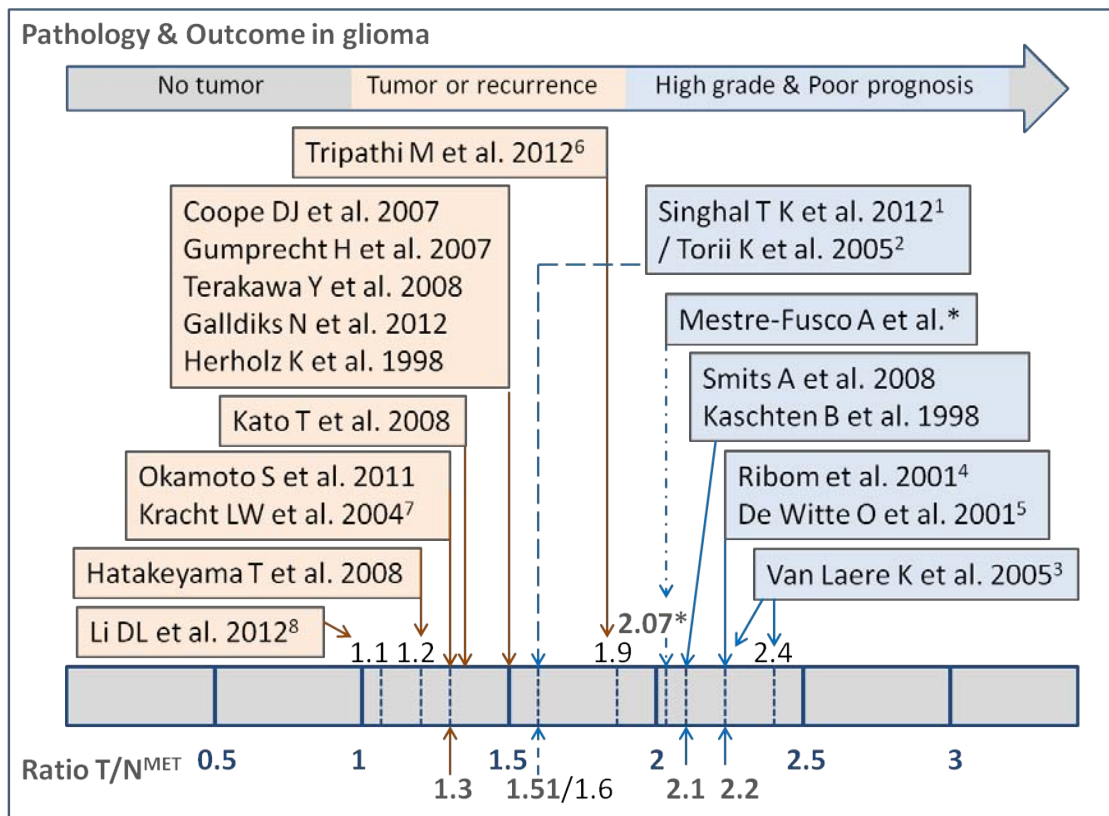


Figura 39. Comparació Ratio T/N PET ^{11}C -metionina per autors (*cut-off*). *Segons resultats de la nostra sèrie. ¹Singhal T et al. [107] en una sèrie de 102 pacients que inclou pacients pediàtrics i glioma de grau I, estableixen un *cut-off* de 1,51 per a classificar-los de millor o pitjor supervivència. ²Torii K et al. [112] en una sèrie de 67 pacients que inclou pacients pediàtrics i altres tumors, estableixen un *cut-off* en un rang de 1,6-1,8 per a la valoració de la supervivència i el grau tumoral. ³Van Laere K et al. [97] en una sèrie de 30 pacients tractats de glioma i per valorar recurrència, estableixen un *cut-off* de 2 per la recurrència tumoral i de 2,2-2,4 per a la valoració de la supervivència. ⁴Ribom et al. [131] en una sèrie de 89 gliomes de baix grau estableixen el valor *cut-off* de 2,2 per a la valoració de supervivència. Ribom et al. calculen diferents índexs o Ratio T/N i troben una bona correlació entre la Ratio T/N^{MCU} i T/N^{CA}. ⁵De Witte O et al. [208] en una sèrie de 85 gliomes de diagnòstic inicial o en recurrència, troben resultats similars a Ribom et al. ⁶Tripathi M et al. en una sèrie de 35 pacients per a la valoració de recurrència en gliomes estableixen un *cut-off* de 1,9. ⁷Kracht LW et al. [119] en un estudi de PET amb metionina i guia de biòpsia en 30 gliomes, per diagnòstic o recurrència, estableixen un *cut-off* de 1,3 per a diferenciar entre la presència o no de tumor. ⁸Li DL et al. [100] en un treball amb 44 pacients amb sospita de glioma estudiats amb PET amb metionina observen un *cut-off* de 1,1 per a diferenciar entre lesions tumorals benignes i gliomes. El punt de tall més acceptat per al diagnòstic diferencial entre tumor i no tumor és de 1,3.

El 1998 l'estudi de Kaschten B et al. [123] ja va demostrar la capacitat de la PET amb metionina en la gradació dels gliomes. Els autors van valorar en 41 pacients (dels 54 gliomes valorats amb FDG i/o MET) amb sospita diagnòstica de glioma, la correlació entre la PET amb metionina i el resultat anatomopatològic. L'anàlisi de les seves dades incloïa la valoració visual i quantitativa amb cinc índexs diferents per al càlcul de la Ratio T/N. Els resultats demostraven valors diferents per a cada un dels índex. En el cas de la Ratio T/N^{MCU} observaren uns valors de mitja±DE de 1,64±0,62 en els de grau II, 1,98±0,62 en els grau III i de 2,79±0,71 en els glioblastomes, tot i que existia un solapament entre els de grau II i de grau III. A més estableixen un valor *cut-off* per a la supervivència de 2,1. Els gliomes amb Ratio T/N^{MCU} de $\geq 2,1$ mostraven un pitjor pronòstic. En l'estudi de Singhal et al. [107] observaren una mitja de Ratio T/N per gliomes de baix grau (I i II) de 1,56±0,74 i de 2,15±0,77 per als d'alt grau (III i IV). A la nostra sèrie la mitja±DE fou similar en els grau II i en els grau III, i major en els glioblastomes.

Contràriament Ceysens et al. [108] conclouien que la PET amb metionina no era l'eina adequada per a l'estudi de gradació o de supervivència en gliomes. Estudiaren la correlació entre l'activitat metabòlica de la PET i l'examen anatomopatològic i la supervivència, en 52 pacients per diagnòstic o

recurrència de glioma, inclosos gliomes de grau I i pacients pediàtrics. Els autors observaren un clar solapament entre els graus II, III i IV en la seva valoració per la Ratio T/N de la PET. No obstant l'interval entre la realització de la PET i l'anatomia patològica tumoral era de fins a 12 mesos.

Molts autors inclouen pacients pediàtrics o altres tumors no glials a la seva sèrie [107] [112]. Utriainen et al. [209] en un estudi amb 27 pacients pediàtrics amb diagnòstic inicial de glioma, observaven un solapament entre els de baix i alt grau tot i que els gliomes d'alt grau mostraven major captació de metionina. En aquest estudi 16 dels 27 pacients eren de grau I.

Alguns estudis únicament incloïen gliomes ja tractats i per sospita de recurrència o progressió tumoral [97] i en d'altres només per a diagnòstic inicial en gliomes [84][120][121]. No obstant en la majoria d'estudis publicats s'inclouen tant gliomes de diagnòstic inicial com per a la valoració de recurrència [11] [12].

En les sèries publicades per Ribom D et al. [131] i Smits A et al. [25] van incloure únicament gliomes de baix grau per a la valoració de la gradació tumoral i de la supervivència mitjançant la PET amb metionina.

D'altra banda per a la quantificació de la Ratio T/N en la PET amb metionina, s'ha utilitzat diferents mètodes (figura 18). Els dos mètodes més utilitzats són la Ratio T/N^{CA} i la Ratio T/N^{MCU} . En la nostra sèrie observem una bona correlació entre el mètode de càlcul de la Ratio T/N^{CA} i T/N^{MCU} (figura 28). Cal tenir en compte que la distribució normal o fisiològica de la metionina varia segons el territori cerebral estudiat segons demostraren Coope et al. [87]. Així l'índex Ratio T/N^{CA} pot presentar algunes variacions segons on es localitzi l'àrea de referència contralateral a la lesió estudiada. No és el mateix aplicar una ROI de referència contralateral (CA) a un tumor temporal que en un occipital. La captació de metionina és menor per als ganglis de la base respecte als territoris temporal, parietal o frontal, i major per a l'occipital i el tàlem, i encara molt més incrementada en el cerebel. En aquest sentit la Ratio T/N^{MCU} pot minimitzar aquestes diferències i corregir en part aquest error en el càlcul de l'àrea de referència o teixit sà ja que calcula el promig de SUV de varies regions. A la

sèrie presentada en aquest estudi la majoria de lesions es localitzen a temporal, parietal i frontal.

La majoria d'autors inclouen tumors glials amb presència de component *oligo*; oligodendrogliomes o oligoastrocitomes. A diferència de les dades publicades en la literatura per Giammarile F et al. [109] i Shinozaki N et al. [115], en la nostra sèrie no observem diferències en la captació de metionina en funció de la presència de component *oligo*. Això es deu a que a la nostra sèrie únicament disposem de cinc pacients: tres oligodendrogliomes, un oligoastrocitoma i un oligodendroglioma anaplàstic (taula 15). No obstant cal tenir en compte que els dos pacients estudiats per la PET per recurrència d'oligodendroglioma, pacients 36 i 38, mostraven una Ratio T/N menor al pacient 32, un oligodendroglioma i al pacient 30, un oligoastrocitoma, estudiats per diagnòstic. Aquests dos últims (pacients 30 i 32) mostraven una Ratio T/N > 1,46 que és el punt de tall definit per Shinozaki N et al. en tumors oligodendroglials en diagnòstic inicial.

Les diferències entre sèries publicades en la valoració de la gradació per a la PET amb metionina i per a un punt de tall o *cut-off* en la diferenciació entre gliomes de baix i d'alt grau depenen per tant de molts factors que cal tenir en compte. En la nostra sèrie, predominen els glioblastomes, s'inclouen gliomes en valoració diagnòstica i per recurrència o progressió, i no s'inclouen pacients pediàtrics, ni gliomes de grau I, ni tumors no glials.

6.3. RELACIÓ ENTRE LA PET, LA PROLIFERACIÓ CEL·LULAR I EL PERFIL MOLECULAR

L'expressió de Ki67-MIB-1 ha demostrat tenir un valor pronòstic i en el maneig clínic de pacients diagnosticats de gliomes [28] [34]. Els gliomes que expressen un major percentatge de Ki67 presenten una major agressivitat tumoral i es consideren marcadors de supervivència [35].

Per altra banda Kato T et al. [111] [210] en un estudi per a diagnòstic de gliomes de baix grau van demostrar que existeix una relació entre l'activitat metabòlica tumoral per la metionina i l'expressió de l'índex de proliferació cel·lular o Ki67/MIB-1 en astrocitomes de baix grau ($r=0,63$ i $p<0,05$) tot i que

no van demostrar correlació en el cas d'oligodendrogliomes o oligoastrocitomes. Kim S et al. [130] en un estudi retrospectiu amb 47 pacients diagnosticats de gliomes de graus II, III i IV també troben correlació entre la captació de la PET amb metionina i l'índex Ki67% ($r=0,64$ i $p<0,01$). Els resultats del nostre estudi són similars als d'aquests dos autors. En la figura 31 s'observa que existeix una correlació significativa entre els dos paràmetres ($r=0,61$ i $p<0,01$). Malgrat això existeixen alguns valors que s'allunyen de la recta (cercle blau): tots sis pacients es tractaven de gliomes d'alt grau agressius, la majoria glioblastomes, i un astrocitoma anaplàstic. D'aquests sis pacients, els pacients 1, 2, 16 i 28, eren glioblastomes en recurrència confirmada per la PET. El glioblastoma és un tumor molt heterogeni i pot presentar àrees molt proliferatives i d'altres totalment necròtiques. Per altra banda el pacient 9 era un astrocitoma de debut, grau III difús i extens, molt agressiu.

Per altra banda el treball de Shinozaki N et al. [115] mostra correlació entre la PET amb metionina i l'índex Ki67% en els gliomes astrocítics però no en troba per als gliomes oligodendroglials. Als resultats de l'estudi no es descriuen els pacients individualment pel que fa als valors de la Ratio T/N i el Ki67%. Els autors defensen que l'elevada Ratio T/N no reflecteix la proliferació cel·lular en els oligodendrogliomes grau II de la seva sèrie.

En sentit oposat als nostres resultats i als d'autors esmentats prèviament, Miyake et al. [153] que compara diferents tècniques de PET en gliomes troba una menor correlació entre l'índex Ki67% i la PET amb FDG o amb metionina. En canvi descriu una bona correlació entre la Ki67% i la PET amb FLT. Hatakeyama et al. [110] troba una menor correlació entre la PET amb metionina i l'índex Ki67% que per a la PET amb FLT, malgrat que conclou que sí que existeix correlació entre la metionina i el Ki67%.

El perfil molecular en gliomes inclou l'estudi de la mutació IDH-1, de la metilació MGMT i de la presència de la codelecció LOH 1p/19q. Tots tres paràmetres s'han relacionat amb la supervivència i el maneig clínic dels pacients diagnosticats de glioma. S'ha descrit que la mutació d'IDH-1, la metilació del

promotor de la MGMT i la presència de la codelecció LOH 1p/19q són factors de millor pronòstic en gliomes [20] [24].

En la nostra sèrie la mutació IDH-1 s'ha estudiat en 29 pacients (taula 15). D'aquests, la majoria, 16 pacients, presentaven absència de mutació i es van classificar d'alt grau per la PET amb metionina. Dels 10 classificats de baix grau per la PET, nou presentaven mutació IDH-1 i per tant millor pronòstic des del punt de vista del marcador molecular. Per altra banda quatre pacients d'alt grau presentaven mutació IDH-1 i un de baix grau no mostrava mutació. Segons els resultats de la sèrie (Taula 17, de contingència. Chi-Square test, Fisher exact test, $p = 0.001$) podem concloure que existeix una relació entre la presència de la mutació i un menor grau de captació per la PET amb metionina. Cal tenir en compte els casos en què malgrat tractar-se de glioblastomes s'observa mutació IDH-1 que en la nostra sèrie són els pacients 3, 11, 16 i 18. Els glioblastomes primaris representen entre el 90-95 % del total del GBM, mentre que els secundaris només representen del 5-10%. La presència de mutació IDH-1 és freqüent en els GBM secundaris però és molt rara en els primaris, del 4 al 7 % [23]. El pacient 3 (taules 15 i 19), classificat com a glioblastoma primari, presenta mutació IDH-1 i mostra una alta activitat metabòlica per la PET, un alt índex Ki67, una perfusió i espectrometria en la RM elevades. Aquest pacient es va tractar d'un glioblastoma amb el protocol Stupp. La seva supervivència fou de gairebé 2 anys, superior a altres glioblastomes de la sèrie. Molt rarament els glioblastomes primaris presenten mutació IDH1 [20] [23], i quan es presenta, el pronòstic és millor [24] [42]. Els pacients 11, 16 i 18 en canvi es poden classificar com a secundaris i, en aquest cas, presenten la mutació IDH-1. A més els pacients 16 i 18, presenten una major supervivència dins del grup de glioblastomes. Respecte el grup de gliomes classificats per la PET de baix grau el pacient 27 mostra absència de mutació IDH-1. Es tractava d'un A II amb una Ratio T/N per a la PET més alta que la resta dels astrocitomes grau II, de 2,05. Aquest pacient va presentar una pitjor supervivència a la d'altres gliomes de baix grau de la sèrie. S'ha descrit que únicament un 7% dels A II absència de mutació IDH-1, absència de delecó LOH 1p/19q i de mutació TP53, la proteïna del gen p53, que es classifiquen com a "triple negatiu" i amb un comportament clínic diferent a la resta

d'astrocitomes de baix grau [23]. El pacient 27, si bé no tenim l'estudi molecular de la mutació TP53, no expressa immunoreactivitat per al gen p53, ni mutació IDH-1 ni deleció LOH 1p/19q i podria tractar-se d'un A II triple negatiu.

Tal com s'ha comentat prèviament, la mutació IDH-1 la trobem en la majoria dels gliomes de baix grau ja siguin astrocitomes, oligodendrogliomes o oligoastrocitomes [24][211], i també en astrocitomes de grau III i en alguns glioblastomes [23]. La mutació IDH-1 s'ha relacionat amb la gliomagènesi, pel que la IDH-*mutant* podria relacionar-se més amb el procés d'iniciació tumoral que no pas amb el procés de progressió del glioma [21] [211].

La presència de metilació del promotor del gen de la MGMT és una altra de les troballes moleculars que defineixen el pronòstic i el maneig dels gliomes [41]. En taula 16 s'observa que dels 19 pacients classificats d'alt grau per la PET, 15 d'ells no presenten la metilació MGMT. Per contra en els de baix grau definits per a la PET, la presència de metilació representa més de la meitat dels casos. Aquests resultats no són significatius estadísticament. La distribució de la presència o no de metilació de la MGMT entre gliomes és més variable que en el cas de les mutacions IDH. Els gliomes de baix grau poden presentar-les i són molt més freqüents en el cas dels astrocitomes amb component *oligo*: oligoastrocitomes i oligodendrogliomes, ja siguin de grau II o bé de grau III, i són més freqüents en glioblastomes a diferència de les mutacions IDH o les codeleccions LOH 1p/19q [20]. Una explicació de la relació entre major captació de la metionina i una major supervivència en el grup dels glioblastomes estudiats és una millor resposta als agents alquilants de la quimioteràpia com és la temozolamida [24] [43]. Així la relació entre un pitjor pronòstic en el cas de major activitat per a la PET i l'absència de la metilació de la MGMT tindria més a veure amb la resposta al tractament adjuvant que no pas per l'estat metabòlic cel·lular en relació a la síntesi proteica de la cèl·lula tumoral. De fet, la presència de metilació depèn més de les característiques histopatològiques com la presència del component *oligo* que no pas del grau tumoral, ja que els oligoastrocitomes i oligodendrogliomes anaplàstics, i per tant d'alt grau, la presenten pràcticament en la mateixa freqüència que en el cas dels de baix grau. En aquest sentit és discutible la utilitat de la PET per oferir una informació pronòstic o de diagnòstic diferencial respecte la presència o no de metilació de

la MGMT. Tot i així, recentment, Okita et al. [212] en un estudi pilot amb 20 pacients amb gliomes grau II i III troben una relació entre la Ratio $T/N^{CA} \geq 1,6$ a la PET MET i la presència de metilació MGMT $\geq 3\%$. La meitat dels seus pacients amb metilació MGMT mostren un rang de Ratio T/NCA entre 1,5 i 2,1 i a la sèrie tenen casos amb Ratio T/N elevada i no metilats i casos amb Ratio T/N baixa i amb metilació.

En la nostra sèrie tots els pacients amb component *oligo* mostraven la metilació de la MGMT (taula 15). En concret el pacient 18 presentava un patró mixte de GBM i oligodendroglioma anaplàstic amb presència de metilació MGMT així com de mutació IDH-1 i codeleció LOH 1p/19q i és un dels pocs gliomes d'alt grau de la sèrie que continua viu gràcies a una bona resposta al tractament adjuvant combinat (taula 19).

La presència de codeleció o LOH 1p/19q únicament s'estudia en cas de gliomes amb component *oligo* de baix o d'alt grau i en cas que per immunohistoquímica s'expressi OLIG2 [9]. A la sèrie presentada hi ha pocs casos d'oligodendrogliomes i només un cas d'oligoastrocitoma. Per aquest motiu només s'inclouen 13 pacients en els que es va valorar la doble deleció. D'aquests únicament cinc casos presentaven LOH 1p/19q en l'estudi molecular, dos d'ells d'alt grau i tres de baix grau.

Saito T et al. [50] en un estudi de 2013 realitzat amb 102 pacients diagnosticats de tumors oligodendroglials graus II i III, troba relació entre la Ratio T/N de la PET amb metionina i la presència de LOH 1p/19q. Els autors observen que en tumors oligodendroglials amb codeleció LOH 1p/19q mostren una major Ratio T/N, amb un punt de tall de Ratio T/N $\geq 2,46$, amb diferències significatives entre LOH 1p/19q positiu versus LOH 1p/19q negatiu. També observen que la captació de metionina és major en grau III que en grau II. A la nostra sèrie trobem dos casos de gliomes d'alt grau, els pacients 3 i 18, amb una Ratio T/N incrementada i LOH 1p/19q positiva. En el cas del pacient 18 la Ratio T/N^{MCU} és de 2,26. Cal tenir en compte, no obstant, que el mètode de càlcul de la Ratio de Saito et al. és diferent ja que en el seu treball descriuen la Ratio T/N^{CAf} que consisteix en dividir la SUVmax del tumor per l'activitat metabòlica contralateral a la regió frontal sana. Jenkinson et al. [213] van presentar un treball on

relacionaven una perfusió incrementada en la RM per l'índex CBV en tumors oligodendroglials amb presència de LOH 1p/19q. Els pacients 3 i 18 de la nostra sèrie mostren índex CBV elevada i Ratio T/N elevada. No obstant en la nostra sèrie trobem tres casos amb una captació menor de la PET amb metionina, no només per la Ratio T/N sinó també visualment.

En el treball de Shinozaki N et al. [115], ja comentat prèviament, dels 24 pacients amb tumors oligodendroglials estudiats, els que presentaven la codeleció LOH 1p/19q mostraven una Ratio T/N més baixa. A més existia un solapament de valors de la Ratio T/N en els dos grups. Aquest estudi mostra uns resultats contraris als de Saito T et al. [50]. En aquest sentit la nostra sèrie, amb només 5 casos amb LOH 1p/19q, tres amb Ratio T/N baixa i dos amb Ratio T/N alta, quadra millor amb els resultats de Shinozaki N et al. Amb les dades del nostre treball no podem extreure conclusions sobre la relació entre la captació de la PET i la presència de LOH 1p/19q.

En resum al nostre estudi existeix una correlació entre la captació de la PET amb metionina i l'índex Ki67%, i pot existir una relació entre la presència de mutació IDH1 i un menor grau de la PET. L'increment de la proliferació cel·lular expressada amb la Ki67 i la major desdiferenciació del tumor que es troba en absència de mutació IDH-1 poden explicar un increment de l'activitat metabòlica a la PET. Actualment no s'ha publicat cap estudi respecte la caracterització de la mutació IDH-1 i la PET amb metionina.

