



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia

Dipartimento di Neuroscienze

Direttore: Chiar.mo Prof. Raffaele De Caro

Unità Operativa Complessa di Neurochirurgia

Azienda ULSS 2 Marca Trevigiana

Ospedale di Treviso

Direttore: Dott. Giuseppe Canova

TESI DI LAUREA

Studio prospettico sull'evolutiveità dell'edema perilesionale
nelle lesioni espansive cerebrali pre- e post-chirurgia:
analisi multimodale con tecniche avanzate di neuroimaging

Relatore: Prof.ssa Elisabetta Marton

Correlatore: Dott.ssa Elena Trincia

Laureanda: Greta Gardenal

Anno Accademico 2022/2023

INDICE

RIASSUNTO	1
ABSTRACT	3
PARTE I – INTRODUZIONE	5
1. LESIONI ESPANSIVE CEREBRALI	5
1.1. GLIOMI	5
1.1.1. Definizione ed epidemiologia	5
1.1.2. Eziologia	6
1.1.3. Manifestazioni cliniche	6
1.1.4. Diagnosi	7
1.1.5. Classificazione WHO 2021	7
1.1.6. Gliomi diffusi dell’adulto	10
1.1.6.1. Astrocitoma IDH mutato (WHO 2-4)	10
1.1.6.2. Oligodendroglioma IDH mutato e 1p/19q codeleto (WHO 2, 3)	12
1.1.6.3. Glioblastoma IDH <i>wildtype</i> (WHO 4)	13
1.2. METASTASI CEREBRALI	15
1.2.1. Classificazione ed epidemiologia	15
1.2.2. Patogenesi	17
1.2.3. Manifestazioni cliniche	17
1.2.4. Diagnosi	18
1.2.5. Trattamento	18
1.2.6. Prognosi	19
2. IMAGING RM DELLE LESIONI ESPANSIVE CEREBRALI	21
2.1. METODICA RM	21
2.1.1. Principi fisici di base	21
2.1.2. Parametri del segnale RM	24
2.1.2.1. Parametri intrinseci	24

2.1.2.2.	Parametri estrinseci	25
2.1.3.	Formazione dell'immagine RM	27
2.2.	SEQUENZE RM: TECNICHE CONVENZIONALI	28
2.2.1.	Sequenze <i>Spin-Echo</i> e <i>Turbo Spin-Echo</i>	28
2.2.2.	Sequenza <i>Gradient-Recalled-Echo</i> o <i>Gradient-Echo</i>	29
2.2.3.	Sequenza <i>Inversion Recovery</i>	30
2.3.	AZIONE DEI MEZZI DI CONTRASTO SUI TEMPI DI RILASSAMENTO	30
2.4.	SEQUENZE RM: TECNICHE AVANZATE	31
2.4.1.	Diffusione	31
2.4.2.	Tensore di diffusione e trattografia	32
2.4.3.	Perfusione	34
2.4.3.1.	Imaging di perfusione RM con tecnica DSCE	35
2.4.4.	Spettroscopia	36
2.4.4.1.	Metaboliti rilevati nel cervello umano in condizioni fisiologiche e patologiche	37
2.5.	CARATTERISTICHE RADIOLOGICHE DELLE LESIONI ESPANSIVE CEREBRALI	39
2.5.1.	Gliomi diffusi dell'adulto	39
2.5.1.1.	Astrocitoma IDH mutato (WHO 2-4)	39
2.5.1.2.	Oligodendroglioma IDH mutato e 1p/19q codeleto (WHO 2, 3)	41
2.5.1.3.	Glioblastoma IDH <i>wildtype</i> (WHO 4)	42
2.5.2.	Metastasi cerebrali	44
3.	EDEMA PERILESIONALE	49
3.1.	EDEMA CEREBRALE	49
3.2.	EDEMA VASOGENICO	50
3.2.1.	Anatomia e fisiologia della barriera emato-encefalica	50
3.2.2.	Meccanismi di danno della barriera emato-encefalica e edema perilesionale nei gliomi	51

