

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA

DIPARTIMENTO DI NEUROSCIENZE

Direttore: Ch.mo Prof. Raffaele De Caro

SCUOLA DI SPECIALIZZAZIONE IN NEUROCHIRURGIA

Direttore: Ch.mo Prof. Luca Denaro

TESI DI LAUREA

Glioblastoma in area motoria e nTMS, una valutazione retrospettiva del concetto di eloquenza

RELATORE: Prof. Luca Denaro

CORRELATORE: Dott. Luca Sartori

LAUREANDO: Pietro Dalla Zuanna

ANNO ACCADEMICO 2022/2023

INDICE

ABSTRACT	pag.1
INTRODUZIONE.....	pag.3
- GLIOBLASTOMA	pag.3
○ EPIDEMIOLOGIA.....	pag.3
○ PATOGENESI	pag.4
○ ANATOMIA PATOLOGICA.....	pag.5
▪ Aspetto Macroscopico	pag.5
▪ Istopatologia	pag.5
○ STORIA NATURALE.....	pag.8
○ STORIA DELLA CLASSIFICAZIONE DEL GLIOBLASTOMA	pag.9
▪ Prima edizione	pag.10
▪ Seconda edizione	pag.11
▪ Terza edizione.....	pag.13
▪ Quarta edizione	pag.14
▪ Edizione 2016.....	pag.16
▪ Quinta edizione.....	pag.18
○ DIAGNOSI	pag.21
▪ Presentazione clinica.....	pag.21
▪ Imaging	pag.21
▪ Biologia Molecolare.....	pag.22
○ TRATTAMENTO	pag.23
○ GLIOBLASTOMA IN AREA MOTORIA.....	pag.24
- STIMOLAZIONE MAGNETICA TRANSCRANICA NAVIGATA (nTMS).....	pag.27
○ STRUMENTAZIONE	pag.28
○ APPLICAZIONI CLINICHE DELL'nTMS NELL'AMBITO DELLA NEUROCHIRURGIA IN AREA MOTORIA	pag.29

- **Ridurre l'incidenza di deficit motorio post-operatorio**
..... pag.29
- **Misurazione post-operatoria delle probabilità di recupero**..... pag.29
- **Stratificazione del rischio**..... pag.29
- **Resting Motor Threshold (rMT)** pag.30
- **UTILITÀ CLINICA**..... pag.31
 - **Conoscenze attuali sulla riorganizzazione funzionale**
..... pag.31
- **PROBLEMI PRATICI ED ESEMPI DI UTILIZZO DELL'NTMS** pag.34
 - **Fattori di accuratezza** pag.34
 - **Protocollo di mappatura** pag.36
 - **Preparazione** pag.36
 - **Identificare gli Hotspot** pag.37
 - **Determinazione del rMT** pag.38
 - **Mappatura dell'Area motoria dell'arto superiore con rMT 110%** pag.39
 - **Mappatura dell'Area Motoria dell'Arto Inferiore (TA, Soleo)**..... pag.40
 - **Muscolatura facciale (Mentalis, Orbicularis Oris)**
..... pag.40
- **APPLICAZIONE CLINICA SULLA MAPPATURA DELL'AREA CORTICALE** pag.42
- **TRACCIAMENTO DELLE FIBRE DTI (DTI FT) DELLE VIE MOTORIE BASATO SULLA nTMS**..... pag.43
- **GLIOBLASTOMA e nTMS** pag.45

SCOPO DELLO STUDIO pag.47

MATERIALI E METODI pag.49

-	POPOLAZIONI E SELEZIONE DEI PAZIENTI	pag.49
-	ACQUISIZIONE DELLA MRI ED ANALISI VOLUMETRICA	pag.50
-	MAPPATURA PREOPERATORIO MEDIANTE nTMS E RICOSTRUZIONE TRATTOGRAFICA	pag.51
-	VALUTAZIONE CLINICA FUNZIONALE	pag.52
o	Valutazione preoperatoria	pag.52
o	Valutazione postoperatoria	pag.53
o	Follow-up	pag.53
-	SOPRAVVIVENZA	pag.53
-	ANALISI STATISTICA	pag.54
-	CONSENSO INFORMATO DEI PAZIENTI ED APPROVAZIONE DEL COMITATO ETICO	pag.54
	RISULTATI.....	pag.55
-	POPOLAZIONE	pag.55
-	CHIRURGIA	pag.57
-	INDICI DI FUNZIONALITÀ.....	pag.59
-	RISCHIO CHIRURGICO	pag.66
-	Immagini Brainlab®.....	pag.68
-	SOPRAVVIVENZA.....	pag.70
	DISCUSSIONE.....	pag.71
-	LIMITI.....	pag.78
	CONCLUSIONE.....	pag.79
	Bibliografia	pag.81

ABSTRACT

Background: Il trattamento chirurgico dei glioblastomi (GBM) in area eloquente è problematico a causa dell'elevato rischio di danno alle vie corticospinali (CST) e conseguente deficit postoperatorio. La terapia del GBM è costituita, oltre alla resezione non differita, da una chemioterapia e radioterapia adiuvante (RCT) il cui inizio non può essere ritardato eccessivamente. Purtroppo, l'esperienza clinica ha verificato che ciò accade spesso a causa della presenza di deficit. Pertanto, in caso di glioblastoma in area eloquente, abbiamo cercato di verificare se, con l'ausilio della Stimolazione Magnetica Transcranica navigata (nTMS), la cui aggiunta alla terapia di questi pazienti permette di ridurre il rischio di deficit, possa ridurre anche il ritardo di inizio della RCT e quindi, inoltre, impattare positivamente sulla loro sopravvivenza.

Metodi: Sono stati individuati 22 pazienti con GBM diagnosticato tramite imaging radiologico tra il 2020 ed il 2023. 11 di tali pazienti sono stati inseriti nel Gruppo A, con GBM in area eloquente e sottoposti ad nTMS, mentre gli altri 11 sono stati inseriti nel Gruppo B, con glioblastoma in area non eloquente e quindi non sottoposti ad nTMS. Entrambi i gruppi sono stati seguiti nel tempo, riportando i valori, ottenuti tramite esame obiettivo, dei punteggi Medical Research Council (MRC) e Karnofsky Performance Status (KPS), assieme alla data di inizio della terapia adiuvante e dell'eventuale data dell'exitus.

Risultati: Abbiamo ottenuto nel Gruppo A vs Gruppo B un tasso statisticamente paragonabile di GTR (72.7% vs. 81.8%; p Value = 0.611), complicanze (18.2% vs. 0%; p Value = 0.138), casi di peggioramento postoperatorio del punteggio MRC (27.3% vs. 0%; p Value = 0.062) e del KPS (27.3% vs. 9.1%; p Value = 0.269) rispetto al preoperatorio; nel follow-up in entrambi i gruppi non ci sono stati casi di peggioramento del punteggio di MRC rispetto al preoperatorio mentre, nel KPS, abbiamo ottenuto nel Gruppo A vs. Gruppo B un tasso statisticamente paragonabile di peggioramento del punteggio KPS rispetto al preoperatorio (0% vs. 9.1%; p Value = 0.306). Infine, non c'è stata differenza statisticamente significativa tra i tempi di accesso alla RCT in Gruppo A vs. Gruppo B, col valore medio in giorni

(min-max) di 40.64 (29-61) vs. 40.91 (29-65). A causa del follow-up molto breve, non è stato possibile effettuare l'analisi statistica della sopravvivenza.

Conclusion: Il beneficio dell'nTMS sull'incidenza dei deficit post-operatori è stata nuovamente confermato. L'analisi ha evidenziato come l'aggiunta dell'nTMS permetta di ottenere tempi di accesso alla terapia adiuvante statisticamente paragonabili a quelli dei pazienti con GBM in area non eloquente. Considerando come entrambi i gruppi presentino tassi statisticamente paragonabili di GTR, deficit postoperatorio e tempi di accesso alla terapia adiuvante, questo permette di declassificare la localizzazione del GBM in area eloquente come lesione ad alto rischio di deficit postoperatorio.

Keywords: glioblastoma, navigated transcranial magnetic stimulation, retrospective study, adjuvant therapy, Karnofsky Performance Status, Medical Research Council, time gap.

INTRODUZIONE

GLIOBLASTOMA

Il glioblastoma (GBM) è una neoplasia cerebrale primitiva altamente maligna e classificata come di grado 4 secondo l'attuale edizione della WHO. Si verifica più comunemente in pazienti anziani (età media alla diagnosi, 65 anni) ed è caratterizzato da una rapida progressione e da una prognosi sfavorevole (sopravvivenza globale mediana, 16-18 mesi)¹.

Istologicamente, è caratterizzato da una prominente atipia cellulare e nucleare, frequenti mitosi, aree di necrosi e proliferazione vascolare. A livello molecolare, presenta un notevole grado di eterogeneità intratumorale, anche rispetto ad altre neoplasie di Grado 4^{2,3,4,5}.

Importante notare che l'eterogeneità istologica, molto elevata anche rispetto ad altre neoplasie di alto grado, è accompagnata da un'elevata eterogeneità molecolare, per cui è sufficiente la presenza di una sola mutazione, nel campione bioptico, per giungere alla diagnosi^{2,3,4,5}.

Sottotipi sono il Glioblastoma a cellule giganti, il gliosarcoma ed il glioblastoma epiteloide.

EPIDEMIOLOGIA

Il glioblastoma è il più frequente tumore cerebrale maligno negli adulti, responsabile di circa il 15% di tutte le neoplasie intracraniche e il 45-50% di tutte neoplasie maligne primarie del sistema nervoso centrale con un M:F=1.6:1 negli USA e 1.28:1 in Svizzera⁶.

Colpisce prevalentemente a partire dalla sesta decade, con i casi pediatrici rappresentanti il 3% della totalità delle neoplasie del sistema nervoso centrale⁶.

L'incidenza annuale, aggiustata per età, è di 3-6 casi per 100.000 abitanti, con un lieve aumento che può essere attribuito solo in parte al miglioramento delle tecniche diagnostiche, suggerendo che l'ambiente abbia un ruolo nel suo sviluppo⁶.

PATOGENESI

Esperimenti effettuati su modelli murini hanno evidenziato come molteplici specie cellulari nervose possono trasformarsi in senso maligno ed evolvere eventualmente in glioblastomi.

Resta ancora irrisolta la questione se l'origine sia dovuta a una differenziazione maligna di progenitori o alla de-differenziazione di cellule completamente o parzialmente differenziate.

L'analisi del sequenziamento dell'RNA di singole cellule di tumori umani suggerisce che il glioblastoma è composto da cellule appartenenti a diversi stati del neurosviluppo (stati simili a progenitori neurali, progenitori oligodendrocitari e astrociti) influenzate dalle interazioni con le cellule immunitarie (stato simile a quello mesenchimale). Gli eventi genetici che determinano il glioblastoma possono alterare le linee cellulari; inoltre, il potenziale di plasticità cellulare rappresenta un ostacolo nella ricerca delle cellule di origine⁷.

Nel 1992, uno studio retrospettivo su 100 pazienti affetti da glioblastoma evidenziò, la precedente esposizione a radiazioni ionizzanti, in particolare nel contesto della radioterapia⁸.

È noto invece che alcune sindromi genetiche siano correlate allo sviluppo di questi tumori, in particolare la Sclerosi Tuberosa (mutazione dei geni TSC1/2), la Sindrome di Lynch (mutazione del meccanismo di mismatch del DNA), neurofibromatosi di tipo 1 (mutazione del gene NF1) e la Sindrome di Li Fraumeni (mutazione del gene TP53)⁹.

Un rischio ridotto di insorgenza si è verificato nei pazienti con una storia di allergie o malattie atopiche¹⁰.

ANATOMIA PATOLOGICA

Aspetto Macroscopico

Il glioblastoma si presenta tipicamente come una lesione di notevoli dimensioni, spesso unilaterale a meno che non superi il corpo calloso, nel cui caso può svilupparsi bilateralmente e acquisire l'aspetto "a farfalla". In sede autoptica, si osservano aree grigie o rosa in periferia e area centrale di necrosi giallastra, che occupa circa l'80% del volume totale, e sono spesso evidenti foci sparsi di emorragie recenti, o pregresse, e occasionalmente sono presenti cisti. Tali cisti sono

distinguibili da quelle presenti negli astrocitomi di grado più piccolo a causa del contenuto, cioè un liquido torbido di tessuto necrotico liquefatto, in contrasto con le cisti meglio delineate dei secondi¹¹.

Istopatologia

Il tessuto è tipicamente costituito da cellule astrocitarie scarsamente differenziate, con atipia diffusa e marcato pleiomorfismo. Nella maggior parte dei casi si osserva anche attività mitotica elevata, proliferazione microvascolare e necrosi. In particolare, queste ultime due costituiscono le caratteristiche diagnostiche.

Poche neoplasie sono così morfologicamente eterogenee come il glioblastoma. L'elevato pleomorfismo cellulare, causa del termine ormai obsoleto di "glioblastoma multiforme", rende questo tumore molto variabile, istologicamente: alcune lesioni mostrano un alto grado di polimorfismo cellulare e nucleare, con numerose cellule giganti multinucleate; altre sono

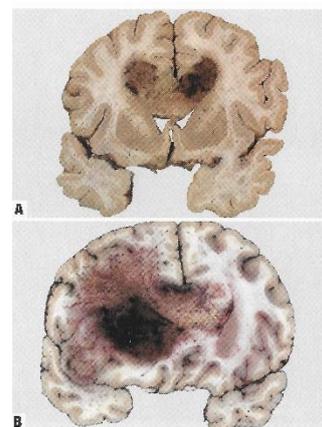


Figura 1 - Glioblastoma IDH-wildtype
A - GBM con invasione bilaterale del corpo calloso (GBM a farfalla)
B - GBM del lobo frontale destro

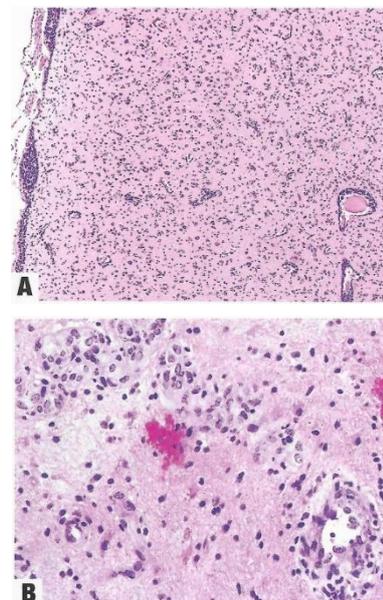


Figura 2 e 3 - Glioblastoma, IDH-wildtype

A - Struttura secondaria con accumulo di cellule tumorali a livello subpiale, perivascolare e perineuronale.
B - Proliferazione microvascolare a livello del margine infiltrativo di un glioblastoma, caratterizzata da piccoli vasi sanguigni con cellule multistrato che, talvolta, formano strutture glomeruloidi

marcatamente cellulari ma relativamente monomorfe. Generalmente, comunque, il centro della lesione è costituito da un'ampia area necrotica mentre le cellule vitali si localizzano in periferia, che risulta quindi essere l'area più indicata per la biopsia.

- Gemistociti: cellule caratterizzate da citoplasma, acromatico, abbondante e non fibrillare che sposta il nucleo scuro e angolato alla periferia della cellula. Sono spesso evidenziabili tramite colorazione GFAP, e sono caratterizzati dalla presenza di linfociti perivascolari in loro prossimità, a differenza di altre popolazioni cellulari.
- Cellule Giganti: cellule tumorali grandi e multinucleate, con uno spettro di dimensioni e pleomorfismo crescenti. Un glioblastoma è definito “a cellule giganti” quando queste cellule hanno una componente istopatologica dominante. Di solito presentano un deficit costituzionale di mismatch repair¹².
- Metaplasia: fenomeno dove una cellula differenziata acquisisce caratteristiche tipiche di un'altra cellula differenziata, e nel caso dei glioblastomi, può accadere che essi presentino una metaplasia prevalentemente in senso mesenchimale (Gliosarcoma) o epiteliale (Glioblastoma epitelioide), soprattutto.

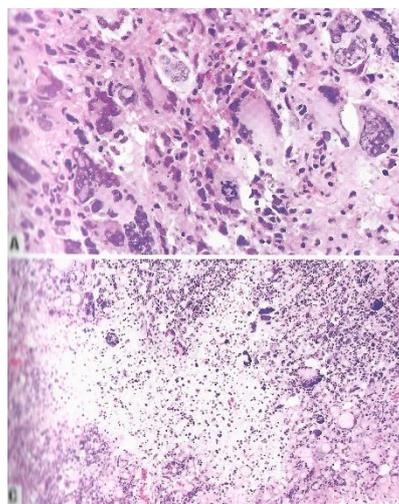


Figura 4 - Glioblastoma a cellule giganti
 A - Cellule giganti multinucleate
 C - Glioblastoma a cellule giganti in paziente affetto da Sindrome di Lynch

- Il Gliosarcoma (Fig. 5) presenta un pattern bifasico con aree alternate di cellule gliali e mesenchimali.

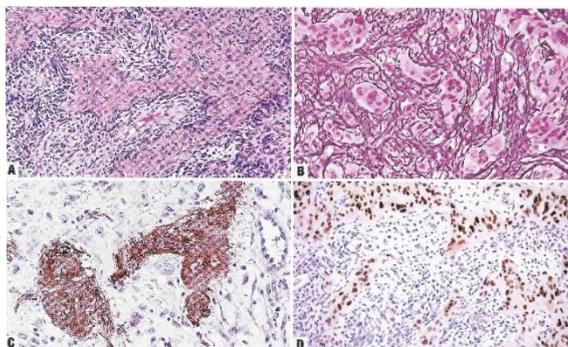
Figura 5 - Gliosarcoma

A - Gliosarcoma con focolai istologicamente simili ad osteosarcoma

B - Alternanza di aree gliali povere di reticolina e di aree sarcomatose ricche di reticolina

C - GFAP evidenzia le componenti di glioma

D - Le regioni gliali reagiscono a OLIG2



- Il Glioblastoma Epiteloide (Fig. 6) è caratterizzato da un aggregato per lo più nettamente delimitato, poco coeso, di grandi cellule da epitelioidi a rabdoidi con

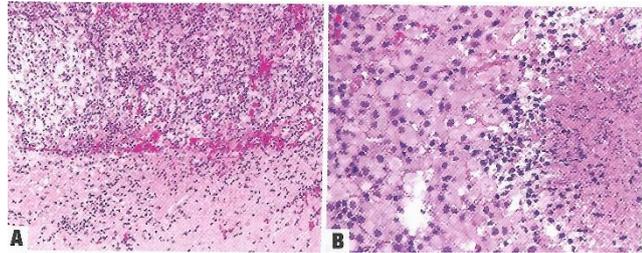


Figura 6 - Glioblastoma epiteloide

A - La linea di demarcazione tra il tessuto tumorale e quello sano è molto evidente

B - Cellule tumorali poco coese e composte da grandi cellule epitelioidi e rabdoidi, spesso simili a melanoma metastatico o carcinoma

citoplasma abbondante, grandi nuclei vescicolari e macronucleoli prominenti, che talvolta imitano il carcinoma metastatico o il melanoma.

Tuttavia, anche se l'istopatologia possiede ancora rilevanza nella diagnosi, essa non fornisce informazioni prognostiche significative, soprattutto nel caso dei glioblastomi IDH-wildtype. Anche se esistono studi che indicano, separatamente, una prognosi peggiore in caso di gliosarcoma, glioblastoma epiteloide o presenza di necrosi, o prognosi migliore per il glioblastoma a cellule giganti, i risultati sono sempre stati di scarsa rilevanza clinica¹¹.

STORIA NATURALE

A partire dal 1940, grazie agli studi effettuati dal patologo tedesco Scherer, è stata effettuata una distinzione tra i GBM sviluppatasi de novo, denominati primari, e quelli formati da un'evoluzione in senso maligno di un glioma di basso grado, detti GBM secondari.

Una differenza data da questa diversa origine è il tempo intercorso tra l'inizio del suo sviluppo e la diagnosi, che è più breve nella forma primaria.

I GBM primari rappresentano l'80% dei GBM e si verificano in pazienti anziani con un'età media di 62 anni, mentre i GBM secondari derivano da astrocitomi o oligodendrogliomi di grado inferiore in pazienti più giovani con un'età media di 45 anni. I GBM secondari sono solitamente localizzati nel lobo frontale, presentano un grado di necrosi minore e hanno una prognosi migliore rispetto ai GBM primari¹³.

Una minoranza dei glioblastomi, detti glioblastomi multifocali, si manifestano tramite lesioni multiple, dotati di regioni di diffusione contigua tra i focolai, o multicentriche, caratterizzati da lesioni completamente separate. Raramente, anche i gliosarcomi e i GBM epiteloidi presentano multifocalità¹⁴.

La diffusione avviene sia attraverso la sostanza grigia che bianca, ma presenta una maggiore tendenza ad infiltrare attraverso quest'ultima. In caso di coinvolgimento del corpo calloso e delle commissure anteriori e posteriori, la diffusione bilaterale attraverso la linea mediana può portare all'aspetto a "farfalla", tipico del glioblastoma¹¹. Tuttavia, nonostante l'elevata capacità infiltrante, è molto raro che un GBM metastatizzi¹¹.

STORIA DELLA CLASSIFICAZIONE DEL GLIOBLASTOMA

Inizialmente, prima che Virchow distinguesse le cellule della glia dal resto delle cellule cerebrali, i gliomi da esse generati erano considerati appartenenti alla categoria dei sarcomi cerebrali. La prima classificazione dei differenti stadi di maturazione dei gliomi fu effettuata da Ribbert nel 1918 in spongioneuroblastoma, spongioblastoma, glioblastoma e glioma¹. Essa fornì la base delle successive classificazioni dei gliomi¹⁵.

Mentre il lavoro, allora pionieristico, di Harvey Williams Cushing poneva le basi per la neurochirurgia moderna, Percival Bailey utilizzò la tecnica dell'impregnazione argentea per comparare le cellule presenti nei tumori cerebrali con quelle sane. Il risultato fu la prima importante classificazione dei tumori cerebrali pubblicata da Bailey e Cushing nel 1926 e nel 1930, nella quale fu per la prima volta utilizzato il nome Glioblastoma Multiforme (GBM), termine ormai ridotto unicamente a Glioblastoma¹⁶.

Nel 1940 il patologo tedesco Scherer ha distinto due sottotipi di glioblastomi: il glioblastoma primario, e il glioblastoma secondario. Fu in grado quindi di capire come i glioblastomi secondari originassero da un'evoluzione in senso maligno di gliomi di grado inferiore.

Nel corso dei decenni, altri ricercatori hanno ideato altre classificazioni, tra cui quella di Roussy e Oberling, di Penfield, di Bergstrand, e di Del Rio Hortega¹⁷.

Prima edizione WHO – 1979

Nel 1979, la WHO stilò la prima classificazione ufficiale dei tumori del SNC, nella quale i tumori di origine gliale furono inseriti nel gruppo dei tumori di origine neuroepiteliale (Tab. I).

In questa classificazione, fu inserita una prima distinzione dei tumori astrocitari, i quali però furono comunque organizzati secondo un ordine differente rispetto al sistema attuale.

Tabella I - Tumori astrocitari – WHO 1979

Tumore	Grado
Astrocitoma a) fibrillare b) protoplasmatico c) gemistocitico	II
Astrocitoma pilocitico	I
Astrocitoma subependimale a cellule giganti (tumore ventricolare della sclerosi tuberosa)	I
Astroblastoma	II-IV?
Astrocitoma anaplastico (maligno)	III

Il glioblastoma (Grado IV) è stato inserito nel gruppo dei tumori embrionali e scarsamente differenziati, cioè i tumori che, a parte il condividere l'origine neuroepiteliale e l'elevata malignità (concetto che all'epoca era ancora fonte di discussione), erano privi di peculiarità che permettessero alle tecnologie dell'epoca di offrire una definizione sufficiente a inserirli all'interno di categorie più specifiche (Tab. II).

Tabella II - Tumori embrionali e scarsamente differenziati – WHO 1979

Tumore	Grado
Glioblastoma	IV
Varianti	
a) Glioblastoma con componente sarcomatosa (glioblastoma misto e sarcoma)	IV
b) Glioblastoma a cellule giganti	IV
Medulloblastoma	IV
Varianti	
a) Desmoplastico	III-IV
b) Medullomioblastoma	III-IV
Medulloepitelioma	IV
Spongioblastoma polare primitivo	IV
Gliomatosi cerebrale	?

Il grading richiese un dibattito sui criteri per la diagnosi di "malignità", in quanto fu concordato che i criteri di malignità istologica e biologica adottati per le neoplasie cerebrali primitive erano inadeguati¹⁷. I motivi principali di questa conclusione furono:

- a) Le lesioni occupanti spazio, espandendosi, portano a un esito fatale che, per definizione, viene equiparato alla "malignità clinica"¹⁷.
- b) Può verificarsi erniazione delle strutture vitali, indipendentemente dal tipo istologico del tumore¹⁷. L'effetto ostruttivo di un tumore in crescita può portare a un idrocefalo secondario e ostruttivo¹⁷.
- c) i criteri di crescita che definiscono la malignità di altre neoplasie sono diversi nei tumori intracranici e devono quindi essere modificati dalla valutazione del comportamento maligno dei tumori del sistema nervoso centrale in casi chirurgici e non operati¹⁷.

La classificazione numerica fu basata quindi sui criteri istologici di malignità e sull'esperienza dei neurochirurghi e di altri clinici¹⁷. Il grado numerico I è considerato il più benigno ("benigno"), il grado II un "semibenigno", il grado III un "relativamente maligno" e il grado IV una nuova crescita "altamente maligna", in modo che la scala da I a IV indichi gradi crescenti di malignità¹⁷.