6.4. RELACIÓ ENTRE LA PET EL PERFIL IMMUNOHISTOQUÍMIC

La taula 18 i la figura 32 mostren els resultats del perfil immunohistoquímic per als 19 pacients en que s'ha estudiat. Així com l'estudi molecular permet valorar el *status* de mutació dels gens p53, p16, WT1, i EGFR, l'estudi immunohistoquímic en valora la seva expressió proteica.

En la nostra sèrie, amb una mostra reduïda de casos estudiats, trobem una relació significativa entre la negativitat de l'expressió immunohistoquímica de la proteïna p53 i la WT1 i una menor captació de la metionina amb una menor Ratio T/N. Per altra banda també trobem una relació marginalment significativa

entre l'expressió de la p16 i una menor activitat metabòlica de la PET. El pacient 30 mostra tinció de p16 clarament incrementada a diferència de la resta p16 negatius i amb baixa captació de metionina. S'ha descrit una correlació entre els tumors oligodendroglials, com és el cas d'aquest pacient, i l'expressió de p16 [214].

El p53 i el p16 són gens supressors que regulen el cicle cel·lular i actuen com a factors promotors de l'apoptosi o mort cel·lular. La mutació de p53 i la deleció o metilació de p16 formen part de la cascada d'esdeveniments que condueixen a la proliferació tumoral del glioma (taula 4, introducció) [41] [44]. El gen supressor WT1 (*Wilms tumor suppressor gene*) interactua amb l'activitat del gen p53 potenciant l'apoptosi. La mutació del gen WT1 juga un paper en la gènesi tumoral dels astrocitomes i els gliomes d'alt grau poden expressar alts nivells de proteïna WT1 [215]. L'expressió de WT1 s'ha associat amb astrocitomes difusos, d'edat avançada, amb absència de mutació IDH-1 i de pitjor pronòstic. Aquest és el cas del pacient 27, amb una Ratio T/N de 2,05. El pacient 9, un astrocitoma anaplàstic difús, mostra una elevada expressió de WT1, i en aquest cas una Ratio T/N més elevada, corresponent a un glioma d'alt grau.

Per altra banda a la figura 32 s'observa la gran variabilitat en l'expressió immunohistoquímica de p53, p16 i WT1 en el cas dels glioblastomes, i que a més no guarda relació amb la intensitat de l'activitat de la PET (taula 18). Com ja s'ha comentat el glioblastoma és un tumor molt heterogeni tant en la seva gènesi tumoral com en la resposta al tractament.

Observem una nul·la relació entre l'expressió immunohistoquímica de la EGFR (*epidermal growth factor receptor*) i l'activitat metabòlica de la PET. La variabilitat de l'expressió proteica de la EGFR a la nostra sèrie tant per a gliomes de baix com d'alt grau l'observem en la figura 32. La mutació del gen EGFR s'ha associat amb el creixement tumoral per alteració del control de l'apoptosi, i es relaciona amb la proliferació, angiogènesi i invasió del glioma. La immunoreactivitat de la proteïna EGFR és un dels estudis en immunohistoquímica per a classificar el subtipus histològic del glioma, entre clàssic, mesenquimal i proneural i que a més s'ha relacionat amb una major

agressivitat tumoral [9]. No obstant en el cas del GBM entre un 40-73 % mostren immunoreactivitat per a la proteïna EGFR, i els gliomes de baix grau també poden expressar-la de forma variable [9]. Per altra banda l'estudi molecular de l'amplificació de la mutació del gen EGFR i no pas la valoració immunohistoquímica, és el que ha definit la valoració pronòstic i l'agressivitat tumoral [20] [24] [44]. El nostre estudi no inclou l'estudi molecular de l'amplificació del gen EGFR.

Tampoc observem relació entre l'expressió de la proteïna OLIG2 (*oligodendrocyte transcription factor 2*) i la captació de la PET. De fet, l'expressió de la proteïna OLIG2 no va relacionada amb l'agressivitat tumoral sinó amb la diferenciació oligodendroglial per a cada lesió tumoral [9] [44].

Els marcadors o proteïnes de membrana CD (*cluster of differentiation*) CD34 i CD44 també s'han relacionat amb una major agressivitat tumoral. Concretament el marcador CD44 s'ha relacionat amb l'activació o iniciació del tumor, amb l'adherència cel·lular. Gliomes que expressen major intensitat o percentatge de marcador CD44 en immunohistoquímica mostren major potencial de migració i invasió tumoral. No s'observa relació entre l'activitat de la PET i l'expressió proteica de la CD44 a la sèrie. El pacient 29, AA II / III, i el pacient 18, GBM mixte / OD III, mostren una baixa expressió de CD44 amb un 10% i 25 % respectivament. Aquests dos pacients segueixen vius al moment de tancament de l'estudi.

Kracht et al. [119] i Nojiri et al. [216] van observar una relació entre la densitat microvascular del glioma i l'activitat de la PET amb metionina. Per altra banda l'expressió del marcador CD34 s'ha relacionat amb la densitat vascular del tumor. Okubo S et al. [105] en un estudi amb 33 pacients amb diagnòstic inicial de glioma (14 gliomes de baix grau, 7 grau III i 12 GBM) van comparar l'activitat de la PET amb metionina amb l'expressió immunohistoquímica del transportador d'aminoàcids LAT1 (*L-Type amino acid transporter 1*). Els autors van quantificar l'expressió de LAT1 de +, ++ i +++ en funció de menys a més intensitat en la tinció dels vasos observats en el microscopi de la mostra histològica obtinguda. Per al càlcul de la semiquantificació de la PET van utilitzar el SUVmax com a paràmetre d'activitat metabòlica del tumor. No van

utilitzar la Ratio T/N. Van trobar una relació entre l'expressió del LAT1 i la captació de la metionina. L'expressió immunohistoquímica de LAT1 s'incrementava en glioblastomes (++ i +++) tant en vasos com en cèl·lules i disminuïa en els gliomes de baix grau (+ i ++). Per altra banda troben una relació en el SUVmax de la PET i l'expressió del LAT1. Els autors relacionen l'expressió del LAT1 amb l'expressió del marcador CD34, i conclouen que existeix una relació entre l'activitat de la PET amb metionina i la densitat vascular del tumor. Al nostre estudi s'ha comparat la Ratio T/N de la PET amb l'expressió del marcador CD34, en %, en 19 pacients on predominen els glioblastomes. A la sèrie presentada observem una major variabilitat en l'expressió de CD34 en el cas dels glioblastomes amb una dispersió de valors en % de CD34. En canvi en el grup reduït de gliomes de baix grau estudiats, inclòs el pacient 39 que histològicament és una gliosi i no un glioma, trobem valors més alts d'expressió de CD34, i una distribució lineal: a major activitat de la Ratio T/N, major expressió de CD34 (figura 32). El glioblastoma és un tumor molt heterogeni i per tant presenta àrees necròtiques i àrees més proliferatives i amb major densitat vascular. Per altra banda a la nostra sèrie s'inclouen glioblastomes en recurrència pel que existeix un efecte de la teràpia adjuvant prèvia sobre la vascularització tumoral.

En la sèrie presentada no trobem relació entre la positivitat o la negativitat de l'expressió immunohistoquímica de la β catenina i l'activitat de la PET o el grau tumoral. No obstant, tal com s'observa a la figura 32, si que s'observa una relació entre la positivitat de la β catenina i l'expressió del marcador CD34 vascular en el teixit tumoral. En la mostra de pacients estudiada s'observa com en la majoria de pacients en que s'expressa la β catenina, l'expressió de CD34 és menor. S'ha relacionat l'expressió de la β catenina en gliomes amb procés d'iniciació tumoral, proliferació i recurrència [217]. A més s'ha observat immunoreactivitat vascular de la β catenina en el glioblastoma, i es coneix l'acció d'angiogènesi mitjançant la via *Wnt/ β -catenin* en el teixit glial i el sistema de control de la barrera hematoencefàlica [30]. Per altra banda Reis et al. [218] observen una absència de relació entre l'expressió de la β catenina i el grau tumoral en gliomes. En aquest estudi amb gliomes trasplantats en ratolins els autors observen com un estímul de la senyal de la β catenina per la via

Wnt/β-catenin paradoxalment provoca una inhibició de l'angiogènesi al teixit tumoral del glioma trasplantat.

6.5. RELACIÓ ENTRE LES TROBALLEES DE LA RM I LA PET

Segons els nostres resultats (taules 19 i 20) pot existir una relació entre les troballes de la RM multiparamètrica, en concret la perfusió (índex rCBV) i l'espectrometria (índex Ratio Cho/Naa) i la captació de la PET amb metionina (Ratio T/N) en gliomes. En canvi a la sèrie presentada no s'observa relació entre la major o menor captació de contrast amb la captació de metionina. Existeixen poques publicacions sobre la relació entre les troballes de la RM multiparamètrica i la PET en metionina en gliomes, en la literatura [76] [96] [118] [219] [220].

La majoria de gliomes de baix grau de la sèrie presenten nul·la o baixa captació de contrast a la RM inicial mentre que els d'alt grau mostren major captació si bé aquesta és variable i en molts casos pot ser similar a la dels gliomes de baix grau. Els pacients 3 i 5, mostren baixa captació de contrast a la RM inicial malgrat tractar-se de glioblastomes en el diagnòstic inicial, i en canvi la PET amb metionina realitzada al mateix interval de temps mostra una elevada activitat metabòlica. Per altra banda les lesions no tumorals, com el pacient 42, també poden presentar un discret increment de la captació de contrast a la RM. Per a la valoració de la resposta al tractament o de la recurrència o progressió tumoral els criteris McDonald [59] basats fonamentalment en la captació de contrast per part del tumor mostren limitacions. En aquest sentit els criteris RANO [154] tenen en compte variables diferents a la captació de contrast en la valoració de resposta *versus* progressió tumoral com és l'augment de les lesions no mesurables o l'augment de les lesions en T2/FLAIR, entre d'altres. En aquest sentit, Tang et al. [149] en un estudi reduït de set oligodendrogliomes de baix grau en tractament amb quimioteràpia PCV, observen una relació dels volums en cm³ de les àrees de captació de la PET amb metionina i les àrees de senyal FLAIR del tumor. Ambdues tècniques serien capaces de valorar resposta al tractament.

Per altra banda existeixen estudis que demostren una discrepància entre els volums tumorals per contrast i per captació de metionina en glioblastomes [219] [207]. Miwa K et al. [219] en un estudi amb 10 pacients amb diagnòstic inicial de glioblastomes demostren que l'àrea tumoral definida per la PET és major a l'àrea definida amb contrast per RM.

Nakajima T et al. [96] van estudiar 18 pacients amb RM i PET amb metionina en el diagnòstic diferencial entre radionecrosi i progressió tumoral de glioma. Els autors van incloure la valoració per espectrometria l'expressió de diferents metabolits al tumor: colina (Cho), creatina (Cre) i lactat (Lac) i els índexs o Ratio corresponents Cho/cre i Lac/Cho. La PET es va quantificar mitjançant la Ratio T/N^{CA} . El diagnòstic es va realitzar per estudi anatomopatològic o seguiment. Observaren una elevació temporal del pic de colina en 4 dels 9 casos del grup de radionecrosi i una Ratio Cho/Cre $> 2,5$ en 2 dels 9 pacients amb radionecrosi, que atribuïren a FP. La Ratio T/N^{CA} mostrava diferències entre els dos grups, de $2,18 \pm 0,42$ en el grup de recurrència i de $1,49 \pm 0,35$ en el grup de radionecrosi. Aquest estudi es va realitzar en un equip 1,5 T, i els autors no van incloure l'índex Ratio Cho/Naa.

Els resultats de la nostra sèrie (taula 20) mostren una concordança entre els pacients classificats de baix grau i negatius per la PET i de baix grau per la Ratio Cho/Naa en 3 casos, i entre els classificats d'alt grau per la PET i la Ratio Cho/Naa en 12 casos. El pacient 39 es va classificar de negatiu per PET, per perfusió i per espectrometria amb una Ratio Cho/Naa $< 1,2$. L'estudi anatomopatològic mostrava únicament gliosi i per tant absència de tumor. Els pacients 27 i 37 mostraven absència de pic de colina i una Ratio $T/N^{MCU} < 2$, i es tractava d'astrocitomes grau II.

No obstant existeixen cinc casos discrepants: Els pacients 22, 23 i 24 mostraven una Ratio $T/N^{MCU} > 2$ i en canvi mostraven una elevació molt discreta del pic de colina. Aquests tres pacients mostraren una progressió clínica i per RM i es tractava de gliomes d'alt grau. Finalment trobem dos casos discordants amb Ratio Cho/Naa elevada i Ratio $T/N^{MCU} < 2$, ambdós per valoració diagnòstica inicial. El pacient 33, presentava una Ratio $T/N^{MCU} = 1,47$, de baix grau per PET, i amb criteris histològics de bon pronòstic com A grau II

amb mutació IDH-1 i Ki67 del 2 %, així com perfusió suggestiva de baix grau. No obstant el pic de colina i la Ratio Cho/Naa eren elevades. L'altre cas discordant classificat de baix grau per la PET i amb elevació del pic de colina és el pacient 29. Aquest pacient tenia un patró mixt histològicament; A II/ AA III. Per tant en la classificació de grau la PET el va classificar de baix grau i en canvi les variables de la RM, perfusió i espectrometria, eren d'alt grau i l'anatomia patològica mostrava característiques d'alt grau. El pacient va mostrar una bona resposta al tractament RT amb 60 Gy, a la RM de seguiment al tancament de l'estudi s'observa estabilitat, i la PET amb metionina de seguiment fou negativa. El pacient 29 segueix viu al final de l'estudi.

Al nostre estudi no s'ha realitzat una valoració conjunta de les troballes de l'espectrometria i de la captació de la metionina (vòxel a vòxel), pel que aquesta relació de la Ratio Cho/Naa i Ratio T/N es troba limitada.

Per altra banda a la sèrie existeix una relació entre la perfusió i l'activitat metabòlica per la PET en els 22 pacients estudiats, si bé, de la mateixa manera que passa amb la relació entre l'espectrometria i la PET, trobem casos discordants. La majoria de pacients són classificats d'alt grau tant per la PET com per la rCBV (n = 13), mentre que la majoria dels de baix grau per la PET també ho són per la perfusió (n = 5). Trobem 4 casos discordants. El pacient 36, classificat de baix grau per la PET, en recurrència, i negatiu per la perfusió. El pacient 24, classificat d'alt grau per la PET, en progressió, i amb perfusió propera al límit entre baix i alt grau. I els pacients 27 i 29, amb un índex de perfusió rCBV de 3,2 i 3,3 respectivament, classificats de baix grau per la PET. El 27, un A II, i el 29 amb patró mixt II/III.

Dels 16 pacients en que s'ha calculat la rCBV al vòxel corresponent a l'àrea de màxima activitat metabòlica de la PET amb metionina, s'observa una correlació significativa entre la rCBV i la Ratio T/N^{MCU}. Tot i així, tal com s'observa a la figura 33, existeixen valors que s'allunyen de la recta de regressió. Els pacients 9 i 16 (fletxes blaves, figura 33) presenten una menor vascularització. En el cas 16, es tracta d'un glioblastoma secundari en recidiva tumoral, amb poca expressió de CD34 vascular, del 13 %, i en canvi predomina la proliferació, amb un Ki67 del 30 %. El cas 9 tot i que es tracta d'un astrocitoma anaplàctic i

no pas d'un GBM, també mostra una elevada proliferació amb un Ki67 del 32 % i una vascularització relativa amb un CD34 vascular del 44 %. Per contra els pacients 7 i 26 mostrarien una major vascularització tumoral que no pas una proliferació (fletxes grises, figura 33) si bé en aquests dos pacients no disposem de l'estudi immunohistoquímic (CD34). La discordança entre les tècniques PET i RM, perfusió i espectrometria, d'alguns dels casos estudiats, mostra que són tècniques que es complementen entre si però valoren l'activitat o la viabilitat tumoral de forma diferent.

Berntsson SG et al. [76] en un estudi amb 23 pacients amb gliomes de baix grau (5 de grau III, la resta grau II) en diagnòstic inicial, demostren que el coregistre d'imatges PET amb metionina amb RM faciliten la identificació de les àrees tumorals amb major rCBV dins de la lesió. Quan comparen la rCBV en una ROI de tot el tumor i la rCBV a l'àrea de major activitat metabòlica de la PET, troben uns valors de rCBV més elevats i que es correlacionen millor amb el resultat de l'estudi anatomopatològic. Aquests resultats són comparables amb les troballes del nostre estudi. A la figura 38, el pacient 12 mostra un valor de rCBV molt incrementat respecte el valor que es va usar inicialment. Els autors [76] troben una major rCBV per als 5 gliomes d'alt grau que pels de baix grau si bé existeix solapament entre els dos grups. Sadeghi N et al. [118] troben resultats similars en un estudi realitzat amb 14 pacients amb càlcul de rCBV a la perfusió de la RM i Ratio T/N a la PET i amb comprovació histològica mitjançant múltiples biòpsies dirigides. Els autors troben una correlació significativa entre les dues variables ($r=0,65$ i $p<0,001$). La part més agressiva del tumor mostra una major Ratio T/N i una major rCBV, si bé en el cas de la rCBV existeix una major variabilitat en el valor de la rCBV. A més troben una relació entre un índex mitòtic més elevat i un nombre de vasos incrementat a la mostra tumoral amb valors més elevats per a la rCBV i la Ratio T/N de la PET.

Dandois V et al. [220] en un estudi retrospectiu amb 28 gliomes d'alt grau tractats prèviament i en els que es valorava radionecrosi *versus* recidiva o progressió, comparen la PET amb metionina amb la perfusió dinàmica rCVBmax(%) que és un altre mètode no habitual de quantificar la perfusió de la lesió. Els autors conclouen que l'estudi de perfusió amb la rCVBmax pot substituir la PET en la valoració de recurrència *versus* radionecrosi. No obstant

els autors no realitzen PET en tots els pacients (en 8 no ho fan) mentre que en realitzen múltiples en alguns pacients. Troben 2 casos de FN per la rCVBmax mentre que la PET es capaç de classificar correctament tots els casos de radionecrosi o de recurrència. Descriuen una gran variabilitat en la variable rCVBmax. Els autors conclouen que calen més estudis per validar la tècnica en la rutina assistencial en aquests pacients.

6.6. ANÀLISI DE LA SUPERVIVÈNCIA DE LA PET AMB METIONINA

La relació entre la supervivència i el grau de captació per a la PET amb metionina en gliomes continua en controvèrsia. Alguns autors (figura 39) han demostrat una relació entre l'activitat metabòlica de la PET i la supervivència en sèries amb únicament gliomes de baix grau (II) [25] [131], amb sèries on s'inclouïen gliomes de grau II i III [208] o bé amb sèries que inclouïen graus II, III i IV [97] [107] [123]. Per contra Ceysens S et al. [108] no troben relació entre supervivència i captació de la PET en la seva sèrie. Pötzi et al. [129] en un estudi amb 28 pacients on valoren únicament glioblastomes en recurrència no troben resultats significatius entre una major activitat metabòlica de la PET i la supervivència. Les principals limitacions d'aquest últim estudi són els criteris d'inclusió que van usar i l'heterogeneïtat de la mostra de pacients segons descriuen els autors.

A la nostra sèrie trobem relació entre la supervivència i l'activitat de la PET quan s'inclouen els 38 pacients diagnosticats de glioma. Aquesta relació és tant per a *cut-off* de 2,07 com per a *cut-off* de 2, si bé és més significativa en el cas de 2,07 (taula 21, figura 34).

Smits A et al. [25] en un estudi amb 129 pacients amb glioma de baix grau troben relació entre la supervivència i la Ratio T/NMCU amb un *cut-off* de 2,1. Els pacients amb Ratio T/N > 2,1 mostren major mortalitat si bé en el cas del subgrup de tumors oligodendroglials no és significatiu estadísticament. Els autors també troben relació amb la supervivència amb els criteris de Pignatti [190] pels gliomes de baix grau, i definits per la EORTC; edat, mida tumoral, creuament de la línia mitja i KPS [174]. Com a limitacions de l'estudi els autors comenten que es tracta d'un estudi retrospectiu, que inclou diferents tomògrafs PET de diferents centres i la variabilitat en el rang de seguiment.

Ribom D et al. [131] en una sèrie de 89 gliomes de baix grau estableixen el valor *cut-off* entre 2 i 2,2 per a la valoració de supervivència (figura 39). El seguiment fou de 5,7 anys de promig. Els autors inclouen pacients de 15-18 anys i exclouen gliomes de grau I i altres tumors primaris no glials. En 4 casos la biòpsia fou posterior a la PET però els autors no troben diferències amb la resta de pacients de la seva sèrie. Tampoc troben interferència entre el tractament amb corticoteràpia per part dels pacients i la captació de la PET. Finalment troben relació entre l'extensió de la cirurgia i la supervivència en cas de gliomes amb més captació de metionina però no en aquells amb baixa activitat metabòlica.

De Witte O et al. [208] en un estudi amb gliomes de grau II i grau III, diagnòstics o en recurrència, troben una relació entre la captació visual i semiquantitativa per Ratio T/N de la PET amb metionina i la supervivència. Demostren una pitjor evolució per als pacients amb gliomes amb major activitat metabòlica de la PET, amb un *cut-off* de 2,2 pels grau II i de 2,8 pels gliomes grau III. La nostra sèrie inclou gliomes de grau II a IV amb un clar predomini d'aquests últims. Per aquest motiu ens interessa especialment comparar els nostres resultats amb els estudis publicats amb sèries similars.

L'estudi de Van Laere K et al. [97] es va realitzar en gliomes de grau II-IV ja tractats i en sospita de recurrència o progressió tumoral, i incloïa tumors oligodendroglials. El promig de supervivència en els pacients que vivien era de 41 mesos amb un seguiment màxim de 61 mesos, i el promig de seguiment del grup total fou de 15 mesos. El promig de seguiment en el subgrup de 24 pacients dins de la nostra sèrie de pacients amb indicació de la prova PET per a descartar recurrència o progressió fou de 22 mesos, i el seguiment promig dels pacients vius a la nostra sèrie és de 52 mesos és a dir lleugerament superior a la de l'estudi de Van Laere K et al. Els autors troben que amb un *cut-off* entre 2,2 i 2,4 per a la Ratio T/N de la PET (figura 39) poden discriminar aquells pacients que viuen més o menys a la seva sèrie. Demostren també el valor de la PET en la detecció de la recurrència o progressió tumoral.