3.2.3. Meccanismi di danno della barriera emato-encefalica e edema perilesionale nelle metastasi	53
3.3. EDEMA INFILTRANTE	54
3.3.1. Edema vasogenico puro vs edema vasogenico misto	54
3.3.2. Pattern di crescita dei gliomi	54
3.3.3. Da edema peritumorale a <i>Peritumoral Brain Zone</i>	56
3.3.3.1. Caratterizzazione cellulare della <i>Peritumoral Brain Zone</i>	57
3.3.3.2. Profilo molecolare della <i>Peritumoral Brain Zone</i>	58
3.4. VALUTAZIONE RADIOLOGICA DELL'EDEMA PERILESIONALE	59
3.4.1. Limiti della valutazione dell'edema perilesionale mediante tecniche RM di studio convenzionale	59
3.4.2. Applicazione delle tecniche RM di studio avanzato nella valutazione dell'edema perilesionale pre-chirurgia	61
3.4.2.1. Diffusione	61
3.4.2.2. Tensore di diffusione e trattografia	62
3.4.2.3. Perfusion	63
3.4.2.4. Spettroscopia	64
3.4.2.5. Analisi radiomica	65
3.4.3. Applicazione delle tecniche RM di studio avanzato nella valutazione delle lesioni trattate	65
3.4.3.1. Diffusione	65
3.4.3.2. Tensore di diffusione e trattografia	66
3.4.3.3. Perfusion	66
3.4.3.4. Spettroscopia	67
PARTE II – STUDIO	69
4. SCOPO DELLO STUDIO	69
5. MATERIALI E METODI	71
5.1. DISEGNO DELLO STUDIO E IDENTIFICAZIONE DEI PAZIENTI	71

5.2.	RACCOLTA DATI	72
5.3.	INTERVENTO CHIRURGICO	73
5.4.	TRATTAMENTO POST-CHIRURGICO E FOLLOW-UP	74
5.5.	PROTOCOLLO DI STUDIO RM	75
5.5.1.	Acquisizione delle immagini RM	75
5.5.2.	Analisi ed elaborazione delle immagini RM	76
5.5.3.	Timing dello studio RM	78
5.6.	ANALISI MULTIMODALE DELL'EDEMA PERILESIONALE	79
5.6.1.	Segmentazione	79
5.6.1.1.	Segmentazione e quantificazione volumetrica dell'edema perilesionale pre-operatorio	80
5.6.1.2.	Segmentazione e quantificazione volumetrica dell'edema perilesionale post-operatorio	84
5.6.2.	Determinazione dell'ADC <i>ratio</i> perilesionale	87
5.6.2.1.	Determinazione dell'ADC <i>ratio</i> perilesionale pre-operatorio	87
5.6.2.2.	Determinazione dell'ADC <i>ratio</i> perilesionale post-operatorio	88
5.6.3.	Valutazione della neoangiogenesi perilesionale nei gliomi diffusi	89
5.7.	ANALISI STATISTICA	90
6.	RISULTATI	91
6.1.	CARATTERISTICHE CLINICO-DEMOGRAFICHE	91
6.2.	CARATTERISTICHE IMMUNOISTOCHEMICHE E MOLECOLARI DEI GLIOBLASTOMI	92
6.3.	<i>OUTCOME</i> OPERATORI E POST-CHIRURGICI	93
6.4.	<i>OUTCOME</i> DI SOPRAVVIVENZA	94
6.5.	RISULTATI DELL'ANALISI MULTIMODALE DELL'EDEMA PERILESIONALE	96
6.5.1.	Risultati dell'analisi quantitativa volumetrica	96
6.5.2.	Risultati dell'analisi delle mappe di ADC	97

6.5.3. Risultati della valutazione della neoangiogenesi perilesionale nei glioblastomi	99
6.6.1. Glioblastoma IDH <i>wildtype</i> : un caso di edema infiltrante	99
6.6.2. Metastasi cerebrale da adenocarcinoma polmonare: un caso di edema vasogenico puro	103
7. DISCUSSIONE	109
8. CONCLUSIONI	121
BIBLIOGRAFIA	123

ABBREVIAZIONI

ADC	<i>Apparent diffusion coefficient</i>
AQP4	Acquaporina 4
AS	<i>Awake surgery</i>
ATRX	<i>Alpha-thalassemia/mental retardation syndrome x-linked gene</i>
BEE	Barriera emato-encefalica
CBF	<i>Cerebral blood flow</i>
CBV	<i>Cerebral blood volume</i>
CDKN2A/B	<i>Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A/B gene</i>
Cho	Colina
Cr	Creatina
CSI	<i>Chemical shift imaging</i>
DP	Densità protonica
DSCE	<i>Dynamic susceptibility contrast-enhanced</i>
DTI	<i>Diffusion tensor imaging</i>
DWI	<i>Diffusion-weighted imaging</i>
EGFR	<i>Epidermal growth factor receptor gene</i>
EPI	<i>Echo planar imaging</i>
FA	<i>Fractional anisotropy</i>
FID	<i>Free induction decay</i>
FLAIR	<i>Fluid-attenuated inversion recovery</i>
FSE	<i>Fast spin-echo</i>
GBCA	<i>Gadolinium-based contrast agent</i>
GBM	Glioblastoma
GFAP	<i>Glial fibrillary acidic protein</i>
Gln	Glutamina
Glu	Glutammato
Glx	Glutamina/glutammato
GRE/GE	<i>Gradient-recalled-echo/gradient-echo</i>
IDH1/2	<i>Isocitrate dehydrogenase genes 1/2</i>