Seconda edizione WHO - 1993

Dopo che la WHO pubblicò la prima classificazione ufficiale dei tumori del sistema nervoso centrale, molti ricercatori formularono, negli anni successivi, ulteriori sistemi di classificazione che tenessero conto delle nuove conoscenze acquisite in campo di ricerca.

Il sistema di classificazione di St. Anne/Mayo è un sistema a 4 livelli ideato, nel 1988, da C. Daumas-Duport, fondendo classificazioni effettuate sia prima che dopo il 1979, identificando 4 criteri morfologici per assegnare un grado¹⁸:

- atipia nucleare;
- mitosi attiva;
- proliferazione endoteliale - cellule endoteliali "ammassate", senza ipervascolarizzazione;
- necrosi.

Il grado dipende quindi dall'accumulo di questi criteri, come segue:

- grado 1: 0 criteri -> astrocitoma pilocitico;
- grado 2: 1 criterio (di solito atipia nucleare) -> astrocitoma diffuso;
- grado 3: 2 criteri (di solito atipia nucleare e mitosi) -> astrocitoma anaplastico;
- grado 4: ≥ 3 criteri -> glioblastoma multiforme¹⁸.

Nel 1993, la WHO pubblicò la seconda edizione della sua classificazione delle neoplasie del SNC.

La commissione incaricata a classificare le diverse neoplasie, decise di separare il gruppo di lesioni più circoscritte (l'astrocitoma pilocitico, lo xantoastrocitoma pleomorfo e gli astrocitomi a cellule giganti subependimali associati alla sclerosi tuberosa) dagli astrocitomi localizzati tipicamente a livello degli emisferi cerebrali, in quanto solo questi ultimi presentavano evidenza di progressione in astrocitoma anaplastico e, successivamente, in glioblastoma.

La nuova categoria fu resa molto simile al sistema St. Anne/Mayo (Tab. III):

Tabella III - Confronto tra la Classificazione WHO del 1993 e il sistema St. Anne/Mayo

Grado WHO	Designazione WHO	Designazione St. Anne/Mayo	Criteri istologici St. Anne/Mayo
I	Astrocitoma pilocitico		
II	Astrocitoma (basso grado)	Astrocitoma di grado 1 o 2	0 criteri – 1 criterio, di solito atipia nucleare
III	Astrocitoma anaplastico	Astrocitoma di grado 3	2 criteri, di solito atipia nucleare e mitosi attiva
IV	Glioblastoma multiforme	Astrocitoma di grado 4	3 criteri, di solito atipia nucleare, mitosi attiva, proliferazione endoteliale e/o necrosi

Alcuni membri della commissione obiettarono che pure certi oligodendrogliomi anaplastici e certi ependimomi soddisfano i criteri diagnostici per il glioblastoma, ma la maggioranza votò per includere i glioblastomi nella categoria degli astrocitomi, in quanto tali neoplasie mostrano frequentemente evidenza di differenziazione astrocitica¹⁹.

La decisione di classificare il glioblastoma come un tumore astrocitario è stata decisa anche in base ai nuovi studi di biologia molecolare che hanno evidenziato la rilevanza della mutazione p53 nei tumori astrocitari¹⁹:

- Astrocitomi diffusi -> mutazione p53 con o senza perdita di Hz cromosoma 17p (30%)

- Astrocitomi anaplastici -> mutazione p53 (29-36%) con frequente perdita di Hz cromosoma 19q
- Glioblastomi -> mutazione p53 in circa un terzo dei casi¹⁹.

Questa mutazione, al contrario, non era stata riscontrata nelle neoplasie non astrocitiche e negli astrocitomi pilocitici¹⁹.

Tumori astrocitari

- Astrocitoma diffuso
 - Astrocitoma fibrillare
 - Astrocitoma protoplasmatico
 - Astrocitoma gemmocitico
- Astrocitoma anaplastico
- Glioblastoma
 - Glioblastoma a cellule giganti
 - Gliosarcoma
- Astrocitoma pilocitico
- Xantoastrocitoma pleomorfo
- Astrocitoma a cellule giganti subependimale¹⁹

Sono quindi stati identificati due particolari sottotipi di glioblastoma: il gliosarcoma ed il glioblastoma ependimale a cellule giganti¹⁹.

Terza edizione WHO - 2000

Nel 1999 fu organizzata una conferenza internazionale di neuropatologia in cui, per quanto riguarda i tumori del sistema nervoso centrale furono aggiunte diverse varianti istologiche e lo schema di classificazione fu aggiornato²⁰. Per quanto riguarda i tumori astrocitari, ad essere aggiornato fu soprattutto l'approccio diagnostico, influenzato dalle scoperte in ambito molecolare del quale fu riconosciuta la sempre maggiore rilevanza sia in ambito diagnostico che terapeutica²⁰.

Un altro cambiamento che ha coinvolto la categorizzazione dei tumori astrocitari è stata la distinzione dell'astrocitoma di grado II secondo la WHO in "astrocitoma diffuso", in modo da non rischiare di confondere tale neoplasia, sempre considerato di basso grado, con l'astrocitoma pilocitico, lesione a sua volta benigna e

caratterizzata da una distribuzione per età, localizzazione, genetica e modello di crescita diversi²⁰.

Fu inoltre ridotto la rilevanza del riscontro di una singola mitosi in un campione biotico come caratteristica distintiva tra i gradi II e III, che fu stabilito non essere necessariamente associata ad una prognosi peggiore. Infatti la mitosi, pur restando un indice importante soprattutto se rilevata a seguito di agobiopsie di piccole dimensioni, da sola non era più sufficiente per la distinzione tra i due gradi²⁰.

Il grado IV, a cui il glioblastoma è assegnato, si riferisce alle neoplasie mitoticamente attive e soggette a necrosi, generalmente associate a una rapida evoluzione pre- e post-operatoria della malattia²⁰.

I glioblastomi vennero nuovamente distinti in primario e secondario:

- Il glioblastoma primario è caratterizzato dallo sviluppo senza evidenze cliniche o istologiche di una lesione maligna preesistente; si manifestano in pazienti con età di circa 55 anni, dopo una storia clinica di meno di tre mesi²⁰.

Le caratteristiche genomiche sono:

- o Amplificazione (~40% dei casi) e/o sovraespressione (60%) del gene EGFR²⁰.
 - o Mutazione gene PTEN (30%)²⁰.
 - o Delezione gene *p16*^{INK4a} (30%-40%)²⁰.
 - o Amplificazione (~10%) e/o sovraespressione (50%) MDM2²⁰.
 - o Perdita di eterozigosi (LOH) dell'intero cromosoma 10 (50-80%)²⁰.
- Il glioblastoma secondario è caratterizzato da uno sviluppo graduale, secondario ad una preesistente lesione gliale di grado II (astrocitoma diffuso) o III (anaplastico), dal manifestarsi in pazienti giovani (età media 40 anni) e caratterizzato, a livello genomico, da perdita dei cromosomi 19q e 10q²⁰.

Quarta edizione WHO - 2007

La classificazione WHO 2007 si basò sul consenso di un gruppo di lavoro internazionale di 25 patologi e genetisti, nonché sul contributo di oltre 70 esperti internazionali²¹.

Questa nuova classificazione introdusse due nuovi sottotipi di glioblastoma:

- Glioblastoma a piccole cellule;
- Glioblastoma con componente di oligodendroglioma²¹;

La classificazione dei tumori astrocitari è stata valutata sistematicamente e applicata con successo a uno spettro di tumori astrocitari diffusamente infiltranti²¹.

I gliomi sono quindi stati classificati con un sistema a tre livelli simile a quello degli schemi di St Anne-Mayo e della precedente edizione della WHO:

- Grado II – Astrocitoma diffuso -> tumori astrocitari diffusamente infiltranti con atipia citologica;
- Grado III – Astrocitoma anaplastico -> presentanti anche anaplasia e attività mitotica;
- Grado IV – Glioblastoma multiforme -> tumori che mostrano anche proliferazione microvascolare e/o necrosi²¹.

L'unica differenza con il sistema St Anne/Mayo era data dalla differente considerazione del grado I: nel sistema WHO, il grado I era assegnato all'astrocitoma pilocitico, più circoscritto, mentre la classificazione di St Anne/Mayo assegna il grado 1 a un astrocitoma diffuso estremamente raro e privo di atipie²¹.

Poiché, per la diagnosi di grado III, non è più sufficiente il ritrovamento di una mitosi isolata in un campione di ampie dimensioni, la distinzione dai tumori di grado II può essere ottenuta in modo più affidabile mediante la determinazione del marcatore di proliferazione MIB-1²¹.

Per il grado IV, alcuni autori hanno accettato solo il criterio della proliferazione endoteliale, cioè un'apparente stratificazione multipla dell'endotelio, mentre la WHO ha accettato anche le proliferazioni microvascolari glomeruloidi²¹. La necrosi poteva essere di qualsiasi tipo²¹.

Il grado WHO, invece, è uno dei componenti di una combinazione di criteri utilizzati per predire la risposta alla terapia, in particolare:

- Caratteristiche cliniche -> età del paziente, performance status neurologico e la localizzazione del tumore;
- Caratteristiche radiologiche -> l'aumento del contrasto;
- Estensione della resezione chirurgica;
- Indici di proliferazione e le alterazioni genetiche²¹.

Per ogni entità tumorale, le combinazioni di questi parametri contribuivano a una stima complessiva della sopravvivenza:

- Grado WHO II -> >5 anni;
- Grado III -> 2-3 anni;
- Grado WHO IV -> prognosi dipendente in larga misura dalla disponibilità di regimi terapeutici efficaci, ma la maggior parte di questi pazienti, tendenzialmente anziani, soccombe alla malattia entro un anno²¹.

Edizione WHO 2016

Quest'edizione nacque più come un'espansione della quarta, piuttosto che come vera e propria quinta edizione: nel 2016 fu stabilito come, nonostante non esistessero gli estremi per creare una nuova edizione ufficiale, comprendente tutti i tipi di neoplasie, gli studi effettuati nei precedenti dieci anni avevano portato a una quantità tale di scoperte, fosse ragionevole aggiornare la quarta edizione²².

Grazie alle nuove tecniche di analisi, nacque un sistema di classificazione che integrava i parametri genotipici con quelli fenotipico-istologici, che continuarono ad essere determinanti, per la diagnosi²².

Nonostante la possibilità di vedere aumentati i casi di neoplasia che, con le conoscenze dell'epoca, non sarebbero risultati inseribili in nessuna delle nuove categorie (neoplasie NOS/non altrimenti specificate), fu comunque verificato come questa nuova classificazione raggiungessero livelli di obiettività mai raggiunti sino ad allora²².

I glioblastomi sono suddivisi in:

1. Glioblastoma, IDH wild-type (circa il 90% dei casi), che corrisponde più frequentemente al glioblastoma primario o de novo clinicamente definito e prevale nei pazienti di età superiore ai 55 anni²³, distinto a sua volta in glioblastoma a cellule giganti, gliosarcoma e glioblastoma epiteloide²²;
2. Glioblastoma IDH-mutato (circa il 10% dei casi), che corrisponde strettamente al cosiddetto glioblastoma secondario con una storia di precedente glioma diffuso di grado inferiore e insorge di preferenza nei pazienti più giovani²³;

3. Glioblastoma NOS, una diagnosi riservata ai tumori per i quali non è possibile eseguire una valutazione IDH completa²².

La definizione di valutazione completa dell'IDH poteva essere diversa per i glioblastomi di pazienti anziani rispetto ai glioblastomi di adulti più giovani e rispetto ai gliomi diffusi di grado WHO II e III: in queste ultime situazioni, il sequenziamento di IDH era altamente raccomandato in seguito all'immunoistochimica R132H IDH1 negativa, mentre la quasi assenza di mutazioni IDH1 e IDH2 non-R132H, nei glioblastomi di pazienti di età superiore ai 55 anni circa²⁴, suggeriva che il sequenziamento poteva essere non essere necessario in caso di immunoistochimica R132H IDH1 negativa²².

Il processo di diagnosi quindi richiedeva:

1. Valutazione istologica per l'identificazione della natura oligodendrogliale, oligoastrocitaria o astrocitaria, da cui è talvolta già possibile dimostrare la natura di glioblastoma della lesione²²;
2. Ricerca della mutazione di IDH, distinguendo tra IDH-mutato e IDH wild-type²²;
3. A questo punto si procede, nel caso in cui la lesione presenti la mutazione per IDH, la cui associazione a mutazioni ulteriori, o meno, permette di effettuare la diagnosi differenziale tra i vari sottotipi:
 - In caso di neoplasia IDH-mutata
 - Codelezione 1p/19q -> Oligodendroglioma;
 - Assenza di codelezione 1p/19q e (caratteristiche, ma non necessarie) perdita del gene ATRX e/o mutazione di TP53 -> Astrocitoma diffuso IDH-mutato.
 - In caso di neoplasia IDH wild-type -> Astrocitoma diffuso, IDH wild-type oppure Oligodendroglioma, NOS²²;

Se non era possibile identificare nessuna delle mutazioni sopra descritte, ci si avvaleva della sola analisi istologica per identificare una neoplasia NOS (Astrocitoma diffuso, Oligodendroglioma, Oligoastrocitoma o Glioblastoma)²².

Quinta edizione WHO - 2021

La classificazione WHO del 2016 aveva concettualizzato il glioblastoma primario (astrocitoma diffuso, IDH-wildtype, grado IV) come un tumore che si sviluppa rapidamente de novo senza una lesione progenitrice nota, cioè un'entità patologica distinta dall'astrocitoma diffuso di grado II, IDH-wildtype. Questo era principalmente dovuto alla presenza di caratteristiche istopatologiche di alto grado (necrosi e/o proliferazione microvascolare). Tuttavia, la crescente conoscenza delle caratteristiche molecolari del glioblastoma primario ha messo in discussione questa visione.

Gli studi genomici rivelavano che da un lato neoplasie presentanti la mutazione IDH, anche se dotate di una morfologia compatibile con un Grado IV, fossero caratterizzate da una prognosi migliore rispetto alle IDH-wildtype, per cui la commissione incaricata di comporre la quinta edizione ha stabilito che fosse necessario rimuovere queste neoplasie dalla categoria dei GBM.²⁵ Al contempo, altri studi hanno confutato come la maggioranza degli astrocitomi diffusi di grado II e III, IDH-wildtype che condividevano alterazioni genomiche con il glioblastoma primario di grado IV condividessero anche la stessa prognosi.²⁵

Ciò suggeriva che questi tumori rappresentavano glioblastomi sottocampionati e, coerentemente con questa idea, uno studio ha rivelato che la presenza di +7/-10, amplificazione dell'EGFR e/o mutazione del promotore TERT nei gliomi astrocitici diffusi di grado istopatologico II o III IDH-wildtype comporta una prognosi molto simile a quella del glioblastoma diagnosticato istologicamente²⁶.

La classificazione WHO 2021 ha quindi tenuto conto di queste nuove conoscenze per stabilire criteri che consentano una diagnosi di glioblastoma nei gliomi astrocitari di tipo IDH wild-type anche in assenza di caratteristiche istopatologiche di alto grado, purché sia presente almeno una tra le caratteristiche molecolari:

- +7/-10;
- +EGFR;
- mutazione del promotore TERT^{27,28}.

In caso invece di astrocitoma IDH-mutato che non presenta caratteristiche istopatologiche di alto grado, la diagnosi di glioblastoma non può più essere

effettuata, ma le conseguenti indagini puntano a identificare tumori di differente natura: si verifica l'assenza del gene ATRX (α -thalassemia mental retardation X-linked) e la mutazione del gene TP53;

- se non sono presenti, ma è presente la codelezione 1p/19q, ciò indica oligodendroglioma di grado 2 o 3;
- se sono presenti, è necessario ricercare la delezione omozigote del gene CDKN2A/B (cyclin-dependent kinase inhibitor 2A/cyclin-dependent kinase inhibitor 2B);
 - o la sua assenza indica un astrocitoma di basso grado;
 - o la sua presenza permette la diagnosi di astrocitoma di Grado 4²⁹.

In caso di astrocitoma di Grado 4 IDH-mutato, nonostante la morfologia delle cellule di risulti molto simile a quella del GBM, esistono delle differenze evidenti:

- le aree di ischemia e/o necrosi a palizzata si osservano nel 90% dei glioblastomi IDH-wildtype, mentre sono presenti solo nel 50% degli astrocitomi di Grado 4 IDH-mutato;
- aree focali in cui la componente cellulare è più simile a quella degli oligodendrogliomi sono più comuni negli astrocitomi di Grado 4 IDH-mutato²⁹.

Questo cambiamento ha importanti implicazioni per la prognosi e la terapia di questi tumori e sottolinea l'importanza dell'analisi molecolare per i gliomi astrocitari diffusi del SNC di grado WHO 2 o 3, IDH-wildtype. L'astrocitoma diffuso, IDH-wildtype, CNS WHO di grado 2 o 3, senza caratteristiche molecolari del glioblastoma è un'entità rara e non è più considerato un tipo di tumore nella classificazione WHO 2021.³⁰

L'assenza di caratteristiche molecolari del glioblastoma dovrebbe indurre a eseguire ulteriori test molecolari (ad esempio, alterazioni di BRAF, mutazioni istoniche, profilo del metiloma) per arrivare a una diagnosi specifica²⁹.

La classificazione WHO 2021 ha riconosciuto diversi nuovi tipi di tumore e apportato diverse importanti modifiche ai principi relativi alla nomenclatura, al grading e alla classificazione dei tumori del SNC.³¹ Molte di queste modifiche includono un aumento della dipendenza dalle alterazioni molecolari per la

classificazione della malattia ed elevano l'importanza dei test molecolari sopra l'istopatologia²⁹. L'analisi del profilo di metilazione è emersa come un potente strumento per la classificazione e la diagnosi dei tumori del SNC, ed è stata approvata per la diagnosi per molti tipi e sottotipi di tumori del SNC, ma l'incertezza sull'approccio metodologico ottimale e la limitata disponibilità di test diagnostici rendono difficile raccomandare l'analisi del profilo di metilazione come test diagnostico o di routine per la classificazione dei tumori^{32,33,34,28}.

Inoltre, la maggior parte dei tipi e sottotipi di tumore del SNC può essere diagnosticata in modo affidabile con tecniche consolidate e ampiamente disponibili (ad esempio, integrando l'istologia con le alterazioni genetiche specifiche)²⁹. Un'eccezione degna di nota è l'astrocitoma di alto grado con caratteristiche piloidi, una nuova entità che è stata aggiunta a questa classificazione e che richiede la analisi del profilo di metilazione per la diagnosi²⁹. Tuttavia, si tratta di un'entità rara e l'uso dell'analisi del profilo di metilazione rimane più efficace in casi selezionati con una presentazione clinico-patologica insolita²⁹.

Infine, l'abbreviazione CNS è ora inclusa nella descrizione dei gradi tumorali nella classificazione WHO 2021 dei tumori del SNC, quindi ora il glioblastoma multiforme è definito *Glioblastoma, CNS WHO grado 4*²⁹. Questa modifica sottolinea le differenze nei criteri di classificazione dei tumori del SNC rispetto ai criteri di classificazione dei tumori di altri sistemi di organi. Inoltre, la classificazione WHO 2021 è passata dai numeri romani (I, II, III, IV) ai numeri arabi (1, 2, 3, 4) per indicare i gradi dei tumori²⁹. Le entità tumorali sono ora indicate come tipi di tumore, mentre le varianti sono indicate come sottotipi²⁹. Queste modifiche riducono il rischio di errori tipografici e allineano la nomenclatura dei tumori del SNC a quella dei tumori di altri sistemi di organi²⁹. Le precedenti edizioni della classificazione WHO dei tumori del SNC assegnavano un grado tumorale a ciascuna entità (ad esempio, l'astrocitoma anaplastico era di grado III secondo la definizione e non poteva essere assegnato al grado I, II o IV)²⁹. Al contrario, la classificazione WHO 2021 è passata a un sistema di classificazione all'interno del tipo di tumore per la maggior parte dei tipi di tumore²⁹. Per esempio, l'astrocitoma IDH-mutante può ora essere di grado 2, 3 o 4, e il termine anaplastico non è più utilizzato per i tumori di grado 3²⁹.

DIAGNOSI

Presentazione Clinica

In quanto neoplasia parenchimale del SNC, il GBM è fortemente dipendente dall'effetto massa che il suo stesso volume esercita sulle strutture circostanti.

L'intervallo tra l'insorgenza di sintomi e la diagnosi varia da prima di 3 mesi (68%) a prima di 6 mesi (84%)³⁵.

I sintomi possono essere distinti in:

- Generali: cefalea, nausea, crisi epilettiche, cadute, perdita di peso³⁶.
- Motori: atassia, alterazioni dell'eloquio, debolezza³⁶.
- Sensoriali: atassia, alterazioni dell'eloquio, deficit visivi, sensazioni alterate³⁶.
- Otoneurologici: vertigini e giramenti di testa³⁶.
- Neuropsichiatrici: depressione, deficit cognitivi, ansietà, problemi di sonno, alterazione dello stato di coscienza, difficoltà di concentrazione³⁶.

La cefalea è il sintomo precoce più comune³⁶. Le caratteristiche variano in base alla localizzazione del tumore, alle sue dimensioni e alla velocità di crescita, e può essere di tipo tensivo o emicranico³⁶. Essendo provocata dall'effetto massa della lesione, che provoca quindi ipertensione endocranica, questa cefalea presenta alcune caratteristiche:

- È esacerbata durante il sonno, risultando più evidente al risveglio³⁶.
- Peggiora quando si compiono tosse o la manovra di Valsalva³⁶.
- Tende ad aumentare di frequenza o di gravità nel tempo³⁶.

Una cefalea di nuova insorgenza e associata a debolezza o disfunzione cognitiva aumenta la probabilità di un tumore cerebrale rispettivamente di 44 o 59 volte³⁷.

Le crisi epilettiche sono un sintomo precoce in circa il 20% dei pazienti con glioblastoma e un ulteriore 20% le manifesta negli stadi più tardivi³⁶.

Le combinazioni di sintomi, soprattutto se di natura progressiva, aumentano significativamente la probabilità di identificare un tumore intracranico alla MRI³⁶.

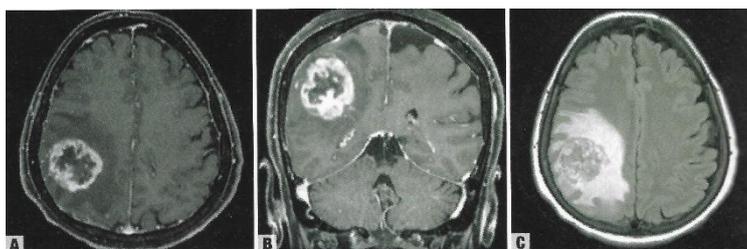
Altri sintomi comuni di prima insorgenza sono la nausea e l'atassia, presenti nel 5-10% dei casi e poi le alterazioni dell'eloquio, presente nel 5% dei pazienti con glioblastoma.³⁶

Imaging

Il gold standard per quanto riguarda l'imaging radiologico del glioblastoma è la Risonanza Magnetica (MRI – Magnetic Resonance Imaging), in cui esso appare frequentemente come una lesione caratterizzata da un anello di contrasto esterno, in cui si localizzano le cellule vitali e vasi anomali, con un'area di necrosi centrale (Fig. 7 – A). Talvolta, l'area

centrale può mostrare una certa eterogeneità, come non presentare una chiara proliferazione vascolare o addirittura non evidenziare alcuna necrosi¹³.

Alla MRI, i GBM presentano una notevole eterogeneità. La maggior parte (circa il 95%) capta bene il gadolinio³⁸. I GBM mostrano tipicamente un aumento eterogeneo in sequenza T1 pesata, con contrasto e bordi irregolari, necrosi centrale e una significativa iper-intensità T2/FLAIR pesata circostante. L'aumento del segnale FLAIR nell'area peri-tumorale riflette non solo l'edema, ma anche l'infiltrazione tumorale senza contrasto. L'aumentata cellularità di questi tumori appare spesso eterogenea, relativamente T2-ipointensa, e può essere associata a una diffusione limitata. Tuttavia, una minoranza di GBM (5%)³⁹ si manifesterà come masse iper-intense T2/FLAIR, non presentanti contrasto e mal definite, difficili da differenziare dai gliomi di basso grado, oppure come masse più piccole, ben definite e contrasto omogeneo, che possono essere scambiate per metastasi. A livello del corpo calloso possono essere difficili da differenziare dal linfoma. Le infezioni e gli infarti subacuti possono essere difficili da differenziare dai GBM o da altre neoplasie⁴⁰.



*Figura 7 - Risonanza Magnetica di Glioblastoma IDH-wildtype
A e B – Sequenza T1-pesata sul piano assiale e coronale, che mette in risalto l'anello di contrasto
C – Sequenza FLAIR, che risalta l'estensione dell'edema vasogenico*

Biologia

molecolare

L'applicazione

dell'analisi molecolare allo studio di queste neoplasie, per effettuare la diagnosi, iniziò a partire dalla seconda edizione della WHO, stilata nel 1993, fino a soppiantare in larga misura l'uso della sola indagine istologica, che ha costituito il mezzo principale di diagnosi fino alla quarta edizione della WHO del 2016.