L'estudi de Singhal T et al. [107] proposa un *cut-off* de 1,51 per a la Ratio T/N en la valoració de supervivència (figura 39) si bé, tal com ja s'ha comentat,

inclouen pacients pediàtrics. Com a càlcul de la Ratio utilitzen la Ratio T/N^{CA} . La distribució de gliomes de baix grau i alt grau, no obstant, s'assembla més a la de la nostra sèrie ja que el seu percentatge de gliomes d'alt grau és del 58 %. Tot i així a la nostra sèrie s'inclouen més glioblastomes. Una diferència important entre les dues sèries és que en la seva sèrie només inclouen pacients amb prova diagnòstica i no en recurrència o progressió. Finalment els autors no troben diferències significatives en les altres dues variables analitzades, grau de captació de la PET amb ^{18}F -FDG i la captació o no de contrast a la RM, i la supervivència.

Per contra, com ja s'ha comentat, l'estudi de Kaschten et al. [123] estableix un valor *cut-off* per a la supervivència de 2,1 en un estudi prospectiu amb gliomes de grau II-IV amb prova diagnòstica.

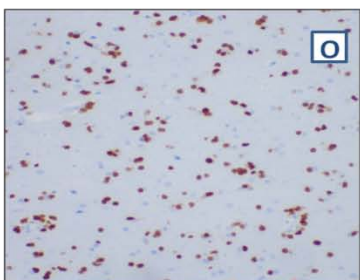
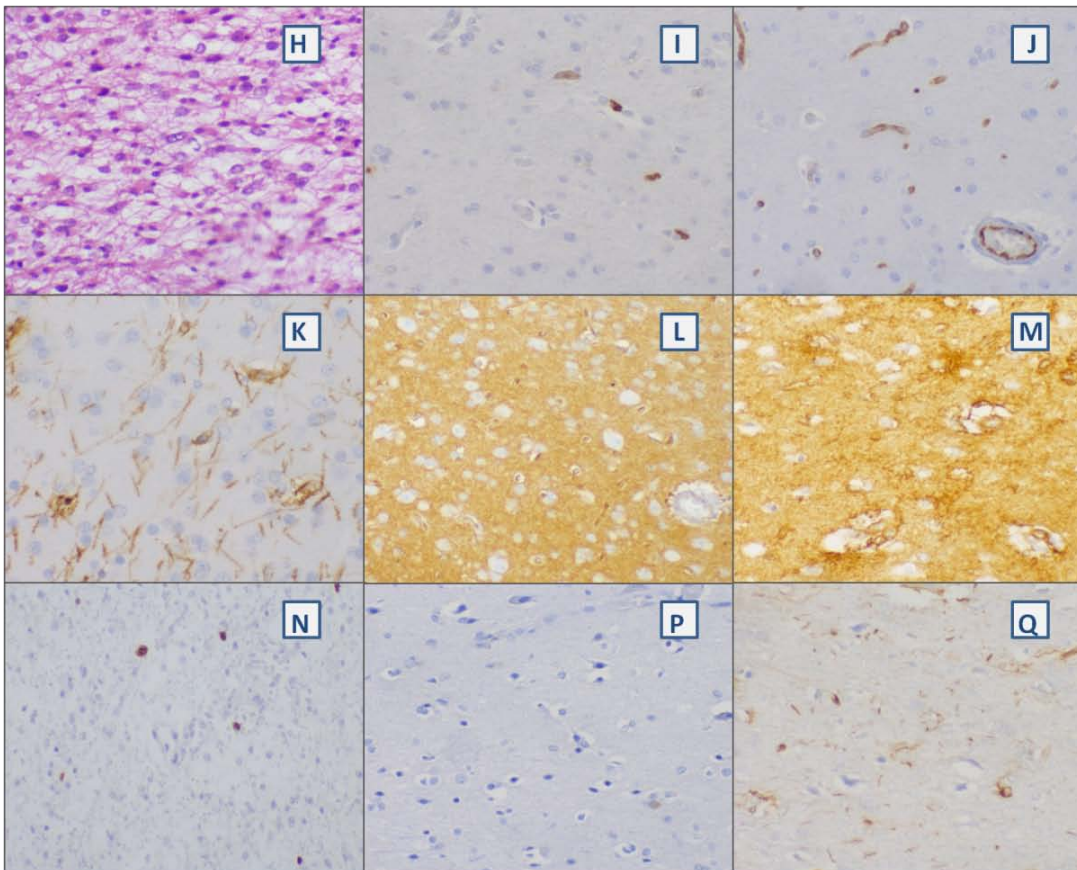
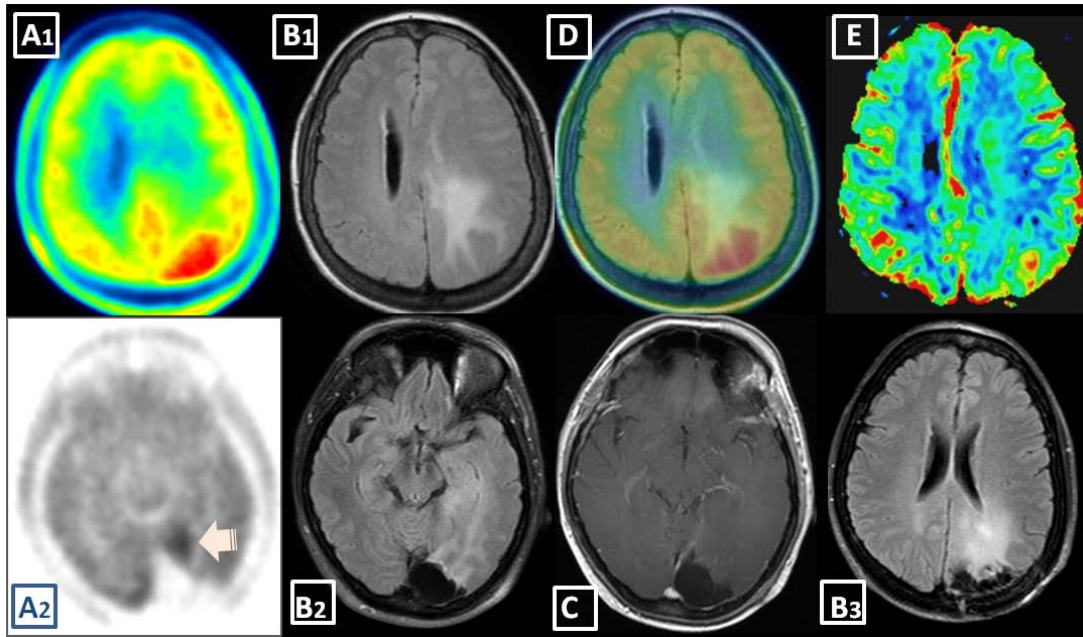
A l'estudi els pacients amb major supervivència en general mostren menor captació a la PET. No obstant existeixen casos en que malgrat una activitat metabòlica molt incrementada la supervivència és alta, com són els pacients 7 o 18 on hi intervenen altres factors com l'anatomia patològica o el tractament.

Els set pacients de la sèrie en els que s'ha realitzat una PET amb metionina en el seguiment, ja sigui per a valorar resposta o per descartar recurrència, mostren una relació entre la negativitat o positivitat de la PET al seguiment i la possibilitat de progressió del tumor o de pitjor evolució clínica. En cas de PET negatiu al seguiment trobem una supervivència més prolongada. Ullrich et al. [128] mostren una bona sensibilitat i especificitat de la PET MET en el seguiment per a diagnosticar la progressió tumoral en pacients amb glioma. Els autors utilitzen la biòpsia com a mètode per a verificar els resultats de la PET. La limitació de l'estudi és la *n* reduïda.

Per altra banda Nariai et al. [221] proven la utilitat de la PET MET en la monitorització de la resposta al tractament en gliomes amb una sèrie molt àmplia. Les limitacions de l'estudi són que es tracta d'un estudi retrospectiu on només realitzen PET de seguiment a una part dels pacients i com a *gold standard* utilitzen el seguiment clínic i per RM fonamentalment i no pas nova mostra histològica del tumor en cas de progressió. Els autors troben major supervivència pels pacients amb PET negativa en el seguiment.

La figura 40 mostra les troballes de la PET i RM en diagnòstic i seguiment (recurrència), i les troballes anatomopatològiques del pacient 33 al diagnòstic. Es tractava d'una prova diagnòstica en la valoració de grau tumoral, on la PET MET fou positiva amb una Ratio T/NMCU = 1,47 suggestiu de baix grau. La cirurgia es va realitzar amb neuronavegador integrant les imatges fusionades de la RM i de la PET. El resultat de la cirurgia fou de glioma de baix grau, astrocitoma grau II, amb Ki67% del 2 %, amb presència de mutació IDH-1, i estudi immunohistoquímic amb absència d'expressió per a p16 i WT1, i baixa per a p53, i amb una CD34 elevada. Es va realitzar una PET de seguiment o valoració de resposta, positiva per a progressió. A la RM de seguiment no s'observava captació de contrast. La pacient com a recurrència segons el resultat de la segona PET. La pacient va ser finalment èxitus.

Figura 40 (pàgina següent): *Pacient 33*. Troballes PET, RM, anatomia patològica. A¹. PET ¹¹C-metionina inicial (diagnòstic). A². PET ¹¹C-metionina de seguiment positiu per a recurrència. B¹. RM FLAIR, (diagnòstic). B². FLAIR, al moment de la PET de seguiment. B³. FLAIR de seguiment: àrea resecada prèviament. C. RM contrast; absència de captació (al moment de la PET de seguiment). D. Imatge de fusió PET-RM (diagnòstic). E. Perfusió RM (diagnòstic): perfusió fisiològica (solcs) i també a l'àrea d'interès, de difícil valoració. H. Tinció H/E, Astrocitoma II. I. Índex Ki67-MIB1 = 2%. J. Expressió CD34 = 46%. K. Expressió CD44 = 60%. L. β catenina = negatiu. M. EGFR = 100. N. p53 = 2%. O. OLIG2 = 60. P. p16 = negatiu. Q. WT1 = negatiu. (x100 augments).



6.7. FACTORS PRONÒSTIC EN GLIOMES

Tal com s'ha comentat prèviament existeixen múltiples factors pronòstic que s'han relacionat amb una major o menor supervivència als pacients diagnosticats de glioma (taula 11). En el nostre coneixement hi ha molt pocs estudis de valoració multivariant que inclogui la PET dins del conjunt de factors pronòstic en gliomes. La figura 41 mostra els factors predictius o de pronòstic ordenats com a positius o negatius que poden influir en la supervivència. A la nostra sèrie no s'ha valorat la teràpia; tractament adjuvant, ni la cirurgia en el subgrup de pacients en recurrència. La resta de variables si que s'han estudiat si bé amb algunes limitacions: El grau tumoral, l'edat del pacient, les característiques macroscòpiques del tumor inclosa la mida i si creua o no la línia mitja, l'afectació o no d'àrees eloqüents, l'ús o no de tècniques com el 5-ALA o el *mapping*, el tipus de cirurgia i les possibles complicacions quirúrgiques, l'estatus vital del pacient (KPS), i les troballes en les tècniques de imatge s'han descrit com a factors pronòstic o variables predictives. El tractament adjuvant també és un factor important en la supervivència.

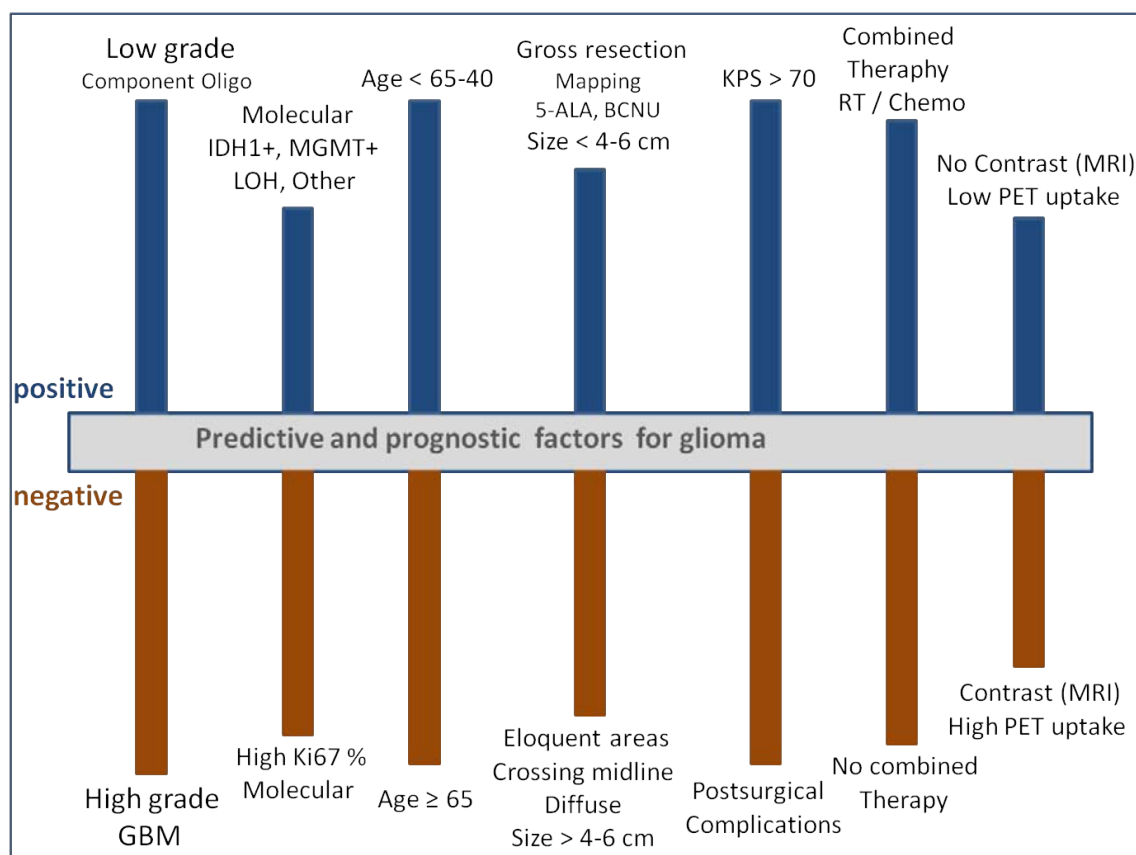


Figura 41. Factors pronòstic en gliomes. Modificat i ampliat de [28].

L'edat del pacient

L'edat al diagnòstic és un factor pronòstic tant per als gliomes de baix grau com pels d'alt grau. En el cas dels gliomes de baix grau l'edat superior als 40 anys segons els criteris de Pignatti 2002 [17] o superior als 50 anys segons els criteris de UCSF 2008 (*University California San Francisco LGG actualization criteria*) [222] és un factor de mal pronòstic. En el cas dels gliomes d'alt grau i especialment en els glioblastomes els pacients < 65 anys presenten una millor evolució clínica [28]. A la nostra sèrie (taules 21, 22) que inclou gliomes de baix i alt grau trobem diferències significatives per a l'edat de 50 anys. Aquells pacients amb edat al moment de la PET \leq 50 anys viuen més temps, i això també es confirma en l'anàlisi multivariant (taula 23).

L'estatus vital o KPS

S'ha definit un punt de tall de KPS > 80 com a factor pronòstic positiu per als gliomes de baix grau [222] i de > 70 pels d'alt grau [28] en el diagnòstic o de > 80 en el cas de glioblastomes en recurrència [159]. A la nostra sèrie (taules 21, 22) trobem diferències significatives per als pacients amb un KPS prequirúrgic de \geq 70. Els pacients amb KPS prequirúrgic < 70 viuen menys de la meitat de temps que els de \geq 70. Cal considerar que a la nostra sèrie només consten 7 pacients amb KPS prequirúrgic < 70. Reithmeier T et al. [223] en un estudi amb 104 gliomes de grau II-IV troben que els pacients amb KPS \leq 70 tenen una pitjor supervivència tant pels de baix com pels d'alt grau.

Les característiques macroscòpiques del tumor

La mida i el creuament o no de la línia mitja són factors pronòstic àmpliament acceptats per a pacients amb gliomes. Els 10 pacients de la sèrie que presenten creuament de la línia mitja mostren una pitjor supervivència, molt significativa, respecte els 28 pacients restants (taula 21). El fet que la lesió tumoral creui la línia mitja es considera un factor pronòstic negatiu tant per a gliomes de baix com d'alt grau [17] [28]. Per altra banda la lesió tumoral de > 4-6 cm és un factor de mal pronòstic establert en gliomes [17] [159] [177] [222]. A la nostra sèrie s'ha considerat l'afectació difusa per RM dins del grup dels gliomes de > 5 cm fet que pot esbiaixar els resultats. Uns altres factors que pot esbiaixar-los és el fet que és consideri només la lesió com a l'àrea que capta

contrast a la RM en aquells captants, i la mesura en un eix i no en volums. A la nostra sèrie no s'ha calculat el volum o tamany tumoral en funció de l'àrea metabòlica de la PET. No obstant, malgrat les limitacions descrites, trobem diferències significatives pel que fa al tamany de la lesió tant en l'anàlisi uni com multivariant. Els pacients amb lesions de ≥ 5 cm o difuses mostren una marcada disminució en la seva supervivència.

La localització del tumor

La majoria dels pacients de la sèrie són de localització supratentorial, la meitat de localització esquerra i l'altra dreta. No obstant els pacients 4 i 5, multifocalitat, eren infratentorials, amb afectació també supratentorial en el 4. Els tumors cerebrals de localització infratentorial mostren un pitjor pronòstic [28]. Probablement la localització tumoral en aquests dos pacients és la causa principal de la baixíssima supervivència en aquests dos glioblastomes. L'afectació d'una àrea eloqüent també és un factor pronòstic establert en gliomes [3] [159] [222]. A la nostra sèrie trobem diferències, no significatives, en la supervivència segons l'afectació d'àrees eloqüents (presumptament), definides segons Berger MS et al. [165]: l'afectació d'àrees eloqüents implicaria pitjor pronòstic.

L'extensió de la resecció tumoral

Els 26 pacients en els que s'ha realitzat resecció quirúrgica total o subtotal mostren una major supervivència, discreta i no significativa, respecte la resta. No obstant, degut al biaix d'incloure pacient en recurrència i valorar-ho conjuntament amb els de prova diagnòstica, s'ha analitzat el subgrup de pacients amb prova diagnòstica (n = 15); Els pacients amb resecció total viuen més temps, malgrat no ser significatiu probablement per la mostra reduïda. En la literatura s'ha descrit com una major resecció tumoral del glioma augmenta la supervivència [28] [60] [191] [224].

L'ús de tècniques quirúrgiques: mapatge (*mapping*) i 5-ALA

La tècnica de *mapping* permet optimitzar l'extensió en la resecció tumoral en gliomes amb disminució de la morbiditat associada a la cirurgia en aquests pacients [225], i s'ha descrit que el seu ús millora la supervivència en cas de

gliomes localitzats en àrees eloqüents [226]. En el subgrup de 24 pacients en els que presumptament hi havia afectació d'una o més àrees eloqüents, la supervivència fou major en els que es va realitzar *mapping* si bé els resultats no són estadísticament significatius probablement per la reduïda mostra d'aquest subgrup. Respecte a l'ús de 5-ALA en el subgrup de 28 pacients d'alt grau, la supervivència fou major en els que es va utilitzar aquesta tècnica. La tècnica 5-ALA permet la detecció intraoperatòria del teixit tumoral [168] [169] [170], amb un alt VPP i VPN, si bé per tal que la molècula 5-ALA penetri dins del cervell i generi fluorescència és necessària una mínima alteració de la BHE. Arita et al. [122] en una sèrie amb 11 gliomes graus II-IV troben una correlació de la densitat cel·lular tumoral tant per a la fluorescència amb 5-ALA com per a la captació de la PET MET. No obstant no troben diferències significatives entre les àrees amb major o menor fluorescència del glioma i la captació de la PET. Al nostre estudi no s'ha valorat la correlació entre la 5-ALA i la PET en no disposar de mostres histològiques separades segons fluorescència i captació de metionina.

Les complicacions post-quirúrgiques

A la sèrie trobem que els pacients que presenten complicacions post-quirúrgiques la supervivència empitjora i aquesta relació és més evident per als pacients amb complicacions més greus, si bé els resultats no són estadísticament significatius. Malgrat això en l'anàlisi multivariant trobem que el fet de patir complicacions severes post-quirúrgiques disminueix la supervivència. Chaudhry et al. [28] descriuen que un curs postoperatori advers es relaciona amb la disminució de la supervivència en glioblastomes.

El grau tumoral

L'anàlisi univariant de l'estudi mostra diferències significatives per a la supervivència segons el grau tumoral (taula 21). Els gliomes d'alt grau i, especialment els glioblastomes, mostren una menor supervivència que els de baix grau. Tal com s'ha descrit en la literatura el grau tumoral és un dels principals factors pronòstic i de supervivència en gliomes [17] [18] [23] [223]. L'anàlisi multivariant no mostra resultats estadísticament significatius en l'increment de risc relatiu associat al grau tumoral (marginalment significatiu,

taula 23). Això probablement es deu a que la nostra sèrie hi ha un clar predomini de gliomes d'alt grau i pocs pacients amb gliomes de baix grau.

Les troballes moleculars i per immunohistoquímica

L' estatus de mutació IDH-1 i de metilació MGMT són dos factors pronòstic moleculars que també s'han relacionat amb el pronòstic en gliomes. A la sèrie trobem diferències significatives en ambdós casos. Els pacients que presenten mutació IDH-1 mostren una major supervivència. De la mateixa manera els pacients que presenten metilació del promotor de la MGMT del glioma mostren una major supervivència (taula 21). S'ha descrit un millor pronòstic en gliomes amb presència de mutació IDH-1 [23] [24] [42] [211], i en presència de metilació MGMT [46].