IHC	Immunoistochimica
IQR	<i>Interquartile range</i>
IR	<i>Inversion recovery</i>
Lac	Lattato
Lip	Lipidi
MD	<i>Mean diffusivity</i>
Mdc	Mezzo di contrasto
MEC	Matrice extracellulare
MGMT	<i>O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase gene</i>
mI	Mioinositolo
MRS	<i>Magnetic resonance spectroscopy</i>
MTT	<i>Mean transit time</i>
NAA	N-acetil-aspartato
OS	<i>Overall survival</i>
PBZ	<i>Peritumoral brain zone</i>
PWI	<i>Perfusion-weighted imaging</i>
rCBF	<i>relative cerebral blood flow</i>
rCBV	<i>relative cerebral blood volume</i>
RF	Radiofrequenza
RM	Risonanza magnetica
ROI	<i>Region of interest</i>
SD	<i>Standard deviation</i>
SE	<i>Spin-echo</i>
SNC	Sistema nervoso centrale
SRS	<i>Stereotactic radiosurgery</i>
SRT	<i>Stereotactic radiotherapy</i>
SWI	<i>Susceptibility-weighted imaging</i>
T1	Tempo di rilassamento longitudinale o spin-reticolo
T1-CE	<i>T1-contrast enhanced</i>
T2	Tempo di rilassamento trasversale o spin-spin
TC	Tomografia computerizzata

TC	<i>Tumor core</i>
TE	Tempo di eco
TERT	<i>Telomerase reverse transcriptase gene</i>
TR	Tempo di ripetizione
TSE	<i>Turbo spin-echo</i>
TTP	<i>Time to peak</i>
VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i>
VIBE	<i>Volumetric interpolated breath-hold examination</i>
VOI	<i>Volume of interest</i>
WBRT	<i>Whole brain radiation therapy</i>
WHO CNS	<i>World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System</i>

RIASSUNTO

Presupposti dello studio. L'edema perilesionale rappresenta spesso il substrato fisiopatologico delle manifestazioni cliniche per le quali i pazienti con lesioni espansive cerebrali giungono all'attenzione medica. Nelle metastasi cerebrali l'edema è solo di tipo vasogenico e si riduce gradualmente con l'asportazione della massa. Nei gliomi diffusi, invece, esso presenta un esteso infiltrato di cellule neoplastiche, che aumentano il volume stesso della malattia neoplastica. La risonanza magnetica (RM), mediante metodiche di studio convenzionale e avanzato, integrate nell'imaging multimodale, consente di caratterizzare in modo non invasivo l'edema perilesionale. L'applicazione allo studio RM di tecniche di segmentazione permette di quantificarlo, fornendo una stima volumetrica della diffusione microscopica della malattia neoplastica. Ad oggi, tuttavia, l'analisi multimodale e la segmentazione dell'edema perilesionale sono spesso confinate allo studio pre-operatorio, limitando la conoscenza della sua evolutività nella fase post-operatoria.

Scopo dello studio. Lo scopo di questo studio è caratterizzare l'edema perilesionale nelle lesioni espansive cerebrali in fase pre-operatoria, facendo diagnosi differenziale tra edema vasogenico e edema infiltrante, mediante l'imaging RM multimodale, nonché indagarne le modifiche in fase post-operatoria attraverso l'analisi integrata dei parametri quantitativi ottenuti dall'imaging RM avanzato e dalle tecniche di segmentazione.

Materiali e metodi. Sono stati identificati in maniera prospettica 213 pazienti con diagnosi di lesione espansiva cerebrale, afferiti all'ospedale di Treviso da gennaio 2020 ad agosto 2023. Sono stati arruolati 32 pazienti con lesione espansiva cerebrale, di nuovo riscontro e con edema perilesionale associato, sottoposti a craniotomia e a studio RM 3 Tesla pre-operatorio e post-operatorio a tre mesi dalla chirurgia. È stata condotta un'analisi integrata delle sequenze RM convenzionali T1 isovolumetrica pre- e post-iniezione di mezzo di contrasto (T1-*Contrast Enhanced*, T1-CE), T2 assiale e *FLuid-Attenuated Inversion Recovery* (FLAIR) isovolumetrica, e delle sequenze RM avanzate

di diffusione, dalle quali si sono ottenute le mappe di *Apparent Diffusion Coefficient* (ADC), e di perfusione. Le sequenze isovolumetriche T1-CE e FLAIR sono state utilizzate anche per la segmentazione.

Risultati. L'ADC *ratio* dell'edema perilesionale pre-operatorio era significativamente maggiore nelle metastasi cerebrali rispetto ai glioblastomi (p-value: 0.019). Un edema perilesionale residuo a tre mesi dalla chirurgia era consistentemente presente nei glioblastomi rispetto alle metastasi (p-value: 0.003), nelle quali si è documentata una riduzione significativa e consistente dell'edema (p-value: 0.0001). L'ADC *ratio* perilesionale post-operatorio era significativamente più elevato nei glioblastomi rispetto alle metastasi cerebrali (p-value: 0.016).