Attualmente l'iter diagnostico del glioblastoma, da effettuarsi in caso non si ottenga già a livello istologico la diagnosi di astrocitoma d'alto grado, è il seguente:

1. Se la valutazione iniziale è coerente con un astrocitoma IDH wild-type senza caratteristiche di alto grado, va eseguito il NGS e la conta delle copie di basi per valutare la presenza di:
 - amplificazione dell'EGFR;
 - mutazione del promotore TERT;
 - guadagno concomitante del cromosoma 7 e perdita del cromosoma 10.

La presenza di una di queste alterazioni molecolari stabilisce la diagnosi di glioblastoma, nonostante l'assenza di caratteristiche di alto grado all'istologia;

2. In presenza di una diagnosi di glioblastoma, CNS WHO grado 4, valutare la metilazione del promotore del gene MGMT, associata a una migliore risposta al trattamento con temozolomide e a una più lunga sopravvivenza (overall survival, OS)¹¹.

TRATTAMENTO

Data l'elevata malignità di questa neoplasia, il trattamento associato ad una maggiore sopravvivenza è la resezione chirurgica non differita seguita da terapia adiuvante, costituita da radioterapia (RT) a fasci esterni (60 Gy/30 frazioni) e concomitante chemioterapia a base di Temozolomide (TMZ).⁴¹ Il TMZ viene assunto per un numero di cicli compreso tra 6 (trattamento standard) e 12.⁴² Un singolo ciclo è a sua volta costituito da 28 giorni divisi tra una prima fase in cui si effettua l'assunzione di TMZ per via orale ogni giorno per i primi 5 giorni (dose totale pari a 150 to 200 mg/m²) e poi, nella seconda fase, non si assume nulla fino al termine dei 28 giorni, a partire da cui si può iniziare il ciclo successivo.⁴²

Nel 2005 venne effettuato uno studio che verificò come questo trattamento standard presentasse un Overall Survival mediano di 14.6 mesi (sopravvivenza >2 anni nel 27.2% dei pazienti) e un Progression Free Survival mediano di 6.9 mesi.⁴³

Sono stati effettuati studi atti a verificare se l'aumento del numero di cicli corrispondesse ad una migliore prognosi: Alimohammadi et al. ha condotto uno studio il cui risultato indicava che un prolungamento della terapia con TMZ (più di 6 cicli) comportava un prolungamento dell'OS nei pazienti con nuova diagnosi di GBM⁴⁴; Balana et al., invece, ha rilevato che una terapia adiuvante prolungata con TMZ oltre i 6 cicli (fino a 12 cicli) in pazienti con GBM è associata a una maggiore tossicità, ma non ha riportato alcun beneficio aggiuntivo nel PFS a 6 mesi.⁴⁵

Infine, una metanalisi su 45942 pazienti affetti da GBM ha evidenziato che⁴⁶:

- Una GTR è associata ad un miglioramento dell'OS.⁴⁶
- I pazienti sottoposti a resezione subtotale (STR) hanno avuto un peggioramento dell'OS se la RT è stata eseguita prima di 4 settimane dalla resezione⁴⁶. In particolare, questo dato è stato confermato anche da uno studio effettuato da Randolph et al.⁴⁷.
- I pazienti con GTR hanno avuto un peggioramento dell'OS quando la RT è stata ritardata >8 settimane⁴⁶.

GLIOBLASTOMA IN AREA MOTORIA

La localizzazione del glioblastoma nell'area motoria primaria (M1) comporta una serie di conseguenze sia a livello clinico che di trattamento.

Nel 2015, Amidei e Kushner et al. hanno condotto uno studio che ha cercato di identificare i principali deficit motori associati ai tumori cerebrali⁴⁸. In tal modo, le varie aree corticali sono state associate con i deficit motori focali corrispondenti, assieme all'incidenza di alcuni di questi ultimi (Tab. IV)⁴⁸.

Tabella IV - Deficit Motori Focali associati a Neoplasia Cerebrale

Deficit Motorio Focale	Area anatomica correlata	Incidenza
Emiparesi o Emiplegia	Lobo frontale: corteccia motoria primaria, corteccia premotoria (precentrale) o corteccia motoria supplementare Talamo Capsula interna Tronco encefalico	26%-47%
Aprassia	Lobo frontale: corteccia premotoria o corteccia motoria supplementare Corpo calloso	
Incoordinazione	Cervelletto Gangli della base Tronco encefalico	26%-91%
Atassia	Cervelletto Lobo parietale Talamo	
Disturbi del cammino	Lobo frontale: corteccia motoria primaria, corteccia premotoria (precentrale) o corteccia motoria supplementare. Talamo Capsula interna Cervelletto Gangli della base Lobo parietale Tronco encefalico	26%-62%
Perdita dell'esecuzione dei movimenti complessi	Corteccia premotoria o corteccia motoria supplementare	
Spasticità	Lobo frontale: corteccia motoria primaria, corteccia premotoria (precentrale) o corteccia motoria supplementare Talamo Capsula interna Tronco encefalico	12%

Da questo si può quindi ottenere che, in caso di glioblastoma localizzato a livello di M1, il paziente può presentare, come sintomi precoci:

- Emiparesi o Emiplegia.
- Disturbi del cammino.
- Spasticità⁴⁸.

Un'analisi retrospettiva effettuata da Weiss Lucas et al., ha confermato che i glioblastomi che si sviluppano in area motoria manifestano precocemente deficit motori⁴⁹ ed ha evidenziato che è più frequente che la diagnosi avvenga quando la lesione è di dimensioni ridotte rispetto alla dimensione media globale⁴⁹.

Cenni sulla via Piramidale Cortico-Spinale

Le fibre del sistema piramidale originano da neuroni, detti cellule piramidali, contenuti nelle varie aree motrici della corteccia cerebrale⁵⁰. Le fibre piramidali entrano in rapporto sinaptico con i neuroni motori somatici del tronco e del midollo spinale⁵⁰.

Il 90% delle fibre di tale via decussa la linea mediana a livello del tronco encefalico basso e della parte cervicale alta del midollo cervicale; raggiunto il terzo inferiore del bulbo, si incrociano parzialmente (85-90%) nella cosiddetta decussazione delle piramidi; le fibre crociate, insieme a qualche fibra diretta, penetrano nel funicolo laterale del midollo spinale (fascio cortico-spinale laterale); quelle dirette si portano nel funicolo anteriore (fascio cortico-spinale anteriore)⁵⁰.

- *Fascio cortico-spinale laterale*: occupa la porzione posteriore del funicolo laterale e si riduce a mano a mano che le sue fibre si interrompono sui motoneuroni dello stesso lato dei successivi mielomeri; non è più rintracciabile a livello del 4° mielomero sacrale⁵⁰.
- *Fascio cortico-spinale anteriore*: è poco voluminoso ed è situato in prossimità della fessura mediana anteriore; non è più rintracciabile a livello del 2° o 3° mielomero toracico; probabilmente la maggior parte delle sue fibre, prima di entrare in sinapsi coi motoneuroni inferiori, decussa a livello della commissura bianca ventrale⁵⁰.

STIMOLAZIONE MAGNETICA TRANSCRANICA NAVIGATA (nTMS)

La tecnica di TMS navigata (o nTMS) consente di accoppiare in maniera affidabile alla stimolazione magnetica le immagini di risonanza, agevolando il processo di stimolazione corticale. La risonanza magnetica scelta deve includere naso e orecchie come punti di riferimento. Si utilizzano scansioni di risonanza magnetica 3D pesate in T1 con voxel di $1 \times 1 \times 1$ mm, poi necessarie anche durante la neuronavigazione intraoperatoria. In tal modo la morfologia cerebrale individuale del paziente in risonanza diventa visibile nello schermo della macchina e nTMS⁵¹. Il tracker della testa, che funge da strumento di riferimento, viene utilizzato per localizzare il cranio e monitorarne i movimenti⁵¹. Il tracker può quindi indicare la posizione e l'orientamento 3D della bobina rispetto al cranio, cioè nel sistema di coordinate della testa⁵¹.

La penna digitalizzatrice viene utilizzata per determinare coordinate di posizione arbitrarie, ad esempio per allineare la risonanza magnetica e il cranio indicando punti di riferimento visibili sia nella risonanza magnetica che sulla testa⁵¹.

Dopo la registrazione della risonanza magnetica e dei sistemi di coordinate individuali della testa (allineamento della risonanza magnetica e della testa reale), il campo elettrico di stimolazione nel cervello può essere calcolato in base alla conoscenza dei parametri della bobina e della stimolazione e visualizzato in tempo reale sulla risonanza magnetica⁵².

Il tracker della testa funge da strumento di riferimento e viene utilizzato per localizzare la testa e monitorarne i movimenti⁵¹.

Dopo la registrazione della risonanza magnetica e dei sistemi di coordinate individuali della testa (allineamento della risonanza magnetica e della testa reale), il campo elettrico di stimolazione nel cervello può essere calcolato in base alla conoscenza dei parametri di stimolazione e visualizzato in tempo reale sulla risonanza magnetica⁵².

STRUMENTAZIONE

(1) Sensore di posizionamento (ottico): tracciamento degli strumenti;

(2) Tracker della testa: localizzazione e movimento della testa;

(3) Tracker della bobina: localizzazione, orientamento e inclinazione della bobina;

(4) Penna digitale: consente la registrazione di singoli punti, ad esempio per la registrazione della risonanza magnetica;

(5) Stimolatore TMS: produce l'impulso controllato regolato dal software di navigazione;

(6) Bobina che produce l'impulso TMS, emissione controllata dal software di navigazione;

(7) Misurazione dei MEP tramite EMG, sincronizzata a ogni stimolo e che consente di colorare il punto di stimolazione in base all'ampiezza dei MEP;

(8) Pedale per applicare lo stimolo quando il campo elettrico;

(9) Sedia con poggiatesta: buona ergonomia per l'operatore e il soggetto;

(10) Display del sistema nTMS per i controlli e il puntamento del campo elettrico di stimolazione⁵¹.



Figura 8 – Strumentazione esame nTMS

APPLICAZIONI CLINICHE DELL'nTMS NELL'AMBITO DELLA NEUROCHIRURGIA IN AREA MOTORIA

Ridurre l'incidenza di deficit motorio post-operatorio

L'nTMS permette di migliorare la sicurezza e l'efficacia della resezione del tumore cerebrale, eseguendo una mappatura preoperatoria estremamente accurata dell'area motoria e del suo rapporto con il tumore⁵³.

Misurazione post-operatoria delle probabilità di recupero

Inoltre, la TMS postoperatoria permette di valutare la comparsa o la durata dei deficit motori, aiutando il chirurgo ad allineare meglio le aspettative di recupero postoperatorio con il paziente⁵³.

Stratificazione del rischio

Uno studio effettuato da Rosenstock et al. ha evidenziato come mediante l'nTMS sia possibile stabilire delle classi di rischio di deficit motorio postoperatorio da assegnare ai pazienti in base alla posizione dei gliomi rispetto al CST⁵⁴. La tecnica nTMS è in grado di integrare la valutazione del rischio dell'imminente intervento chirurgico e di prevedere la probabilità di esiti neurologici post-operatori mediante parametri numerici oggettivi dello stato funzionale del sistema motorio⁵⁴. Questo modello di stratificazione del rischio si basa sul calcolo della probabilità individuale di un determinato esito motorio postoperatorio 7 giorni e 3 mesi dopo l'intervento⁵⁴. La distanza tra il tumore e il CST, visualizzato dalla DTI FT basata sulla nTMS, può essere utilizzata anche in termini di valutazione del rischio. Se questa distanza è pari o superiore a 8mm, la resezione è considerata meno rischiosa in termini di deficit motorio post-operatorio.⁵⁴

RESTING MOTOR THRESHOLD (rMT)

Il rMT è l'intensità minima di stimolazione dell'impulso magnetico in grado di evocare un MEP del muscolo bersaglio rilevato dall'EMG nel 50% dei tentativi, ovvero cinque MEP su dieci stimoli TMS consecutivi. L'ampiezza del MEP deve essere superiore a 50 μV ^{55,56,57}. Le differenze di rMT tra emisfero destro e sinistro riflettono il rapporto di eccitabilità dei neuroni nelle aree della corteccia motoria stimulate, tuttavia, nei soggetti sani, non hanno una differenza rilevante^{58,59}.

L'uso della nTMS non fornisce solo informazioni sulle relazioni funzionali-anatomiche tra i tumori cerebrali e le aree eloquenti adiacenti; può anche valutare lo stato funzionale del sistema motorio misurando vari parametri come il rapporto rMT interemisferico. Ulteriori ricerche su altri parametri di nTMS in neuro-oncologia consentiranno di valutare più accuratamente le interazioni tra il tumore in crescita e il tessuto neurale adiacente. Questi dati neurofisiologici basati sulla nTMS avranno un impatto sull'indicazione degli interventi neurochirurgici, sulla pianificazione chirurgica, sulla modifica del trattamento, apriranno nuove opzioni terapeutiche in caso di deficit motori legati alla chirurgia e, di conseguenza, miglioreranno l'esito, la sopravvivenza e la qualità di vita dei pazienti.

UTILITÀ CLINICA

Conoscenze attuali sulla riorganizzazione funzionale

È ormai noto che i tumori cerebrali intraparenchimali promuovono la riorganizzazione funzionale, ovvero il trasferimento della funzione corticale da una regione cerebrale a un'altra. Soprattutto nel caso dei tumori a crescita lenta, la funzione corticale non risiede nella tipica regione cerebrale anatomicamente definita, perché il tumore stesso induce una riorganizzazione della funzione corticale in altre aree cerebrali.

Nel 2008, Duffau e colleghi hanno riferito di non essere stati in grado di resecare completamente dei Gliomi di basso grado durante il primo intervento chirurgico perché la mappatura intraoperatoria mediante DES mostrava funzioni motorie o linguistiche eloquenti all'interno della regione del tumore⁶⁰. I ricercatori hanno seguito questi pazienti nel post-operatorio, in attesa che avvenisse la riorganizzazione funzionale⁶⁰. Al momento di ripetere l'intervento, sono stati in grado di resecare il tumore residuo, perché la DES non mostrava più alcuna funzione nell'area del tumore⁶⁰.

Anche un altro gruppo ha osservato una riorganizzazione funzionale esaminando 18 pazienti sottoposti a ripetuti interventi da svegli con mappatura intraoperatoria dei DES⁶¹. Hanno riscontrato una perdita di funzione in aree cerebrali precedentemente positive per la motricità o il linguaggio in 6 di questi 18 pazienti e un guadagno di funzione in un altro paziente che ha mostrato una nuova funzione motoria e linguistica essenziale in aree precedentemente negative⁶¹. Va ricordato, però, la differenza tra riorganizzazione funzionale corticale e sottocorticale: mentre le lesioni chirurgiche corticali sono potenzialmente recuperabili, le lesioni della materia bianca sottocorticale, invece, sono spesso irreversibili⁵⁴. I pazienti colpiti da ictus, ad esempio, possono modificare l'organizzazione della corteccia motoria entro 6 mesi dall'evento ischemico, con conseguente miglioramento della funzione motoria⁶². I pazienti affetti da glioma, in particolare, possono conservare le capacità motorie nonostante l'infiltrazione tumorale nella loro M1, come descritto in precedenza^{60,63,64}. Il potenziale di riorganizzazione funzionale non è uguale in tutte le regioni corticali:

la corteccia motoria primaria e il giro precentrale sono meno capaci di riorganizzarsi rispetto alle regioni corticali come il giro angolare sinistro o il giro temporale superiore dorsale⁶⁵. Una ragione di questa differenza può risiedere nel fatto che le aree di corteccia con una funzione distinta, come il giro precentrale o l'area di Wernicke, hanno un ruolo critico all'interno della loro rete funzionale; pertanto, la capacità di riorganizzazione funzionale è limitata e l'assenza di riorganizzazione funzionale implica gravi deficit⁶⁵. Al contrario, altre regioni cerebrali con una determinazione funzionale meno distinta partecipano a reti corticali più ampie e la compensazione del loro ruolo è più facile se sono infiltrate dal tumore⁶⁵. Alcune aree rappresentano un livello intermedio di integrazione funzionale, come le aree supplementari responsabili della messa a punto e del coordinamento dell'elaborazione funzionale linguistica⁶⁵. Due di queste regioni sono la SMA del Giro Frontale Superiore (SFG - Superior frontal gyrus) (funzione motoria) o i MFG e IFG del lato sinistro (funzione linguistica)⁶⁵. A differenza delle regioni corticali, la compromissione dei tratti sottocorticali comporta solitamente una grave compromissione funzionale senza una significativa capacità di recupero funzionale⁶⁶, sia in caso di infiltrazione tumorale che in caso di ictus⁶⁷.

Esistono diverse teorie sui meccanismi della neuroplasticità corticale. Le due teorie più accreditate sono:

- 1) *Reclutamento* -> i neuroni adiacenti allo strato corticale corrispondente sono reclutati e ciò è stato dimostrato nei pazienti con lesioni cerebrali e del midollo spinale^{68,69}. Questo reclutamento può avvenire anche attraverso le connessioni controlaterali esistenti⁷⁰.
- 2) *Riorganizzazione* -> disinibizione degli interneuroni inibitori⁷¹. Le sinapsi funzionali ridondanti sono eliminate durante lo sviluppo⁷² ma, in caso di lesione in cui alcune connessioni primarie sono interrotte, i circuiti ridondanti precedentemente inibiti sono reclutati per migliorare la funzione compromessa. Pertanto, la lesione o la compromissione funzionale possono promuovere la riattivazione di questi tratti compensatori latenti^{73,74}.

Mentre il reclutamento richiede un tempo considerevole per svilupparsi, la riorganizzazione dei circuiti ridondanti latenti può avvenire immediatamente⁶⁵.

Per quanto riguarda i pazienti affetti da glioma, esistono prove di entrambi i meccanismi⁶⁵.

È stata dimostrata una riorganizzazione funzionale a breve termine nel giro precentrale intraoperatorio all'interno della corteccia omolaterale, mentre è stato dimostrato che il reclutamento della SMA controlaterale si sviluppa durante il follow-up a lungo termine e corrisponde a un migliore recupero funzionale dopo la resezione della SMA omolaterale^{74,75}. Una simile riorganizzazione funzionale ipsi- e controlaterale è stata riportata anche per la funzione linguistica^{76,77,78}.

Nonostante la relativa scarsità di dati sulla riorganizzazione funzionale, sono stati identificati alcuni fattori che la influenzano, in particolare l'età, la cinetica di crescita della lesione, la localizzazione del tumore, la funzione interessata (rete o unimodale) e il sesso^{66,79,80,81}.

Sebbene i dati che dimostrano l'elevato potenziale della riorganizzazione funzionale per i pazienti neurochirurgici siano in crescita, non si può fare affidamento sulla riorganizzazione funzionale per ripristinare la funzione dopo un intervento chirurgico: la conservazione della funzione è di gran lunga preferibile al ripristino della funzione e i risultati migliori richiedono una chirurgia sicura che includa almeno la mappatura DES intraoperatoria⁶⁵. Seguire la riorganizzazione funzionale tramite la nTMS apre un nuovo orizzonte in neuro-oncologia, poiché un tumore in una sede presumibilmente eloquente, sia esso nella corteccia motoria, nella corteccia del linguaggio o in strutture sottocorticali, può essere comunque considerato sicuro per la rimozione chirurgica^{82,83,84}. La localizzazione preoperatoria della corteccia funzionale può rendere più pazienti idonei alla resezione. La localizzazione della corteccia funzionale può rendere un maggior numero di pazienti idonei alla resezione, traendo un beneficio significativo dalla conoscenza dell'esatta relazione tra tumore e corteccia eloquente prima dell'intervento^{53,85}.

PROBLEMI PRATICI ED ESEMPI DI UTILIZZO DELL'nTMS

Come detto quando è stata introdotta la TMS, essa si basa sul fatto che la rapida variazione di un campo magnetico induce un campo elettrico, che quindi può indurre l'attivazione neuronale o alterazioni transitorie dell'eccitabilità neuronale, al fine di localizzare o modificare le funzioni cerebrali⁵¹. La TMS navigata una variabilità di risultato dovuta a fattori fisici⁸⁶, come l'inclinazione della bobina, l'orientamento e la posizione dello stimolatore⁸⁷.

Fattori di accuratezza

- *Locazione del campo elettrico indotto*: esso non deve superare i 2mm di diametro⁶⁵.
- *Orientamento del campo elettrico indotto*: un orientamento ottimale richiede una posizione longitudinale e ortodromica rispetto alla popolazione maggiore di neuroni nell'area bersaglio⁶⁵.
- *Intensità della stimolazione rMT-guidata*: è necessario ottenere una quanto ottimale attivazione dei neuroni bersaglio; un'intensità troppo bassa (<105% del rMT) rischia di attivare troppo pochi neuroni, vicino al campo elettrico, mentre un'intensità eccessiva (>130% del rMT) ottiene un volume di neuroni attivati troppo elevato e quindi una mappatura meno preciso. L'intensità standard dell'rMT è quindi 110%, anche se esistono casi in cui si preferisce 105%, più focale⁶⁵.
- *Intensità e posizione del campo elettromagnetico*: cambiamenti dell'intensità del campo elettrico e della sua locazione sono associati a modifiche del valore dei MEP, essendo i MEP suscettibili a tale fenomeno⁶⁵. Per questo, è necessario mantenere la bobina ad una distanza ed inclinazione precise, durante la mappatura⁶⁵.
- *Attività di fondo dell'EMG*: una mappatura accurata richiede che il monitoraggio EMG sia continuo, tuttavia, l'attività di fondo dell'EMG data dalle contrazioni più o meno volontarie dei muscoli target, detta in inglese “preinnervation”, può modificare il valore dei MEP; per mantenere stabile la mappatura, l'attività di fondo dev'essere ridotta al minimo, e quindi i muscoli devono essere tenuto quanto più rilassati possibili, e quindi il

paziente va tenuto in una posizione comoda e rilassata, durante la procedura⁶⁵.

- *Anatomia*: è necessario tenere conto della morfologia di ogni singolo individuo, con le sue forme, strutture e convoluzioni corticali individuali; quindi, l'orientamento del campo elettrico deve essere definito e testato in base a queste variabili⁶⁵. Nella pianificazione pre-chirurgica, le strutture anatomiche sono spesso offuscate dalla crescita del tumore, dall'edema, dal sanguinamento e/o dalle alterazioni vascolari⁶⁵. L'orientamento del campo elettrico deve essere misurato anche inclinando la bobina di +45° e -45° in questi punti, per verificare la coerenza delle risposte motorie⁶⁵.

Protocollo di mappatura

I suddetti fattori di accuratezza sono fondamentali per un uso preciso della nTMS. Al fine di inserire questi dati tecnici astratti in un contesto clinico, ora si illustrano le varie fasi della mappatura motoria⁶⁵.

Preparazione

1. Caricare nel sistema i dati della MRI del paziente, dai quali il software genera un modello 3D del cranio⁶⁵.
2. Preparare il paziente (colloquio, controllo delle controindicazioni, spiegazione della procedura, applicazione degli elettrocateri)⁶⁵.
3. Allineare il cranio del paziente con il cranio 3D basato sulla risonanza magnetica:
 - a. Fissare l'head tracker sulla fronte del paziente come strumento di riferimento per il tracciamento da parte della telecamera a infrarossi; l'head tracker consentirà al paziente di muovere liberamente il cranio⁶⁵.
 - b. Puntare con la penna digitale i 3 punti predefiniti come punti di riferimento della MRI, cioè l'elice delle orecchie ed il nasion⁶⁵.
 - c. Toccare con la penna 9 punti intorno al cranio, guidati dal software. L'accuratezza tipica del tracciamento dello strumento è migliore di 1,5mm (media); il cranio nel suo complesso può essere allineata alla MRI con un'accuratezza di almeno 2mm⁶⁵.

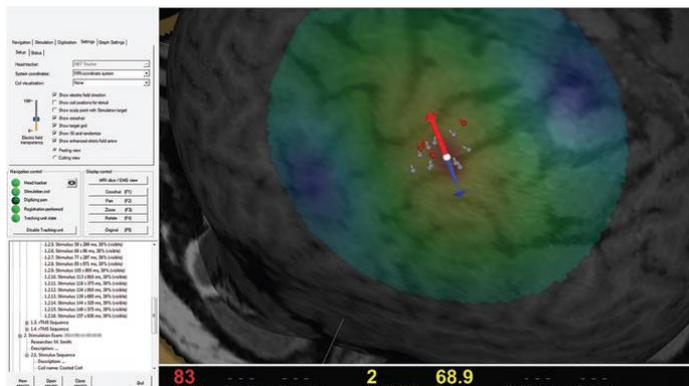


Figura 9 - Identificazione degli hotspot.

I colori corrispondono alla risposta motoria in ciascun punto:

Bianco: MEP ≥ 1 mV ampiezza picco-picco;

Rosso: MEP = 50-500 μ V;

Grigio: MEP ≤ 50 μ V (nessuna risposta).

La direzione del campo elettrico è evidenziata dalle frecce rosse e blu, che a loro volta indicano la direzione della stimolazione di intensità rispettivamente più forte e più debole.

Le frecce partono dall'Hotspot di stimolazione. Il software En-TMS calcola il campo elettrico nel bersaglio scelto; il design della bobina e le specifiche di produzione consentono l'erogazione focale e precisa di impulsi TMS che generano pattern di campo elettrico corrispondenti a quello calcolato dal software; la registrazione e la visualizzazione delle risposte EMG evocate dalla TMS sono sincronizzate con l'erogazione dello stimolo, fornendo un feedback istantaneo; il software guida l'utente a posizionare la bobina nTMS nel posto e nell'orientamento giusti rispetto all'anatomia cerebrale per focalizzare il campo elettrico sul bersaglio e per consentire al campo elettrico di essere perpendicolare al solco stimolato.