S'ha valorat l'expressió de la Ki67-MIB1 LI i la supervivència en el subgrup de 32 pacients de que disposàvem dades. Els gliomes amb Ki67 \geq 15 % mostren una pitjor supervivència (segons l'anàlisi univariant). A la sèrie trobem valors més alts de Ki67% per als pacients d'alt grau que pels de baix grau. Johannessen et al. [34] en una revisió sobre el valor pronòstic de l'índex Ki67 en gliomes troben valors promig diferents segons el grau, II, III, i IV, si bé amb solapament especialment entre els III i IV. Troben força variabilitat en el valor pronòstic de *cut-off* de Ki67 proposat per diferents autors en relació a supervivència o recurrència, amb un rang d'índex Ki67% de 1,5%-20%. Aquesta variabilitat s'explica per la mostra de pacients de cada estudi revisat; Als estudis on hi ha un clar predomini de gliomes d'alt grau el *cut-off* proposat és més alt i aquells en què predominen els de baix grau a la seva sèrie el *cut-off* proposat és més baix. Els autors proposen com a valor pronòstic un *cut-off* del 10 % de Ki67-MIB1 LI.

Al nostre estudi no s'ha analitzat la relació entre la supervivència i les troballes de la immunohistoquímica: expressió de p53, p16 i WT1 degut a la mostra reduïda. Tal com s'ha comentat, la negativitat de p53, p16 i WT1 predomina al subgrup de gliomes de baix grau, amb menor captació de la PET i major supervivència al seguiment. S'ha descrit una relació entre la negativitat de la p53 i de la p16 en gliomes de baix grau o menys agressius [35] [227] i amb el mecanisme d' apoptosi en aquests tumors [228]. Per contra no s'ha trobat

relació entre aquest dos marcadors i la supervivència en GBM [229]. Per altra banda s'ha descrit que l'increment de l'expressió de WT1 en gliomes es relaciona amb un pitjor pronòstic [230].

La recurrència o progressió

A la figura 36 la corba de Kaplan-Meier mostra una pitjor supervivència per als pacients en recurrència o progressió que pel grup en els que la prova fou per motiu diagnòstic, si bé els resultats no són significatius. A la literatura s'ha descrit la recurrència o progressió com a factor de mal pronòstic en glioblastomes [23] [28] [159]. Els pacients 6, 16 i 23 (taula 19) amb recurrència o progressió d'un tumor de baix grau a glioblastoma mostren una mortalitat incrementada. Tot i així el pacient 18 amb progressió d'un OD III a glioblastoma mostra una major supervivència malgrat tractar-se d'una recurrència. Per altra banda els pacient 3 i 13, ambdós glioblastomes primaris i en diagnòstic, mostren supervivències molt diferents malgrat haver rebut el mateix tractament: cirurgia subtotal, protocol Stupp i BEV. Probablement el pacient 3 presenta factors favorables com són l'ús de 5-ALA, l'absència de complicacions postquirúrgiques i una bona resposta als agents alquilants per presentar la codeleció LOH 1p/19q [20] a més de presentar la mutació IDH-1 [23].

Les troballes en els estudis d'imatge

A la sèrie en cas que s'observi absència de captació amb contrast a la RM la supervivència es troba incrementada i en cas que la captació presenti el patró característic de glioblastoma amb la imatge en anell, heterogeneïtat o intensa captació la supervivència és menor. A la literatura s'ha descrit que els gliomes amb absència de captació de contrast a la RM presenten una major supervivència [67] [192]. A més s'ha descrit que en gliomes de baix grau una perfusió incrementada i rCBV elevats poden relacionar-se amb un pitjor pronòstic [207].

Com ja s'ha comentat prèviament la PET amb metionina pot tenir valor pronòstic en gliomes (taula 24). A l'estudi observem tant per a l'anàlisi univariant com en el multivariant segons la supervivència la relació entre l'activitat metabòlica tumoral de la PET, segons la Ratio T/N o la positivitat o

negativitat de la PET en els pacients en que es va realitzar al seguiment, i el pronòstic.

11C-methionine PET as an indicator of prognosis and survival in gliomas

Author	Year	n	Indication	Method	Results on survival	Limitations‡	Ref.
Kaschten et al.	1998	41 p.†	Diagnosis	Ratio T/N ¹	if Ratio T/N≥2.1 worst	selection method	[123]
Ribom et al.	2001	89 p.	LG	Ratio T/N ¹	if Ratio T/N>2-2.2 worst	retrospective	[131]
De Witte et al.	2001	85 p.	Diag & Rec*	Ratio T/NCA	in LG if Ratio>2.2 worst	heterog. & method	[208]
Kim et al.	2005	47 p.	Diagnosis	Visual & Ratio ²	if intense MET uptake worst	retrospective	[130]
Van Laere et al.	2005	30 p.	Recurrence	Ratio T/NCA	if Ratio T/N>2.2-2.4 worst	method	[97]
Nariai et al.	2005	118 p.	Monitoring	Ratio T/NCA	if PET follow up neg better ³	heterog. & method	[221]
Torii et al.	2005	67 p.	Characterize	Ratio T/NMCU ²	if Ratio T/N>1.6-1.8 worst	heterog. & method	[112]
Ceyssens et al.	2006	52 p.	Diag & Rec*	Ratio T/NCA	non significant results	heterog. & method	[108]
Pötzi et al.	2007	28 p.	GBM	Ratio T/NCA	non significant results	method follow up	[129]
Smits et al.	2008	129 p.	LG	Ratio T/NMCU	if Ratio T/N>2.1 worst	retrospective & method	[25]
Ullrich et al.	2009	24 p.	Monitoring	Ratio T/NCA	if PET follow up pos prog. ⁴	no control group	[128]
Singhal et al.	2012	102 p.	Diagnosis	Ratio T/NCA	if Ratio T/N>1.5 worst	heterogeneous	[107]

Taula 24. Bibliografia de la PET amb metionina en pronòstic i supervivència en gliomes. Per a l'estudi de Kaschten et al.[†] la mostra de 41 p. correspon als que es va realitzar PET MET de total dels 52 pacients de la seva sèrie. Kaschten et al. i Ribom et al. usen múltiples maneres de quantificar la Ratio T/N¹. En l'estudi de Kim et al. el mètode es basa fonamentalment en la valoració visual i no en la Ratio². En l'estudi de Torii et al. el mètode de càlcul de la Ratio T/N^{MCU 2} és diferent a la resta d'autors que quantifiquen amb aquest mètode. En l'estudi de Nariai et al. quan la PET de seguiment és negativa la supervivència és major ³. Ullrich et al. observen que en cas que la PET de seguiment incrementi la seva activitat metabòlica existeix progressió del tumor ⁴. En l'apartat de limitacions[‡] dels estudis es recull la informació aportada pels propis autors referents a cada estudi sobre les limitacions. Les limitacions descrites inclouen estudis retrospectius, la mostra heterogènia de tumors o de pacients per edats, absència de grup control, i diferents mètodes que poden crear biaixos en la valoració dels resultats: seguiment limitat, mètode de selecció dels pacients, ús de diferents tomògrafs PET o variabilitat en els mètodes de quantificació, absència de *gold standard*, interval prolongat entre prova PET i estudi anatomopatològic. Les indicacions es divideixen en valoració diagnòstica, descartar recurrència o progressió, monitorització de la resposta al tractament, caracterització del glioma i estudis específics per a gliomes de baix grau (LG) o per glioblastomes (GBM). Dos autors, Ceyssens et al. i Pötzi et al. no troben relació estadísticament significativa entre la captació de la PET i la supervivència.

Diag & Rec* = indicació de la prova per diagnòstic o recurrència.

6.8. LIMITACIONS DE L'ESTUDI

Les principals limitacions del treball presentat són les següents: Es tracta d'un estudi retrospectiu i no pas prospectiu. Per aquest motiu no s'ha fet un estudi estratificat o de cohort.

La valoració inclou pacients amb sospita diagnòstica de gliomes així com per recurrència o progressió tumoral, i no es disposa de la informació anatomopatològica de control evolutiu o en el seguiment en tots els casos, si en la majoria.

En sis pacients l'estudi anatomopatològic no es simultani a la PET temporalment i en un la mostra és per necròpsia i no per mostra quirúrgica. Dos dels pacients tenien una afectació infratentorial, un d'ells amb extensió supratentorial.

Tampoc es disposa d'una prova PET posterior per a la valoració de resposta en el seguiment excepte per a uns pocs pacients.

Per altra banda no disposem de les imatges en format digital per a poder correlacionar RM i PET en tots els pacients estudiats.

S'han valorat diferents variables com estudi molecular, estudi immunohistoquímic, paràmetres de la RM com l'espectrometria o la perfusió, en només una part del total dels pacients pel que ha sigut necessari fer subgrups d'estudi en aquests casos fet que ha disminuït la n i ha introduït possibles biaixos en la seva valoració.

En la valoració d'alguns dels factors pronòstic, com per exemple la cirurgia en el moment de la prova diagnòstica, la mostra és reduïda pel que trobem resultats no significatius per aquest motiu. Per la mateixa raó l'anàlisi multivariant dona més potència estadística les variables amb més mostra i resta potència a les variables analitzades amb menys mostra.

Es tracta d'un estudi heterogeni amb una mostra global no extensa de pacients, i amb un predomini de tumors d'alt grau respecte de baix grau, el que pot dificultar la valoració de la supervivència i del pronòstic.

7. CONCLUSIONS

La PET amb ^{11}C -metionina és útil en la valoració de recurrència o progressió tumoral en gliomes. També pot ser una eina útil en la guia de biòpsia o en la planificació quirúrgica.

La quantificació de la PET amb ^{11}C -metionina es pot realitzar per diferents mètodes. El càlcul de l'índex de captació tumoral i captació de teixit sà per a la PET amb ^{11}C -metionina mostra una bona correlació entre els dos mètodes estàndards: la Ratio T/N^{MCU} i la Ratio T/N^{CA} .

Observem una relació entre l'activitat metabòlica de la PET amb ^{11}C -metionina i el grau tumoral en gliomes, així com una correlació amb la proliferació cel·lular. Els tumors amb major grau de captació de metionina mostren una major agressivitat.

En la nostra sèrie observem un punt de tall o *cut-off* de 2,07 per a la Ratio T/N^{MCU} com el més adequat en el diagnòstic diferencial entre glioma de baix i d'alt grau.

La captació de la PET es pot trobar incrementada en cas d'absència de mutació IDH1 i disminuïda en cas contrari.

El perfil immunohistoquímic dels gliomes és variable, especialment en el cas dels glioblastomes. No trobem relació entre l'expressió del marcador CD34 en gliomes d'alt grau i la captació de metionina mentre que pot existir una correlació en els de baix grau. Una major expressió de CD34 en vasos pot relacionar-se amb negativitat de la β catenina.

Els gliomes que presenten negativitat en l'expressió de la p53, de la p16 o de la WT1 mostren una menor captació de metionina. No s'observa relació entre la captació de metionina i la resta de paràmetres immunohistoquímics estudiats.

Existeix una correlació entre la perfusió tumoral estudiada per RM i la captació de la metionina. Els gliomes d'alt grau mostren en general una major perfusió,

un patró d'elevació del pic de colina per espectrometria RM, i una major captació de la metionina. No obstant existeixen valors discordants entre els diferents paràmetres de la RM, la PET i l'estudi anatomopatològic: Les proves de imatge aporten informació diferent de l'activitat tumoral i poden complementar-se.

En aquesta sèrie els factors pronòstic que mostren diferències en la supervivència són l'edat, el grau tumoral, la mida del tumor i si creua la línia mitja, la captació o no de contrast en la RM, l'estatus vital o índex de Karnofsky (KPS) prequirúrgic, les complicacions postquirúrgiques, l'ús de mapatge en cas de tumors localitzats en àrees eloqüents així com l'ús de 5-ALA, la presència o absència de mutació IDH1 i de metilació MGMT, l'índex de proliferació cel·lular Ki67-MIB LI % i la valoració per la PET amb ^{11}C -metionina en funció de l'índex Ratio T/N.

Els pacients de més de 50 anys, els gliomes d'alt grau, els tumors de > 5 cm, el creuament de la línia mitja, un índex KPS < 70 prequirúrgic, la presència de complicacions postquirúrgiques, un alt índex Ki67, la major captació de contrast, i una major Ratio T/N de la PET són factors pronòstic i de supervivència negatius.

La presència de mutació IDH1, la presència de metilació MGMT, realitzar la tècnica de *mapping* o l'ús de 5-ALA en la resecció tumoral són factors pronòstic i de supervivència positius.

En la nostra sèrie una major Ratio T/N de la PET mostra un increment en el risc relatiu en la supervivència, amb un punt de tall o *cut-off* de 2,07 per a la Ratio T/N.

La PET amb ^{11}C -metionina aporta informació pronòstic i en la valoració de la supervivència en gliomes.

Observem com a simptomatologia més freqüent associada als gliomes la crisi epilèptica, i fins a un terç dels pacients diagnosticats de glioma poden presentar simptomatologia psiquiàtrica.

8. BIBLIOGRAFIA

- [1] B. Greenstein and A. Greenstein, *Color Atlas of Neuroscience*. 2000, p. 438.
- [2] J. Martino, S. M. Honma, A. M. Findlay, A. G. Guggisberg, J. P. Owen, H. E. Kirsch, M. S. Berger, and S. S. Nagarajan, "Resting functional connectivity in patients with brain tumors in eloquent areas.," *Ann. Neurol.*, vol. 69, pp. 521–532, 2011.
- [3] I. Y. Eyüpoglu, M. Buchfelder, and N. E. Savaskan, "Surgical resection of malignant gliomas-role in optimizing patient outcome.," *Nat. Rev. Neurol.*, vol. 9, no. 3, pp. 141–51, Mar. 2013.
- [4] N. J. Allen and B. A. Barres, "Neuroscience: Glia - more than just brain glue.," *Nature*, vol. 457. pp. 675–677, 2009.
- [5] F. D'Amico, E. Skarmoutsou, and F. Stivala, "State of the art in antigen retrieval for immunohistochemistry," *Journal of Immunological Methods*, vol. 341. pp. 1–18, 2009.
- [6] L. Lyck, I. Dalmau, J. Chemnitz, B. Finsen, and H. D. Schrøder, "Immunohistochemical markers for quantitative studies of neurons and glia in human neocortex.," *J. Histochem. Cytochem.*, vol. 56, no. 3, pp. 201–21, Mar. 2008.
- [7] T. Strojnik, J. Kos, B. Zidanik, R. Golouh, and T. Lah, "Cathepsin B immunohistochemical staining in tumor and endothelial cells is a new prognostic factor for survival in patients with brain tumors.," *Clin. Cancer Res.*, vol. 5, pp. 559–567, 1999.
- [8] E. Dunbar and A. T. Yachnis, "Glioma diagnosis: immunohistochemistry and beyond.," *Adv. Anat. Pathol.*, vol. 17, pp. 187–201, 2010.
- [9] S. N. Popova, M. Bergqvist, A. Dimberg, P.-H. Edqvist, S. Ekman, G. Hesselager, F. Ponten, A. Smits, L. Sooman, and I. Alafuzoff, "Subtyping of gliomas of various WHO grades by the application of immunohistochemistry.," *Histopathology*, vol. 64, no. 3, pp. 365–79, Feb. 2014.
- [10] B. D. Fox, V. J. Cheung, A. J. Patel, D. Suki, and G. Rao, "Epidemiology of metastatic brain tumors," *Neurosurg Clin N Am*, vol. 22, pp. 1–6, 2011.
- [11] T. Singhal, T. K. Narayanan, V. Jain, J. Mukherjee, and J. Mantil, "11C-L-methionine positron emission tomography in the clinical management of cerebral gliomas.," *Mol. Imaging Biol.*, vol. 10, no. 1, pp. 1–18, 2008.
- [12] A. W. J. M. Glaudemans, R. H. Enting, M. a a M. Heesters, R. a J. O. Dierckx, R. W. J. van Rheenen, A. M. E. Walenkamp, and R. H. J. a Slart, "Value of 11C-methionine PET in imaging brain tumours and metastases.," *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, vol. 40, no. 4, pp. 615–35, Apr. 2013.

- [13] E. Crocetti, A. Trama, C. Stiller, A. Caldarella, R. Soffietti, J. Jaal, D. C. Weber, U. Ricardi, J. Slowinski, and A. Brandes, "Epidemiology of glial and non-glial brain tumours in Europe.," *Eur. J. Cancer*, vol. 48, no. 10, pp. 1532–42, Jul. 2012.
- [14] J. A Schwartzbaum, J. L. Fisher, K. D. Aldape, and M. Wrensch, "Epidemiology and molecular pathology of glioma.," *Nat. Clin. Pract. Neurol.*, vol. 2, no. 9, pp. 494–503, Sep. 2006.
- [15] D. N. Louis, H. Ohgaki, O. D. Wiestler, W. K. Cavenee, P. C. Burger, A. Jouvett, B. W. Scheithauer, and P. Kleihues, "The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system.," *Acta Neuropathol.*, vol. 114, no. 2, pp. 97–109, Aug. 2007.
- [16] H. Ohgaki and P. Kleihues, "Epidemiology and etiology of gliomas.," *Acta Neuropathol.*, vol. 109, no. 1, pp. 93–108, Jan. 2005.
- [17] F. Pignatti, M. van den Bent, D. Curran, C. Debruyne, R. Sylvester, P. Therasse, D. Afra, P. Cornu, M. Bolla, C. Vecht, and A. B. M. F. Karim, "Prognostic factors for survival in adult patients with cerebral low-grade glioma.," *J. Clin. Oncol.*, vol. 20, pp. 2076–2084, 2002.
- [18] A. Omuro and L. M. DeAngelis, "Glioblastoma and other malignant gliomas: a clinical review.," *JAMA*, vol. 310, no. 17, pp. 1842–50, Nov. 2013.
- [19] D. J. Brat, J. E. Parisi, B. K. Kleinschmidt-DeMasters, A. T. Yachnis, T. J. Montine, P. J. Boyer, S. Z. Powell, R. A. Prayson, and R. E. McLendon, "Surgical neuropathology update: a review of changes introduced by the WHO classification of tumours of the central nervous system, 4th edition.," *Arch. Pathol. Lab. Med.*, vol. 132, pp. 993–1007, 2008.
- [20] M. Weller, S. M. Pfister, W. Wick, M. E. Hegi, G. Reifenberger, and R. Stupp, "Molecular neuro-oncology in clinical practice: a new horizon.," *Lancet Oncol.*, vol. 14, no. 9, pp. e370–9, Aug. 2013.
- [21] B. E. Johnson, T. Mazor, C. Hong, M. Barnes, K. Aihara, C. Y. McLean, S. D. Fouse, S. Yamamoto, H. Ueda, K. Tatsuno, S. Asthana, L. E. Jalbert, S. J. Nelson, A. W. Bollen, W. C. Gustafson, E. Charron, W. a Weiss, I. V Smirnov, J. S. Song, A. B. Olshen, S. Cha, Y. Zhao, R. a Moore, A. J. Mungall, S. J. M. Jones, M. Hirst, M. a Marra, N. Saito, H. Aburatani, A. Mukasa, M. S. Berger, S. M. Chang, B. S. Taylor, and J. F. Costello, "Mutational analysis reveals the origin and therapy-driven evolution of recurrent glioma.," *Science*, vol. 343, no. 6167, pp. 189–93, Jan. 2014.
- [22] L. P. Taylor, "Diagnosis, treatment, and prognosis of glioma: five new things.," *Neurology*, vol. 75, no. 18 Suppl 1, pp. S28–32, Nov. 2010.
- [23] H. Ohgaki and P. Kleihues, "The definition of primary and secondary glioblastoma.," *Clin. Cancer Res.*, vol. 19, no. 4, pp. 764–72, Feb. 2013.
- [24] M. J. Riemenschneider, J. W. M. Jeuken, P. Wesseling, and G. Reifenberger, "Molecular diagnostics of gliomas: state of the art.," *Acta Neuropathol.*, vol. 120, no. 5, pp. 567–84, Nov. 2010.