Conclusioni. La RM multimodale, in particolare la sequenza di diffusione, rappresenta una tecnica di neuroimaging efficace nella diagnosi differenziale dell'edema perilesionale in fase pre-operatoria. Integrando i parametri quantitativi ottenuti dall'imaging RM avanzato e dalle tecniche di segmentazione, è stato possibile caratterizzare l'edema perilesionale anche in fase post-operatoria e quantificarne le variazioni volumetriche ed eventuali aspetti di maggior aggressività, dati utili per la pianificazione del percorso di cura del paziente neuro-oncologico.

ABSTRACT

Background. Perilesional edema in patients affected by brain mass lesions is a frequently encountered phenomenon that strongly contributes to neurological signs and symptoms. In brain metastases perilesional edema consists essentially in vasogenic edema that gradually reduces following resection of the bulk tumor, whereas in diffuse gliomas it is infiltrated by neoplastic cells that increase tumor volume. Conventional and advanced magnetic resonance imaging (MRI) sequences, combined in a multimodal approach, non-invasively characterize perilesional edema. Segmentation techniques, that rely on MRI, allow to measure perilesional edema, providing a volumetric estimate of microscopic neoplasm diffusion. Perilesional edema is usually assessed from multimodal analysis and segmentation only pre-operatively, so its evolution after surgery is still poorly understood.

Aim of the study. The aim of this study is to characterize perilesional edema in brain mass lesions pre-operatively, in order to reach a differential diagnosis between vasogenic edema and tumor-infiltrated edema, using multimodal MRI, and to evaluate its changes post-operatively using combined analysis of quantitative parameters obtained with advanced MRI and segmentation techniques.

Materials and Methods. Two hundred and thirteen patients, who were diagnosed with a brain mass lesion at Treviso Regional Hospital between January 2020 and August 2023, were prospectively identified. Thirty-two patients with a newly-diagnosed brain mass lesion with perilesional edema, who underwent craniotomy and 3 Tesla MRI before and three months after surgery, were enrolled. MRI analysis was based on conventional MR sequences 3D T1-weighted before and after contrast injection (T1-contrast enhanced, T1-CE), axial T2-weighted and 3D Fluid-attenuated Inversion Recovery (FLAIR), and advanced MR sequences of Diffusion-weighted Imaging (DWI), used to calculate ADC maps, and Perfusion-weighted Imaging. T1-CE and FLAIR images were used also for segmentation.

Results. The ADC ratio in the preoperative perilesional edema of brain metastases was significantly higher than that in glioblastomas (p-value: 0.019). A residual postoperative perilesional edema was consistently present in glioblastomas rather than in brain metastases (p-value: 0.003), which showed a significant reduction of perilesional edema (p-value: 0.0001). The ADC ratio in the postoperative perilesional edema of glioblastomas was significantly higher than it was in brain metastases (p-value: 0.016).

Conclusions. Multimodal MRI, especially DWI, is a valuable neuroimaging technique to make a differential diagnosis of perilesional edema pre-operatively. The combined use of quantitative parameters obtained with advanced MRI and segmentation techniques enabled characterization of perilesional edema also post-operatively and quantification of its volumetric changes and possible features of aggressiveness, providing useful information for neuro-oncological patients' care.

PARTE I – INTRODUZIONE

1. LESIONI ESPANSIVE CEREBRALI

1.1.GLIOMI

1.1.1. Definizione ed epidemiologia

I gliomi sono neoplasie che originano dalle cellule gliali e sono classicamente suddivisi in tre gruppi: gli astrocitomi, che originano dagli astrociti, gli oligodendrogliomi, dagli oligodendrociti, e gli ependimomi, dalle cellule ependimali.

I gliomi sono per definizione neoplasie infiltranti con un pattern di crescita caratterizzato dalla diffusione lungo i fasci nervosi sottocorticali. Solo un esiguo gruppo di gliomi, quali l'astrocitoma pilocitico, l'ependimoma mixopapillare e altri istotipi rarissimi, ha uno sviluppo circoscritto e localizzato, quindi curabile con la sola chirurgia [1].

I gliomi costituiscono il 24% dei tumori primitivi del sistema nervoso centrale (SNC), essendo le neoplasie intra-assiali più frequenti, e l'80.9% dei tumori maligni primitivi del SNC.

Tra i gliomi, i più frequenti sono i tumori astrocitari (78%) e, in particolare, i glioblastomi (59.2%); questi ultimi rappresentano i più frequenti tumori maligni primitivi del SNC (50.1%) e il 14.2% dei tumori primitivi del SNC, superati solamente dai meningiomi (40.0%) e dai tumori della regione pituitaria (17.2%).