Identificare gli Hotspot

1. Posizionare la manopola a 20-25mm di profondità dal cuoio capelluto e regolare l'intensità dell'impulso emesso a 80-100 V/m⁶⁵.
2. Regolare l'intensità della stimolazione in modo che sia adatta alla mappatura (muscolo a riposo, latenze MEP 15-25ms)⁸⁸.
 - (a) Se le ampiezze dei MEP sono >500 μ V, ridurre l'intensità dell'1-2% della potenza dello stimolatore⁶⁵.
 - (b) Se le ampiezze dei MEP sono <100 μ V, aumentare l'intensità fino a quando l'ampiezza dei MEP è di 100-500 μ V⁶⁵.
3. Mappatura grossolana -> Stimolare lungo il solco centrale verso la linea mediana e verso la fessura silvana, mantenendo l'orientamento del campo E perpendicolare al solco centrale, fino a quando non vengono più evocati MEP⁶⁵. Selezionare la risposta APB più grande e impostare la posizione corrispondente come bersaglio della stimolazione⁶⁵.
4. Verificare l'orientamento della bobina -> Controllare l'ampiezza dell'EMG con orientamento a 0°⁶⁵. Ripetere le stimolazioni sul marcatore con lo strumento di puntamento, ruotando la bobina di 20° in entrambe le direzioni dopo ogni stimolo. Controllare l'ampiezza (μ V) dopo ogni stimolo. Selezionare l'orientamento della bobina che evoca il MEP più grande per definire l'rMT⁶⁵.

Il software fornisce uno sistema di puntamento che consente all'operatore di stimolare solo se la posizione è entro 2mm e l'orientamento e l'inclinazione della bobina non più di 2° rispetto alla posizione target, per garantire che la determinazione della rMT venga eseguita

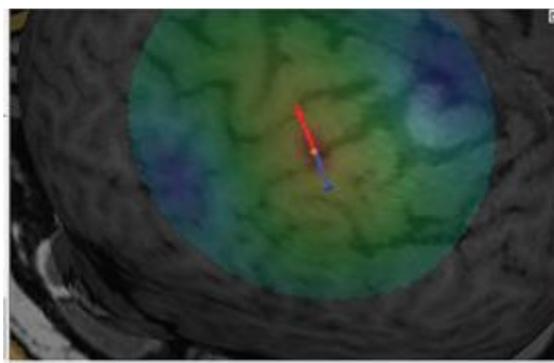


Figura 10 - Posizione e orientamento del campo elettromagnetico a massima intensità

con la bobina nella posizione e nell'orientamento predeterminati⁶⁵. La stimolazione della stessa sede anatomica con la bobina in orientamenti diversi è consentita dal sistema quando il controllo della posizione non è attivato, per garantire che la determinazione della rMT venga eseguita con l'orientamento della bobina che produce le risposte maggiori⁶⁵.

Determinazione del rMT

1. Selezionare la stimolazione ottimale acquisita dalla fase 4 del processo di identificazione degli hotspot, come stimolazione di riferimento da ripetere esattamente con la stessa posizione, inclinazione e orientamento della bobina con l'aiuto dello strumento di puntamento (Fig.11) ⁶⁵.



Figura 11 - Strumento di puntamento che aiuta a riprodurre stimolazioni ripetute con stesse posizione della bobina e orientamento 3D.

2. Avviare il software di determinazione della rMT selezionando il canale EMG del muscolo target e impostando i parametri finali: Il monitoraggio EMG online integrato e il controllo della risposta per ogni stimolo consentono la determinazione dell'rMT assistita dal computer per il controllo automatico dell'intensità della mappatura⁶⁵.
3. Verificare l'rMT ripetendo la stimolazione con il valore suggerito per dieci volte⁶⁵.

Se si ottengono meno di cinque risposte su dieci stimoli, bisogna ripetere la procedura aumentando l'intensità dell'1% e ricominciare da capo⁶⁵. Se si ottengono dieci risposte su dieci stimoli, diminuire l'intensità della stimolazione dell'1% e ricominciare⁶⁵.

Mappatura dell'Area motoria dell'arto superiore con rMT 110%

1. Impostare l'intensità della scarica al 110% del rMT definito in precedenza⁶⁵.
 - a. Stimolare lungo il solco centrale, il giro precentrale, il solco postcentrale e il solco precentrale con una distanza di 2-3mm, mantenendo l'orientamento del campo elettrico perpendicolare al solco locale⁶⁵.
 - b. Espandere l'area di mappatura finché vengono rilevate risposte motorie⁶⁵.
 - c. Dovrebbe esserci un bordo di una o due file che circonda l'area positiva ai MEP, in cui la nTMS non è in grado di suscitare i MEP⁶⁵.
 - d. Quando si ottengono risposte motorie lontano dalla presunta corteccia motoria primaria, o vicino alla lesione (come un tumore), ripetere la stimolazione con +45° e -45° in questi punti per verificare la coerenza delle risposte motorie⁶⁵.
2. Verifica dell'integrità della registrazione dopo la mappatura. Il sistema nTMS consente la visualizzazione 3D della digitizer pen con la MRI 3D, dopo la registrazione RMI-cranio a 12 punti⁶⁵. L'operatore può, in qualsiasi momento della sessione, muovere la digitalizer pen sul cuoio capelluto per verificare dal display dell'nTMS che la sua punta si muova in modo corrispondente sul cuoio capelluto nella visualizzazione 3D della testa⁶⁵. Un esame di digitalizzazione separato consente di digitalizzare altri punti di riferimento del cuoio capelluto, che possono essere visualizzati nella vista 3D della testa e controllati in qualsiasi momento sulla vista 3D del sistema indicando i punti di riferimento con la penna digitalizzatrice⁶⁵. Se la penna non viene visualizzata correttamente sulla testa, l'operatore deve ripetere la registrazione MRI-testa a 12 punti⁶⁵.

Mappatura dell'Area Motoria dell'Arto Inferiore (TA, Soleo)

1. Di preferenza, l'area del muscolo tibiale anteriore (TA), o dell'adduttore dell'alluce vicino alla giunzione del solco centrale e della fessura longitudinale, è stimolata per prima con un'intensità di 110% rMT +20 V/m⁶⁵. L'orientamento del campo elettrico va mantenuto perpendicolare alla fessura longitudinale, con il campo elettrico rivolto lateralmente⁶⁵.
2. Se si ottengono risposte motorie, continuare la stimolazione seguendo la fessura longitudinale 2 cm anteriormente e 2 cm posteriormente⁶⁵. Stimolare anche perpendicolarmente alle parti mediali del solco centrale, fino a 3 cm dalla fessura longitudinale, fino a quando emergono risposte⁶⁵.
3. Se non si ottengono risposte, usare la procedura descritta nell'algoritmo in immagine⁶⁵.
4. Verificare la registrazione dopo la mappatura⁶⁵. Muovere la penna del digitalizzatore sullo scalpo per verificare dal display dell'nTMS che la punta della penna si muova in modo corrispondente sullo scalpo e tocchi i punti di riferimento dello scalpo nella visualizzazione 3D della testa⁶⁵.

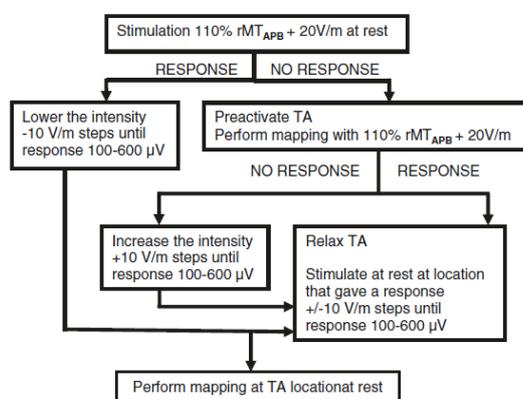
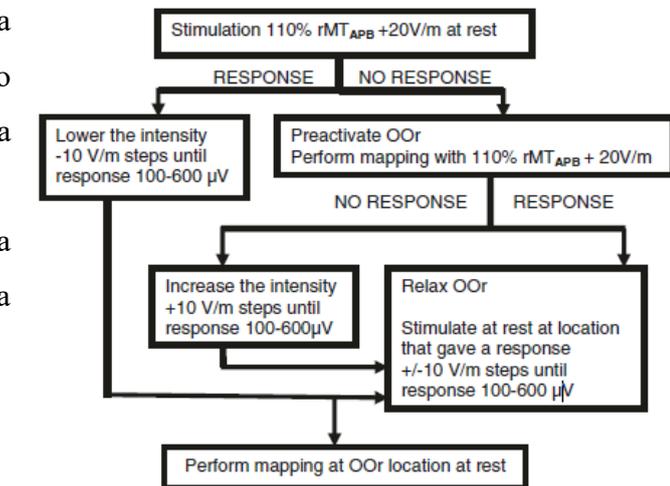


Figura 12 - Algoritmo della misurazione dei muscoli dell'Arto Inferiore

Muscolatura facciale (Mentalis, Orbicularis Oris)

1. L'area di motricità facciale, localizzata nelle parti laterali del solco centrale del giro precentrale, è stimolata per prima con un'intensità di stimolazione del 110% rMT +20 V/m (oppure eseguire una determinazione rMT per l'area del viso separatamente). Mantenere l'orientamento della bobina prima perpendicolare al solco centrale⁶⁵.

2. Se si ottengono risposte motorie, continuare la stimolazione seguendo la fessura longitudinale 2 cm anteriormente e 2 cm posteriormente fino a quando emergono risposte⁶⁵.
3. Se non si ottengono risposte, utilizzare la procedura secondo l'algoritmo in Figura 13⁶⁵.
4. Verificare la registrazione dopo la mappatura⁶⁵.



Applicazione clinica sulla mappatura dell'area corticale

La tecnica nTMS di mappatura corticale viene eseguita stimolando più punti sullo scalpo del paziente corrispondenti alle possibili regioni motorie corticali e registrando contemporaneamente i MEP per ciascun punto di stimolazione⁸⁹. L'intensità della stimolazione viene solitamente mantenuta appena al di sopra della rMT per limitare la zona di eccitazione neuronale e ottenere la massima accuratezza anatomica funzionale⁸⁹. Per facilitare l'interpretazione, la risposta motoria a ciascun punto di stimolazione viene solitamente visualizzata con un codice colore corrispondente al valore dell'ampiezza del MEP⁸⁹. Anche la latenza di ciascun MEP deve essere documentata e considerata durante l'analisi⁸⁹. Le mappe nTMS risultanti appaiono generalmente come marcatori colorati corrispondenti a tutti i punti di stimolazione posizionati sulla risonanza magnetica del singolo paziente⁸⁹. Le aree corticali che servono alla funzione motoria, cioè non resecabili, e le aree non funzionali, cioè resecabili, sono facilmente individuabili all'esame visivo di queste mappe⁸⁹. Questi dati funzionali, fusi con le scansioni anatomiche di risonanza magnetica, possono essere trasferiti al sistema di neuronavigazione utilizzato in sala operatoria per guidare la chirurgia⁸⁹. Gli hotspot generati dalla nTMS sono utilizzati anche come ROI (Region of Interest) per generare tratti DTI (Diffusion Tension Imaging) per la mappatura prechirurgica⁸⁹. Intraoperatoriamente, questi tratti DTI possono essere usati per l'orientamento intraoperatorio e la mappatura sottocorticale, sempre più usata per la mappatura motoria. L'utilità di questo tipo di mappatura sottocorticale è stata ampiamente studiata⁹⁰. Grazie alla buona compliance dei pazienti, soprattutto per il mappatura motorio, la nTMS è stata utilizzata in studi longitudinali per valutare la plasticità corticale in pazienti con tumori vicini all'area perirolandica. In uno di questi studi, Conway et al. hanno descritto l'utilità di valutare la plasticità corticale sia negli HGG che nelle LGG⁹¹. Il rischio di disagio della mappatura motoria con nTMS è minimo per il paziente perché la maggior parte dei punti di stimolazione viene acquisita sul vertice della testa, senza eccessiva stimolazione muscolare⁸⁹.

Tracciamento delle fibre DTI (DTI FT) delle vie motorie basato sulla nTMS

La tecnica nTMS è in grado di fornire una mappatura affidabile dell'organizzazione funzionale della corteccia motoria primaria, aiutando i neurochirurghi a pianificare la migliore strategia personalizzata per preservarla durante l'intervento⁹². Tuttavia, i deficit motori post-operatori sono più spesso il risultato di una lesione della via motoria discendente durante l'intervento chirurgico che della corteccia motoria⁹².

L'anatomia funzionale sottocorticale è stata difficile da interpretare fino all'introduzione della DTI FT⁹². Questa tecnica fornisce un metodo qualitativo e quantitativo, ed efficiente in termini sia di invasività che di tempo, per studiare le connessioni cerebrali che rappresenta una valida alternativa in vivo ai

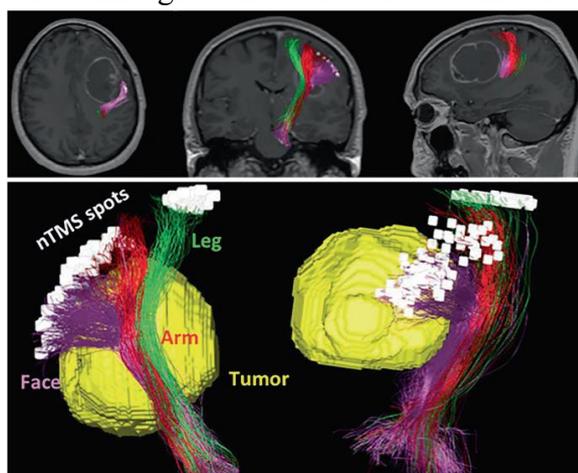


Figura 12 – DTI FT

classici studi di dissezione delle fibre nei laboratori su cadavere⁹². Infatti, sebbene sia operatore-dipendente, sia soggetta a diversi artefatti, abbia una bassa risoluzione e persistenti limitazioni tecniche, la DTI FT può essere applicata ripetutamente in ampie popolazioni e correlata con misure comportamentali e funzionali⁹². L'uso della DTI FT basata sulla nTMS migliora la visualizzazione della CST nei pazienti con tumore cerebrale, in cui la distorsione anatomica causata dall'effetto massa e dai fenomeni di neuroplasticità indotti dai tumori riduce l'affidabilità dei risultati della DTI FT standard⁹². Inoltre, la nTMS consente di interpretare l'organizzazione somatotopica della corteccia motoria, distinguendo tra la rappresentazione corticale dei muscoli del viso, delle braccia e delle gambe. Questi dati funzionali possono essere utilizzati con successo come regione di semina per ottenere una caratterizzazione funzionale della CST attraverso la DTI FT basata sulla nTMS⁹³. La ricostruzione basata sulla nTMS permette di visualizzare l'organizzazione somatotopica della CST in tutti i casi⁹². Vengono differenziati i fasci di fibre del braccio, della gamba e del viso usando per ognuna un differente colore⁹². Questa

ricostruzione somatotopica fornisce utili informazioni anatomiche e funzionali sull'organizzazione morfofunzionale dell'intera via motoria⁹². Ciò permette al chirurgo di avere una consapevolezza più accurata dei rischi chirurgici, potendo analizzare pre-operatoriamente la relazione spaziale tra la lesione e i fasci di fibre CST funzionalmente diversi e usare tutte queste informazioni morfofunzionali intraoperatoriamente come guida per la resezione della lesione⁹².

La DTI FT funzionale basata sulla nTMS è più affidabile e accurata per la ricostruzione della CST rispetto alla trattografia anatomica standard⁹². I dettagli anatomici e funzionali ottenuti attraverso questa ricostruzione somatotopica consentono una valutazione preoperatoria della valutazione preliminare della relazione spaziale tra la lesione e parti delle fibre parti delle fibre motorie e migliorano la valutazione dei rischi di resezione del tumore⁹². Inoltre, la DTI FT della CST basata sulla nTMS può essere utilizzata con successo durante la chirurgia come guida per orientare la DES e la resezione della lesione⁹². In particolare, l'organizzazione somatotopica della CST può essere utilizzata per una migliore esplorazione neurofisiologica e per guidare l'EOR secondo un piano preoperatorio⁹².

GLIOBLASTOMA e nTMS

Essendo il glioblastoma una neoplasia maligna con un alto tasso di ricrescita, la prognosi migliore a cui si può auspicare raramente supera i due anni¹¹.

Inoltre, l'intero trattamento è caratterizzato da molteplici variabili che concorrono nell'ottenimento di questa migliore prognosi.

Lo scenario migliore di un paziente affetto da glioblastoma consiste nella possibilità di effettuare una resezione con una estensione (EOR – Extent of Resection) di tipo Gross Total (GTR), cioè macroscopicamente completa, in seguito alla quale non si sono sviluppati deficit neurologici e che poi, 4-8 settimane dopo, è seguita dalla terapia adiuvante⁴⁷.

È stato dimostrato che la resezione associata ad una migliore OS è la resezione dotata di un'estensione di resezione (EOR – Extent of Resection) di tipo Gross Total (GTR), cioè macroscopicamente completa⁹⁴.

La localizzazione del GBM in corrispondenza di un'area eloquente, in particolare la M1, richiede l'utilizzo di sistemi di monitoraggio atti ad individuare la posizione del CST.

In assenza di tali ausili, il trattamento chirurgico di questi GBM risulta molto rischioso e, talvolta, non attuabile, dato che:

- La vicinanza del tumore al CST può rendere impossibile effettuare in sicurezza la resezione, o anche solo di effettuare una GTR. A questo può conseguire che, per non toccare il CST:
 - o Si effettui solo il trattamento con chemio e radioterapia.
 - o Si effettui una resezione di tipo sub-totale invece che GTR.
- Si procede con la resezione, ma nonostante il CST non venga lesionato la resezione provoca l'instaurarsi di un edema locale che coinvolge il CST. Questo genera l'instaurarsi di un temporaneo deficit motorio, per cui si può rendere necessaria l'attesa di una sua regressione, prima di iniziare la terapia adiuvante, e questo può portare ad un ritardo nell'inizio di quest'ultima.

In tutti questi casi la prognosi rischia di essere significativamente ridotta, anche di diversi mesi, dato che sono necessari simultaneamente una GTR, la mancanza di

deficit iatrogeni e una terapia adiuvante iniziata dopo al massimo 8 settimane, per avere una migliore prognosi.

Alla luce di queste considerazioni e delle attuali evidenze in termini di prognosi e preservazione della funzione, lo studio di seguito riportato ha cercato di valutare se l'nTMS, con la sua capacità di identificare i pazienti eleggibili per la chirurgia e di ridurre l'incidenza di deficit motori post-operatori, abbia conseguentemente un impatto positivo sulla sopravvivenza dei pazienti affetti da glioblastoma localizzato in area eloquente.

Quando si iniziò ad applicare l'uso dell'nTMS nei pazienti con GBM in area eloquente ci si aspettava un aumento delle resezioni subtotal, invece si ottenne un aumento delle GTR⁴⁹.

SCOPO DELLO STUDIO

Dopo più di un secolo di ricerca, gli studi sul glioblastoma non hanno ancora portato ad una terapia a cui sia associato un significativo aumento della sopravvivenza a lungo termine.

Ad oggi, essendo il GBM una neoplasia maligna con un alto tasso di recidiva, la sopravvivenza difficilmente supera i due anni.

Tuttavia, esistono casi particolari in cui il glioblastoma presenta una prognosi addirittura peggiore: un glioblastoma localizzato in un'area eloquente, in particolare l'area motoria, è dotato di una prognosi in genere ridotta rispetto a quella di un glioblastoma in area non eloquente, perché la sua posizione può influire negativamente le molteplici variabili presenti nel processo di trattamento.

Il GBM è una neoplasia il cui trattamento è costituito da una resezione chirurgica seguita da una terapia adiuvante. Per assicurare una quanto migliore prognosi, è necessario effettuare una GTR che non provochi danno a livello del CST e che sia seguita da una terapia adiuvante eseguita con la giusta tempistica. La localizzazione in un'area eloquente del GBM rende spesso non possibile una GTR e i deficit motori post-operatori, più frequenti in questi pazienti, aumentano il rischio di ritardo dell'inizio della terapia adiuvante e potenzialmente accorciano la sopravvivenza.

Lo scopo del lavoro di questa tesi è quindi verificare se l'inserimento della nTMS nella programmazione preoperatoria permetta di ottenere un'adeguata resezione chirurgica senza comparsa di nuovi deficit motori che potrebbero ritardare l'inizio della terapia adiuvante e ridurre la sopravvivenza dei pazienti con glioblastoma in area motoria rispetto a quelli in area non eloquente.

MATERIALI E METODI

POPOLAZIONI E SELEZIONE DEI PAZIENTI

Tutti i pazienti sottoposti a mappatura nTMS e successiva chirurgia presso il Dipartimento di Neurochirurgia dell'Università di Padova da marzo 2020 ad oggi sono stati inseriti prospetticamente in un database disponibile per una successiva analisi retrospettiva. Da esso, sono stati successivamente raccolti i dati di 11 pazienti affetti da glioblastoma in area motoria primaria (Gruppo A) diagnosticato inizialmente mediante MRI e successivamente confermato dall'esame istologico. Il criterio di inclusione considerato è stata la stretta vicinanza della lesione intra-assiale con l'area motoria, in sede corticale o sottocorticale, definita da una distanza inferiore ai 25mm. L'analisi retrospettiva delle cartelle cliniche presenti sul software gestionale Galileo ha consentito la raccolta dei dati relativi alla chirurgia, il decorso post-operatorio ed il successivo trattamento adiuvante eseguito presso l'Istituto Oncologico Veneto (IOV).

Analogamente, l'analisi delle cartelle cliniche ha poi consentito l'identificazione di un secondo gruppo di 11 pazienti (Gruppo B) sottoposti a chirurgia presso l'Azienda Ospedaliera di Padova per glioblastoma in area non eloquente e dunque posto ad una distanza superiore ai 25mm dall'area corticale motoria primaria.

Nel Gruppo A i tumori erano localizzati a livello del lobo frontale (7) e parietale (4), mentre nel Gruppo B del lobo frontale (9) e temporale (2).

Tutti i pazienti sono stati sottoposti a chirurgia neuro-oncologica secondo gli standard attuali, compresa la chirurgia eseguita da un neurochirurgo senior specializzato in chirurgia neuro-oncologica e l'uso di routine dell'acido 5-aminolevulinico (5-ALA) per la resezione guidata dalla fluorescenza e la neuronavigazione intraoperatoria. Per ovvie ragioni cliniche, il gruppo di pazienti con lesione in area eloquente è stato sottoposto ad una sede di mappatura preoperatorio dell'area motoria dell'emisfero affetto mediante nTMS, che da marzo 2020 è entrato in maniera standardizzata nella pianificazione dell'intervento di questi pazienti. Il neuromonitoraggio intraoperatorio, se disponibile, è stato eseguito di routine a seconda della discrezione del chirurgo mediante monitoraggio

transcranico in continuo e stimolazione corticale diretta (direct cortical stimulation, DCS) con sonda monopolare. Nei pazienti del Gruppo A, la DCS è stata guidata dai dati nTMS inseriti nel sistema di neuronavigazione come hotspot funzionali considerati punti di partenza per l'identificazione dell'area eloquente.

In generale, la strategia chirurgica mirava all'asportazione completa del tessuto tumorale solido, caratterizzato da una fluorescenza del 5-ALA, e all'asportazione aggiuntiva di tessuto moderatamente/debolmente fluorescente nelle regioni tumorali considerate non eloquenti. Un prerequisito essenziale per indicare la resezione del tumore era la possibilità di ottenere una GTR senza danni funzionali rilevanti.

La diagnosi istologica di tutti i pazienti è stata valutata da un neuropatologo senior sulla base delle informazioni disponibili relative allo stato di metilazione del gene MGMT e di mutazione del gene dell'isocitrato deidrogenasi (IDH) 1/2.

I valori individuati sono stati l'età in anni, il sesso, la mano dominante, il lobo e l'emisfero in cui il tumore è localizzato, il suo volume in cm³ e la mutazione del gene della Metilguanina metiltransferasi (MGMT).

ACQUISIZIONE DELLA MRI ED ANALISI VOLUMETRICA

I pazienti sono stati sottoposti secondo necessità clinica a MRI cerebrale secondo un protocollo specifico dipartimentale utilizzando uno scanner 3T (Ingenia 3T, Philips Healthcare) per ottenere immagini navigabili 3D T1- pesate (TR/tempo di ripetizione = 8, TE/tempo di eco = 3.7); 3D FLAIR/fluid attenuated inversion recovery (TR = 4800, TE = 299, TI/tempo di inversione = 1650, flip angle = 40). 7); 3D FLAIR/fluid attenuated inversion recovery (TR = 4800, TE = 299, TI/tempo di inversione = 1650, flip angle = 40, matrice = 240 × 240mm², voxel = 1 × 1 × 1mm³, 196 fette, 4,05 min di tempo di acquisizione); sequenze pesate in diffusione (DWI con 32 direzioni, TR = 8736, TE = 91; single shell, b = 800 s/mm²) per DTI-FT.

Le immagini navigabili sono quindi state caricate sul software Brainlab®: mediante il software, è stata evidenziata mediante segmentazione l'area occupata dalla lesione neoplastica nelle varie sezioni di MRI; in tal modo è stata ottenuta una immagine 3D della lesione, calcolandone il volume in cm³.