- [25] A. Smits, E. Westerberg, and D. Ribom, "Adding 11C-methionine PET to the EORTC prognostic factors in grade 2 gliomas.," *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, vol. 35, no. 1, pp. 65–71, Jan. 2008.
- [26] P. J. Killela, C. J. Pirozzi, Z. J. Reitman, S. Jones, B. A. Rasheed, E. Lipp, H. Friedman, A. H. Friedman, Y. He, R. E. McLendon, D. D. Bigner, and H. Yan, "The genetic landscape of anaplastic astrocytoma.," *Oncotarget*, vol. 30, no. 5, pp. 1452–7, Mar. 2014.
- [27] R. Stupp, W. P. Mason, M. J. van den Bent, M. Weller, B. Fisher, M. J. B. Taphoorn, K. Belanger, A. Brandes, C. Marosi, U. Bogdahn, J. Curschmann, R. C. Janzer, S. K. Ludwin, T. Gorlia, A. Allgeier, D. Lacombe, J. G. Cairncross, E. Eisenhauer, and R. O. Mirimanoff, "Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma.," *N. Engl. J. Med.*, vol. 352, no. 10, pp. 987–96, Mar. 2005.
- [28] N. S. Chaudhry, A. H. Shah, N. Ferraro, B. M. Snelling, A. Bregy, K. Madhavan, and R. J. Komotar, "Predictors of long-term survival in patients with glioblastoma multiforme: advancements from the last quarter century.," *Cancer Invest.*, vol. 31, no. 5, pp. 287–308, Jun. 2013.
- [29] E. R. Gerstner and T. T. Batchelor, "Antiangiogenic Therapy for Glioblastoma," *The Cancer Journal*, vol. 18, pp. 45–50, 2012.
- [30] W. S. Lee, E. Y. Woo, J. Kwon, M.-J. Park, J.-S. Lee, Y.-H. Han, and I. H. Bae, "Bcl-w Enhances Mesenchymal Changes and Invasiveness of Glioblastoma Cells by Inducing Nuclear Accumulation of β -Catenin.," *PLoS One*, vol. 8, no. 6, p. e68030, Jan. 2013.
- [31] A. Olar and K. D. Aldape, "Biomarkers Classification and Therapeutic Decision-Making for Malignant Gliomas," *Current Treatment Options in Oncology*. 2012.
- [32] R. McLendon, A. Friedman, D. Bigner, E. G. Van Meir, D. J. Brat, G. M. Mastrogiannis, J. J. Olson, T. Mikkelsen, N. Lehman, K. Aldape, W. K. Alfred Yung, O. Bogler, S. Vandenberg, M. Berger, M. Prados, D. Muzny, M. Morgan, S. Scherer, A. Sabo, L. Nazareth, L. Lewis, O. Hall, Y. Zhu, Y. Ren, O. Alvi, J. Yao, A. Hawes, S. Jhangiani, G. Fowler, A. San Lucas, C. Kovar, A. Cree, H. Dinh, J. Santibanez, V. Joshi, M. L. Gonzalez-Garay, C. A. Miller, A. Milosavljevic, L. Donehower, D. A. Wheeler, R. A. Gibbs, K. Cibulskis, C. Sougnez, T. Fennell, S. Mahan, J. Wilkinson, L. Ziaugra, R. Onofrio, T. Bloom, R. Nicol, K. Ardlie, J. Baldwin, S. Gabriel, E. S. Lander, L. Ding, R. S. Fulton, M. D. McLellan, J. Wallis, D. E. Larson, X. Shi, R. Abbott, L. Fulton, K. Chen, D. C. Koboldt, M. C. Wendl, R. Meyer, Y. Tang, L. Lin, J. R. Osborne, B. H. Dunford-Shore, T. L. Miner, K. Delehaunty, C. Markovic, G. Swift, W. Courtney, C. Pohl, S. Abbott, A. Hawkins, S. Leong, C. Haipek, H. Schmidt, M. Wiechert, T. Vickery, S. Scott, D. J. Dooling, A. Chinwalla, G. M. Weinstock, E. R. Mardis, R. K. Wilson, G. Getz, W. Winckler, R. G. W. Verhaak, M. S. Lawrence, M. O'Kelly, J. Robinson, G. Alexe, R. Beroukham, S. Carter, D. Chiang, J. Gould, S. Gupta, J. Korn, C. Mermel, J. Mesirov, S. Monti, H. Nguyen, M. Parkin, M. Reich, N. Stransky, B. A. Weir, L. Garraway, T. Golub, M. Meyerson, L. Chin, A. Protopopov, J. Zhang, I. Perna, S. Aronson, N. Sathiamoorthy, G. Ren, J. Yao, W. R. Wiedemeyer, H. Kim, S. Won Kong, Y. Xiao, I. S. Kohane, J. Seidman, P. J. Park, R. Kucherlapati, P. W. Laird, L. Cope, J. G. Herman, D. J. Weisenberger, F. Pan, D. Van Den Berg, L. Van Neste, J. Mi Yi, K. E. Schuebel,

S. B. Baylin, D. M. Absher, J. Z. Li, A. Southwick, S. Brady, A. Aggarwal, T. Chung, G. Sherlock, J. D. Brooks, R. M. Myers, P. T. Spellman, E. Purdom, L. R. Jakkula, A. V. Lapuk, H. Marr, S. Dorton, Y. Gi Choi, J. Han, A. Ray, V. Wang, S. Durinck, M. Robinson, N. J. Wang, K. Vranizan, V. Peng, E. Van Name, G. V. Fontenay, J. Ngai, J. G. Conboy, B. Parvin, H. S. Feiler, T. P. Speed, J. W. Gray, C. Brennan, N. D. Socci, A. Olshen, B. S. Taylor, A. Lash, N. Schultz, B. Reva, Y. Antipin, A. Stukalov, B. Gross, E. Cerami, W. Qing Wang, L.-X. Qin, V. E. Seshan, L. Villafania, M. Cavatore, L. Borsu, A. Viale, W. Gerald, C. Sander, M. Ladanyi, C. M. Perou, D. Neil Hayes, M. D. Topal, K. A. Hoadley, Y. Qi, S. Balu, Y. Shi, J. Wu, R. Penny, M. Bittner, T. Shelton, E. Lenkiewicz, S. Morris, D. Beasley, S. Sanders, A. Kahn, R. Sfeir, J. Chen, D. Nassau, L. Feng, E. Hickey, J. Zhang, J. N. Weinstein, A. Barker, D. S. Gerhard, J. Vockley, C. Compton, J. Vaught, P. Fielding, M. L. Ferguson, C. Schaefer, S. Madhavan, K. H. Buetow, F. Collins, P. Good, M. Guyer, B. Ozenberger, J. Peterson, and E. Thomson, "Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways," *Nature*, vol. 455, pp. 1061–1068, 2008.

- [33] W. Jonat and N. Arnold, "Is the Ki-67 labelling index ready for clinical use?," *Ann. Oncol.*, vol. 22, no. 3, pp. 500–2, Mar. 2011.
- [34] A. L. Johannessen and S. H. Torp, "The clinical value of Ki-67/MIB-1 labeling index in human astrocytomas," *Pathol. Oncol. Res.*, vol. 12, no. 3, pp. 143–7, Jan. 2006.
- [35] H. Arshad, Z. Ahmad, and S. H. Hasan, "Gliomas: correlation of histologic grade, Ki67 and p53 expression with patient survival.," *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, vol. 11, no. 6, pp. 1637–40, Jan. 2010.
- [36] B. C. Kennedy, C. R. Showers, D. E. Anderson, L. Anderson, P. Canoll, J. N. Bruce, and R. C. E. Anderson, "Tumor-associated macrophages in glioma: friend or foe?," *J. Oncol.*, vol. 2013, p. 486912, Jan. 2013.
- [37] J. Gerdes, H. Lemke, H. Baisch, H. H. Wacker, U. Schwab, and H. Stein, "Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67.," *J. Immunol.*, vol. 133, pp. 1710–1715, 1984.
- [38] H. Khalid, S. Shibata, M. Kishikawa, A. Yasunaga, M. Iseki, and T. Hiura, "Immunohistochemical analysis of progesterone receptor and Ki-67 labeling index in astrocytic tumors.," *Cancer*, vol. 80, pp. 2133–2140, 1997.
- [39] J. F. Reavey-Cantwell, R. I. Haroun, M. Zahurak, R. E. Clatterbuck, R. J. Parker, R. Mehta, J. P. Fruehauf, and H. Brem, "The prognostic value of tumor markers in patients with glioblastoma multiforme: analysis of 32 patients and review of the literature," *J Neurooncol*, vol. 55, pp. 195–204, 2001.
- [40] D. A. Hilton, S. Love, R. Barber, D. Ellison, and D. R. Sandeman, "Accumulation of p53 and Ki-67 expression do not predict survival in patients with fibrillary astrocytomas or the response of these tumors to radiotherapy.," *Neurosurgery*, vol. 42, pp. 724–729, 1998.
- [41] M. Nieto-Sampedro, B. Valle-Argos, D. Gómez-Nicola, A. Fernández-Mayoralas, and M. Nieto-Díaz, "Inhibitors of Glioma Growth that Reveal the Tumour to the Immune System.," *Clin. Med. Insights. Oncol.*, vol. 5, pp. 265–314, Jan. 2011.

- [42] P. Zou, H. Xu, P. Chen, Q. Yan, L. Zhao, P. Zhao, and A. Gu, "IDH1/IDH2 Mutations Define the Prognosis and Molecular Profiles of Patients with Gliomas: A Meta-Analysis," *PLoS One*, vol. 8, 2013.
- [43] N. Thon, S. Kreth, F.W. Kreth "Personalized treatment strategies in glioblastoma: MGMT promoter methylation status," *Onco Targets Ther.* vol. 6, pp. 1363–1372, Sep 2013.
- [44] O. O. Kanu, B. Hughes, C. Di, N. Lin, J. Fu, D. D. Bigner, H. Yan, and C. Adamson, "Glioblastoma Multiforme Oncogenomics and Signaling Pathways.," *Clin. Med. Oncol.*, vol. 3, pp. 39–52, Apr. 2009.
- [45] R. Stupp, M. E. Hegi, W. P. Mason, M. J. van den Bent, M. J. Taphoorn, R. C. Janzer, S. K. Ludwin, A. Allgeier, B. Fisher, K. Belanger, P. Hau, A. A. Brandes, J. Gijtenbeek, C. Marosi, C. J. Vecht, K. Mokhtari, P. Wesseling, S. Villa, E. Eisenhauer, T. Gorlia, M. Weller, D. Lacombe, J. G. Cairncross, and R. O. Mirimanoff, "Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial," *Lancet Oncol.*, vol. 10, pp. 459–466, 2009.
- [46] W. Wick, C. Meisner, B. Hentschel, M. Platten, A. Schilling, B. Wiestler, M. C. Sabel, S. Koeppen, R. Ketter, M. Weiler, G. Tabatabai, A. von Deimling, D. Gramatzki, M. Westphal, G. Schackert, M. Loeffler, M. Simon, G. Reifenberger, and M. Weller, "Prognostic or predictive value of MGMT promoter methylation in gliomas depends on IDH1 mutation.," *Neurology*, vol. 81, no. 17, pp. 1515–22, Oct. 2013.
- [47] R. B. Jenkins, H. Blair, K. V Ballman, C. Giannini, R. M. Arusell, M. Law, H. Flynn, S. Passe, S. Felten, P. D. Brown, E. G. Shaw, and J. C. Buckner, "A t(1;19)(q10;p10) mediates the combined deletions of 1p and 19q and predicts a better prognosis of patients with oligodendroglioma.," *Cancer Res.*, vol. 66, pp. 9852–9861, 2006.
- [48] M. J. van den Bent, A. A. Brandes, M. J. B. Taphoorn, J. M. Kros, M. C. M. Kouwenhoven, J.-Y. Delattre, H. J. J. A. Bernsen, M. Frenay, C. C. Tijssen, W. Grisold, L. Sipos, R. H. Enting, P. J. French, W. N. M. Dinjens, C. J. Vecht, A. Allgeier, D. Lacombe, T. Gorlia, and K. Hoang-Xuan, "Adjuvant Procarbazine, Lomustine, and Vincristine Chemotherapy in Newly Diagnosed Anaplastic Oligodendroglioma: Long-Term Follow-Up of EORTC Brain Tumor Group Study 26951," *J Clin Oncol.*, vol. 31, pp. 344-50, Jan 2013.
- [49] G. Cairncross, M. Wang, E. Shaw, R. Jenkins, D. Brachman, J. Buckner, K. Fink, L. Souhami, N. Laperriere, W. Curran, and M. Mehta, "Phase III Trial of Chemoradiotherapy for Anaplastic Oligodendroglioma: Long-Term Results of RTOG 9402," *J Clin Oncol.*, vol. 31, pp. 337-43, Jan 2013.
- [50] T. Saito, T. Maruyama, Y. Muragaki, M. Tanaka, M. Nitta, J. Shinoda, T. Aki, H. Iseki, K. Kurisu, and Y. Okada, "11C-methionine uptake correlates with combined 1p and 19q loss of heterozygosity in oligodendroglial tumors.," *AJNR. Am. J. Neuroradiol.*, vol. 34, no. 1, pp. 85–91, Jan. 2013.
- [51] M. Toda, "Glioma stem cells and immunotherapy for the treatment of malignant gliomas.," *ISRN Oncol.*, vol. 2013, p. 673793, Jan. 2013.

- [52] M. R. Mitchell, R. W. Tarr, T. E. Conturo, C. L. Partain, and A. E. James, "Spin echo technique selection: basic principles for choosing MRI pulse sequence timing intervals.," *Radiographics*, vol. 6, pp. 245–260, 1986.
- [53] P. Mansfield and A. A. Maudsley, "Medical imaging by NMR.," *Br. J. Radiol.*, vol. 50, pp. 188–194, 1977.
- [54] P. Mansfield and I. L. Pykett, "Biological and medical imaging by NMR.," *J. Magn. Reson.*, vol. 213, pp. 513–31, 2011.
- [55] W. A. Willinek and H. H. Schild, "Clinical advantages of 3.0 T MRI over 1.5 T," *Eur. J. Radiol.*, vol. 65, pp. 2–14, 2008.
- [56] R. A. Pooley, "Fundamental Physics of MR Imaging1," *RadioGraphics*, vol. 25, pp. 1087–1099, 2005.
- [57] F. G. Dhermain, P. Hau, H. Lanfermann, A. H. Jacobs, and M. J. van den Bent, "Advanced MRI and PET imaging for assessment of treatment response in patients with gliomas.," *Lancet Neurol.*, vol. 9, pp. 906–920, 2010.
- [58] H. B. W. Larsson, F. Courivaud, E. Rostrup, and A. E. Hansen, "Measurement of brain perfusion, blood volume, and blood-brain barrier permeability, using dynamic contrast-enhanced T(1)-weighted MRI at 3 tesla.," *Magn. Reson. Med.*, vol. 62, pp. 1270–1281, 2009.
- [59] D. R. Macdonald, T. L. Cascino, S. C. Schold Jr., and J. G. Cairncross, "Response criteria for phase II studies of supratentorial malignant glioma," *J Clin Oncol*, vol. 8, pp. 1277–1280, 1990.
- [60] C. Ewelt, M. Goepfert, M. Rapp, H.-J. Steiger, W. Stummer, and M. Sabel, "Glioblastoma multiforme of the elderly: the prognostic effect of resection on survival.," *J. Neurooncol.*, vol. 103, no. 3, pp. 611–8, Jul. 2011.
- [61] T. J. Kruser, M. P. Mehta, and H. I. Robins, "Pseudoprogression after glioma therapy: a comprehensive review.," *Expert Rev. Neurother.*, vol. 13, no. 4, pp. 389–403, Apr. 2013.
- [62] H.-W. Kao, S.-W. Chiang, H.-W. Chung, F. Y. Tsai, and C.-Y. Chen, "Advanced MR imaging of gliomas: an update.," *Biomed Res. Int.*, vol. 2013, p. 970586, Jan. 2013.
- [63] L. A. D. Cooper, S. N. Hwang, C. A. Holder, T. D. Aurora, W. D. Dunn, L. Scarpace, T. Mikkelsen, R. J. Clifford, V. Kleper, J. Freymann, J. Kirby, P. O. Zinn, C. S. Moreno, and C. Jaffe, "MR Imaging Predictors of Molecular Profile and Survival: Multi-institutional Study of the TCGA Glioblastoma data set," *Radiology*, vol. 267, no. 2, pp. 560-9, May 2013.
- [64] Y. Tanaka, T. Nariai, T. Momose, M. Aoyagi, T. Maehara, T. Tomori, Y. Yoshino, T. Nagaoka, K. Ishiwata, K. Ishii, and K. Ohno, "Glioma surgery using a multimodal navigation system with integrated metabolic images.," *J. Neurosurg.*, vol. 110, no. 1, pp. 163–72, Jan. 2009.

- [65] A. Giese and M. Westphal, "Glioma invasion in the central nervous system.," *Neurosurgery*, vol. 39, pp. 235–250; discussion 250–252, 1996.
- [66] N. Upadhyay and A. D. Waldman, "Conventional MRI evaluation of gliomas," *British Journal of Radiology*, vol. 84. pp. S107–S111, 2011.
- [67] S. Cha, "Update on Brain Tumor Imaging: from anatomy to physiology," *AJNR Am. J. Neuroradiol.*, vol. 27. pp. 475-87, 2006.
- [68] J. H. Yoon, J.-H. Kim, W. J. Kang, C.-H. Sohn, S. H. Choi, T. J. Yun, Y. Eun, Y. S. Song, and K.-H. Chang, "Grading of Cerebral Glioma with Multiparametric MR Imaging and (18)F-FDG-PET: Concordance and Accuracy.," *Eur. Radiol.*, pp. 380–389, 2013.
- [69] K. L. Zierler, "Theoretical Basis of Indicator-Dilution Methods For Measuring Flow and Volume," *Circulation Research*, vol. 10. pp. 393–407, 1962.
- [70] S.-M. Deng, B. Zhang, Y.-W. Wu, W. Zhang, and Y.-Y. Chen, "Detection of glioma recurrence by ¹¹C-methionine positron emission tomography and dynamic susceptibility contrast-enhanced magnetic resonance imaging: a meta-analysis.," *Nucl. Med. Commun.*, vol. 34, no. 8, pp. 758–66, Aug. 2013.
- [71] M. Law, R. J. Young, J. S. Babb, N. Peccerelli, S. Chheang, M. L. Gruber, D. C. Miller, J. G. Golfinos, D. Zagzag, and G. Johnson, "Gliomas: predicting time to progression or survival with cerebral blood volume measurements at dynamic susceptibility-weighted contrast-enhanced perfusion MR imaging.," *Radiology*, vol. 247, pp. 490–498, 2008.
- [72] J. R. Hesselink, "Differential diagnostic approach to MR imaging of white matter diseases.," *Top. Magn. Reson. Imaging*, vol. 17, pp. 243–263, 2006.
- [73] O. C. Andronesi, O. Rapalino, E. Gerstner, A. Chi, T. T. Batchelor, D. P. Cahill, A. G. Sorensen, and B. R. Rosen, "Detection of oncogenic IDH1 mutations using magnetic resonance spectroscopy of 2-hydroxyglutarate," *J Clin Invest*, vol. 123, no. 9, pp. 3659-63, 2013.
- [74] R. N. Al-okaili, J. Krejza, S. Wang, J. H. Woo, and E. R. Melhem, "Advanced MR Imaging Techniques in the Diagnosis of Intraaxial Brain Tumors in adults," *Radiographics*, Suppl. 1, pp. S173–89, 2006.
- [75] D. Yang, Y. Korogi, T. Sugahara, M. Kitajima, Y. Shigematsu, L. Liang, Y. Ushio, and M. Takahashi, "Cerebral gliomas: prospective comparison of multivoxel 2D chemical-shift imaging proton MR spectroscopy, echoplanar perfusion and diffusion-weighted MRI.," *Neuroradiology*, vol. 44, pp. 656–666, 2002.
- [76] S. G. Berntsson, A. Falk, I. Savitcheva, A. Godau, M. Zetterling, G. Hesselager, I. Alafuzoff, E.-M. Larsson, and A. Smits, "Perfusion and diffusion MRI combined with ¹¹C-methionine PET in the preoperative evaluation of suspected adult low-grade gliomas.," *J. Neurooncol.*, vol. 114, no. 2, pp. 241–9, Sep. 2013.
- [77] K. Strijckmans, "The isochronous cyclotron: Principles and recent developments," *Comput. Med. Imaging Graph.*, vol. 25, pp. 69–78, 2001.

- [78] B. Gulyás and C. Halldin, "New PET radiopharmaceuticals beyond FDG for brain tumor imaging," *Q. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, vol. 56, pp. 173–90, 2012.
- [79] D. W. Townsend, "Physical principles and technology of clinical PET imaging.," *Ann. Acad. Med. Singapore*, vol. 33, pp. 133–145, 2004.
- [80] J. M. Martí-Climent, E. Prieto, J. López Lafuente, and J. Arbizu, "Neuroimagen: Fundamentos técnicos y prácticos," *Rev. Esp. Med. Nucl.*, vol. 29, pp. 189–210, 2010.
- [81] C. la Fougère, B. Suchorska, P. Bartenstein, F.-W. Kreth, and J.-C. Tonn, "Molecular imaging of gliomas with PET: opportunities and limitations.," *Neuro. Oncol.*, vol. 13, no. 8, pp. 806–19, Aug. 2011.
- [82] T. Vander Borght, S. Asenbaum, P. Bartenstein, C. Halldin, Ö. Kapucu, K. Van Laere, A. Varrone, and K. Tatsch, "Brain Tumor Imaging: European Association of Nuclear Medicine Procedure Guidelines - Springer," in *Methods of Cancer Diagnosis, Therapy and Prognosis Brain Cancer*, 2010, pp. 9–19.
- [83] T. Vander Borght, S. Asenbaum, P. Bartenstein, C. Halldin, O. Kapucu, K. Van Laere, a Varrone, and K. Tatsch, "EANM procedure guidelines for brain tumour imaging using labelled amino acid analogues.," *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, vol. 33, no. 11, pp. 1374–80, Nov. 2006.
- [84] B. Pirotte, S. Goldman, N. Massager, P. David, D. Wikler, A. Vandesteene, I. Salmon, and J. Brotchi, "Comparison of 18F-FDG and 11C-methionine for PET-guided stereotactic brain biopsy of gliomas.," *J Nucl Med.*, vol. 45, no. 8, pp. 1293–8, 2004.
- [85] S. Yang, C. Zhang, T. Zhu, L. Cai, S. Gao, S. Yue, and W. Wei, "Resection of gliomas using positron emission tomography/computed tomography neuronavigation.," *Neurol. Med. Chir. (Tokyo).*, vol. 47, no. 9, pp. 397–401; discussion 402, Sep. 2007.
- [86] F. Benard, J. Romsa, and R. Hustinx, "Imaging gliomas with positron emission tomography and single-photon emission computed tomography.," *Semin Nucl Med*, vol. 33, pp. 148–162, 2003.
- [87] D. J. Coope, J. Cízek, C. Eggers, S. Vollmar, W.-D. Heiss, and K. Herholz, "Evaluation of primary brain tumors using 11C-methionine PET with reference to a normal methionine uptake map.," *J. Nucl. Med.*, vol. 48, no. 12, pp. 1971–80, Dec. 2007.
- [88] K. Herholz, T. Hölzer, B. Bauer, R. Schröder, J. Voges, R. I. Ernestus, G. Mendoza, G. Weber-Luxenburger, J. Löttgen, a Thiel, K. Wienhard, and W. D. Heiss, "11C-methionine PET for differential diagnosis of low-grade gliomas.," *Neurology*, vol. 50, no. 5, pp. 1316–22, May 1998.
- [89] A. Becherer, G. Karanikas, M. Szabó, G. Zettinig, S. Asenbaum, C. Marosi, C. Henk, P. Wunderbaldinger, T. Czech, W. Wadsak, and K. Kletter, "Brain tumour imaging with PET: a comparison between [18F]fluorodopa and [11C]methionine.," *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, vol. 30, no. 11, pp. 1561-7, 2003.