Il 61.8% dei gliomi ha localizzazione sopratentoriale (lobi frontale, parietale, temporale e occipitale).

L'incidenza annua, aggiustata per età, dei tumori astrocitari diffusi e oligodendrogliali è di 4.50/100,000 nuovi casi, più alta per i glioblastomi (3.26/100,000), seguiti dai gliomi NOS (0.54/100,000) e dagli astrocitomi diffusi (0.46/100,000).

Per quanto riguarda i glioblastomi, l'incidenza aumenta con l'età, con un picco tra i 75 e gli 84 anni, l'età media alla diagnosi è di 65 anni e la sopravvivenza a 5 anni è del 6.9%.

I glioblastomi hanno la sopravvivenza mediana più bassa (8 mesi), mentre gli oligodendrogliomi presentano la sopravvivenza mediana più alta (199 mesi o 16.6 anni) [2].

Con riferimento alla classificazione WHO 2016 dei tumori del SNC (*2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System*, WHO CNS4), l'età mediana alla diagnosi per gli astrocitomi e glioblastomi IDH mutati (36 e 38 anni rispettivamente) è inferiore rispetto agli astrocitomi e glioblastomi IDH *wildtype* (52 e 59 anni). La sopravvivenza mediana per gli astrocitomi e glioblastomi IDH mutati (9.3 anni e 3.6 anni rispettivamente) è maggiore di quella degli astrocitomi e glioblastomi IDH *wildtype* (1.9 e 1.2 anni). Gli oligodendrogliomi e gli oligoastrocitomi di grado II mostrano un picco di incidenza nella fascia d'età 35-44 anni, mentre per i tumori oligoastrocitari anaplastici (grado III) la massima incidenza si riscontra nei soggetti tra i 55 e i 64 anni. L'età mediana alla diagnosi per gli oligodendrogliomi è di 44 anni [3].

1.1.2. Eziologia

Non si conosce l'eziologia della maggior parte dei gliomi.

L'unico fattore di rischio ambientale di cui si sia accertato il ruolo causale è rappresentato dalle radiazioni ionizzanti, peraltro alla base di un esiguo numero di gliomi [4].

Il 5% circa dei pazienti con gliomi maligni presenta una familiarità e alcuni di questi casi familiari si associano a rare sindromi genetiche, quali la neurofibromatosi tipo 1 e tipo 2, la sindrome di Li-Fraumeni e la sindrome di Turcot. Tuttavia, per la maggior parte dei casi familiari non si è identificata una mutazione causale [5].

1.1.3. Manifestazioni cliniche

I tumori del SNC possono manifestarsi con segni da effetto massa o segni legati alla sede.

I segni da effetto massa, che riflettono l'ipertensione endocranica, sono cefalea, nausea, vomito, ottundimento del sensorio e stato confusionale che può arrivare, passando attraverso il sopore, sino al coma.

I segni legati alla sede possono essere irritativi, determinati dall'effetto irritativo della massa sulla corteccia (es. crisi epilettiche), o deficitari, legati all'effetto compressivo sulle strutture cerebrali [1].

La cefalea è di tipo gravativo, generalmente più accentuata al mattino per poi ridursi nel corso della giornata, anche in assenza di trattamento [6]. Occasionalmente può essere unilaterale e a carattere pulsante, mimando l'emigrania o la cefalea a grappolo. Le crisi epilettiche sono un frequente segno d'esordio. Sono più frequentemente focali, ma possono essere anche generalizzate. Si possono osservare crisi jacksoniane controlaterali nelle localizzazioni prossime all'area motoria o aree uditive, olfattive, gustative nelle localizzazioni temporali.

I segni neurologici focali, quali paresi, disestesie, afasia, hanno tipicamente esordio subacuto e decorso progressivo [7].

1.1.4. Diagnosi

Il percorso diagnostico prevede, a seguito della raccolta anamnestica e dell'esame obiettivo, con documentazione del *Karnofsky performance score* (KPS), lo studio neuroradiologico mediante risonanza magnetica (RM) cerebrale senza e con somministrazione di mezzo di contrasto a base di gadolinio (*gadolinium-based contrast agent*, GBCA). La diagnosi definitiva è istopatologico-molecolare, ovvero basata sull'esame istologico integrato con l'analisi immunohistochimica (IHC) e molecolare [8].

1.1.5. Classificazione WHO 2021

La classificazione WHO 2021 dei tumori del SNC (*2021 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System*, WHO CNS5) [9] ha ampliato il concetto, introdotto dalla precedente classificazione del 2016, di diagnosi integrata isto-molecolare, ovvero basata su criteri morfologici, fondamentali per definire la

cellula d'origine e il grado di malattia, e criteri molecolari, correlati al comportamento biologico e, quindi, aventi valore prognostico e, in taluni casi, predittivo.