MAPPATURA PREOPERATORIO MEDIANTE nTMS E RICOSTRUZIONE TRATTOGRAFICA

La nTMS è stata utilizzata per mappare M1 mediante il sistema eXimia NBS (versione 4.3, Nexstim Ltd., Helsinki, Finlandia) dotato di una bobina a forma di figura di otto per la stimolazione magnetica bifasica e di un sistema di neuronavigazione integrato, utilizzando la sequenza di risonanza magnetica individuale pesata in T1 (T1w)

In breve, a seconda della localizzazione del tumore e dei deficit motori clinici, sono stati registrati potenziali evocati motori (EMG integrato eXimia; frequenza di campionamento, 3 kHz/canale; tempo di analisi, 10 ms pre-stimolo e 100 ms post-stimolo; larghezza di banda del filtro, 10-250 Hz) dal muscolo primo interosseo dorsale, dal tibiale anteriore e/o dall'orbicolare della bocca utilizzando elettrodi di superficie (Ambu Neuroline, Bad Nauheim, Germania). Per la mappatura, l'intensità della stimolazione è stata regolata al 110% della soglia motoria a riposo (rMT) dei rispettivi muscoli. Partendo dal centro (hotspot) di ciascuna rappresentazione della parte del corpo, la mappatura è stata continuata in senso radiale fino a quando non sono stati rilevati altri MEP attivati dalla nTMS (con un'ampiezza di almeno 50 mV da picco a picco). Tutti i punti di mappatura ottenuti sono stati esportati come file di immagini DICOM e resi disponibili per la pianificazione chirurgica (mediante integrazione nel software di neuronavigazione Brainlab®, Feldkirchen). I volumi dei centri di mappa somatotopici di interesse corrispondenti a M1 sono stati ingranditi di un raggio di 5mm e sono serviti come origini per la trattografia del fascio corticospinale eseguita con un algoritmo deterministico utilizzando lo strumento software iPlanNet (Brainlab®, Feldkirchen), sulla base dei dati DTI della MRI nativa. I risultati ottenuti hanno elaborato un'immagine 3D di rappresentazione del CST che ha permesso di individuare la distanza minore tra la lesione ed il CST (TTD), distinguendo i pazienti in due gruppi (TTD >5mm e TTD ≤5mm).

VALUTAZIONE CLINICA FUNZIONALE

VALUTAZIONE PREOPERATORIA

Tramite un esame obiettivo neurologico, effettuato al momento del ricovero, prima della dimissione e durante la visita ai 3 mesi di follow up, è stato valutato lo stato clinico funzionale dei pazienti. È stata fornita l'analisi delle condizioni generali mediante l'indice di *Karnofsky*, (KPS, Karnofsky Performance Status) e un punteggio indicante la forza muscolare tramite il Medical Research Council (MRC).

- Karnofsky Performance Status (KPS): punteggio indicativo della capacità dei pazienti di svolgere attività ordinarie:

Tabella V - Karnofsky performance status

Generale	%	Sintomi e Assistenza	Commenti
In grado di compiere attività quotidiane o di lavorare, senza bisogno di assistenza:	100	Nessun sintomo	Normale, nessuna evidenza di malattia
	90	Sintomi lievi	Capace di compiere normali attività quotidiane, segni o sintomi di malattia minori
	80	Sintomi moderati	Capace di compiere normali attività quotidiane tramite sforzo, incapace di portare a termine attività normali o di lavorare senza assistenza
In grado di compiere la maggior parte delle attività quotidiane senza bisogno di assistenza, ma non è in grado di lavorare:	70	No assistenza	Capace di badare a sé stesso, incapace di compiere alcune specifiche attività o di lavorare
	60	Assistenza occasionale	Necessaria occasionale assistenza, in grado di compiere gran parte delle azioni necessarie a badare a sé stesso
	50	Assistenza richiesta	Assistenza necessaria, bisognoso di frequenti cure mediche
Incapace di lavorare, di vivere in casa da solo e di badare a gran parte dei propri bisogni; costretto a letto per più di metà del tempo	40	Costretto a letto per più del 50% del tempo	Disabile, richieste cure e assistenza specializzata
	30	Quasi sempre costretto a letto	Gravemente disabile, indicata ospedalizzazione anche se non è a rischio di morte imminente
	20	Sempre costretto a letto e dipendente da cure assistenziali continue, compiute da professionisti e/o dai familiari	Ospedalizzazione necessaria, molto debilitato, necessario trattamento di supporto attivo
	10	Comatoso o solo occasionalmente risvegliabile	Moribondo, stato di salute in rapido decadimento
	0	Exitus	

- Medical Research Council (MRC): è una scala di 6 valori, che vanno da 0 a 5, in cui è valutata la forza muscolare del soggetto.
 0. Assenza di contrazione
 1. Tremolio o tracce di contrazione
 2. Movimento attivo in assenza di gravità
 3. Movimento attivo antigravitario
 4. Movimento attivo antigravitario e in opposizione a resistenza
 5. Movimento normale

VALUTAZIONE POSTOPERATORIA

Nell'immediato post-op, sono stati nuovamente valutati i punteggi MRC e KPS, e tramite MRI con gadolino sono stati valutati i volumi residui (Extent of Resection – EOR) in quei casi dove una GTR non è risultata possibile. L'EOR ottenuto è definito Gross Total Resection (GTR) quando è stato possibile rimuovere il 100% del volume del tumore, Near Total Resection quando è stato possibile rimuovere il 91-99%, e Subtotal Resection (STR) quando è stato possibile rimuovere il 51-90% del volume del tumore⁹⁵.

FOLLOW-UP

Dopo 3 mesi dall'intervento, i valori di MRC e KPS sono stati nuovamente riportati grazie alla collaborazione con l'Istituto Oncologico Veneto.

Sono stati inoltre raccolti, nei pazienti di entrambi i gruppi, i giorni passati tra intervento ed inizio della terapia oncologica adiuvante. In ultimo, laddove è accaduto, è stata riportata la data dell'exitus.

SOPRAVVIVENZA

Basandosi sui dati caricati in Galileo, le date in cui è avvenuto l'exitus dei pazienti, nei casi in cui è accaduto, sono state recuperate e riportate. Per alcuni pazienti, nonostante l'avvenimento dell'exitus, i documenti riportanti questa informazione non sono stati caricati: in tali casi, la data dell'exitus è stata ottenuta contattando telefonicamente i parenti dei pazienti. Diversamente, in caso di pazienti ancora in

vita, è stata raccolta la durata in mesi dell'OS fino a Febbraio 2023, data di termine della raccolta dei dati.

ANALISI STATISTICA

I due gruppi sono stati confrontati per rilevare eventuali differenze statistiche nei fattori di base e nelle differenze di outcome post-chirurgico funzionale e di sopravvivenza. Le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando il software SPSS (versione 20; SPSS Inc., Chicago, IL, USA). È stato utilizzato il test chi-quadro di Pearson per le variabili discrete e il t-test per quelle continue. La significatività statistica è stata fissata a $p < 0.05$.

CONSENSO INFORMATO DEI PAZIENTI ED APPROVAZIONE DEL COMITATO ETICO

I pazienti hanno firmato il loro specifico consenso informato per l'acquisizione della risonanza magnetica e l'eventuale esame nTMS. Lo studio è stato condotto in conformità con gli standard etici del Comitato Istituzionale per la Ricerca AOUP (Prot. N. 0043481 (27/06/2022)) e con la Dichiarazione di Helsinki del 1964 e successivi emendamenti.

RISULTATI

POPOLAZIONE

I pazienti affetti da glioblastoma ed arruolati nello studio sono stati 22, divisi in due gruppi (Gruppo A e Gruppo B) composti da 11 soggetti ciascuno. Il Gruppo A, costituito da pazienti con GBM in area motoria, ha compreso 11 soggetti ed il Gruppo B, costituito da pazienti con GBM in area non eloquente, ne ha ugualmente compreso 11. Solamente i pazienti del Gruppo A, per ovvie ragioni cliniche, sono stati sottoposti a studio preoperatorio con nTMS.

Entrambi i gruppi erano composti da 5 donne e 6 uomini, tutti destrimani. Nel Gruppo A la lesione era localizzata nel lobo frontale in 7 casi e parietale in 4, mentre nel Gruppo B nel lobo frontale in 9 e temporale in 2. Per quanto riguarda l'emisfero, non si sono verificati casi di coinvolgimento bilaterale. L'emisfero destro era coinvolto in 5 soggetti nel Gruppo A e in 4 nel Gruppo B, di conseguenza il sinistro era coinvolto in 6 soggetti del Gruppo A e 7 del Gruppo B.

Il volume preoperatorio tumorale medio è risultato pari a 18.05 cm³ nel Gruppo A e a 37.99 cm³ nel Gruppo B.

Il gene della Metilguanina metiltransferasi (MGMT) è stato distinto in metilato e non metilato. In entrambi i gruppi la metilazione è stata riscontrata in 7 pazienti (63.6%) ed in 3 (27.3%) non era presente. In due soggetti, 1 (9.1%) del Gruppo A ed 1 (9.1%) del Gruppo B, il dato non era disponibile.

Come si osserva nella Tabella A1, molte di queste variabili non hanno presentato differenze significative, confermando una omogeneità dei campioni. Le uniche variabili in cui è risultata una differenza statisticamente significativa sono state l'età e il volume tumorale preoperatorio: l'età del Gruppo A ha presentato un valore medio (μ_A) pari a 58.36 anni (range 45-74 anni), mentre il Gruppo B un valore medio (μ_B) di 67.36 anni (range 61-75 anni), con significatività p-value pari a 0.034; il volume medio del volume del tumore, invece è risultato pari a 18.05 cm³ per il Gruppo A e 37.99 cm³ nel Gruppo B (p=0.026).

Tabella VI - Caratteristiche di popolazione. MGMT: gene della Metilguanina metiltransferasi

Caratteristiche di popolazione	di	Totale (n = 22)	Gruppo A (n = 11)	Gruppo B (n = 11)	p Value
Età media, anni (min-max)					
		62,9	58.36 (45-74)	67.36 (61-75)	0.034
Genere, n (%)					
• Femmina		10 (54.5)	5 (45.5)	5 (45.5)	1.000
• Maschio		12 (54.5)	6 (54.5)	6 (54.5)	
Mano dominante, n (%)					
• Destra		22 (100)	11 (100)	11 (100)	-
• Sinistra		0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Lobo, n (%)					
• Frontale		16 (72.7)	7 (63.6)	9 (81.8)	0.044
• Parietale		4 (18.2)	4 (36.4)	0 (0)	
• Temporale		2 (9.1)	0 (0)	2 (18.2)	
Emisfero coinvolto, n (%)					
• Destro		9 (40.9)	5 (45.5)	4 (36.4)	0.665
• Sinistro		13 (59.1)	6 (54.5)	7 (63.6)	
Volume tumorale pre-op (cm ³)					
		-	18.05	37.99	0.026
MGMT, n (%)					
• Metilato		15 (68.2)	7 (63.6)	8 (72.7)	0.606
• Non metilato		5 (22.7)	3 (27.3)	2 (18.2)	
• Non disponibile		2 (9.1)	1 (9.1)	1 (9.1)	

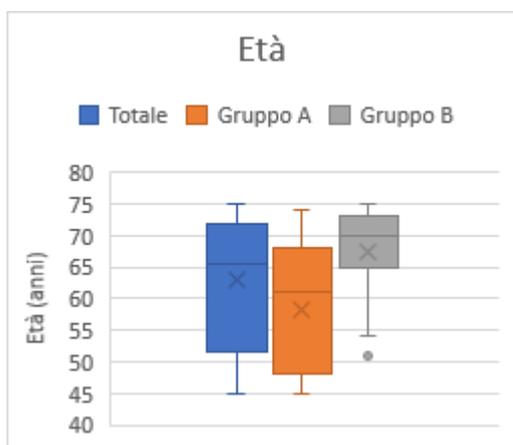


Figura 13 – Età dei pazienti

La figura 13 indica la distribuzione dell'età nella totalità dei pazienti e nei singoli gruppi A e B.

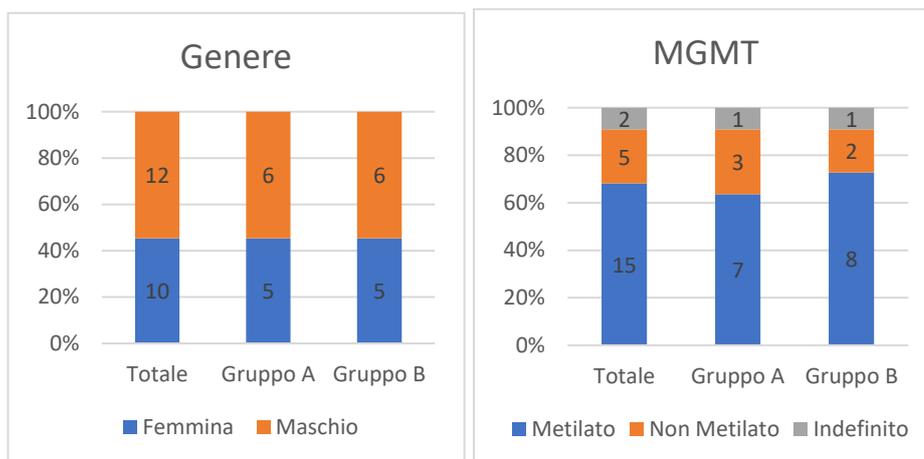


Figura 14 e 15 – Genere dei pazienti e mutazione del gene della Metilguanina Metiltransferasi

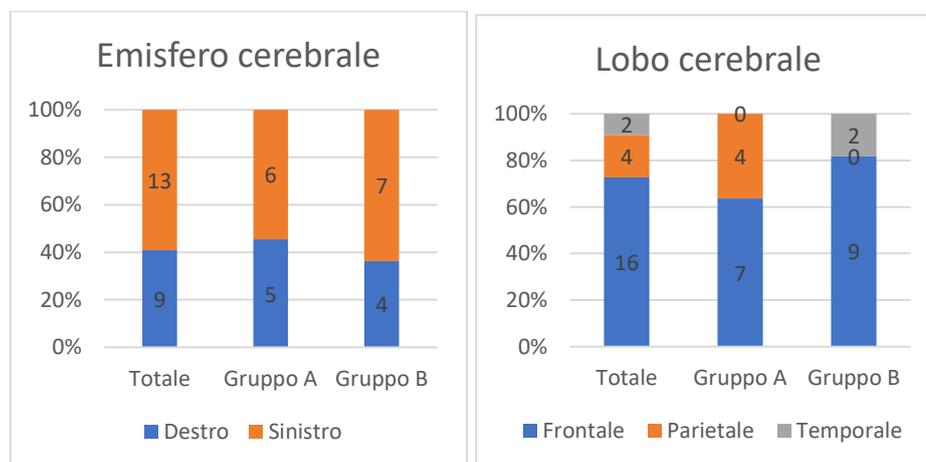


Figura 16 e 17 – Emisferi e Lobi cerebrali affetti

I grafici 1-4 raffigurano la distribuzione totale e, singolarmente, nei gruppi A e B per quanto riguarda il genere dei pazienti, il lobo e l'emisfero cerebrale affetti e la mutazione MGMT.

CHIRURGIA

In Tabella VII sono raccolti i parametri relativi al procedimento chirurgico, cioè la EOR (distinta in STR e GTR), il volume tumorale post-operatorio, l'utilizzo del neuromonitoraggio intraoperatorio (IONM) e la presenza di complicanze (Tabella VII).

Tutte e quattro le variabili non hanno presentato differenze statisticamente significative.

Nel Gruppo A, il GTR è stato ottenuto in 8 soggetti (72.7%) e il STR in 3 (27.3%), mentre il Gruppo B ha ottenuto il GTR in 9 (81.8%) soggetti e il STR in 2 (18.2%). Il volume tumorale postoperatorio medio invece è risultato pari a 0.06 cm³ nel Gruppo A e 0.1 cm³ nel B.

Come atteso, l'unica variabile a presentare una differenza statisticamente significativa è stato il monitoraggio neurofisiologico intraoperatorio (IONM), in quanto non utilizzato nella resezione chirurgica dei GBM in area non eloquente. Si segnala 1 caso (9.1%) nel Gruppo A dove non è stato utilizzato il monitoraggio a causa di una indisponibilità tecnica, ma si è deciso ugualmente di procedere con l'intervento.

Per quanto riguarda le complicanze, si sono verificati 2 eventi (18.2%) nel solo Gruppo A che, nello specifico, sono stati un'emorragia epidurale post-operatoria che ha richiesto un intervento chirurgico di evacuazione con risoluzione del quadro ed una lesione iatrogena di natura ischemica in territorio di arteria cerebrale media distale.

Tabella VII – Parametri chirurgici. IONM: utilizzo del neuromonitoraggio intraoperatorio

Parametri chirurgici	Totale (n = 22)	Gruppo A (n = 11)	Gruppo B (n = 11)	p Value
EOR, n (%)				
• GTR	17 (77.3)	8 (72.7)	9 (81.8)	0.611
• STR	5 (22.7)	3 (27.3)	2 (18.2)	
Volume tumorale post-op (cm ³)				
	-	0.06	0.10	0.650
IONM, n (%)				
• Sì	10 (45.5)	10 (90.9)	0 (0)	0.000
• No	12 (54.5)	1 (9.1)	11 (100)	
Complicazioni, n (%)				
Sì	2 (9.1)	2 (18.2)	0 (0)	0.138
No	20 (90.9)	9 (81.8)	11 (100)	

INDICI DI FUNZIONALITÀ

Per ottenere una misura di quanto l'utilizzo della nTMS possa aver influenzato il decorso post-operatorio dei pazienti con GBM in area eloquente, sono stati paragonati gli indici di funzionalità MRC e KPS al momento dell'ammissione, nel postoperatorio e nei tre mesi di follow up (Tabella VIII).

Confrontando i due gruppi, il valore preoperatorio di MRC ha presentato una lieve differenza tra i due gruppi seppur non statisticamente significativa ($p= 0.311$). Nel Gruppo A la valutazione MRC ha presentato un valore di 3/5 in 4 soggetti (36.4%), 4/5 in 2 (18.2%) e 5/5 nei rimanenti 5 (45.5%), mentre nel Gruppo B di 3/5 in 1 paziente (9.1%), 4/5 in 3 (27.3%) e 5/5 nei rimanenti 7 (63.6%).

L'MRC nell'immediato postoperatorio ha dimostrato nel Gruppo A un valore di 2/5 in 3 casi (27.3%, 3/5 in 1 caso (9.1%), 4/5 in 1 altro caso (9.1%) e 5/5 nei rimanenti 6 (54.5%), mentre nel Gruppo B di 4/5 in 2 casi (18.2%) e di 5/5 in 9 (81.8%). Nel follow-up a tre mesi l'MRC del Gruppo A è risultata di 3/5 in 1 paziente (9.1%), 4/5 in 3 (27.3%) e 5/5 nei rimanenti 9 (81.8%); mentre nel Gruppo B l'MRC nell'immediato postoperatorio ha un valore di 3/5 in 4 pazienti (36.4%), 4/5 in 2 pazienti (18.2%) e 5/5 nei rimanenti 5 pazienti (45.5%).

Per quanto riguarda il KPS, è stato deciso di stabilire un cut-off di 80 in quanto considerato il valore di distinzione tra un'autosufficienza e la necessità di avere un aiuto costante nelle mansioni quotidiane. Per quanto riguarda il KPS preoperatorio, nel Gruppo A 4 pazienti (36.4%) hanno presentato un valore ≤ 80 e 7 (63.6%) invece >80 ; nel Gruppo B, invece, il KPS preoperatorio è risultato ≤ 80 in 5 pazienti (45.5%) e >80 in 6 pazienti (54.5%); nell'immediato postoperatorio il KPS è risultato nel Gruppo A ≤ 80 in 5 pazienti (45.5%) e >80 in 6 (54.5%), e nel Gruppo B ≤ 80 in 2 pazienti (18.2%) e >80 in 9 (81.8%); nel follow-up, invece, entrambi i gruppi hanno presentati 3 (27.3%) soggetti con $KPS \leq 80$ e 8 (72.7%) con $KPS > 80$.

Tabella VIII
MRC: Medical
KPS: Karnofsky Performance Status

– Parametri
Research

Funzionali.
Council;

Parametri chirurgici	Totale (n = 22)	Gruppo A (n = 11)	Gruppo B (n = 11)	p Value
MRC score preoperatorio, n (%)				
• 3/5	5 (22.7)	4 (36.4)	1 (9.1)	0.311
• 4/5	5 (22.7)	2 (18.2)	3 (27.3)	
• 5/5	12 (54.6)	5 (45.5)	7 (63.6)	
MRC score postoperatorio, n (%)				
• 2/5	3 (13.6)	3 (27.3)	0 (0)	0.231
• 3/5	1 (4.5)	1 (9.1)	0 (0)	
• 4/5	3 (13.6)	1 (9.1)	2 (18.2)	
• 5/5	15 (68.2)	6 (54.5)	9 (81.8)	
MRC score nel follow-up, n (%)				
3/5	1 (4.5)	1 (9.1)	0 (0)	0.484
4/5	5 (22.7)	3 (27.3)	2 (18.2)	
5/5	16 (72.7)	7 (63.6)	9 (81.8)	
KPS preoperatorio, n (%)				
• ≤80	9 (40.9)	4 (36.4)	5 (45.5)	0.665
• >80	13 (59.1)	7 (63.6)	6 (54.5)	
KPS postoperatorio, n (%)				
• ≤80	5 (22.7)	3 (27.3)	2 (18.2)	0.661
• >80	17 (77.3)	8 (72.7)	9 (81.8)	
KPS nel follow up, n (%)				
• ≤80	6 (27.3)	3 (27.3)	3 (27.3)	1.000
• >80	16 (72.7)	8 (72.7)	8 (72.7)	

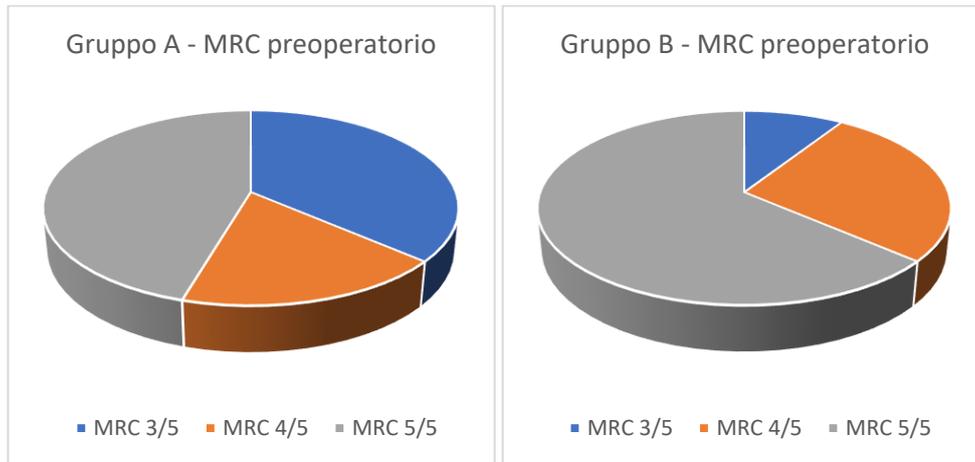


Figure 18 e 19 – Valore di MRC preoperatorio nel Gruppo A e nel Gruppo B

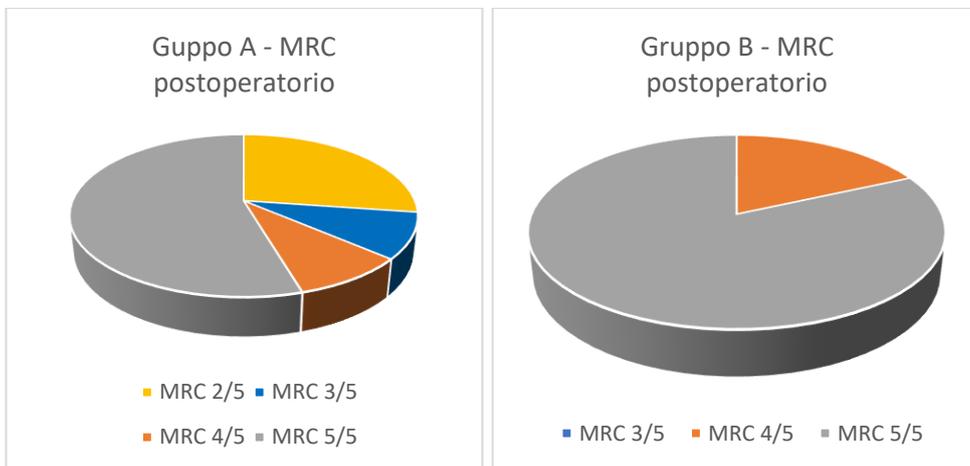


Figure 20 e 21 – Valore di MRC postoperatorio nel Gruppo A e nel Gruppo B

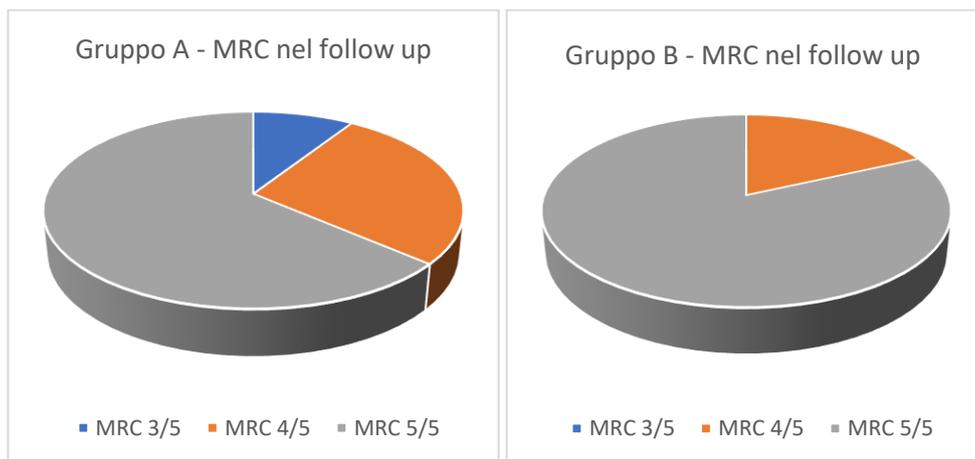


Figure 22 e 23 – Valore di MRC nel follow-up nel Gruppo A e nel Gruppo B

Le figure 18-23 rappresentano l'andamento nel tempo del punteggio MRC nei due gruppi.