- [90] J.-K. Chung, Y. K. Kim, S. Kim, Y. J. Lee, S. Paek, J. S. Yeo, J. M. Jeong, D. S. Lee, H. W. Jung, and M. C. Lee, "Usefulness of 11C-methionine PET in the evaluation of brain lesions that are hypo- or isometabolic on 18F-FDG PET.," *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, vol. 29, pp. 176–182, 2002.
- [91] H. Gumprecht, A. L. Grosu, M. Souvatsoglou, B. Dzewas, W. A. Weber, and C. B. Lumenta, "11C-Methionine positron emission tomography for preoperative evaluation of suggestive low-grade gliomas.," *Zentralbl. Neurochir.*, vol. 68, pp. 19–23, 2007.
- [92] Y. Yamamoto, Y. Nishiyama, N. Kimura, R. Kameyama, N. Kawai, T. Hatakeyama, M. Kaji, and M. Ohkawa, "11C-acetate PET in the evaluation of brain glioma: comparison with 11C-methionine and 18F-FDG-PET.," *Mol. Imaging Biol.*, vol. 10, pp. 281–287, 2008.
- [93] T. Yamane, S. Sakamoto, and M. Senda, "Clinical impact of (11)C-methionine PET on expected management of patients with brain neoplasm.," *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, vol. 37, pp. 685–690, 2010.
- [94] K. Mineura, T. Sasajima, Y. Suda, M. Kowada, F. Shishido, and K. Uemura, "Amino acid study of cerebral gliomas using positron emission tomography--analysis of (11C-methyl)-L-methionine uptake index.," *Neurol. Med. Chir. (Tokyo)*, vol. 30, no. 13, pp. 997–1002, 1990.
- [95] T. Nishashi, I. J. Dahabreh, and T. Terasawa, "Diagnostic Accuracy of PET for Recurrent Glioma Diagnosis: a meta-analysis.," *AJNR Am. J. Neuroradiol.*, vol. 34, no. 5, pp. 944-50, 2013.
- [96] T. Nakajima, T. Kumabe, M. Kanamori, R. Saito, M. Tashiro, M. Watanabe, and T. Tominaga, "Differential diagnosis between radiation necrosis and glioma progression using sequential proton magnetic resonance spectroscopy and methionine positron emission tomography.," *Neurol. Med. Chir. (Tokyo)*, vol. 49, no. 9, pp. 394–401, Sep. 2009.
- [97] K. Van Laere, S. Ceysens, F. Van Calenbergh, T. de Groot, J. Menten, P. Flamen, G. Bormans, and L. Mortelmans, "Direct comparison of 18F-FDG and 11C-methionine PET in suspected recurrence of glioma: sensitivity, inter-observer variability and prognostic value.," *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, vol. 32, no. 1, pp. 39–51, Jan. 2005.
- [98] N. Galldiks, G. Stoffels, M. I. Ruge, M. Rapp, M. Sabel, G. Reifenberger, Z. Erdem, N. J. Shah, G. R. Fink, H. H. Coenen, and K.-J. Langen, "Role of O-(2-18F-fluoroethyl)-L-tyrosine PET as a diagnostic tool for detection of malignant progression in patients with low-grade glioma.," *J. Nucl. Med.*, vol. 54, no. 12, pp. 2046–54, Dec. 2013.
- [99] H. Shishido, N. Kawai, K. Miyake, Y. Yamamoto, Y. Nishiyama, and T. Tamiya, "Diagnostic Value of 11C-Methionine (MET) and 18F-Fluorothymidine (FLT) Positron Emission Tomography in Recurrent High-Grade Gliomas; Differentiation from Treatment-Induced Tissue Necrosis.," *Cancers (Basel)*, vol. 4, no. 1, pp. 244–56, Jan. 2012.
- [100] D. L. Li, Y. K. Xu, Q. S. Wang, H. B. Wu, and H. S. Li, "(1)(1)C-methionine and (1)(8)F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/CT in the evaluation

of patients with suspected primary and residual/recurrent gliomas,” *Chin. Med. J.*, vol. 125, pp. 91–96, 2012.

- [101] M. Tripathi, R. Sharma, and R. Varshney, “Comparison of F-18 FDG and C-11 Methionine PET / CT for the evaluation of recurrent primary brain tumors,” *Clin. Nucl. Med.*, vol. 37, no. 2, pp. 158-63, 2012.
- [102] S. Okamoto, T. Shiga, N. Hattori, N. Kubo, T. Takei, N. Katoh, Y. Sawamura, K. Nishijima, Y. Kuge, and N. Tamaki, “Semiquantitative analysis of C-11 methionine PET may distinguish brain tumor recurrence from radiation necrosis even in small lesions.,” *Ann. Nucl. Med.*, vol. 25, pp. 213–220, 2011.
- [103] S. Takenaka, Y. Asano, J. Shinoda, Y. Nomura, S. Yonezawa, K. Miwa, H. Yano, and T. Iwama, “Comparison of 11C-Methionine, 11C-Choline, and 18F-Fluorodeoxyglucose-PET for Distinguishing Glioma Recurrence from Radiation Necrosis,” *Neurol. Med. Chir. (Tokyo)*, vol. 54, no. 4, pp. 280–289, 2014.
- [104] N. Tsuyuguchi, T. Takami, I. Sunada, Y. Iwai, K. Yamanaka, K. Tanaka, M. Nishikawa, K. Ohata, K. Torii, M. Morino, A. Nishio, and M. Hara, “Methionine positron emission tomography for differentiation of recurrent brain tumor and radiation necrosis after stereotactic radiosurgery—in malignant glioma.,” *Ann Nucl Med.*, vol. 18, no. 4, pp. 291-6, 2004.
- [105] S. Okubo, H.-N. Zhen, N. Kawai, Y. Nishiyama, R. Haba, and T. Tamiya, “Correlation of L-methyl-11C-methionine (MET) uptake with L-type amino acid transporter 1 in human gliomas.,” *J. Neurooncol.*, vol. 99, pp. 217–225, 2010.
- [106] M. Sasaki, Y. Kuwabara, T. Yoshida, M. Nakagawa, T. Fukumura, and F. Mihara, “A comparative study of thallium-201 SPET , carbon-11 methionine PET and fluorine-18 fluorodeoxyglucose PET for the differentiation of astrocytic tumours,” *Eur. J. Nucl. Med.*, vol. 25, no. 9, pp. 1261-9, 1998.
- [107] T. Singhal, T. K. Narayanan, M. P. Jacobs, C. Bal, and J. C. Mantil, “11C-methionine PET for grading and prognostication in gliomas: a comparison study with 18F-FDG PET and contrast enhancement on MRI.,” *J. Nucl. Med.*, vol. 53, no. 11, pp. 1709–15, Nov. 2012.
- [108] S. Ceysens, K. Van Laere, T. de Groot, J. Goffin, G. Bormans, and L. Mortelmans, “[11C]methionine PET, histopathology, and survival in primary brain tumors and recurrence.,” *AJNR. Am. J. Neuroradiol.*, vol. 27, no. 7, pp. 1432–7, Aug. 2006.
- [109] F. Giammarile, L. E. Cinotti, a Jouvét, J. M. Ramackers, G. Saint Pierre, P. Thiesse, E. Jouanneau, J. Guyotat, I. Pelissou-Guyotat, a Setiey, J. Honnorat, D. Le Bars, and D. Frappaz, “High and low grade oligodendrogliomas (ODG): correlation of amino-acid and glucose uptakes using PET and histological classifications.,” *J. Neurooncol.*, vol. 68, no. 3, pp. 263–74, Jul. 2004.
- [110] T. Hatakeyama, N. Kawai, Y. Nishiyama, Y. Yamamoto, Y. Sasakawa, T. Ichikawa, and T. Tamiya, “11C-methionine (MET) and 18F-fluorothymidine (FLT) PET in patients with newly diagnosed glioma.,” *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, vol. 35, pp. 2009–2017, 2008.

- [111] T. Kato, J. Shinoda, N. Nakayama, K. Miwa, a Okumura, H. Yano, S. Yoshimura, T. Maruyama, Y. Muragaki, and T. Iwama, "Metabolic assessment of gliomas using 11C-methionine, [18F] fluorodeoxyglucose, and 11C-choline positron-emission tomography.," *AJNR. Am. J. Neuroradiol.*, vol. 29, no. 6, pp. 1176–82, Jun. 2008.
- [112] K. Torii, N. Tsuyuguchi, J. Kawabe, I. Sunada, M. Hara, and S. Shiomi, "Correlation of amino-acid uptake using methionine PET and histological classifications in various gliomas.," *Ann. Nucl. Med.*, vol. 19, no. 8, pp. 677–83, Dec. 2005.
- [113] K. Miyake, A. Shinomiya, M. Okada, T. Hatakeyama, N. Kawai, and T. Tamiya, "Usefulness of FDG, MET and FLT-PET studies for the management of human gliomas.," *J. Biomed. Biotechnol.*, vol. 2012, p. 205818, Jan. 2012.
- [114] G. Moulin-Romsée, E. D'Hondt, T. de Groot, J. Goffin, R. Sciot, L. Mortelmans, J. Menten, G. Bormans, and K. Van Laere, "Non-invasive grading of brain tumours using dynamic amino acid PET imaging: does it work for 11C-methionine?," *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, vol. 34, no. 12, pp. 2082–7, Dec. 2007.
- [115] N. Shinozaki, Y. Uchino, K. Yoshikawa, T. Matsutani, A. Hasegawa, N. Saeki, and Y. Iwadate, "Discrimination between low-grade oligodendrogliomas and diffuse astrocytoma with the aid of 11C-methionine positron emission tomography.," *J. Neurosurg.*, vol. 114, pp. 1640–1647, 2011.
- [116] A. H. Jacobs, A. Thomas, L. W. Kracht, H. Li, C. Dittmar, G. Garlip, N. Galldiks, J. C. Klein, J. Sobesky, R. Hilker, S. Vollmar, K. Herholz, K. Wienhard, and W.-D. Heiss, "18F-fluoro-L-thymidine and 11C-methylmethionine as markers of increased transport and proliferation in brain tumors.," *J. Nucl. Med.*, vol. 46, pp. 1948–1958, 2005.
- [117] Y. Okita, M. Kinoshita, T. Goto, N. Kagawa, H. Kishima, E. Shimosegawa, J. Hatazawa, N. Hashimoto, and T. Yoshimine, "11C-methionine uptake correlates with tumor cell density rather than with microvessel density in glioma: A stereotactic image-histology comparison," *Neuroimage*, vol. 49, pp. 2977–2982, 2010.
- [118] N. Sadeghi, I. Salmon, C. Decaestecker, M. Levivier, T. Metens, D. Wikler, V. Denolin, S. Rorive, N. Massager, D. Baleriaux, and S. Goldman, "Stereotactic comparison among cerebral blood volume, methionine uptake, and histopathology in brain glioma.," *AJNR. Am. J. Neuroradiol.*, vol. 28, no. 3, pp. 455–61, Mar. 2007.
- [119] L. W. Kracht, H. Miletic, S. Busch, A. H. Jacobs, J. Voges, M. Hoevels, J. C. Klein, K. Herholz, and W.-D. Heiss, "Delineation of brain tumor extent with [11C]L-methionine positron emission tomography: local comparison with stereotactic histopathology.," *Clin. Cancer Res.*, vol. 10, no. 21, pp. 7163–70, Nov. 2004.
- [120] N. Massager, P. David, S. Goldman, B. Pirotte, D. Wikler, I. Salmon, N. Nagy, J. Brotchi, and M. Levivier, "Combined magnetic resonance imaging- and positron emission tomography-guided stereotactic biopsy in brainstem mass lesions:

diagnostic yield in a series of 30 patients.," *J. Neurosurg.*, vol. 93, pp. 951–957, 2000.

- [121] V. Braun, S. Dempf, R. Weller, S.-N. Reske, W. Schachenmayr, and H. P. Richter, "Cranial neuronavigation with direct integration of (11)C methionine positron emission tomography (PET) data -- results of a pilot study in 32 surgical cases.," *Acta Neurochir. (Wien)*., vol. 144, no. 8, pp. 777–82; discussion 782, Aug. 2002.
- [122] H. Arita, M. Kinoshita, N. Kagawa, Y. Fujimoto, H. Kishima, N. Hashimoto, and T. Yoshimine, "¹¹C-methionine uptake and intraoperative 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence as separate index markers of cell density in glioma: a stereotactic image-histological analysis.," *Cancer*, vol. 118, no. 6, pp. 1619–27, Mar. 2012.
- [123] B. Kaschten, A. Stevenaert, B. Sadzot, M. Deprez, C. Degueldre, G. Del Fiore, and M. Reznik, "Preoperative Evaluation of 54 Gliomas by PET with Fluorine-18-Fluorodeoxyglucose and/or carbon-11-methionine.," *J. Nucl. Med.*, vol. 39, no. 5, pp. 778-85, 1998.
- [124] M. Levivier, N. Massager, D. Wikler, J. Lorenzoni, S. Ruiz, D. Devriendt, P. David, F. Desmedt, S. Simon, P. Van Houtte, J. Brotchi, and S. Goldman, "Use of stereotactic PET images in dosimetry planning of radiosurgery for brain tumors: clinical experience and proposed classification.," *J. Nucl. Med.*, vol. 45, no. 7, pp. 1146–54, Jul. 2004.
- [125] I. H. Lee, M. Piert, D. Gomez-Hassan, L. Junck, L. Rogers, J. Hayman, R. K. Ten Haken, T. S. Lawrence, Y. Cao, and C. Tsien, "Association of ¹¹C-Methionine PET Uptake With Site of Failure After Concurrent Temozolomide and Radiation for Primary Glioblastoma Multiforme," *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, vol. 73, pp. 479–485, 2009.
- [126] J. Nuutinen, P. Sonninen, P. Lehtikoinen, E. Sutinen, R. Valavaara, E. Eronen, S. Norrgård, J. Kulmala, M. Teräs, and H. Minn, "Radiotherapy treatment planning and long-term follow-up with [¹¹C]methionine PET in patients with low-grade astrocytoma," *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, vol. 48, pp. 43–52, 2000.
- [127] A. L. Grosu, W. A. Weber, E. Riedel, B. Jeremic, C. Nieder, M. Franz, H. Gumprecht, R. Jaeger, M. Schwaiger, and M. Molls, "L-(methyl-¹¹C) methionine positron emission tomography for target delineation in resected high-grade gliomas before radiotherapy," *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, vol. 63, pp. 64–74, 2005.
- [128] R. T. Ullrich, L. Kracht, A. Brunn, K. Herholz, P. Frommolt, H. Miletic, M. Deckert, W.-D. Heiss, and A. H. Jacobs, "Methyl-L-¹¹C-methionine PET as a diagnostic marker for malignant progression in patients with glioma.," *J. Nucl. Med.*, vol. 50, no. 12, pp. 1962–8, Dec. 2009.
- [129] C. Pötzi, A. Becherer, C. Marosi, G. Karanikas, M. Szabo, R. Dudczak, K. Kletter, and S. Asenbaum, "[¹¹C] methionine and [¹⁸F] fluorodeoxyglucose PET in the follow-up of glioblastoma multiforme.," *J. Neurooncol.*, vol. 84, no. 3, pp. 305-14, 2007.

- [130] S. Kim, J.-K. Chung, S.-H. Im, J. M. Jeong, D. S. Lee, D. G. Kim, H. W. Jung, and M. C. Lee, "11C-methionine PET as a prognostic marker in patients with glioma: comparison with 18F-FDG PET.," *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, vol. 32, pp. 52–59, 2005.
- [131] D. Ribom, A. Eriksson, M. Hartman, H. Engler, A. Nilsson, B. Långström, H. Bolander, M. Bergström, and A. Smits, "Positron emission tomography (11)C-methionine and survival in patients with low-grade gliomas.," *Cancer*, vol. 92, pp. 1541–1549, 2001.
- [132] G. Di Chiro, E. Oldfield, D. C. Wright, D. De Michele, D. A. Katz, N. J. Patronas, J. L. Doppman, S. M. Larson, M. Ito, and C. V. Kufra, "Cerebral necrosis after radiotherapy and/or intraarterial chemotherapy for brain tumors: PET and neuropathologic studies.," *AJR. Am. J. Roentgenol.*, vol. 150, pp. 189–197, 1988.
- [133] F. Crippa, A. Alessi, and G. L. Serafini, "PET with radiolabeled amino acid.," *Q. J. Nucl. Med. Mol. Imaging Off. Publ. Ital. Assoc. Nucl. Med. [and] Int. Assoc. Radiopharmacol. (IAR), [and] Sect. Soc. Radiopharm.*, vol. 56, pp. 151–62, 2012.
- [134] A. Mestre-Fusco, C. Trampal, B. Intriago, H. Wessling, J. Fuertes, M. Suárez-Piñera, and M. L. Díaz-Fernández, "Assessment of Rhabdoid Brain Tumor by F-18 FDG PET, C-11 Methionine PET and MRI," *Clin. Nucl. Med.*, vol. 37, pp. e33–e35, 2012.
- [135] I. Götz and a L. Grosu, "[18F]FET-PET Imaging for Treatment and Response Monitoring of Radiation Therapy in Malignant Glioma Patients - A Review.," *Front. Oncol.*, vol. 3, no. April, p. 104, Jan. 2013.
- [136] M. Hutterer, M. Nowosielski, D. Putzer, N. L. Jansen, C. Fougé, M. Seiz, M. Schocke, M. McCoy, G. Go, I. J. Virgolini, E. Trinká, and A. H. Jacobs, "[18F]-fluoro-ethyl-L-tyrosine PET: a valuable diagnostic tool in neuro-oncology, but not all that glitters is glioma.," *Neuro. Oncol.*, vol. 15, no. 3, pp. 341–51, 2013.
- [137] T. Saga, H. Kawashima, N. Araki, J. A. Takahashi, Y. Nakashima, T. Higashi, N. Oya, T. Mukai, M. Hojo, N. Hashimoto, T. Manabe, M. Hiraoka, and K. Togashi, "Evaluation of primary brain tumors with FLT-PET: usefulness and limitations.," *Clin. Nucl. Med.*, vol. 31, pp. 774–780, 2006.
- [138] H. Kobayashi, K. Hirata, S. Yamaguchi, S. Terasaka, T. Shiga, and K. Houkin, "Usefulness of FMISO—PET for Glioma Analysis," *Neurol. Med. Chir. (Tokyo).*, vol. 53, no. 11, pp. 773–778, 2013.
- [139] B. C. Fuchs and B. P. Bode, "Amino acid transporters ASCT2 and LAT1 in cancer: Partners in crime?," *Seminars in Cancer Biology*, vol. 15, pp. 254–266, 2005.
- [140] T. K. Narayanan, S. Said, J. Mukherjee, B. Christian, M. Satter, K. Dunigan, B. Shi, M. Jacobs, T. Bernstein, M. Padma, and J. Mantil, "A comparative study on the uptake and incorporation of radiolabeled methionine, choline and fluorodeoxyglucose in human astrocytoma," *Mol. Imaging Biol.*, vol. 4, pp. 147–156, 2002.

- [141] M. Ono, S. Oka, H. Okudaira, D. M. Schuster, M. M. Goodman, K. Kawai, and Y. Shirakami, "Comparative evaluation of transport mechanisms of trans-1-amino-3-¹⁸F]fluorocyclobutanecarboxylic acid and L-[methyl-¹¹C]methionine in human glioma cell lines.," *Brain Res.*, vol. 1535, pp. 24–37, 2013.
- [142] S. Takenaka, J. Shinoda, Y. Asano, T. Aki, K. Miwa, T. Ito, K. Yokoyama, and T. Iwama, "Metabolic assessment of monofocal acute inflammatory demyelination using MR spectroscopy and (11)C-methionine-, (11)C-choline-, and (18)F-fluorodeoxyglucose-PET.," *Brain Tumor Pathol.*, vol. 28, pp. 229–238, 2011.
- [143] S. Dethy, M. Manto, A. Kentos, D. Konopnicki, B. Pirotte, S. Goldman, and J. Hildebrand, "PET findings in a brain abscess associated with a silent atrial septal defect.," *Clin. Neurol. Neurosurg.*, vol. 97, pp. 349–53, 1995.
- [144] Y. Harada, K. Hirata, H. Kobayashi, R. Usui, T. Shiga, S. Terae, H. Shirato, and N. Tamaki, "A Pitfall of C-11 Methionine PET: cerebral venous infarction mimicked a glioma.," *Clin. Nucl. Med.*, vol. 37, pp. 110–1, 2012.
- [145] J. Arbizu, P. D. Domínguez, R. Díez-Valle, C. Vigil, R. García-Eulate, J. L. Zubieta, and J. A. Richter, "Neuroimagen en tumores cerebrales," *Rev Esp Med Nucl*, vol. 30, pp. 47–65, 2011.
- [146] R. N. Gunn, S. R. Gunn, F. E. Turkheimer, J. A. D. Aston, and V. J. Cunningham, "Positron emission tomography compartmental models: a basis pursuit strategy for kinetic modeling.," *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, vol. 22, pp. 1425–1439, 2002.
- [147] I. Buvat, "Les limites du SUV," *Medecine Nucleaire*, vol. 31, pp. 165–172, 2007.
- [148] K. Borbély, I. Nyáry, M. Tóth, K. Ericson, and B. Gulyás, "Optimization of semi-quantification in metabolic PET studies with 18F-fluorodeoxyglucose and 11C-methionine in the determination of malignancy of gliomas," *J. Neurol. Sci.*, vol. 246, pp. 85–94, 2006.
- [149] B.-N.-T. Tang, N. Sadeghi, F. Branle, O. De Witte, D. Wikler, and S. Goldman, "Semi-quantification of methionine uptake and flair signal for the evaluation of chemotherapy in low-grade oligodendroglioma.," *J. Neurooncol.*, vol. 71, pp. 161–168, 2005.
- [150] Y. Terakawa, N. Tsuyuguchi, Y. Iwai, K. Yamanaka, S. Higashiyama, T. Takami, and K. Ohata, "Diagnostic accuracy of 11C-methionine PET for differentiation of recurrent brain tumors from radiation necrosis after radiotherapy.," *J. Nucl. Med.*, vol. 49, no. 5, pp. 694–9, May 2008.
- [151] A. Boss, S. Bisdas, A. Kolb, M. Hofmann, U. Ernemann, C. D. Claussen, C. Pfannenber, B. J. Pichler, M. Reimold, and L. Stegger, "Hybrid PET/MRI of intracranial masses: initial experiences and comparison to PET/CT.," *J. Nucl. Med.*, vol. 51, pp. 1198–1205, 2010.
- [152] R. Myers, "The application of PET-MR image registration in the brain," in *British Journal of Radiology*, vol. 75, 2002.