WHO CNS5 ha rafforzato il ruolo dei parametri molecolari nella diagnosi dei tumori del SNC, mantenendo l'integrazione con la valutazione morfologica e le metodiche ancillari, quali caratterizzazione IHC e analisi citogenetica.

Nel capitolo *Gliomi, Tumori Glioneuronali e Tumori Neuronali* (Tabella I) WHO CNS5 identifica 6 famiglie differenti e, considerando la famiglia *Gliomi diffusi dell'adulto*, distingue 3 tipi sulla base delle caratteristiche molecolari: *Astrocitomi IDH mutati*, *Oligodendrogliomi IDH mutati e 1p/19q codeleti* e *Glioblastomi IDH wildtype*. All'interno di questi 3 tipi vengono identificati tumori di diverso grado, fatta eccezione per i glioblastomi che, per il comportamento aggressivo, sono sempre di grado 4.

Storicamente il grado è stato definito sulla base della valutazione morfologica, identificando 4 gradi di progressiva malignità in base a cellularità, atipie citologiche, necrosi e proliferazione microvascolare: i tumori che presentavano questi 4 elementi erano definiti di IV grado [1].

Tuttavia, alla luce della rilevanza prognostica di alcuni parametri molecolari, questi ultimi sono stati aggiunti nella definizione del *grading*. In particolare, gli astrocitomi IDH mutati vengono definiti di grado 4 in presenza di delezione in omozigosi del gene *CDKN2A/B* (*Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2A/B*) anche in assenza di necrosi e/o proliferazione microvascolare [10,11]. Analogamente, i tumori astrocitari diffusi IDH *wildtype* sono classificati come glioblastomi anche in assenza di necrosi e/o proliferazione microvascolare se vi è il riscontro di mutazione del promotore del gene *TERT* (*TElomerase Reverse Transcriptase*), amplificazione del gene *EGFR* (*Epidermal Growth Factor Receptor*) o acquisizione di un cromosoma 7 associata a perdita del cromosoma 10 [+7/-10] [12,13].

Tabella I. Classificazione WHO 2021 dei tumori del SNC: gliomi, tumori glioneuronali e tumori neuronali [9].

Gliomas, glioneuronal tumors, and neuronal tumors
Adult-type diffuse gliomas
Astrocytoma, IDH-mutant
Oligodendroglioma, IDH-mutant, and 1p/19q-codeleted
Glioblastoma, IDH-wildtype
Pediatric-type diffuse low-grade gliomas
Diffuse astrocytoma, <i>MYB</i> - or <i>MYBL1</i> -altered
Angiocentric glioma
Polymorphous low-grade neuroepithelial tumor of the young
Diffuse low-grade glioma, MAPK pathway-altered
Pediatric-type diffuse high-grade gliomas
Diffuse midline glioma, H3 K27-altered
Diffuse hemispheric glioma, H3 G34-mutant
Diffuse pediatric-type high-grade glioma, H3-wildtype and IDH-wildtype
Infant-type hemispheric glioma
Circumscribed astrocytic gliomas
Pilocytic astrocytoma
High-grade astrocytoma with piloid features
Pleomorphic xanthoastrocytoma
Subependymal giant cell astrocytoma
Chordoid glioma
Astroblastoma, <i>MN1</i> -altered
Glioneuronal and neuronal tumors
Ganglioglioma
Desmoplastic infantile ganglioglioma / desmoplastic infantile astrocytoma
Dysembryoplastic neuroepithelial tumor
<i>Diffuse glioneuronal tumor with oligodendroglioma-like features and nuclear clusters</i>
Papillary glioneuronal tumor
Rosette-forming glioneuronal tumor
Myxoid glioneuronal tumor
Diffuse leptomeningeal glioneuronal tumor
Gangliocytoma
Multinodular and vacuolating neuronal tumor
Dysplastic cerebellar gangliocytoma (Lhermitte-Duclos disease)
Central neurocytoma
Extraventricular neurocytoma
Cerebellar liponeurocytoma
Ependymal tumors
Supratentorial ependymoma
Supratentorial ependymoma, <i>ZFTA</i> fusion-positive
Supratentorial ependymoma, <i>YAP1</i> fusion-positive
Posterior fossa ependymoma
Posterior fossa ependymoma, group PFA
Posterior fossa ependymoma, group PFB
Spinal ependymoma
Spinal ependymoma, <i>MYCN</i> -amplified
Myxopapillary ependymoma
Subependymoma

1.1.6. Gliomi diffusi dell'adulto

1.1.6.1. Astrocitoma IDH mutato (WHO 2-4)

In questo tipo rientrano le precedenti entità identificate da WHO CNS4 come *astrocitoma diffuso IDH mutato grado II*, *astrocitoma diffuso IDH mutato grado III o anaplastico*, *astrocitoma diffuso IDH mutato grado IV o glioblastoma secondario* [14].