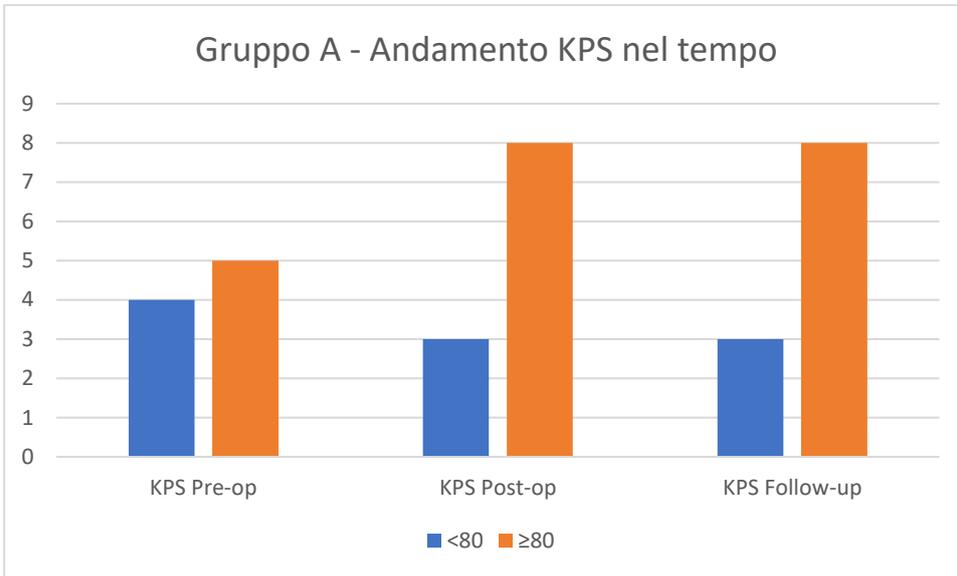


Figura 24 – Andamento dei valori di KPS nel tempo

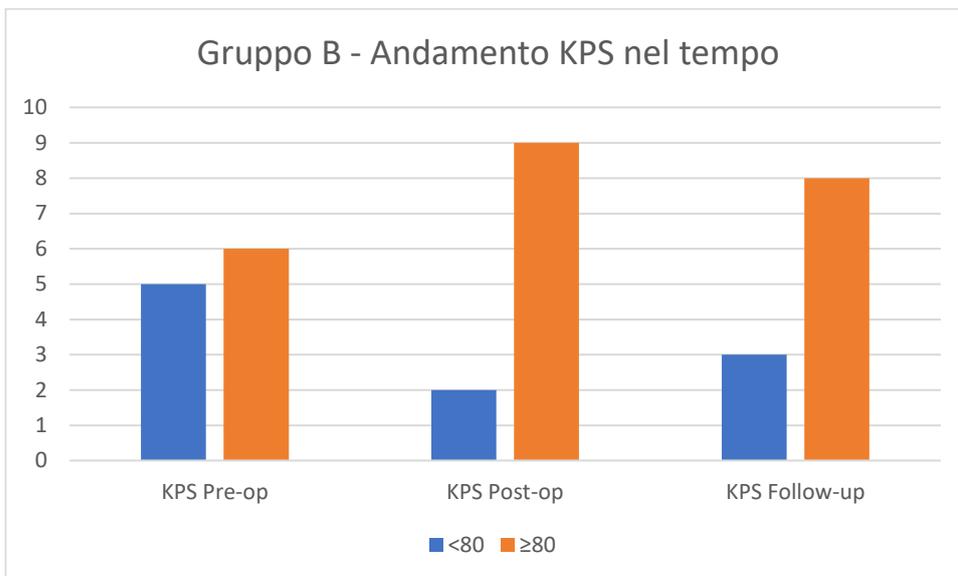


Figura 25 – Andamento dei valori di KPS nel tempo

Le figure 24 e 25 rappresentano la modifica nel corso del tempo del numero di pazienti nei due gruppi A e B per i valori del parametro KPS <80 e ≥80.

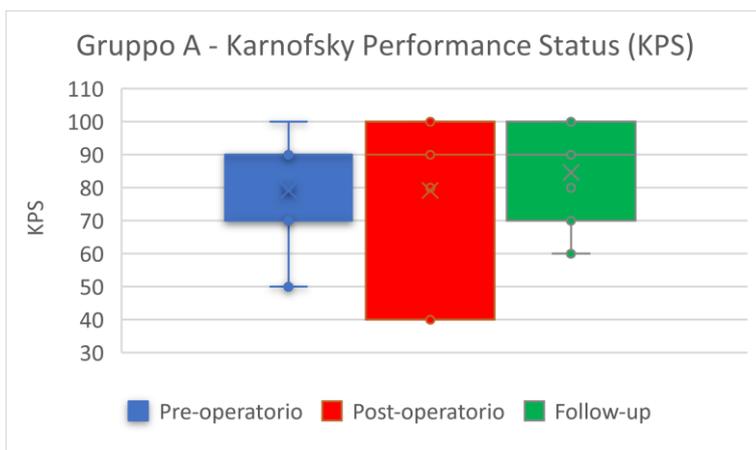


Figura 26 – Distribuzione del KPS nel tempo nel Gruppo A

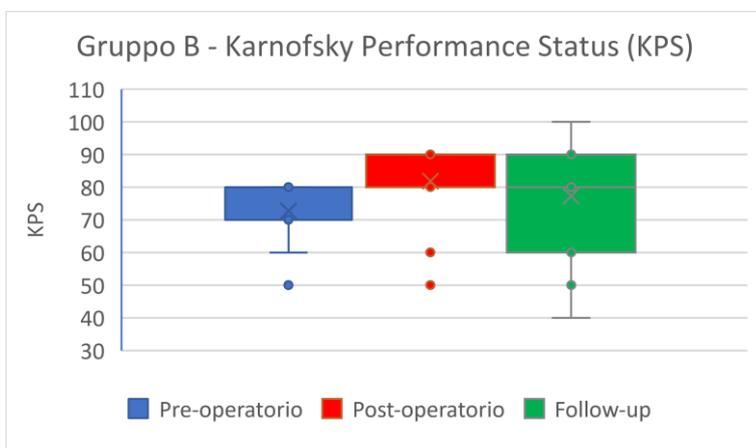


Figura 27 – Distribuzione del KPS nel tempo nel Gruppo A

Le figure 26 e 27, rappresentano la distribuzione dei valori di KPS nel corso del tempo dal momento del ricovero fino al momento del follow-up, nei due gruppi.

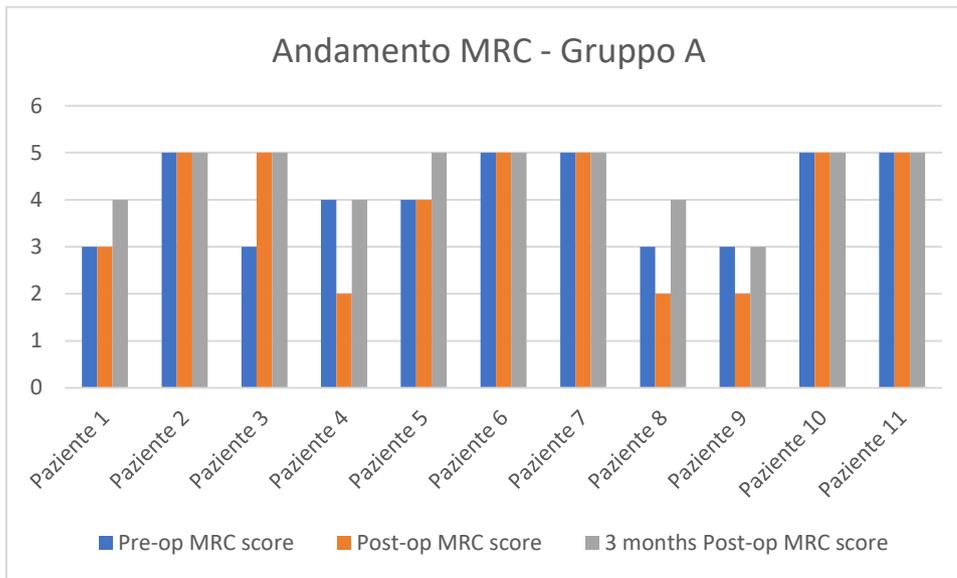


Figura 28 – Andamento di MRC nel tempo nel Gruppo A

La figura 28 evidenzia come, nel Gruppo A, 3 pazienti hanno mostrato un peggioramento di MRC score nel post-operatorio rispetto all'ammissione (Pazienti 4, 8 e 9), ma hanno tutti recuperato, motivo per cui, nel follow-up, nessun paziente ha presentato un valore di MRC inferiore rispetto a quello dell'ammissione.

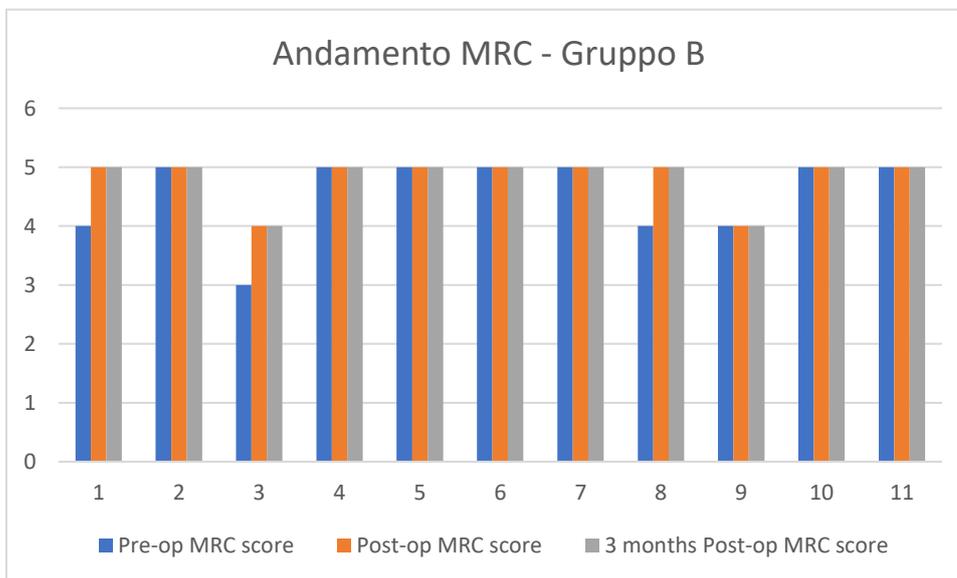


Figura 29 - Andamento di MRC nel tempo nel Gruppo B

La figura 29 evidenzia come nel Gruppo B non ci siano stati casi di peggioramento di MRC, rispetto all'ammissione, né nel post-op né nel follow-up.

Tabella IX - MRC: Medical Research Council; KPS: Karnofsky Performance Status

Risultati Funzionali	Totale (n = 22)	Gruppo A (n = 11)	Gruppo B (n = 11)	p Value
Post-op MRC rispetto all'ammissione, n (%)				
• Peggiorato	3 (13.6)	3 (27.3)	0 (0)	0.062
• Invariato /migliorato	19 (86.4)	8 (72.7)	11 (100)	
Follow-up MRC rispetto al ricovero, n (%)				
• Peggiorato	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-
• Invariato /migliorato	22 (100)	11 (100)	11 (100)	
Post-op KPS rispetto al ricovero, n (%)				
• Peggiorato	4 (18.2)	3 (27.3)	1 (9.1)	0.269
• Invariato /migliorato	18 (81.8)	8 (72.7)	10 (90.9)	
Follow-up KPS rispetto al ricovero, n (%)				
• Peggiorato	1 (4.5)	0 (0)	1 (9.1)	0.306
• Invariato /migliorato	21 (95.5)	11 (100)	10 (90.9)	
Tempo alla terapia oncologica, giorni (min-max)				
	-	40.64 (29-61)	40.91 (29-65)	0.953

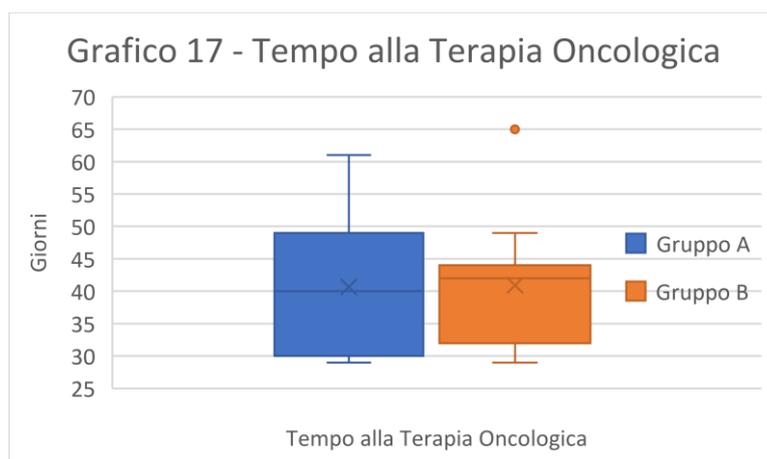


Figura 30 – Grafico drop box del tempo alla terapia oncologica nei due gruppi

La figura 30 rappresenta la distribuzione nei due gruppi dei giorni tra la resezione e l'inizio della terapia oncologica.

RISCHIO CHIRURGICO

Infine, è stato considerato il solo Gruppo A, nel quale è stata valutato se l'uso dell'nTMS permettesse di stratificare il rischio chirurgico nei pazienti affetti da GBM in area eloquente.

Per misurare questo rischio, il Gruppo A è stato diviso quindi in due sottogruppi, distinti dalla distanza tra il glioblastoma e il tratto cortico-spinale (TTD). Usando come cut-off un TTD pari a 5mm, è stata paragonata la variazione nei due sottogruppi del parametro MRC al momento dell'ammissione, nel postoperatorio e nei tre mesi di follow up (Tabella X).

Nel postoperatorio, il parametro MRC dei pazienti con $TTD \leq 5\text{mm}$ ($n = 7$) ha presentato un peggioramento in 2 pazienti (28.6%) mentre non è peggiorato nei restanti 5 pazienti (71.4%); nei pazienti presentanti un $TTD > 5\text{mm}$ ($n = 4$), MRC postoperatorio è peggiorato in 1 paziente (25.0%) e non ha subito peggioramento nei restanti 3 pazienti (75.0%).

Relativamente al punteggio MRC nel follow up rispetto al ricovero, in entrambi i gruppi tutti i soggetti sono risultati invariati o migliorati.

Tabella X - Rischio chirurgico in caso di GBM eloquente. MRC: Medical Research Council; KPS: Karnofsky Performance Status

Rischio chirurgico in caso di GBM eloquente	Totale (n = 11)	TTD \leq 5mm (n = 7)	TTD $>$ 5mm (n = 4)	p Value
MRC post-operatorio rispetto al ricovero, n (%)				
• Peggiorato	3 (27.3)	2 (28.6)	1 (25.0)	0.898
• Invariato/migliorato	8 (72.7)	5 (71.4)	3 (75.0)	
MRC nel follow up rispetto al ricovero, n (%)				
• Peggiorato	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-
• Invariato/migliorato	11 (100)	7 (100)	4 (100)	

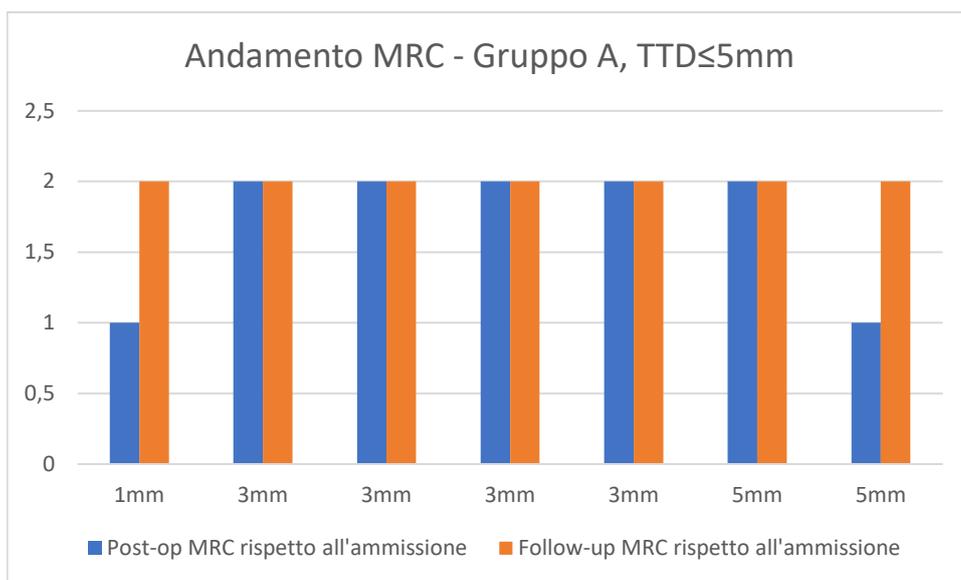


Figura 31 – Andamento del punteggio MRC nei pazienti con TTD ≤ 5mm

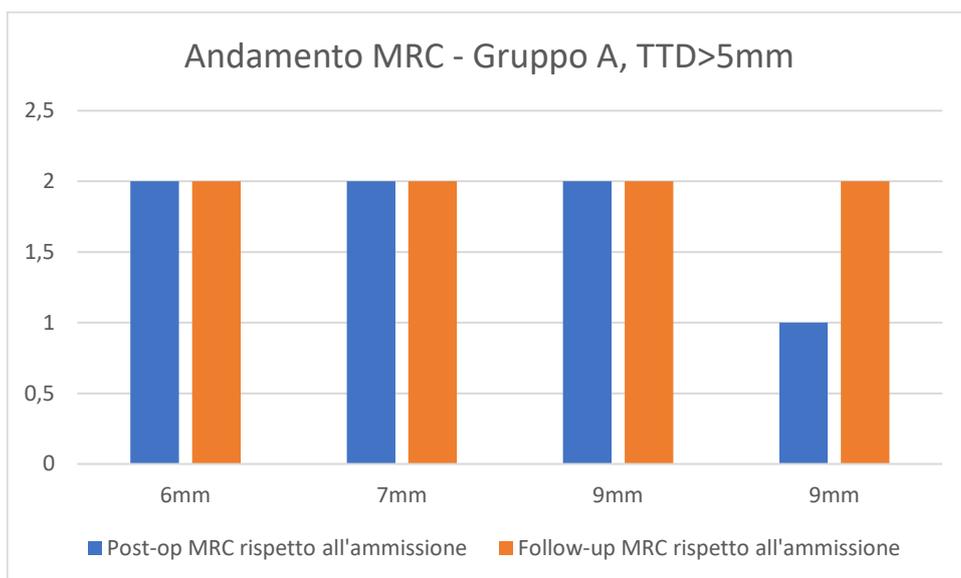


Figura 32 - Andamento del punteggio MRC nei pazienti con TTD > 5mm

Le figure 31 e 32 raffigurano l'andamento di MRC in base al TTD nel post-operatorio e nei 3 mesi di follow-up. L'asse delle ordinate rappresenta la presenza (1) o meno (2) di peggioramento del parametro MRC. L'asse delle ascisse rappresenta i pazienti, ordinati in base al valore di TTD.

Immagini Brainlab®

Di seguito, ecco riportate delle immagini 3D integrate ottenute caricando l'imaging neuroradiologico MRI sul software Brainlab®.

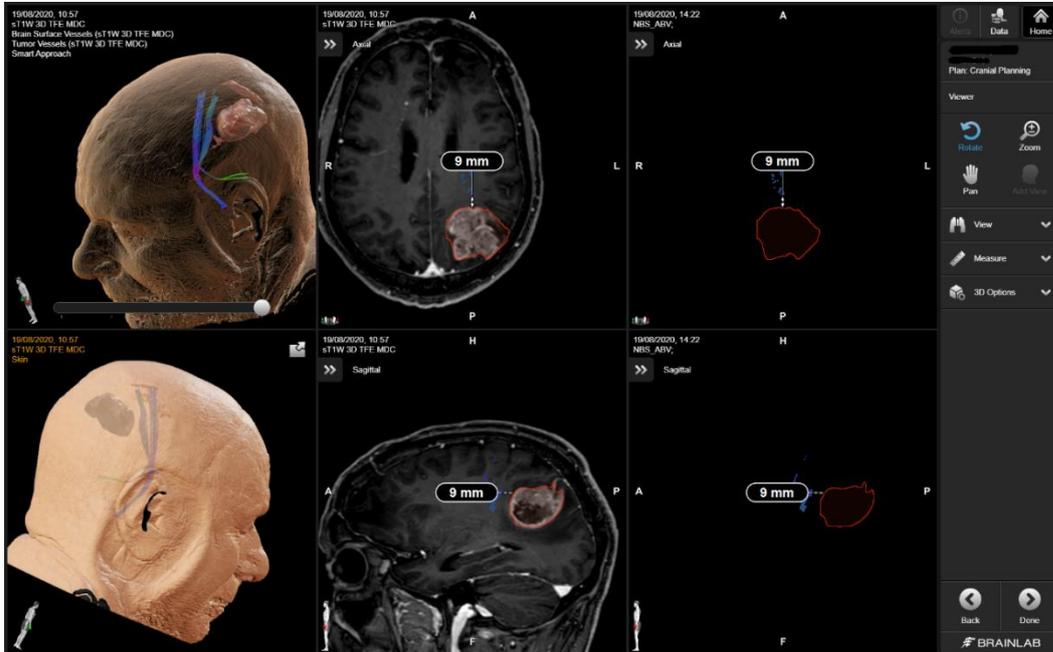


Figura 33 - Paziente del Gruppo A, con lesione a livello del lobo parietale sinistro e ad una distanza di 9mm dal CST.

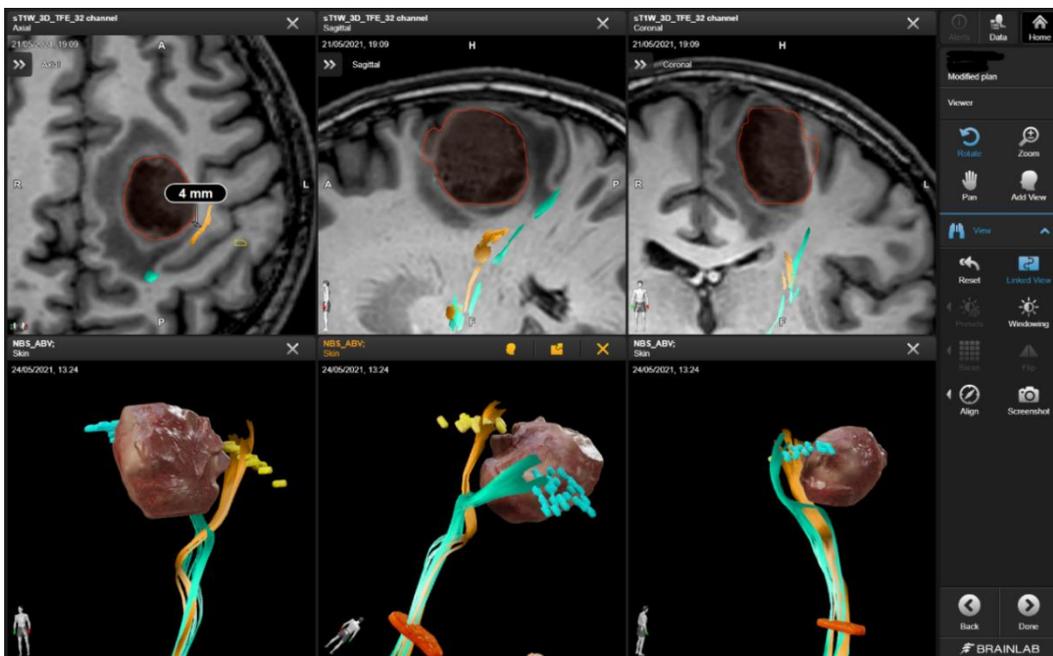


Figura 34 - Paziente del Gruppo A, con lesione a livello del lobo frontale sinistro e ad una distanza di 4mm dal CST.