- [153] K. Miyake, A. Shinomiya, M. Okada, T. Hatakeyama, N. Kawai, and T. Tamiya, "Usefulness of FDG, MET and FLT-PET studies for the management of human gliomas.," *J. Biomed. Biotechnol.*, vol. 2012, p. 205818, Jan. 2012.
- [154] P. Y. Wen, D. R. Macdonald, D. A. Reardon, T. F. Cloughesy, A. G. Sorensen, E. Galanis, J. Degroot, W. Wick, M. R. Gilbert, A. B. Lassman, C. Tsien, T. Mikkelsen, E. T. Wong, M. C. Chamberlain, R. Stupp, K. R. Lamborn, M. A. Vogelbaum, M. J. van den Bent, and S. M. Chang, "Updated response assessment criteria for high-grade gliomas: response assessment in neuro-oncology working group.," *J. Clin. Oncol.*, vol. 28, pp. 1963–1972, 2010.
- [155] L. C. Hygino da Cruz, I. Rodriguez, R. C. Domingues, E. L. Gasparetto, and a G. Sorensen, "Pseudoprogression and pseudoresponse: imaging challenges in the assessment of posttreatment glioma.," *AJNR. Am. J. Neuroradiol.*, vol. 32, no. 11, pp. 1978–85, Dec. 2011.
- [156] R. Stupp, N. Pavlidis, and S. Jelic, "ESMO Minimum Clinical Recommendations for diagnosis, treatment and follow-up of malignant glioma.," *Ann. Oncol.*, vol. 16 Suppl 1, no. Supplement 1, pp. i64–5, Jan. 2005.
- [157] R. Sawaya, M. Hammoud, D. Schoppa, K. R. Hess, S. Z. Wu, W. M. Shi, and D. M. Wildrick, "Neurosurgical outcomes in a modern series of 400 craniotomies for treatment of parenchymal tumors.," *Neurosurgery*, vol. 42, pp. 1044–1055; discussion 1055–1056, 1998.
- [158] E. R. Laws, I. F. Parney, W. Huang, F. Anderson, A. M. Morris, A. Asher, K. O. Lillehei, M. Bernstein, H. Brem, A. Sloan, M. S. Berger, and S. Chang, "Survival following surgery and prognostic factors for recently diagnosed malignant glioma: data from the Glioma Outcomes Project.," *J. Neurosurg.*, vol. 99, pp. 467–473, 2003.
- [159] J. K. Park, T. Hodges, L. Arko, M. Shen, D. Dello Iacono, A. McNabb, N. Olsen Bailey, T. N. Kreisl, F. M. Iwamoto, J. Sul, S. Auh, G. E. Park, H. a Fine, and P. M. Black, "Scale to predict survival after surgery for recurrent glioblastoma multiforme.," *J. Clin. Oncol.*, vol. 28, no. 24, pp. 3838–43, Aug. 2010.
- [160] M. Westphal, Z. Ram, V. Riddle, D. Hilt, and E. Bortey, "Gliadel wafer in initial surgery for malignant glioma: long-term follow-up of a multicenter controlled trial.," *Acta Neurochir. (Wien).*, vol. 148, pp. 269–275; discussion 275, 2006.
- [161] S. J. Price, I. R. Whittle, K. Ashkan, P. Grundy, and G. Cruickshank, "NICE guidance on the use of carmustine wafers in high grade gliomas: a national study on variation in practice.," *Br. J. Neurosurg.*, vol. 26, no. 3, pp. 331–5, Jun. 2012.
- [162] D. W. Roberts, J. W. Strohbehn, J. F. Hatch, W. Murray, and H. Kettenberger, "A frameless stereotaxic integration of computerized tomographic imaging and the operating microscope.," *J. Neurosurg.*, vol. 65, pp. 545–549, 1986.
- [163] D. W. Roberts, P. A. Valdés, B. T. Harris, A. Hartov, X. Fan, S. Ji, F. Leblond, T. D. Tosteson, B. C. Wilson, and K. D. Paulsen, "Glioblastoma Multiforme Treatment with Clinical Trials for Surgical Resection (Aminolevulinic Acid)," *Neurosurgery Clinics of North America*, vol. 23, pp. 371–377, 2012.

- [164] U. Mezger, C. Jendrewski, and M. Bartels, "Navigation in surgery," *Langenbeck's Arch. Surg.*, vol. 398, pp. 501–14, 2013.
- [165] M. S. Berger and C. G. Hadjipanayis, "Surgery of intrinsic cerebral tumors," *Neurosurgery*, vol. 61. 2007.
- [166] G. Bertani, E. Fava, G. Casaceli, G. Carrabba, A. Casarotti, C. Papagno, A. Castellano, A. Falini, S. M. Gaini, and L. Bello, "Intraoperative mapping and monitoring of brain functions for the resection of low-grade gliomas: technical considerations.," *Neurosurg. Focus*, vol. 27, p. E4, 2009.
- [167] P. C. De Witt Hamer, S. G. Robles, A. H. Zwinderman, H. Duffau, and M. S. Berger, "Impact of intraoperative stimulation brain mapping on glioma surgery outcome: A meta-analysis," *Journal of Clinical Oncology*, vol. 30. pp. 2559–2565, 2012.
- [168] G. Widhalm, S. Wolfsberger, G. Minchev, A. Woehrer, M. Krssak, T. Czech, D. Prayer, S. Asenbaum, J. a Hainfellner, and E. Knosp, "5-Aminolevulinic acid is a promising marker for detection of anaplastic foci in diffusely infiltrating gliomas with nonsignificant contrast enhancement.," *Cancer*, vol. 116, no. 6, pp. 1545–52, Mar. 2010.
- [169] W. Stummer, J.-C. Tonn, C. Goetz, W. Ullrich, H. Stepp, A. Bink, T. Pietsch, and U. Pichlmeier, "5-ALA-Derived Tumor Fluorescence: The Diagnostic Accuracy of Visible Fluorescence Qualities as Corroborated by Spectrometry and Histology and Post-Operative Imaging.," *Neurosurgery*, vol. 74, no. 3, pp. 310–320, Dec. 2013.
- [170] R. Díez Valle, J. Slof, J. Galván, C. Arza, C. Romariz, and C. Vidal, "Observational, retrospective study of the effectiveness of 5-aminolevulinic acid in malignant glioma surgery in Spain (The VISIONA study).," *Neurologia*, vol. 29, no. 3, pp. 131-8, Jul. 2013.
- [171] D. W. Roberts, P. A. Valdés, B. T. Harris, K. M. Fontaine, A. Hartov, X. Fan, S. Ji, S. S. Lollis, B. W. Pogue, F. Leblond, T. D. Tosteson, B. C. Wilson, and K. D. Paulsen, "Coregistered fluorescence-enhanced tumor resection of malignant glioma: relationships between δ -aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX fluorescence, magnetic resonance imaging enhancement, and neuropathological parameters. Clinical article.," *J. Neurosurg.*, vol. 114, pp. 595–603, 2011.
- [172] E. G. Shaw, S. B. Tatter, G. J. Lesser, T. L. Ellis, C. A. Stanton, and V. W. Stieber, "Current controversies in the radiotherapeutic management of adult low-grade glioma," *Semin. Oncol.*, vol. 31, pp. 653–658, 2004.
- [173] E. P. M. Jansen, L. G. H. Dewit, M. Van Herk, and H. Bartelink, "Target volumes in radiotherapy for high-grade malignant glioma of the brain," *Radiotherapy and Oncology*, vol. 56. pp. 151–156, 2000.
- [174] M. J. Van Den Bent, D. Afra, O. De Witte, M. Ben Hassel, S. Schraub, K. Hoang-Xuan, P. O. Malmström, L. Collette, M. Piérart, R. Mirimanoff, and A. B. M. F. Karim, "Long-term efficacy of early versus delayed radiotherapy for low-grade astrocytoma and oligodendroglioma in adults: The EORTC 22845 randomised trial," *Lancet*, vol. 366, pp. 985–990, 2005.

- [175] F. Keime-Guibert, O. Chinot, L. Taillandier, S. Cartalat-Carel, M. Frenay, G. Kantor, J.-S. Guillemin, E. Jadaud, P. Colin, P.-Y. Bondiau, P. Meneï, H. Loiseau, V. Bernier, J. Honnorat, M. Barrié, K. Mokhtari, J.-J. Mazon, A. Bissery, and J.-Y. Delattre, "Radiotherapy for glioblastoma in the elderly.," *N. Engl. J. Med.*, vol. 356, pp. 1527–1535, 2007.
- [176] S. E. Combs, J. Debus, and D. Schulz-Ertner, "Radiotherapeutic alternatives for previously irradiated recurrent gliomas.," *BMC Cancer*, vol. 7, p. 167, 2007.
- [177] N. Pouratian and D. Schiff, "Management of low-grade glioma.," *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.*, vol. 10, no. 3, pp. 224–31, May 2010.
- [178] S. Kesari, D. Schiff, J. Drappatz, D. LaFrankie, L. Doherty, E. A. Macklin, A. Muzikansky, S. Santagata, K. L. Ligon, A. D. Norden, A. Ciampa, J. Bradshaw, B. Levy, G. Radakovic, N. Ramakrishna, P. M. Black, and P. Y. Wen, "Phase II study of protracted daily temozolomide for low-grade gliomas in adults.," *Clin. Cancer Res.*, vol. 15, no. 1, pp. 330–7, 2009.
- [179] J. R. Perry, P. Rizik, R. Cashman, M. Morrison, and T. Morrison, "Temozolomide rechallenge in recurrent malignant glioma by using a continuous temozolomide schedule: the 'rescue' approach.," *Cancer*, vol. 113, pp. 2152–2157, 2008.
- [180] M. Glantz, M. Chamberlain, Q. Liu, N. S. Litofsky, and L. D. Recht, "Temozolomide as an alternative to irradiation for elderly patients with newly diagnosed malignant gliomas.," *Cancer*, vol. 97, pp. 2262–2266, 2003.
- [181] M. C. Chamberlain, D. D. Wei-Tsao, D. T. Blumenthal, and M. J. Glantz, "Salvage chemotherapy with CPT-11 for recurrent temozolomide-refractory anaplastic astrocytoma.," *Cancer*, vol. 112, no. 9, pp. 2038–45, 2008.
- [182] J. J. Vredenburgh, A. Desjardins, J. E. Herndon, J. M. Dowell, D. A. Reardon, J. A. Quinn, J. N. Rich, S. Sathornsumetee, S. Gururangan, M. Wagner, D. D. Bigner, A. H. Friedman, and H. S. Friedman, "Phase II trial of bevacizumab and irinotecan in recurrent malignant glioma.," *Clin. Cancer Res.*, vol. 13, no. 4, pp. 1253–9, 2007.
- [183] H. Brem, S. Piantadosi, P. C. Burger, M. Walker, R. Selker, N. A. Vick, K. Black, M. Sisti, S. Brem, G. Mohr, P. Muller, R. Morawetz, and S. C. Schold, "Placebo-controlled trial of safety and efficacy of intraoperative controlled delivery by biodegradable polymers of chemotherapy for recurrent gliomas," *Lancet*, vol. 345, pp. 1008–1012, 1995.
- [184] M. C. Chamberlain and D. D. Tsao-Wei, "Salvage chemotherapy with cyclophosphamide for recurrent, temozolomide-refractory glioblastoma multiforme.," *Cancer*, vol. 100, no. 6, pp. 1213–20, 2004.
- [185] E. Franceschi, G. Cavallo, L. Scopece, A. Paioli, A. Pession, E. Magrini, R. Conforti, E. Palmerini, S. Bartolini, S. Rimondini, R. D. Esposti, and L. Crinò, "Phase II trial of carboplatin and etoposide for patients with recurrent high-grade glioma.," *Br. J. Cancer*, vol. 91, no. 6, pp. 1038–44, 2004.
- [186] G. Rahmathulla, E. J. Hovey, N. Hashemi-Sadraei, and M. S. Ahluwalia, "Bevacizumab in high-grade gliomas: a review of its uses, toxicity assessment,

and future treatment challenges.,” *Onco. Targets. Ther.*, vol. 6, pp. 371–89, Jan. 2013.

- [187] O. L. Chinot, T. de La Motte Rouge, N. Moore, A. Zeaiter, A. Das, H. Phillips, Z. Modrusan, and T. Cloughesy, “AVAglio: Phase 3 trial of bevacizumab plus temozolomide and radiotherapy in newly diagnosed glioblastoma multiforme.,” *Adv. Ther.*, vol. 28, no. 4, pp. 334–40, 2011.
- [188] H. S. Friedman, M. D. Prados, P. Y. Wen, T. Mikkelsen, D. Schiff, L. E. Abrey, W. K. A. Yung, N. Paleologos, M. K. Nicholas, R. Jensen, J. Vredenburgh, J. Huang, M. Zheng, and T. Cloughesy, “Bevacizumab alone and in combination with irinotecan in recurrent glioblastoma.,” *J. Clin. Oncol.*, vol. 27, no. 28, pp. 4733–40, 2009.
- [189] J. S. Wefel, T. F. Cloughesy, J. Zazzali, M. Zheng, M. Samant, A. Das, and H. Friedman, “Neurocognitive function in patients with glioblastoma at first or second relapse treated with bevacizumab alone or in combination with irinotecan in the brain study,” *Neuro. Oncol.*, vol. 11, p. 641, 2009.
- [190] F. Pignatti, M. van den Bent, D. Curran, C. Debruyne, R. Sylvester, P. Therasse, D. Afra, P. Cornu, M. Bolla, C. Vecht, and A. B. Karim, “Prognostic factors for survival in adult patients with cerebral low-grade glioma,” *J Clin Oncol*, vol. 20, pp. 2076–2084, 2002.
- [191] K. R. Lamborn, S. M. Chang, and M. D. Prados, “Prognostic factors for survival of patients with glioblastoma: recursive partitioning analysis.,” *Neuro. Oncol.*, vol. 6, no. 3, pp. 227–35, Jul. 2004.
- [192] W. B. Pope, J. Sayre, A. Perlina, J. P. Villablanca, P. S. Mischel, and T. F. Cloughesy, “MR imaging correlates of survival in patients with high-grade gliomas.,” *AJNR. Am. J. Neuroradiol.*, vol. 26, no. 10, pp. 2466–74, 2005.
- [193] S. Zhao, J. Wu, C. Wang, H. Liu, X. Dong, C. Shi, C. Shi, Y. Liu, L. Teng, D. Han, X. Chen, and G. Yang, “Intraoperative Fluorescence-Guided Resection of High- Grade Malignant Gliomas Using 5-Aminolevulinic Acid – Induced Porphyrins: A Systematic Review and Meta-Analysis of Prospective Studies,” *PLoS One*, vol. 8, no. 5, e63682, 2013.
- [194] M. R. Gilbert, J. J. Dignam, T. S. Armstrong, J. S. Wefel, D. T. Blumenthal, M. a. Vogelbaum, H. Colman, A. Chakravarti, S. Pugh, M. Won, R. Jeraj, P. D. Brown, K. a. Jaeckle, D. Schiff, V. W. Stieber, D. G. Brachman, M. Werner-Wasik, I. W. Tremont-Lukats, E. P. Sulman, K. D. Aldape, W. J. Curran, and M. P. Mehta, “A Randomized Trial of Bevacizumab for Newly Diagnosed Glioblastoma,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 370, no. 8, pp. 699–708, Feb. 2014.
- [195] O. L. Chinot, W. Wick, W. Mason, R. Henriksson, F. Saran, R. Nishikawa, A. F. Carpentier, K. Hoang-Xuan, P. Kavan, D. Cernea, A. a. Brandes, M. Hilton, L. Abrey, and T. Cloughesy, “Bevacizumab plus Radiotherapy–Temozolomide for Newly Diagnosed Glioblastoma,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 370, no. 8, pp. 709–722, Feb. 2014.
- [196] W. Stummer, H. Stepp, G. Möller, A. Ehrhardt, M. Leonhard, and H. J. Reulen, “Technical principles for protoporphyrin-IX-fluorescence guided microsurgical

resection of malignant glioma tissue.," *Acta Neurochir. (Wien)*., vol. 140, pp. 995–1000, 1998.

- [197] P. J. Miller, R. S. Hassanein, P. G. Giri, B. F. Kimler, P. O'Boynick, and R. G. Evans, "Univariate and multivariate statistical analysis of high-grade gliomas: the relationship of radiation dose and other prognostic factors," *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, vol. 19, pp. 275–280, 1990.
- [198] MJ. Gil, R. de Las Peñas, G. Reynés, C. Balañá, P. Pérez-Segura, A. García-Velasco, C. Mesia, O. Gallego, C. Fernández-Chacón, M. Martínez-García, A. Herrero, R. Andrés, M. Benavides, T. Quintanar and X. Pérez-Martin, "Bevacizumab plus irinotecan in recurrent malignant glioma shows high overall survival in a multicenter retrospective pooled series of the Spanish Neuro-Oncology Research Group (GEINO).," *Anticancer Drugs*., vol. 23, no. 6, pp. 659–65, 2012.
- [199] M. Prados, T. Cloughesy, M. Samant, L. Fang, P. Y. Wen, T. Mikkelsen, D. Schiff, L. E. Abrey, W. K. A. Yung, N. Paleologos, M. K. Nicholas, R. Jensen, J. Vredenburgh, A. Das, and H. S. Friedman, "Response as a predictor of survival in patients with recurrent glioblastoma treated with bevacizumab.," *Neuro. Oncol.*, vol. 13, pp. 143–151, 2011.
- [200] G. Brasil Caseiras, O. Ciccarelli, D. R. Altmann, C. E. Benton, D. J. Tozer, P. S. Tofts, T. A. Yousry, J. Rees, A. D. Waldman, and H. R. Jäger, "Low-grade gliomas: six-month tumor growth predicts patient outcome better than admission tumor volume, relative cerebral blood volume, and apparent diffusion coefficient.," *Radiology*, vol. 253, pp. 505–512, 2009.
- [201] O. De Witte, F. Lefranc, M. Levivier, I. Salmon, J. Brotchi, and S. Goldman, "FDG-PET as a prognostic factor in high-grade astrocytoma.," *J. Neurooncol.*, vol. 49, pp. 157–163, 2000.
- [202] G. Pöpperl, C. Götz, W. Rachinger, O. Schnell, F. J. Gildehaus, J. C. Tonn, and K. Tatsch, "Serial O-(2-[(18)F]fluoroethyl)-L: -tyrosine PET for monitoring the effects of intracavitary radioimmunotherapy in patients with malignant glioma.," *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, vol. 33, no. 7, pp. 792–800, Jul. 2006.
- [203] O. Belohlavek, P. Fencl, M. Majovsky, M. Jaruskova, and V. Benes, "FLT-PET in previously untreated patients with low-grade glioma can predict their overall survival.," *Nucl. Med. Rev. Cent. East. Eur.*, vol. 17, no. 1, pp. 7–12, Jan. 2014.
- [204] J. R. Williams, "The Declaration of Helsinki and public health," *Bull. World Health Organ.*, vol. 86, pp. 650–652, 2008.
- [205] World Medical Association, "World Medical Association Declaration of Helsinki Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects," *JAMA*, vol. JAMA Publi, pp. E1 – E4, 2013.
- [206] K. Isohashi, E. Shimosegawa, H. Kato, Y. Kanai, S. Naka, K. Fujino, H. Watabe, and J. Hatazawa, "Optimization of [11C]methionine PET study: appropriate scan timing and effect of plasma amino acid concentrations on the SUV.," *EJNMMI Res.*, vol. 3, no. 1, p. 27, Jan. 2013.

- [207] W.-D. Heiss, P. Raab, and H. Lanfermann, "Multimodality assessment of brain tumors and tumor recurrence.," *J. Nucl. Med.*, vol. 52, no. 10, pp. 1585–600, Oct. 2011.
- [208] O. De Witte, I. Goldberg, D. Wikler, S. Rorive, P. Damhaut, M. Monclus, I. Salmon, J. Brotchi, and S. Goldman, "Positron emission tomography with injection of methionine as a prognostic factor in glioma.," *J. Neurosurg.*, vol. 95, pp. 746–750, 2001.
- [209] M. Utriainen, T. Utriainen, H. Kalimo, H. Pihko, A. Ma, K. Någren, and M. Sc, "Metabolic Characterization of Childhood Brain Tumors C-Methionine Positron Emission," *Cancer*, vol. 95, no. 6, pp. 1376–86, 2002.
- [210] T. Kato, J. Shinoda, N. Oka, K. Miwa, N. Nakayama, H. Yano, T. Maruyama, Y. Muragaki, and T. Iwama, "Analysis of ¹¹C-methionine uptake in low-grade gliomas and correlation with proliferative activity.," *AJNR. Am. J. Neuroradiol.*, vol. 29, no. 10, pp. 1867–71, Nov. 2008.
- [211] Y. Yao, A. K.-Y. Chan, Z. Y. Qin, L. C. Chen, X. Zhang, J. C.-S. Pang, H. M. Li, Y. Wang, Y. Mao, H.-K. Ng, and L. F. Zhou, "Mutation analysis of IDH1 in paired gliomas revealed IDH1 mutation was not associated with malignant progression but predicted longer survival.," *PLoS One*, vol. 8, no. 6, p. e67421, Jan. 2013.
- [212] Y. Okita, M. Nonaka, T. Shofuda, D. Kanematsu, E. Yoshioka, Y. Kodama, M. Mano, S. Nakajima, and Y. Kanemura, "(¹¹C)-methionine uptake correlates with MGMT promoter methylation in nonenhancing gliomas.," *Clin. Neurol. Neurosurg.*, vol. 125, pp. 212–6, Oct. 2014.
- [213] M. D. Jenkinson, T. S. Smith, K. A. Joyce, D. Fildes, J. Broome, D. G. Plessis, B. Haylock, D. J. Husband, P. C. Warnke, and C. Walker, "Cerebral blood volume, genotype and chemosensitivity in oligodendroglial tumours," *Neuroradiology*, vol. 48, pp. 703–713, 2006.
- [214] L. T. Kuo, K. T. Kuo, M. J. Lee, C. C. Wei, F. Scaravilli, J. C. Tsai, H. M. Tseng, M. F. Kuo, and Y. K. Tu, "Correlation among pathology, genetic and epigenetic profiles, and clinical outcome in oligodendroglial tumors," *Int. J. Cancer*, vol. 124, pp. 2872–2879, 2009.
- [215] E. J. Rushing, G. D. Sandberg, and I. Horkayne-Szakaly, "High-grade astrocytomas show increased Nestin and Wilms's tumor gene (WT1) protein expression.," *Int. J. Surg. Pathol.*, vol. 18, pp. 255–259, 2010.
- [216] T. Nojiri, T. Nariai, M. Aoyagi, M. Senda, K. Ishii, K. Ishiwata, and K. Ohno, "Contributions of biological tumor parameters to the incorporation rate of L-[methyl-¹¹C] methionine into astrocytomas and oligodendrogliomas," *J. Neurooncol.*, vol. 93, pp. 233–241, 2009.
- [217] M. Nager, D. Bhardwaj, C. Cantí, L. Medina, P. Nogués, and J. Herreros, "β-Catenin Signalling in Glioblastoma Multiforme and Glioma-Initiating Cells," *Chemotherapy Research and Practice*, vol. 2012, pp. 1–7, 2012.
- [218] M. Reis, C. J. Czupalla, N. Ziegler, K. Devraj, J. Zinke, S. Seidel, R. Heck, S. Thom, J. Macas, E. Bockamp, M. Fruttiger, M. M. Taketo, S. Dimmeler, K. H. Plate, and S. Liebner, "Endothelial Wnt/ -catenin signaling inhibits glioma

angiogenesis and normalizes tumor blood vessels by inducing PDGF-B expression,” *Journal of Experimental Medicine*, vol. 209. pp. 1611–1627, 2012.