Istologicamente, gli astrociti neoplastici sono presenti in numero molto elevato con distribuzione disomogenea, perdono l'aspetto stellato, diventando cellule con estroflessioni citoplasmatiche irregolari e nucleo ipercromatico, intensamente positive alla colorazione IHC per la GFAP (*Glial Fibrillary Acidic Protein*). In presenza di cellule con abbondante citoplasma eosinofilo e nuclei dislocati alla periferia si parla di aspetti gemistocitici [15].

Gli astrocitomi IDH mutati di grado 2 presentano moderato aumento della cellularità e atipie citologiche, gli astrocitomi IDH mutati di grado 3 mostrano aumento della cellularità, atipie citologiche e attività mitotica, quelli di grado 4 si caratterizzano per necrosi e/o proliferazione microvascolare e/o delezione in omozigosi del gene *CDKN2A/B* [10], che risulta nella perdita dell'oncosoppressore p16 [16].

WHO CNS5 prevede l'identificazione della mutazione *IDH1/2*. Si tratta di mutazioni missenso a carico di residui di arginina del sito attivo dell'enzima isocitrato deidrogenasi (R132 per IDH1 e R172 per IDH2) con *gain of function* e conversione dell'isocitrato in 2-idrossiglutarato [17]. L'accumulo di questo oncometabolita porta a modificazioni epigenetiche con alterazione dei pattern di metilazione degli istoni e del DNA, concorrendo all'instaurarsi del cosiddetto *CpG island methylator phenotype* (CIMP) [18]. La mutazione R132H (sostituzione di arginina in posizione 132 con istidina) a carico dell'enzima codificato dal gene *IDH1*, rilevata attraverso IHC, costituisce il 90% delle mutazioni di *IDH*, mentre il restante 10% è costituito da mutazioni di *IDH1* "non canoniche" e da mutazioni del gene *IDH2*, che richiedono sequenziamento [19].

La maggior parte degli astrocitomi IDH mutati presenta mutazioni *loss of function* a carico di *TP53*, il gene oncosoppressore più frequentemente mutato nei tumori, e di

ATRX (*Alpha-Thalassemia/mental Retardation syndrome X-linked*), la cui perdita determina instabilità genomica, attivazione del meccanismo ALT (*Alternative Lengthening of Telomeres*), che conferisce potenziale replicativo illimitato, e disregolazione epigenetica [20]. Le mutazioni missenso di *TP53* determinano allungamento dell'emivita e accumulo nucleare di p53, rilevabile tramite IHC, mentre quelle di *ATRX* provocano perdita dell'immunoreattività nucleare per *ATRX*.

Gli astrocitomi IDH mutati hanno un picco di incidenza nella quarta-quinta decade e il segno d'esordio è sovente una crisi epilettica.

La terapia prevede l'asportazione chirurgica associata eventualmente a radioterapia/chemioterapia post-operatoria sulla base del grado, dell'estensione della resezione e delle caratteristiche del paziente.

Per gli astrocitomi IDH mutati di grado 2 si sta affermando negli ultimi anni il concetto di *supratotal resection*, ovvero di estensione della resezione chirurgica oltre i margini definiti con l'imaging RM, attraverso protocolli di *awake surgery* (AS) con monitoraggio neurofisiologico intra-operatorio per ridurre il rischio di deficit neurologici post-operatori [21].

I pazienti con astrocitomi IDH mutati di grado 2 con più di 40 anni o sottoposti a resezione subtotale possono essere sottoposti a radioterapia (50-54 Gy in frazioni da 1.8 Gy) [22] e chemioterapia adiuvante a base di procarbazine, lomustina e vincristina (PCV) [23] o temozolomide.

Per gli astrocitomi di grado 3 si è evidenziato un vantaggio di sopravvivenza con l'utilizzo di radioterapia e temozolomide adiuvante, mentre è tuttora controverso l'uso di temozolomide concomitante [24].

Gli astrocitomi IDH mutati di grado 4 sono trattati analogamente ai glioblastomi IDH *wildtype* mediante asportazione chirurgica e radio-chemioterapia secondo il protocollo Stupp (vide infra) [25].

La sopravvivenza mediana per i pazienti con astrocitomi IDH mutati di grado 2 e 3 è di 6-10 anni, mentre per i pazienti con astrocitomi IDH mutati di grado 4 è approssimativamente di 32 mesi [19].

1.1.6.2. Oligodendroglioma IDH mutato e 1p/19q codeleto (WHO 2, 3)

In questo tipo rientrano l'*oligodendroglioma IDH mutato e 1p/19q codeleto grado II* e l'*oligodendroglioma IDH mutato e 1p/19q codeleto grado III o anaplastico* secondo WHO CNS4 [14].