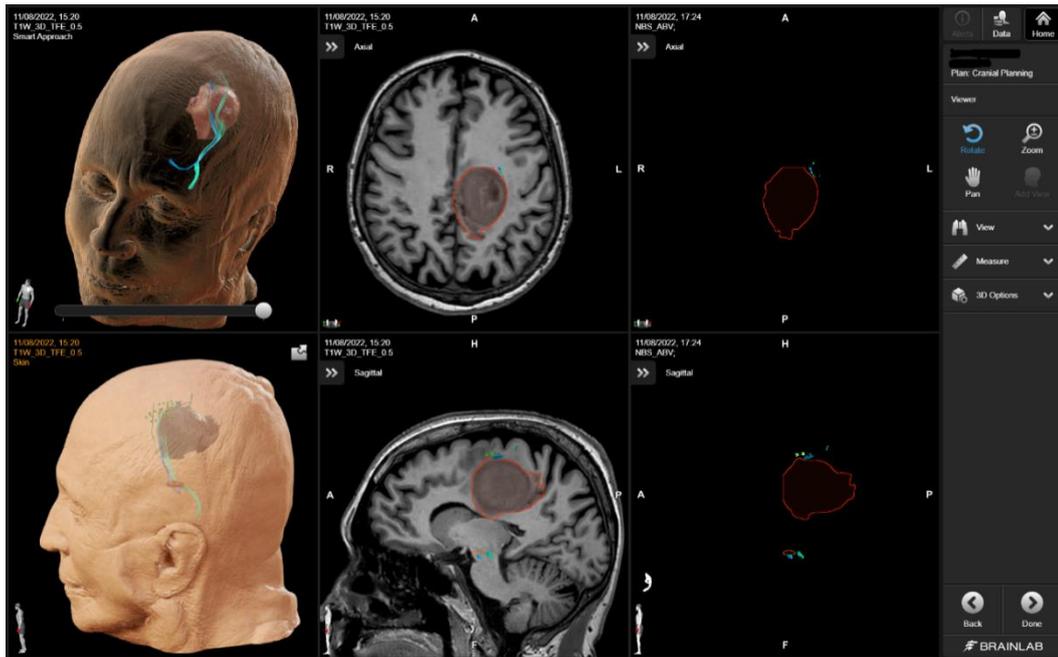


Figura 35 - Paziente del Gruppo A, con lesione a livello del lobo frontale sinistro e ad una distanza di 1mm dal CST.

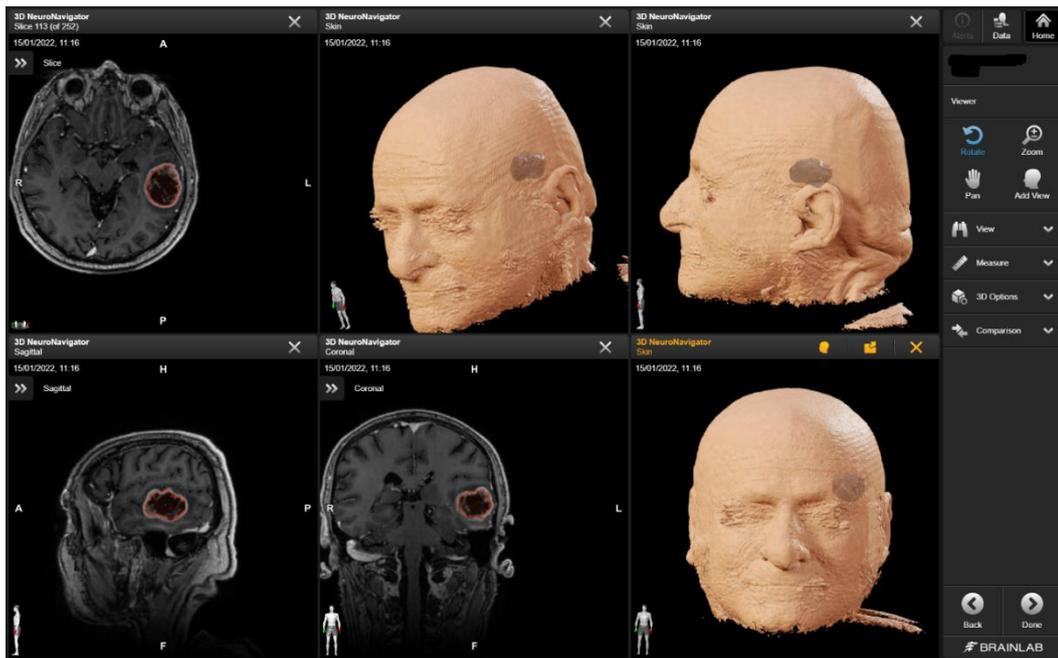


Figura 36 - Paziente del Gruppo B, con lesione a livello del lobo temporale sinistro.



Figura 37 - Paziente del Gruppo B, con lesione a livello del lobo frontale sinistro.

Il paziente della Fig.37 è risultato possedere la lesione con il volume maggiore, all'interno dello studio: 75.2 cm³.

SOPRAVVIVENZA

Durante la raccolta dei dati, sono state riportate anche la data in cui è avvenuto l'exitus ed è stata messa in relazione con la data in cui è stata effettuata la resezione, in modo da poter misurare l'Overall Survival (mesi). Purtroppo, non è stato possibile effettuare analisi statistiche su questa variabile, perché il follow-up di molti pazienti è troppo breve e, di conseguenza, in essi l'exitus non è ancora avvenuto.

DISCUSSIONE

Nonostante il GBM sia il tumore cerebrale maligno più diffuso nella popolazione adulta, in letteratura non sono presenti studi che affrontano in maniera specifica la gestione dei casi localizzati in area motoria. Ugualmente, non sono molti gli studi in cui sia stata presa in considerazione l'influenza dell'nTMS nel percorso terapeutico e dunque nella sopravvivenza dei pazienti con GBM in area eloquente rispetto ai pazienti con GBM in area non eloquente.

Il ruolo del mappaggio preoperatorio tramite nTMS, come ausilio utile a ridurre i deficit post-resezione nei pazienti affetti da GBM in area eloquente, è stato invece chiaramente dimostrato, sin dall'inizio dello scorso decennio. Una recente metanalisi, effettuata da Schiavao et al., ha confermato come l'nTMS sia uno strumento prezioso per migliorare la sicurezza e l'efficacia della resezione del tumore cerebrale, grazie ad una mappatura preoperatoria estremamente affidabile dell'area motoria consentendo preventivamente di conoscerne il rapporto con il tumore¹.

L'nTMS presenta importanti vantaggi rispetto altri sistemi imaging usati per identificare la posizione del tratto cortico-spinale (CST): è una tecnica poco invasiva, che si effettua nel preoperatorio e che, ovviamente dopo un colloquio in cui al paziente è spiegata la procedura, risulta per quest'ultimo poco stressante; inoltre, questa tecnica mostra un'attendibilità e precisione pari alla tecnica che rappresenta il gold standard, cioè la stimolazione elettrica diretta intraoperatoria. Infine, un altro vantaggio è che l'area corticale motoria deputata al controllo dell'arto inferiore è localizzata a livello dell'area all'interno della scissura mediana, risultando quindi difficilmente raggiungibile, con la tecnica standard; il software del sistema di puntamento dell'nTMS riesce a compensare parzialmente questo problema e a escludere in sede preoperatoria una vicinanza con la lesione⁸⁹.

In questo studio, l'nTMS preoperatoria è stata effettuata senza complicanze. Tutti i pazienti hanno sostenuto il procedimento senza bisogno di interromperlo o di fermarsi. I risultati ottenuti sono stati inseriti nel software Brainlab[®] e, dopo aver ottenuto la posizione del CST dell'arto superiore e inferiore, è stata misurata la distanza minore tra essa e il glioblastoma (TTD).

I dati di questi pazienti (Gruppo A) sono stati quindi paragonati con quelli di un gruppo di pazienti affetti da GBM localizzato in un'area non eloquente (Gruppo B): i dati di queste due coorti, distinte dalla localizzazione o meno della lesione in un'area motoria, sono state analizzati nel decorso pre- e postoperatorio e nel follow-up.

L'età media del Gruppo A è risultata inferiore di 9 anni, rispetto all'età media del Gruppo B. Il nostro gruppo ha stabilito che tale differenza non fosse significativa in termini di paragonabilità statistica, dato il simile performance status; fatto evidenziato anche dallo studio di Mariniello et al.⁹⁶.

Parametri di popolazione per i quali c'è stata concordanza sono stati la proporzione di genere (in entrambi i gruppi M:F=6:5), il lato dominante (tutti i pazienti sono risultati destrimani), l'emisfero coinvolto (Gruppo A Destro:Sinistro=5:6, Gruppo B Destro:Sinistro=4:7; p Value 0.665), e la mutazione del gene della Metilguanina Metiltransferasi (Metilato:Non-metilato:Non-disponibile; Gruppo A = 7:3:1, Gruppo B = 8:2:1; p Value 0.606).

In particolare, il rapporto M:F=6:5 è risultato paragonabile al rapporto riportato presente in Svizzera secondo la 5° edizione WHO, cioè M:F=1.28:1, mentre risulta minore del rapporto rilevato negli USA, cioè 8:5. La causa di questo, tuttavia, così come il fatto che tutti i pazienti sono risultati destrimani, può essere spiegata dalla numerosità campionaria ridotta.

Parametri chirurgici nei quali c'è stata concordanza sono stati l'Estensione della Resezione (EOR Gruppo A GTR:STR = 8:3; EOR Gruppo B GTR:STR = 9:2; p Value) e la presenza di complicanze postoperatorie, in quanto mentre nel Gruppo B non si sono verificate, nel Gruppo A sono insorte in due pazienti: un paziente ha sviluppato un'emorragia epidurale postoperatoria che ha richiesto un intervento chirurgico di evacuazione, con risoluzione del quadro, ed una lesione iatrogena di natura ischemica in territorio di arteria cerebrale media distale.

Parametri nei quali c'è stata differenza la cui significatività, però, non è stata considerata rilevante, per lo scopo dello studio, sono stati:

- Lobo di origine del GBM → I GBM del Gruppo A si sono sviluppati a partire dal lobo frontale in 7 pazienti e dal lobo parietale in 4 pazienti; i

GBM del Gruppo B si sono sviluppati a partire dal lobo frontale in 9 pazienti e dal lobo temporale in 2 pazienti.

- L'utilizzo del monitoraggio intraoperatorio (IONM) → I dieci pazienti in cui è stata utilizzata appartengono tutti al Gruppo A.
- Volume preoperatorio del tumore (cm³) → Il volume medio dei GBM del Gruppo A è risultato pari a 18.05 cm³, quello del Gruppo B 37.99 cm³.

La differente localizzazione era inevitabile, dato che lo scopo dello studio è proprio paragonare un gruppo di pazienti affetti da GBM in area eloquente (Gruppo A) da uno in area non eloquente (Gruppo B). Per lo stesso motivo, l'utilizzo dello IONM era pertinente solo se il GBM fosse stato localizzato in area eloquente, quindi tutti i pazienti che lo hanno richiesto appartengono al Gruppo A. Secondo il gruppo di studio, la localizzazione ha influenzato anche il differente volume preoperatorio dei tumori: un GBM in area non eloquente può non presentare subito dei sintomi sufficientemente specifici da portare in tempi brevi alla diagnosi⁹⁷; un GBM in area eloquente, come quella motoria, manifesta molto rapidamente sintomi che portano alla diagnosi⁹⁸.

Abbiamo organizzato i dati raccolti per poter paragonare la variazione dei parametri MRC e KPS nel tempo. Siccome, tuttavia, il parametro KPS presentava una variabilità troppo alta per il numero di pazienti presenti nei due gruppi, il suo valore è stato considerato relativamente a sé esso risultasse inferiore o meno a 80. La scelta di 80, come cut-off, è stata presa perché questo è il punteggio che distingue se il paziente ha necessità o meno di assistenza. Il risultato è che, tra il Gruppo A e il Gruppo B, i parametri KPS e MRC non presentavano differenze significative nel postoperatorio e nel follow-up. Questo ha nuovamente confermato gli studi di Schiavao et al. e di Rosenstock et al., secondo cui l'uso dell'nTMS permette di ridurre significativamente il rischio di deficit nei pazienti affetti da GBM in area eloquente^{53,54,99}.

A causa della rispettiva distanza dalle aree nobili della corteccia motoria, questo studio è stato effettuato aspettandosi di rilevare come nei pazienti del Gruppo A si fossero verificati, nel postoperatorio, dei deficit motori, contrariamente a quelli del Gruppo B. L'analisi retrospettiva ha però ritrovato un peggioramento dei punteggi MRC, in seguito migliorati, anche in alcuni pazienti del Gruppo B. La causa del

perché questi ultimi pazienti abbiano sviluppato deficit, o peggiorato quelli preoperatori, non è stata indagata. Tuttavia, a posteriori, è possibile fare delle ipotesi: ad esempio, la causa potrebbe risiedere nella formazione di un edema a livello del cavo chirurgico che, prima di essere riassorbito, può aver coinvolto in maniera indiretta la via motoria compromettendone temporaneamente il funzionamento.

La proporzione di pazienti del Gruppo A (72.7%) e quella del Gruppo B (81.8%) che sono stati sottoposti a resezione di tipo GTR non ha presentato significativa differenza (p Value 0.611). Inoltre, i due gruppi hanno mostrato lo stesso grado di miglioramento, per quanto riguarda sia la capacità motoria che la performance generale.

Il tasso di GTR pari a 72.7%, ottenuto in questo studio, è risultato paragonabile con i risultati effettuati da uno studio simile compiuto Raffa et al.¹⁰⁰, in cui utilizzando lo stesso protocollo basato sul monitoraggio preoperatorio tramite nTMS associato a IONM e fluoresceina, nel trattamento di un campione di 41 pazienti affetti da glioma di alto grado (dei quali 31 erano GBM) in area eloquente, hanno portato ad un tasso di GTR pari a 73.17%, mentre un gruppo usato come controllo, composto sempre da 41 pazienti (dei quali 28 erano GBM) ma dove non è stata eseguita la nTMS, il tasso di GTR è risultato di 51.22%. Nel follow-up, quindi, si sono verificati, tra i casi, 37 pazienti dove il valore di MRC è migliorato o rimasto stabile e 4 dove è peggiorato, mentre tra i controlli il valore di MRC è migliorato o rimasto stabile in 29 pazienti e peggiorato in 12. Picht et al.¹⁰¹ ha condotto uno studio in cui, paragonando due gruppi di pazienti affetti da gliomi d'alto grado, distinti nel Gruppo "nTMS & IOM" (n = 93) e nel Gruppo "IOM-only" (n = 34), sono stati riscontrati un tasso di GTR rispettivamente pari a 61% e 45%, e di deficit motorio postoperatorio permanente rispettivamente pari 15% e 13%. Krieg et al. ha effettuato uno studio retrospettivo dove sono stati raccolti i dati di 70 pazienti affetti da glioma d'alto grado in area eloquente e sottoposti a terapia multimodale nTMS+IONM (Coorte A), che sono stati paragonati con i dati di 70 pazienti affetti anch'essi da glioma d'alto grado in area eloquente ma in cui l'unico monitoraggio è stato effettuato mediante IONM (Coorte B). I risultati, nei quali fu anche distinto il grado dei gliomi, evidenziarono che nei pazienti della Coorte A affetti da glioma

di grado IV si sia verificata una riduzione dei casi di deficit motorio postoperatorio permanente associato a GTR (Coorte A 17.4%) rispetto a quelli della Coorte B (28.1%). Questi studi sostengono la teoria che l'aggiunta dell'nTMS al monitoraggio permetta di aumentare il tasso di GTR e, simultaneamente, ridurre il tasso di peggioramento del performance status motorio e generale.

A differenza degli studi appena citati, i nostri risultati sono stati inoltre associati alla misurazione dell'ultima variabile, cioè la differenza nella tempistica di accesso alla terapia adiuvante: per ogni paziente sono state individuate la data in cui è stato sottoposto alla resezione e la data in cui ha avuto inizio la terapia adiuvante. Nel Gruppo A, la distanza media tra i due eventi è stata 40.64 giorni, mentre nel Gruppo B 40.91 giorni. Questo in particolare è stato di grande importanza perché costituisce uno degli scopi dello studio: l'uso dell'nTMS nella preparazione preoperatoria dei pazienti affetti da GBM in area eloquente ha portato a tempi di accesso alla terapia adiuvante paragonabili a quelli dei pazienti con GBM in area non eloquente. È stato quindi possibile inviare tutti i pazienti alla terapia adiuvante, con i due gruppi che hanno presentato un numero di giorni medio privo di differenza significativa grazie al paragonabile performance status.

La letteratura ci mostra quali fattori siano associati alla sopravvivenza dei pazienti affetti da glioblastoma, in particolare: l'età <50anni, il performance status elevato, la resezione GTR, il promotore del gene MGMT metilato, il gene IDH mutato e i tempi di inizio della terapia oncologica¹¹. Diversi studi sulle tempistiche della terapia adiuvante hanno individuato risultati non sempre coincidenti, ma comunque concordi sul fatto che i tempi di inizio della terapia influenzano significativamente l'Overall Survival (OS)^{46,47,102}. Per quanto la letteratura ci dimostri che i migliori risultati in termini di sopravvivenza sono stati osservati quando la terapia oncologica viene iniziata tra le 4 e 8 settimane dalla resezione chirurgica, Buszek et al. ha effettuato uno studio dove è emerso che l'inizio della sola radioterapia (RT) >8 settimane dopo una resezione di tipo Gross Total (GTR) o <4 settimane dopo una di tipo Subtotal (STR) è associato in realtà ad una peggiore OS⁴⁶. Anche Randolph et al. ha effettuato uno studio dove i pazienti a cui la RT è stata iniziata >4 settimane presentavano migliori valori di OS e Progression Free Survival rispetto a quelli trattati prima di questo cut-off; tuttavia, il motivo di questi risultati,

confermati anche da Ahn et al.^{53,102}, potrebbe essere il fatto che i pazienti considerati in questi studi e che hanno svolto la RT prima delle 4 settimane si trovavano in una condizione di incompleta guarigione chirurgica e quindi con un performance status più basso, risentendo in maniera maggiore degli effetti collaterali della radioterapia stessa. Questo avvalorava l'evidenza relativa all'importanza che il performance status postoperatorio acquisisce rispetto alla tempestività della terapia ed all'OS del paziente in generale.

Inoltre, lo studio di Randolph et al. ha associato un OS e PFS peggiori in pazienti con un peggior performance status⁴⁷. In assenza neuromonitoraggio, i pazienti con GBM in area eloquente sono soggetti ad una maggiore difficoltà di effettuare la GTR, a peggior performance status pre- e postoperatorio, e a maggiore frequenza di deficit motorio postoperatorio.

In letteratura non sono presenti dati che evidenzino tutti i modi attraverso cui l'nTMS influenza la sopravvivenza dei GBM localizzati in area eloquente. Esistono tuttavia studi che hanno dimostrato come al suo utilizzo siano associati sia una maggiore frequenza di GTR e un miglior performance status postoperatorio. Questo studio ha verificato se ad essa sia associata anche una tempistica di accesso alla terapia adiuvante statisticamente paragonabile a quella dei pazienti affetti da GBM non eloquente. Per quanto in letteratura non sia accuratamente descritto, la pratica clinica suggerisce che la presenza di deficit postoperatorio influenzi fortemente tale tempistica.

Pertanto, considerando questi due fatti, la logica suggerisce che i GBM in area eloquente siano associati a peggior prognosi rispetto a quelli in area non eloquente, dato che oltre ai parametri spiegati sopra (GTR e performance status), la localizzazione comporta un ritardo nei tempi di accesso alla terapia adiuvante a sua volta associata ad un peggioramento della sopravvivenza.

Lo studio di Krieg et al. ha evidenziato un aumento dell'OS dato dalla terapia multimodale nTMS+IOMN rispetto all'utilizzo del solo IONM (Coorte A, valore mediano = 15.1 ± 11.1 mesi; Coorte B, valore mediano = 12.4 ± 10.615 mesi)¹⁰³. Tuttavia, non discute su quali possano essere le motivazioni di tali risultati. Questo lavoro di tesi si pone nello stesso ambito in quanto, seppur utilizzando una numerosità campionaria inferiore ed un follow-up più breve, considera i tempi di

accesso alla terapia adiuvante per valutare il ruolo che l'nTMS assume nell'outcome clinico dei pazienti affetti da GBM in area eloquente e, nel farlo, dimostra una sovrapposizione dei risultati ottenuti nei due gruppi.

Infine, è stato preso in considerazione il solo Gruppo A, i cui pazienti sono stati suddivisi tra coloro dove la distanza tra la lesione ed il CST (TTD) risultava ≤ 5 mm e coloro in cui risultava > 5 mm. Questa suddivisione è stata effettuata per verificare se fosse possibile stratificare il rischio di lesione associata a deficit motorio postoperatorio. Dato che ciò che si intendeva misurare era solo la presenza o meno di deficit motorio, per quest'analisi è stato considerato solo il parametro MRC score. Per misurare se esistesse una differenza significativa tra i due sottogruppi, relativamente al decorso post-resezione, i valori di MRC sono riorganizzati: invece dei valori assoluti, è stato osservato se il punteggio nel postoperatorio e nel follow-up sono peggiorati rispetto al preoperatorio. Così facendo, sono state ottenute delle variabili dicotomiche/qualitative, cioè la presenza o meno di peggioramento. La decisione di considerare il peggioramento, invece che il miglioramento, è stata presa sulla base del fatto che più un elevato numero di pazienti, al momento del ricovero, presentavano un MRC pari a 0/5. I punteggi di questi pazienti, quindi, non potevano migliorare. Calcolando il p Value, non è emersa una differenza significativa tra i gradi di peggioramento dei due gruppi. Rosenstock et al. ha effettuato uno studio in cui è stato stabilito, per il TTD, un cut-off di stratificazione del rischio pari a 8mm, in quanto non sono insorti casi di deficit per pazienti dove il TTD era superiore a tale valore⁵⁴. Siccome molti pazienti del Gruppo A presentavano un valore inferiore a 8mm, abbiamo deciso di provare a stabilire un cut-off minore e, come atteso, i risultati non hanno evidenziato una significativa differenza. Inoltre, si deve considerare che i pazienti in cui si è osservato un peggioramento del valore di MRC sono:

- Un paziente dove il TTD risultava essere ≤ 1 mm, pertanto le probabilità che insorgesse un deficit motorio postoperatorio erano elevatissime.
- Due pazienti in cui sono insorte complicanze:
 - o Un paziente ha sofferto un'emorragia epidurale per la quale è stato reso necessario un intervento di evacuazione.

- Un paziente ha sofferto una lesione ischemica iatrogena in territorio di arteria cerebrale media distale; tra l'altro il TTD di questo paziente era pari a 9mm e quindi maggiore rispetto al cut-off stabilito da Rosenstock et al⁵⁴.

Un'ultima variabile della quale sono stati raccolti i dati è stata la sopravvivenza (OS). Per poterla calcolare, sono state individuate le date in cui è avvenuta la resezione e quella in cui è avvenuto l'exitus dei pazienti. A causa del follow-up ancora troppo breve, non è stato possibile effettuare analisi statistiche, tuttavia possiamo immaginare che l'OS dei due gruppi potrà essere simile: tra i due gruppi, c'è stata una sovrapposizione statistica per quanto riguarda l'EOR, il performance status sia postoperatorio che nel follow-up, e per i tempi di accesso alla terapia adiuvante; per questi motivi, questo gruppo di studio ritiene ragionevole prevedere che anche l'OS sarà simile.

Lo studio ha quindi dimostrato come l'uso dell'nTMS all'interno del percorso terapeutico del GBM in area eloquente possa ridurre il rischio di deficit postoperatorio consentendo una terapia oncologica in tempi adeguati analogamente ad una lesione in area non eloquente. Questo significa che mediante un adeguato studio preoperatorio, che non richiede un consumo di energie o risorse eccezionale, un paziente affetto da GBM in area eloquente raggiunge le stesse probabilità di sopravvivenza e preservazione di funzione di un GBM in area non eloquente.

LIMITI

I limiti principali dello studio sono i seguenti.

Una numerosità campionaria ridotta, dovuta al fatto che i pazienti con GBM in area eloquente sottoposti a mappaggio preoperatorio con nTMS attualmente sono pochi per questioni di incidenza di malattia e recente utilizzo della metodica.

Il carattere dello studio è di tipo retrospettivo e dunque inficiato dai possibili errori di raccolta dei dati. Infine, la novità di questo argomento ha portato al fatto che il tempo trascorso dal momento in cui è stata effettuata la resezione e il momento in cui questo studio è stato effettuato, è ancora troppo breve affinché sia possibile effettuare una statistica di sopravvivenza che tuttavia sarà argomento di analisi successive.

CONCLUSIONE

In conclusione, un accurato mappaggio preoperatorio tramite nTMS permette di ottenere, nei pazienti affetti da GBM in area eloquente, gli stessi risultati in termini di GTR, performance status nell'immediato postoperatorio e nel follow-up rispetto ai risultati dei pazienti affetti da GBM in area non eloquente. Inoltre questi pazienti, mantenendo un grado di autonomia paragonabile, presentano simili tempi di accesso alla terapia oncologica adiuvante. Questo permette di declassificare lo status di eloquenza in area motoria da parametro di alto rischio di deficit postoperatorio, sia motorio che di performance generale, a parametro di rischio paragonabile ad una lesione in area non eloquente. Inoltre, considerando la paragonabilità dei dati di campione ottenuti, questo gruppo di studio ritiene di poter considerare come molto probabile che i pazienti con lesione in area eloquente potranno presentare, ad una successiva analisi statistica di sopravvivenza, valori paragonabili ai pazienti con lesione in area non eloquente.