- [219] K. Miwa, J. Shinoda, H. Yano, a Okumura, T. Iwama, T. Nakashima, and N. Sakai, “Discrepancy between lesion distributions on methionine PET and MR images in patients with glioblastoma multiforme: insight from a PET and MR fusion image study.,” *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, vol. 75, no. 10, pp. 1457–62, Oct. 2004.
- [220] V. Dandois, D. Rommel, L. Renard, J. Jamart, and G. Cosnard, “Substitution of 11C-methionine PET by perfusion MRI during the follow-up of treated high-grade gliomas: preliminary results in clinical practice.,” *J. Neuroradiol.*, vol. 37, no. 2, pp. 89–97, May 2010.
- [221] T. Nariai, Y. Tanaka, H. Wakimoto, M. Aoyagi, M. Tamaki, K. Ishiwata, M. Senda, K. Ishii, K. Hirakawa, and K. Ohno, “Usefulness of L-[methyl-11C] methionine-positron emission tomography as a biological monitoring tool in the treatment of glioma.,” *J. Neurosurg.*, vol. 103, no. 3, pp. 498-507, 2005.
- [222] E. F. Chang, J. S. Smith, S. M. Chang, K. R. Lamborn, M. D. Prados, N. Butowski, N. M. Barbaro, A. T. Parsa, M. S. Berger, and M. M. McDermott, “Preoperative prognostic classification system for hemispheric low-grade gliomas in adults.,” *J. Neurosurg.*, vol. 109, pp. 817–824, 2008.
- [223] T. Reithmeier, A. Kuzeawu, B. Hentschel, M. Loeffler, M. Trippel, and G. Nikkhah, “Retrospective analysis of 104 histologically proven adult brainstem gliomas: clinical symptoms, therapeutic approaches and prognostic factors.,” *BMC Cancer*, vol. 14, p. 115, 2014.
- [224] M. J. McGirt, K. L. Chaichana, M. Gathinji, F. J. Attenello, K. Than, A. Olivi, J. D. Weingart, H. Brem, and A. R. Quiñones-Hinojosa, “Independent association of extent of resection with survival in patients with malignant brain astrocytoma.,” *J. Neurosurg.*, vol. 110, pp. 156–162, 2009.
- [225] M. Brell, G. Conesa, and J. J. Acebes, “Intraoperative cortical mapping in the surgical resection of low-grade gliomas located in eloquent areas,” *Neurocirugia (Astur)*., vol. 14, pp. 491–503, 2003.
- [226] E. F. Chang, A. Clark, J. S. Smith, M.-Y. Polley, S. M. Chang, N. M. Barbaro, A. T. Parsa, M. W. McDermott, and M. S. Berger, “Functional mapping-guided resection of low-grade gliomas in eloquent areas of the brain: improvement of long-term survival. Clinical article.,” *J. Neurosurg.*, vol. 114, pp. 566–573, 2011.
- [227] V. Zolota, A. C. Tsamandas, P. Aroukatos, V. Panagiotopoulos, T. Maraziotis, C. Poulos, and C. D. Scopa, “Expression of cell cycle inhibitors p21, p27, p14 and p16 in gliomas. Correlation with classic prognostic factors and patients’ outcome,” *Neuropathology*, vol. 28, pp. 35–42, 2008.
- [228] C. Gomez-Manzano, J. Fueyo, F. Alameda, A. P. Kyritsis, and W. K. A. Yung, “Gene therapy for gliomas: P53 and E2F-1 proteins and the target of apoptosis (Review),” *Int. J. Mol. Med.*, vol. 3, pp. 81–85, 1999.
- [229] E. W. Newcomb, H. Cohen, S. R. Lee, S. K. Bhalla, J. Bloom, R. L. Hayes, and D. C. Miller, “Survival of patients with glioblastoma multiforme is not influenced

by altered expression of p16, p53, EGFR, MDM2 or Bcl-2 genes.," *Brain Pathol.*, vol. 8, no. 4, pp. 655-67, 1998.

- [230] J. Rauscher, R. Beschoner, M. Gierke, S. Bisdas, C. Braun, F. H. Ebner, and J. Schittenhelm, "WT1 expression increases with malignancy and indicates unfavourable outcome in astrocytoma.," *J. Clin. Pathol.*, vol. 67, no. 7, pp. 556–61, Jul. 2014.

9. ANNEXES

9.1. PROTOCOL D'ESTUDI DEL CENTRE D'INVESTIGACIÓ MOLECULAR PET. PRBB (Model abreviat)

Procedimiento del estudio PET Cerebral con L-Metionina (metil[¹¹C])

1. Preparación del paciente

- Los pacientes deberán de ser informados adecuadamente sobre el procedimiento para facilitar su colaboración. Considerando además los aspectos relativos a la característica de USO COMPASIVO de este medicamento.
- Acudirán en ayunas superiores a 8 horas para asegurar unas condiciones metabólicas estables. Teniendo en cuenta que la incorporación de L-Metionina (metil[¹¹C]) se realiza a través de la barrera hematoencefálica por medio de sistemas de transporte activo competitivos con otros aminoácidos, es aconsejable evitar dietas con alto contenido proteico en los días anteriores al estudio.
- Para obtener imágenes de mejor calidad y reducir la exposición de la vejiga a la radiación, se debe pedir a los pacientes que ingieran suficiente cantidad de líquido y que vacíen la vejiga antes y después de la exploración PET.
- El paciente debe estar suficientemente hidratado antes de la realización de la prueba.

2. Información importante para llevar a cabo el procedimiento

- Historia del paciente relacionada con el motivo de la exploración: cirugía previa, y tratamientos de quimioterapia y radioterapia anteriores.
- Antecedentes personales y medicación
- Información sobre los estudios de neuroimagen recientes (RM, TC).

3. Administración de L-Metionina (metil[¹¹C])

- Administración intravenosa en bolus y lavado posterior de la vía con suero fisiológico.
- Dosis autorizada en adultos: 200-250 MBq por vía intravenosa como inyección única. Las recomendaciones de dosis se ajustarán al modo de adquisición del equipo PET, de forma que en modo 3D las dosis serán más bajas y en modo 2D serán más altas, pero siempre dentro del rango de la dosis autorizada. Las dosis en niños se calcularán conforme a las tablas del formulario de recogida de datos de cada indicación.

4. Adquisición del estudio

- *Estudio de Transmisión para la corrección de atenuación:* Dependiendo del tomógrafo disponible se realizará a) con fuentes de Ge-Ga68 en los equipos PET dedicados, o b) con fuentes de Rayos X en los equipos PET-CT. En los equipos PET dedicados, la adquisición del estudio de transmisión puede realizarse durante 10 minutos antes de la adquisición del estudio de emisión, o inmediatamente después de éste durante 5-10 minutos empleando métodos de segmentación en la reconstrucción.
- *Estudio de Emisión:* se iniciará a los 20 minutos de la administración de la ¹¹C-Metionina y tendrá una duración de 15-20 minutos dependiendo de las características del equipo PET.

- El estudio se reconstruirá en forma de imágenes axiales de 128x128 píxeles. Son aceptados como métodos de reconstrucción tanto los de retroproyección filtrada como la reconstrucción iterativa según los parámetros recomendados por cada fabricante y evaluados por el usuario.
- Las imágenes se reorientarán corrigiendo la inclinación y el giro, obteniendo planos paralelos a la línea orbito-meatal (base del lóbulo frontal con el primer tercio del cerebelo).
- El coregistro y fusión del estudio PET con L-metionina (metil[¹¹C]) con las imágenes de RM ponderadas en T1 tras administración de Gadolinio, T2, o FLAIR facilita la interpretación de las imágenes PET.
- Se realizará coregistro/fusión con las imágenes PET cerebral con fludesoxiglucosa (18F) con las imágenes PET con L-metionina (metil[¹¹C]) y análisis semicuantitativo de las imágenes de L-metionina (metil[¹¹C]) registradas conforme al método aplicado en Van Laere et al. 2005¹.



6. Interpretación de las imágenes

- *Interpretación visual:* deberán identificarse artefactos en las imágenes como consecuencia del movimiento, falta de alineamiento entre los estudios de transmisión y emisión; focos de captación fisiológica en tejidos glandulares (parótidas, lacrimales, hipófisis), clivus, etc. Se evaluará la existencia o no de una lesión, su tamaño, extensión y localización anatómica, la actividad con relación a la corteza, la distribución homogénea o heterogénea de la actividad en la lesión y localización del foco de máxima actividad.
- Se realizará semicuantificación de las imágenes PET con L-metionina (metil[¹¹C]) conforme al método de Herholz et al. 1998² para la indicación de diagnóstico de glioma de novo, y conforme al método de Van Laere et al. 2005¹ para el diagnóstico de sospecha de recidivas de glioma cerebral de alto grado (III o IV). Se utilizarán los valores de corte de dichas publicaciones para el diagnóstico de glioma cerebral de novo o recidiva de glioma cerebral de alto grado (III o IV), respectivamente.

7. Informe

- En el cuerpo del informe se reflejarán los datos del paciente, la fecha del estudio, el radiofármaco, la dosis, un resumen del procedimiento y motivo del estudio.
- Se informará sobre si la distribución es fisiológica o patológica. En este caso el tamaño, intensidad de captación incluyendo valores cuantitativos, localización y relaciones anatómicas. Referencias a estudios previos y variaciones observadas si las hubiere. Correspondencia de los hallazgos respecto a los hallazgos estructurales (RM, TC).
- Finalmente se dará un juicio diagnóstico lo más preciso posible haciendo referencia al motivo de solicitud del estudio, o en su caso el diagnóstico diferencial posible.

9.2. CONDICIONES D'ÚS AUTORITZAT DE L'AGÈNCIA ESPANYOLA DEL MEDICAMENT (Model abreviat)

 	
Condiciones de uso autorizadas temporalmente para L-Metionina (metil¹¹C)	
a) Indicaciones y posología autorizadas	
Este medicamento es únicamente para uso diagnóstico.	
La L-Metionina (metil ¹¹ C) está indicada para su utilización en la obtención de imágenes mediante tomografía por emisión de positrones (PET) en las siguientes indicaciones y posología:	
A.1. ADULTOS Y ANCIANOS	
<i>Indicaciones</i>	<i>Posología</i>
<p>1. Ayuda para el diagnóstico de glioma en los pacientes que cumplen todas las siguientes 3 características:</p> <ul style="list-style-type: none"> a) sospecha de glioma cerebral de novo por TAC y/o RMN cerebral b) sin tratamiento previo de glioma c) programados para someterse a biopsia o resección de la lesión sospechosa de glioma para su caracterización histopatológica. <p>No existen datos suficientes que avalen que el uso de la PET con L-Metionina (metil¹¹C) permita obviar la caracterización histopatológica de la lesión sospechosa de glioma y visualizada por TAC y/o RMN.</p> <p>Existen algunos datos de eficacia clínica de la PET con L-metionina (metil¹¹C) con análisis semicuantitativo de las imágenes (conforme al método de <i>Herholz et al. 1998</i>).</p>	<p>Dosis única de 200-250 MBq por vía intravenosa</p>
<p>2. Ayuda para la detección de recidivas de glioma en los pacientes que cumplen todas las siguientes 3 características:</p> <ul style="list-style-type: none"> a) con sospecha razonable (por TAC y/o RMN cerebral) de recidiva de glioma con alto grado de malignidad (III y IV) b) con tratamiento previo del glioma c) los resultados de una PET con fludesoxiglucosa (¹⁸F) reciente de dicha lesión sospechada han sido negativos o no concluyentes <p>Existen algunos datos de eficacia clínica realizando correregistro/fusión con las imágenes PET cerebral con fludesoxiglucosa (¹⁸F) con las imágenes PET con L-metionina (metil¹¹C), y seguidamente realizando un análisis semicuantitativo de las imágenes de L-metionina (metil¹¹C) co-registradas conforme al método aplicado en <i>Van Laere et al. 2005</i>.</p>	<p>Dosis única de 200-250 MBq por vía intravenosa</p>
<p>3. Localización prequirúrgica de la recidiva o persistencia del tejido paratiroideo, tanto ortotópico como ectópico, hiperfuncionante (adenoma o hiperplasia) en pacientes con pruebas de localización (ecografía y gammagrafía paratiroidea con tecnecio (^{99m}Tc) sestamibi) no concluyentes o negativas. En estos pacientes se establecerá el diagnóstico definitivo mediante cirugía de las glándulas paratiroides o seguimiento clínico-radiológico, según corresponda.</p>	<p>Dosis única de 620 MBq por vía intravenosa</p>
A.2. POBLACIÓN PEDIÁTRICA MENOR DE 18 AÑOS	

No se autoriza mediante este procedimiento el uso en población pediátrica de L-Metionina (metil¹⁴C) para ninguna de las indicaciones dado la escasa literatura científica que existe sobre utilización en población pediátrica de este radiofármaco o la ausencia de dicha información.

b) Contraindicaciones

Hipersensibilidad al principio activo o a cualquiera de sus componentes

c) Advertencias y precauciones especiales de empleo

Justificación individual del riesgo/beneficio

- Para todos los pacientes, la exposición a la radiación ionizante debe estar justificada en función del posible beneficio. La actividad administrada en cada paciente debe ser la mínima posible para obtener la información diagnóstica requerida.
- En pacientes con disminución de la función renal, se requiere una indicación cuidadosa ya que es posible que aumente la exposición a la radiación en dichos pacientes.

Preparación necesaria del paciente

- El paciente debe estar en ayunas: mínimo 8 horas para las indicaciones de PET cerebral y mínimo 6 horas para la indicación de PET paratiroidea.
- Hidratación adecuada del paciente previamente a la prueba.
- Para obtener imágenes de mejor calidad y reducir la exposición de la vejiga a la radiación, se debe pedir a los pacientes que ingieran suficiente cantidad de líquido y que vacíen la vejiga antes y después de la exploración PET.

Advertencias generales

Los radiofármacos deben ser recibidos, utilizados y administrados exclusivamente por personal cualificado, que esté debidamente autorizado para el uso y manipulación de radionucleidos, en centros asistenciales autorizados. Su recepción, almacenamiento, uso, transporte y eliminación están sujetos a las normas y/o licencias correspondientes de los organismos oficiales competentes.

Los radiofármacos destinados a la administración a pacientes deben ser preparados por el usuario de manera que cumplan tanto los requisitos de seguridad radiológica como de calidad farmacéutica. Se deben tomar las precauciones asépticas apropiadas de acuerdo con las Normas de Correcta Fabricación y Uso de Radiofármacos.

d) Interacción con otros medicamentos y otras formas de interacción

No se han realizado estudios de interacción con otros medicamentos.

e) Fertilidad, embarazo y lactancia

Mujeres en edad fértil:

Cuando sea necesario administrar radiofármacos a mujeres en edad fértil, es importante determinar si está o no embarazada. Toda mujer que presente un retraso en la menstruación debe considerarse embarazada mientras no se demuestre lo contrario. En caso de duda sobre un posible embarazo (si la mujer ha sufrido un retraso en la menstruación, si el período es muy irregular, etc.), deben ofrecerse al paciente técnicas alternativas que no impliquen el uso de radiaciones ionizantes (si existiesen).

Embarazo:

Los procedimientos con radionucleidos llevados a cabo en mujeres embarazadas implican además dosis de radiación recibidas por el feto. Durante el embarazo sólo deben llevarse a cabo las pruebas estrictamente necesarias, cuando el beneficio probable supere el riesgo que corren la madre y el feto.

Lactancia:

Debido a la ausencia de datos farmacocinéticos de este radiofármaco y su excreción en la leche materna, no es posible autorizar el uso de L-metionina (metil¹⁴C) en mujeres amamantando a sus hijos.

f) Sobredosis

En el caso de administración accidental de una sobredosis de L-Metionina (metil¹⁴C), debe reducirse la dosis de radiación recibida por el paciente, en la medida de lo posible, aumentando la eliminación corporal del radionucleido mediante diuresis forzada y vaciamiento frecuente de la vejiga.

g) Momento de adquisición de las imágenes

20 minutos después de la administración de L-Metionina (metil¹⁴C) para la PET cerebral y 15 minutos después para la PET paratiroidea. La duración del estudio dependerá de las características de la cámara PET utilizada.

h) Dosimetría

La dosis efectiva equivalente para adultos de raza caucásica es de 0,0052 mSv/MBq, y las dosis absorbidas más altas se reciben en la vejiga (0,027 mGy/MBq), páncreas (0,019 mGy/MBq), hígado (0,018 mGy/MBq) y riñón (0,011 mGy/MBq) (DeLoar et al. 1998).

Tras la realización de la PET (PET-TAC) con L-Metionina (metil¹⁴C) deberá informarse al Área de Usos Compasivos de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, mediante informe de experto clínico anual, el siguiente resumen de datos obtenido de los pacientes sometidos al uso autorizado:

- El impacto de la prueba sobre la impresión diagnóstica que del paciente se tenía antes de someterse a la PET (es decir, modificación de la sospecha diagnóstica preprueba justamente cuando se conoce el resultado de la prueba,..).
- El impacto de la prueba sobre el manejo diagnóstico/terapéutico del paciente previsto para el paciente antes de la realización de la PET (es decir, modificación del manejo diagnóstico/terapéutico previsto preprueba justamente cuando se conoce el resultado de la prueba,..).
- Rentabilidad diagnóstica del radiofármaco (sensibilidad, especificidad, fiabilidad y likelihood ratios)
- Descripción de la muestra reclutada: características de los pacientes, diagnóstico final de las lesiones sospechadas (localización, número y caracterización histológica) y patrón de oro/prueba de referencia utilizado para establecer el diagnóstico final
- Sospechas de reacciones adversas al radiofármaco.

9.3. FORMULARI DE RECOLLIDA DE DADES EN PET AMB METIONINA

Formulario de recogida de datos clínicos del uso temporal autorizado de la L-Metionina (metil¹¹C)

<p>a) Indicación autorizada de la L-Metionina (metil¹¹C)</p> <p>Localización prequirúrgica de la recidiva o persistencia del tejido paratiroideo hiperfuncionante (adenoma o hiperplasia), tanto ortotópico como ectópico, en pacientes con pruebas de localización (ecografía y gammagrafía paratiroidea con tecnecio (^{99m}Tc) sestamibi) no concluyentes o negativas.</p> <p>En estos pacientes se debe establecer el diagnóstico definitivo mediante cirugía de las glándulas paratiroides o seguimiento clínico-radiológico, según corresponda.</p>	<p><u>Posología</u></p> <p>Dosis única de 620 MBq por vía intravenosa</p>
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------

b) Contraindicaciones de uso de la L-Metionina (metil¹¹C)

- Hipersensibilidad al principio activo o a cualquiera de sus componentes

c) Uso de la L-Metionina (metil¹¹C) en mujeres fértiles, embarazadas o amamantando a sus hijos

Mujeres en edad fértil:

Cuando sea necesario administrar radiofármacos a mujeres en edad fértil, es importante determinar si está o no embarazada. Toda mujer que presente un retraso en la menstruación debe considerarse embarazada mientras no se demuestre lo contrario. En caso de duda sobre un posible embarazo (si la mujer ha sufrido un retraso en la menstruación, si el período es muy irregular, etc.), deben ofrecerse al paciente técnicas alternativas que no impliquen el uso de radiaciones ionizantes (si existiesen).

Embarazo:

Los procedimientos con radionucleidos llevados a cabo en mujeres embarazadas implican además dosis de radiación recibidas por el feto. Durante el embarazo sólo deben llevarse a cabo las pruebas estrictamente necesarias, cuando el beneficio probable supere el riesgo que corren la madre y el feto.

Lactancia:

Debido a la ausencia de datos farmacocinéticos de este radiofármaco y su excreción en la leche materna, no es posible autorizar el uso de L-metionina (metil¹¹C) en mujeres amamantando a sus hijos.

DATOS DEL PACIENTE	Fecha PET con L-Metionina (metil ¹¹ C)
<p>Nombre y apellidos</p> <p>Número de identificación</p> <p>Fecha de nacimiento</p> <p>Hombre <input type="checkbox"/> Mujer <input type="checkbox"/></p>	

DATOS DEL CENTRO SOLICITANTE	DATOS DEL CENTRO PET
<p>Servicio solicitante</p> <p>Nombre del Centro</p> <p>Ciudad</p> <p>Fecha de solicitud de la PET con L-Metionina (metil¹¹C)</p> <p>Nombre y apellidos del médico prescriptor</p>	<p>Centro donde se realiza la PET con L-Metionina (metil¹¹C)</p> <p>Ciudad</p> <p>Nombre y apellidos del médico que realiza la PET con L-Metionina (metil¹¹C)</p> <p>Dosis administrada del radiofármaco:</p> <p>Nº de lote del radiofármaco</p> <p>Equipo: PET <input type="checkbox"/> PET-TAC <input type="checkbox"/></p>

9.4. DOCUMENT CEIC PARC DE SALUT MAR



Informe del Comité Ético de Investigación Clínica

Doña M^a Teresa Navarra Alcrudo Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica del Parc de Salut Mar

CERTIFICA

Que éste Comité ha evaluado el proyecto de investigación clínica nº 2014/5970/I titulado "La PET amb 11C-metionina com a factor pronòstic i en la caracterització dels gliomes.", propuesto por el Dr. ANTONI MESTRE FUSCO, del Servicio de Medicina Nuclear del Hospital del Mar.

Y que considera que:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.

La capacidad del investigador y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

El alcance de las compensaciones económicas que se solicitan están plenamente justificadas.

Y que éste Comité acepta que dicho proyecto de investigación sea realizado en el Hospital del Mar por el Dr. ANTONI MESTRE FUSCO, como investigador principal tal como recoge el ACTA de la reunión del día 9 de diciembre de 2014.

Lo que firmo en Barcelona, a 16 de Diciembre de 2014

Firmado:
Doña M^a Teresa Navarra Alcrudo

CEIC – Parc de Salut MAR
Dr. Aiguader, 88 | 08003 Barcelona | Telèfon 93 316 06 77 | Fax 93 316 06 36
ceic-psmar@mim.es | www.parcdesalutmar.cat