BIBLIOGRAFIA

1. Ostrom QT, Patil N, Cioffi G, Waite K, Kruchko C, Barnholtz-Sloan JS. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2013-2017. *Neuro Oncol.* 2020;22(12 Suppl 2):iv1-iv96. doi:10.1093/neuonc/noaa200
2. Neftel C, Laffy J, Filbin MG, et al. An Integrative Model of Cellular States, Plasticity, and Genetics for Glioblastoma. *Cell.* 2019;178(4):835-849.e21. doi:10.1016/j.cell.2019.06.024
3. Snuderl M, Fazlollahi L, Le LP, et al. Mosaic Amplification of Multiple Receptor Tyrosine Kinase Genes in Glioblastoma. *Cancer Cell.* 2011;20(6):810-817. doi:10.1016/j.ccr.2011.11.005
4. Venteicher AS, Tirosh I, Hebert C, et al. Decoupling genetics, lineages, and microenvironment in IDH-mutant gliomas by single-cell RNA-seq. *Science.* 2017;355(6332). doi:10.1126/science.aai8478
5. Patel AP, Tirosh I, Trombetta JJ, et al. Single-cell RNA-seq highlights intratumoral heterogeneity in primary glioblastoma. *Science.* 2014;344(6190):1396-1401. doi:10.1126/science.1254257
6. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK. *World Health Organization Classification of Tumours of the Central Nervous System.* Vol 6. 5th ed. International Agency for Research on Cancer; 2021.
7. Neftel C, Laffy J, Filbin MG, et al. An Integrative Model of Cellular States, Plasticity, and Genetics for Glioblastoma. *Cell.* 2019;178(4):835-849.e21. doi:10.1016/j.cell.2019.06.024
8. Hodges LC, Smith JL, Garrett A, Tate S. Prevalence of glioblastoma multiforme in subjects with prior therapeutic radiation. *J Neurosci Nurs.* 1992;24(2):79-83. doi:10.1097/01376517-199204000-00005
9. Ostrom QT, Bauchet L, Davis FG, et al. The epidemiology of glioma in adults: a “state of the science” review. *Neuro-Oncology.* 2014;16(7):896-913. doi:10.1093/neuonc/nou087
10. Ostrom QT, Gittleman H, Stetson L, Virk SM, Barnholtz-Sloan JS. Epidemiology of gliomas. *Cancer Treat Res.* 2015;163:1-14. doi:10.1007/978-3-319-12048-5_1
11. Board WC of TE. *Central Nervous System Tumours.* International Agency for Research on Cancer; 2022.
12. Kim B, Tabori U, Hawkins C. An update on the CNS manifestations of brain tumor polyposis syndromes. *Acta Neuropathol.* 2020;139(4):703-715. doi:10.1007/s00401-020-02124-y
13. Kanderi T, Gupta V. Glioblastoma Multiforme - StatPearls - NCBI Bookshelf - 2022. Accessed January 23, 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK558954/>
14. BATZDORF U, MALAMUD N. THE PROBLEM OF MULTICENTRIC GLIOMAS. *J Neurosurg.* 1963;20:122-136. doi:10.3171/jns.1963.20.2.0122

15. Ribbert H. Über das Spongioblastom und das Gliom. *Virchows Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medizin*. 1918;225(2):195-213. doi:10.1007/BF01971185
16. Ferguson S, Lesniak MS. Percival Bailey and the classification of brain tumors. *Neurosurgical Focus FOC*. 2005;18(4):1-6. doi:10.3171/foc.2005.18.4.8
17. Zülch KJ. Historical development of the classification of brain tumours and the new proposal of the world health organization (WHO). *Neurosurgical Review*. 1981;4(3):123-127. doi:10.1007/BF01743637
18. Daumas-Duport C, Scheithauer B, O'Fallon J, Kelly P. Grading of astrocytomas. A simple and reproducible method. *Cancer*. 1988;62(10):2152-2165. doi:10.1002/1097-0142(19881115)62:10<2152::aid-cnrc2820621015>3.0.co;2-t
19. Kleihues P, Burger PC, Scheithauer BW. The new WHO classification of brain tumours. *Brain Pathol*. 1993;3(3):255-268. doi:10.1111/j.1750-3639.1993.tb00752.x
20. Kleihues P, Louis DN, Scheithauer BW, et al. The WHO classification of tumors of the nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2002;61(3):215-225; discussion 226-229. doi:10.1093/jnen/61.3.215
21. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol*. 2007;114(2):97-109. doi:10.1007/s00401-007-0243-4
22. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol*. 2016;131(6):803-820. doi:10.1007/s00401-016-1545-1
23. Ohgaki H, Kleihues P. The Definition of Primary and Secondary Glioblastoma. *Clinical Cancer Research*. 2013;19(4):764-772. doi:10.1158/1078-0432.CCR-12-3002
24. Chen L, Voronovich Z, Clark K, et al. Predicting the likelihood of an isocitrate dehydrogenase 1 or 2 mutation in diagnoses of infiltrative glioma. *Neuro-Oncology*. 2014;16(11):1478-1483. doi:10.1093/neuonc/nou097
25. Comprehensive, Integrative Genomic Analysis of Diffuse Lower-Grade Gliomas. *N Engl J Med*. 2015;372(26):2481-2498. doi:10.1056/NEJMoa1402121
26. Tesileanu CMS, Dirven L, Wijnenga MMJ, et al. Survival of diffuse astrocytic glioma, IDH1/2 wildtype, with molecular features of glioblastoma, WHO grade IV: a confirmation of the cIMPACT-NOW criteria. *Neuro-Oncology*. 2020;22(4):515-523. doi:10.1093/neuonc/noz200
27. Brat DJ, Aldape K, Colman H, et al. cIMPACT-NOW update 3: recommended diagnostic criteria for "Diffuse astrocytic glioma, IDH-wildtype, with molecular features of glioblastoma, WHO grade IV". *Acta Neuropathol*. 2018;136(5):805-810. doi:10.1007/s00401-018-1913-0
28. Louis DN, Wesseling P, Aldape K, et al. cIMPACT-NOW update 6: new entity and diagnostic principle recommendations of the cIMPACT-Utrecht meeting on future CNS tumor classification and grading. *Brain Pathology*. 2020;30(4):844-856. doi:10.1111/bpa.12832
29. Gritsch S, Batchelor TT, Gonzalez Castro LN. Diagnostic, therapeutic, and prognostic implications of the 2021 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system. *Cancer*. 2022;128(1):47-58. doi:10.1002/cncr.33918

30. Komori T. [The 2021 WHO Classification of Tumors, 5th edition, Central Nervous System Tumors: A Short Review]. *Brain Nerve*. 2022;74(6):803-809. doi:10.11477/mf.1416202124
31. Louis DN, Perry A, Wesseling P, et al. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro-Oncology*. 2021;23(8):1231-1251. doi:10.1093/neuonc/noab106
32. Andreiuolo F, Le Teuff G, Bayar MA, et al. Integrating Tenascin-C protein expression and 1q25 copy number status in pediatric intracranial ependymoma prognostication: A new model for risk stratification. *PLoS One*. 2017;12(6):e0178351. doi:10.1371/journal.pone.0178351
33. Capper D, Jones DTW, Sill M, et al. DNA methylation-based classification of central nervous system tumours. *Nature*. 2018;555(7697):469-474. doi:10.1038/nature26000
34. Capper D, Stichel D, Sahm F, et al. Practical implementation of DNA methylation and copy-number-based CNS tumor diagnostics: the Heidelberg experience. *Acta Neuropathologica*. 2018;136(2):181-210. doi:10.1007/s00401-018-1879-y
35. Ohgaki H, Kleihues P. Genetic pathways to primary and secondary glioblastoma. *Am J Pathol*. 2007;170(5):1445-1453. doi:10.2353/ajpath.2007.070011
36. McKinnon C, Nandhabalan M, Murray SA, Plaha P. Glioblastoma: clinical presentation, diagnosis, and management. *BMJ*. 2021;374:n1560. doi:10.1136/bmj.n1560
37. Ozawa M, Brennan PM, Zienius K, et al. The usefulness of symptoms alone or combined for general practitioners in considering the diagnosis of a brain tumour: a case-control study using the clinical practice research database (CPRD) (2000-2014). *BMJ Open*. 2019;9(8):e029686. doi:10.1136/bmjopen-2019-029686
38. Bernstein M, Berger MS. Neuro-oncology: the essentials. Published online 2015.
39. Scott JN, Brasher PMA, Sevicik RJ, Rewcastle NB, Forsyth PA. How often are nonenhancing supratentorial gliomas malignant? A population study. *Neurology*. 2002;59(6):947-949. doi:10.1212/wnl.59.6.947
40. Dajani S, Hill VB, Kalapurakal JA, et al. Imaging of GBM in the Age of Molecular Markers and MRI Guided Adaptive Radiation Therapy. *Journal of Clinical Medicine*. 2022;11(19). doi:10.3390/jcm11195961
41. Minniti G, Niyazi M, Alongi F, Navarria P, Belka C. Current status and recent advances in reirradiation of glioblastoma. *Radiat Oncol*. 2021;16(1):36. doi:10.1186/s13014-021-01767-9
42. Chen S, Visintini S. *Extended Dosing (12 Cycles) of Adjuvant Temozolomide in Adults with Newly Diagnosed High Grade Gliomas: A Review of Clinical Effectiveness, Cost-Effectiveness, and Guidelines*. Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health; 2018. Accessed March 5, 2023. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531884/>
43. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, et al. Radiotherapy plus Concomitant and Adjuvant Temozolomide for Glioblastoma. *New England Journal of Medicine*. 2005;352(10):987-996. doi:10.1056/NEJMoa043330
44. Alimohammadi E, Bagheri SR, Taheri S, Dayani M, Abdi A. The impact of extended adjuvant temozolomide in newly diagnosed glioblastoma multiforme: a meta-analysis and systematic review. *Oncol Rev*. 2020;14(1):461. doi:10.4081/oncol.2020.461

45. phase II randomized, multicenter, open-label trial of continuing adjuvant temozolomide beyond 6 cycles in patients with glioblastoma (GEINO 14-01) | *Neuro-Oncology* | Oxford Academic. Accessed March 5, 2023. <https://academic.oup.com/neuro-oncology/article/22/12/1851/5824410>
46. Buszek SM, Al Feghali KA, Elhalawani H, Chevli N, Allen PK, Chung C. Optimal Timing of Radiotherapy Following Gross Total or Subtotal Resection of Glioblastoma: A Real-World Assessment using the National Cancer Database. *Scientific Reports*. 2020;10(1):4926. doi:10.1038/s41598-020-61701-z
47. Randolph DM, McTyre ER, Paulsson AK, et al. Impact of timing of radiotherapy in patients with newly diagnosed glioblastoma. *Clin Neurol Neurosurg*. 2016;151:73-78. doi:10.1016/j.clineuro.2016.10.012
48. Amidei C, Kushner DS. Clinical implications of motor deficits related to brain tumors. *Neurooncol Pract*. 2015;2(4):179-184. doi:10.1093/nop/npv017
49. Weiss Lucas C, Faymonville AM, Loução R, et al. Surgery of Motor Eloquent Glioblastoma Guided by TMS-Informed Tractography: Driving Resection Completeness Towards Prolonged Survival. *Frontiers in Oncology*. 2022;12. doi:10.3389/fonc.2022.874631
50. Anatomia funzionale del sistema nervoso - Giuseppina Mazzocchi - Gastone Nussdorfer - - Libro - Cortina (Padova) - | IBS. Accessed March 6, 2023. <https://www.ibs.it/anatomia-funzionale-del-sistema-nervoso-libro-giuseppina-mazzocchi-gastone-nussdorfer/e/9788877841766>
51. Hannula H, Ilmoniemi RJ. Basic Principles of Navigated TMS. In: M. Krieg S, ed. *Navigated Transcranial Magnetic Stimulation in Neurosurgery*. Springer International Publishing; 2017:3-29. doi:10.1007/978-3-319-54918-7_1
52. Ruohonen J, Ilmoniemi RJ. Chapter 2 - Basic Physics and Design of Transcranial Magnetic Stimulation Devices and Coils. In: Hallett M, Chokroverty S, eds. *Magnetic Stimulation in Clinical Neurophysiology (Second Edition)*. Butterworth-Heinemann; 2005:17-30. doi:10.1016/B978-0-7506-7373-0.50005-5
53. Schiavao LJV, Neville Ribeiro I, Yukie Hayashi C, et al. Assessing the Capabilities of Transcranial Magnetic Stimulation (TMS) to Aid in the Removal of Brain Tumors Affecting the Motor Cortex: A Systematic Review. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2022;18:1219-1235. doi:10.2147/NDT.S359855
54. Rosenstock T, Grittner U, Acker G, et al. Risk stratification in motor area-related glioma surgery based on navigated transcranial magnetic stimulation data. *J Neurosurg*. 2017;126(4):1227-1237. doi:10.3171/2016.4.JNS152896
55. TMS and threshold hunting - PubMed. Accessed February 16, 2023. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14677378/>
56. Chen R, Cros D, Curra A, et al. The clinical diagnostic utility of transcranial magnetic stimulation: report of an IFCN committee. *Clin Neurophysiol*. 2008;119(3):504-532. doi:10.1016/j.clinph.2007.10.014
57. Rossini PM, Barker AT, Berardelli A, et al. Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord and roots: basic principles and procedures for routine clinical application. Report of an IFCN committee. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1994;91(2):79-92. doi:10.1016/0013-4694(94)90029-9

58. Säisänen L, Julkunen P, Niskanen E, et al. Motor potentials evoked by navigated transcranial magnetic stimulation in healthy subjects. *J Clin Neurophysiol*. 2008;25(6):367-372. doi:10.1097/WNP.0b013e31818e7944
59. Zdunczyk A, Fleischmann R, Schulz J, Vajkoczy P, Picht T. The reliability of topographic measurements from navigated transcranial magnetic stimulation in healthy volunteers and tumor patients. *Acta Neurochir (Wien)*. 2013;155(7):1309-1317. doi:10.1007/s00701-013-1665-5
60. Robles SG, Gatignol P, Lehericy S, Duffau H. Long-term brain plasticity allowing a multistage surgical approach to World Health Organization Grade II gliomas in eloquent areas: Report of 2 cases. *Journal of Neurosurgery JNS*. 2008;109(4):615-624. doi:10.3171/JNS/2008/109/10/0615
61. Southwell DG, Hervey-Jumper SL, Perry DW, Berger MS. Intraoperative mapping during repeat awake craniotomy reveals the functional plasticity of adult cortex. *Journal of Neurosurgery*. 2016;124(5):1460-1469. doi:10.3171/2015.5.JNS142833
62. Freundlieb N, Philipp S, Drabik A, Gerloff C, Forkert ND, Hummel FC. Ipsilesional motor area size correlates with functional recovery after stroke: A 6-month follow-up longitudinal TMS motor mapping study. *Restorative Neurology and Neuroscience*. 2015;33(2):221-231. doi:10.3233/RNN-140454
63. Duffau H. Lessons from brain mapping in surgery for low-grade glioma: insights into associations between tumour and brain plasticity. *The Lancet Neurology*. 2005;4(8):476-486. doi:10.1016/S1474-4422(05)70140-X
64. Duffau H, Denvil D, Capelle L. Long term reshaping of language, sensory, and motor maps after glioma resection: a new parameter to integrate in the surgical strategy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2002;72(4):511-516. doi:10.1136/jnnp.72.4.511
65. Tarapore PE, Berger MS. Outlook on the Potential of nTMS in Neurosurgery. In: M. Krieg S, ed. *Navigated Transcranial Magnetic Stimulation in Neurosurgery*. Springer International Publishing; 2017:287-299. doi:10.1007/978-3-319-54918-7_17
66. Galluzzi S, Lanni C, Pantoni L, Filippi M, Frisoni GB. White matter lesions in the elderly: Pathophysiological hypothesis on the effect on brain plasticity and reserve. *Journal of the Neurological Sciences*. 2008;273(1):3-9. doi:10.1016/j.jns.2008.06.023
67. Herbet G, Maheu M, Costi E, Lafargue G, Duffau H. Mapping neuroplastic potential in brain-damaged patients. *Brain*. 2016;139(3):829-844. doi:10.1093/brain/awv394
68. Harris NG, Nogueira MSM, Verley DR, Sutton RL. Chondroitinase Enhances Cortical Map Plasticity and Increases Functionally Active Sprouting Axons after Brain Injury. *Journal of Neurotrauma*. 2013;30(14):1257-1269. doi:10.1089/neu.2012.2737
69. Rienzo FD, Guillot A, Mateo S, et al. Neuroplasticity of prehensile neural networks after quadriplegia. *Neuroscience*. 2014;274:82-92. doi:https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.05.021
70. Levy R, Ruland S, Weinand M, Lowry D, Dafer R, Bakay R. Cortical stimulation for the rehabilitation of patients with hemiparetic stroke: a multicenter feasibility study of safety and efficacy. *Journal of Neurosurgery*. 2008;108(4):707-714. doi:10.3171/JNS/2008/108/4/0707
71. Duffau H. Diffuse low-grade gliomas and neuroplasticity. *Diagnostic and Interventional Imaging*. 2014;95(10):945-955. doi:10.1016/j.diii.2014.08.001

72. Mechanisms of developmental neurite pruning | SpringerLink. Accessed February 16, 2023. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00018-014-1729-6>
73. Cortical Inhibition Reduces Information Redundancy at Presentation of Communication Sounds in the Primary Auditory Cortex | Journal of Neuroscience. Accessed February 16, 2023. <https://www.jneurosci.org/content/33/26/10713>
74. Duffau H. Acute functional reorganisation of the human motor cortex during resection of central lesions: a study using intraoperative brain mapping. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2001;70(4):506-513. doi:10.1136/jnnp.70.4.506
75. Krainik A, Duffau H, Capelle L, et al. Role of the healthy hemisphere in recovery after resection of the supplementary motor area. *Neurology*. 2004;62(8):1323-1332. doi:10.1212/01.wnl.0000120547.83482.b1
76. Sarubbo S, Latini F, Sette E, et al. Is the resection of gliomas in Wernicke's area reliable?: Wernicke's area resection. *Acta Neurochir (Wien)*. 2012;154(9):1653-1662. doi:10.1007/s00701-012-1416-z
77. Krieg SM, Sollmann N, Hauck T, et al. Functional Language Shift to the Right Hemisphere in Patients with Language-Eloquent Brain Tumors. *PLOS ONE*. 2013;8(9):e75403. doi:10.1371/journal.pone.0075403
78. Krieg SM, Sollmann N, Hauck T, Ille S, Meyer B, Ringel F. Repeated mapping of cortical language sites by preoperative navigated transcranial magnetic stimulation compared to repeated intraoperative DCS mapping in awake craniotomy. *BMC Neuroscience*. 2014;15(1):20. doi:10.1186/1471-2202-15-20
79. Keidel JL, Welbourne SR, Lambon Ralph MA. Solving the paradox of the equipotential and modular brain: A neurocomputational model of stroke vs. slow-growing glioma. *Neuropsychologia*. 2010;48(6):1716-1724. doi:10.1016/j.neuropsychologia.2010.02.019
80. Charras P, Herbet G, Deverduin J, et al. Functional reorganization of the attentional networks in low-grade glioma patients: A longitudinal study. *Cortex*. 2015;63:27-41. doi:10.1016/j.cortex.2014.08.010
81. Kuo MF, Paulus W, Nitsche MA. Sex differences in cortical neuroplasticity in humans. *NeuroReport*. 2006;17(16):1703. doi:10.1097/01.wnr.0000239955.68319.c2
82. Krieg SM, Schnurbus L, Shiban E, et al. Surgery of highly eloquent gliomas primarily assessed as non-resectable: risks and benefits in a cohort study. *BMC Cancer*. 2013;13(1):51. doi:10.1186/1471-2407-13-51
83. Kawashima A, Krieg SM, Faust K, Schneider H, Vajkoczy P, Picht T. Plastic reshaping of cortical language areas evaluated by navigated transcranial magnetic stimulation in a surgical case of glioblastoma multiforme. *Clinical Neurology and Neurosurgery*. 2013;115(10):2226-2229. doi:<https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2013.07.012>
84. Takahashi S, Jussen D, Vajkoczy P, Picht T. Plastic relocation of motor cortex in a patient with LGG (low grade glioma) confirmed by NBS (navigated brain stimulation). *Acta Neurochirurgica*. 2012;154(11):2003-2008. doi:10.1007/s00701-012-1492-0
85. Picht T, Schulz J, Hanna M, Schmidt S, Suess O, Vajkoczy P. Assessment of the Influence of Navigated Transcranial Magnetic Stimulation on Surgical Planning for Tumors in or Near the Motor Cortex. *Neurosurgery*. 2012;70(5).

https://journals.lww.com/neurosurgery/Fulltext/2012/05000/Assessment_of_the_Influence_of_Navigated.22.aspx

86. Danner N, Julkunen P, Könönen M, Säisänen L, Nurkkala J, Karhu J. Navigated transcranial magnetic stimulation and computed electric field strength reduce stimulator-dependent differences in the motor threshold. *J Neurosci Methods*. 2008;174(1):116-122. doi:10.1016/j.jneumeth.2008.06.032
87. Schmidt S, Bathe-Peters R, Fleischmann R, Rönnefarth M, Scholz M, Brandt SA. Nonphysiological factors in navigated TMS studies; confounding covariates and valid intracortical estimates. *Hum Brain Mapp*. 2015;36(1):40-49. doi:10.1002/hbm.22611
88. Sartori L, Caliri SL, Baro V, et al. Selective Stimulus Intensity during Hotspot Search Ensures Faster and More Accurate Preoperative Motor Mapping with nTMS. *Brain Sci*. 2023;13(2):285. doi:10.3390/brainsci13020285
89. Bastos D, Prabhu SS. nTMS Motor Mapping: Basic Principles and Clinical Use. In: M. Krieg S, ed. *Navigated Transcranial Magnetic Stimulation in Neurosurgery*. Springer International Publishing; 2017:87-95. doi:10.1007/978-3-319-54918-7_5
90. Prabhu SS, Gasco J, Tummala S, Weinberg JS, Rao G. Intraoperative magnetic resonance imaging-guided tractography with integrated monopolar subcortical functional mapping for resection of brain tumors. Clinical article. *J Neurosurg*. 2011;114(3):719-726. doi:10.3171/2010.9.JNS10481
91. Conway N, Wildschuetz N, Moser T, et al. Cortical plasticity of motor-eloquent areas measured by navigated transcranial magnetic stimulation in patients with glioma. *J Neurosurg*. 2017;127(5):981-991. doi:10.3171/2016.9.JNS161595
92. Raffa G, Scibilia A, Germanò A, Conti A. nTMS-Based DTI Fiber Tracking of Motor Pathways. In: M. Krieg S, ed. *Navigated Transcranial Magnetic Stimulation in Neurosurgery*. Springer International Publishing; 2017:97-114. doi:10.1007/978-3-319-54918-7_6
93. Conti A, Raffa G, Granata F, Rizzo V, Germanò A, Tomasello F. Navigated Transcranial Magnetic Stimulation for “Somatotopic” Tractography of the Corticospinal Tract. *Operative Neurosurgery*. 2014;10(4). https://journals.lww.com/onsonline/Fulltext/2014/12000/Navigated_Transcranial_Magnetic_Stimulation_for.6.aspx
94. Brown TJ, Brennan MC, Li M, et al. Association of the Extent of Resection With Survival in Glioblastoma: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Oncol*. 2016;2(11):1460-1469. doi:10.1001/jamaoncol.2016.1373
95. Wisoff JH, Boyett JM, Berger MS, et al. Current neurosurgical management and the impact of the extent of resection in the treatment of malignant gliomas of childhood: a report of the Children’s Cancer Group trial no. CCG-945. *J Neurosurg*. 1998;89(1):52-59. doi:10.3171/jns.1998.89.1.0052
96. Mariniello G, Peca C, De Caro MDB, Giamundo A, Donzelli R, Maiuri F. Glioblastoma in the elderly: the impact of advanced age on treatment and survival. *J Neurol Surg A Cent Eur Neurosurg*. 2014;75(4):276-281. doi:10.1055/s-0033-1349713
97. Omuro A, DeAngelis LM. Glioblastoma and Other Malignant Gliomas: A Clinical Review. *JAMA*. 2013;310(17):1842-1850. doi:10.1001/jama.2013.280319

98. Fyllingen EH, Bø LE, Reinertsen I, et al. Survival of glioblastoma in relation to tumor location: a statistical tumor atlas of a population-based cohort. *Acta Neurochir (Wien)*. 2021;163(7):1895-1905. doi:10.1007/s00701-021-04802-6
99. Rosenstock T, Tuncer MS, Münch MR, Vajkoczy P, Picht T, Faust K. Preoperative nTMS and Intraoperative Neurophysiology - A Comparative Analysis in Patients With Motor-Eloquent Glioma. *Front Oncol*. 2021;11:676626. doi:10.3389/fonc.2021.676626
100. Raffa G, Scibilia A, Conti A, et al. Multimodal Surgical Treatment of High-Grade Gliomas in the Motor Area: The Impact of the Combination of Navigated Transcranial Magnetic Stimulation and Fluorescein-Guided Resection. *World Neurosurg*. 2019;128:e378-e390. doi:10.1016/j.wneu.2019.04.158
101. Picht T, Frey D, Thieme S, Kliesch S, Vajkoczy P. Presurgical navigated TMS motor cortex mapping improves outcome in glioblastoma surgery: a controlled observational study. *Journal of Neuro-Oncology*. 2016;126(3):535-543. doi:10.1007/s11060-015-1993-9
102. Ahn S, Park JS, Song JH, Jeun SS, Hong YK. Effect of a Time Delay for Concomitant Chemoradiation After Surgery for Newly Diagnosed Glioblastoma: A Single-Institution Study with Subgroup Analysis According to the Extent of Tumor Resection. *World Neurosurg*. 2020;133:e640-e645. doi:10.1016/j.wneu.2019.09.122
103. Krieg SM, Sollmann N, Obermueller T, et al. Changing the clinical course of glioma patients by preoperative motor mapping with navigated transcranial magnetic brain stimulation. *BMC Cancer*. 2015;15:231. doi:10.1186/s12885-015-1258-1