All'istologia, l'oligodendroglioma presenta cellule con aspetto a "uovo fritto" per il citoplasma chiaro e abbondante attorno al nucleo centrale, un'estesa rete di vasi sottili e ramificati definita "*chicken wire*" e microcalcificazioni [15].

Gli oligodendrogliomi di grado 2 presentano aumentata cellularità e atipie citologiche. Gli oligodendrogliomi di grado 3 presentano aumentata cellularità, atipie citologiche, attività mitotica, proliferazione microvascolare e/o necrosi. In presenza di delezione in omozigosi del gene *CDKN2A/B* si attribuisce alla lesione il grado 3 indipendentemente dalle caratteristiche morfologiche, essendo questo parametro molecolare associato ad una prognosi sfavorevole [26].

La codelezione 1p/19q, risultato di una traslocazione non bilanciata tra i cromosomi 1 e 19 con conseguente perdita del prodotto contenente il braccio corto del cromosoma 1 e il braccio lungo del cromosoma 19, rilevabile attraverso NGS (*Next Generation Sequencing*), FISH (*Fluorescence in Situ Hybridization*) o array-CGH (*Array-based Comparative Genomic Hybridization*), rappresenta il criterio di definizione di un oligodendroglioma [27], sebbene il suo significato biologico sia ancora incerto.

Il profilo genetico dell'oligodendroglioma, caratterizzato da mutazione di *IDH1/2*, codelezione 1p/19q, *ATRX* e *TP53* non mutati, si associa ad una scarsa capacità infiltrativa e ad una maggiore efficacia di radio/chemioterapia, con una prognosi migliore rispetto agli astrocitomi IDH mutati di pari grado [28].

Gli oligodendrogliomi si manifestano nella quarta-quinta decade; la localizzazione corticale spiega l'esordio con crisi epilettiche o segni neurologici focali.

Per gli oligodendrogliomi di grado 2 la terapia si basa sull'asportazione chirurgica, seguita dall'osservazione o dalla radioterapia e chemioterapia adiuvante (PCV) in pazienti con fattori prognostici sfavorevoli, quali età ≥ 40 anni, deficit neurologici, resezione subtotale [8,29].

Per gli oligodendrogliomi di grado 3 il trattamento si avvale di asportazione chirurgica, radioterapia e chemioterapia adiuvante (PCV) [30]. È attualmente in fase di valutazione l'utilizzo di PCV adiuvante o di temozolomide concomitante e adiuvante come schema terapeutico, essendo il secondo meglio tollerato e con minor tossicità.

La sopravvivenza mediana varia dai 12 ai 15 anni [23].

1.1.6.3. Glioblastoma IDH *wildtype* (WHO 4)

WHO CNS5 riserva il termine di glioblastoma ai tumori astrocitari IDH *wildtype*, includendo in questo tipo l'*astrocitoma diffuso IDH wildtype grado II*, l'*astrocitoma diffuso IDH wildtype grado III o anaplastico* e l'*astrocitoma diffuso IDH wildtype grado IV o glioblastoma primitivo* [14].

La proliferazione microvascolare e/o la necrosi sono i caratteri morfologici per la definizione del grado 4. La proliferazione microvascolare consiste in piccoli vasi neoformati privi di barriera emato-encefalica (BEE) con cellule endoteliali iperplastiche disposte in più strati; la necrosi assume un aspetto festonato perché le cellule neoplastiche si addensano lungo i bordi, formando una palizzata [15]. WHO CNS5 aggiunge dei parametri molecolari per l'attribuzione del massimo grado di malignità, ovvero la mutazione del promotore di *TERT*, l'amplificazione di *EGFR*, l'acquisizione di un cromosoma 7 associata a perdita del cromosoma 10 [+7/-10] [12]. Anche in presenza di aspetti istopatologici compatibili con un grado 2 o 3, queste alterazioni molecolari si associano ad un comportamento biologico aggressivo e ad una prognosi sfavorevole [13]. La mutazione del promotore di *TERT* (la più frequente è c.-

124C>T o C228T) promuove la proliferazione cellulare attraverso l'aumento dell'attività telomerasica [31]; l'amplificazione di *EGFR* si associa all'espressione costitutiva di varianti autofosforilate di EGFR con attivazione di vie di segnale intracellulari che promuovono sopravvivenza e proliferazione cellulare; infine, l'acquisizione di un cromosoma 7 sovranumerario determina aumentata espressione di PDGFA (*Platelet-Derived Growth Factor α*), regolatore chiave dello sviluppo delle cellule gliali [5].

La metilazione del promotore del gene *MGMT* (*O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase*) rappresenta un fattore prognostico favorevole nonché un fattore predittivo di risposta alla chemioterapia con temozolomide. Tale gene codifica l'enzima MGMT, capace di riparare i danni al DNA indotti dalla chemioterapia rimuovendo i gruppi alchilici dalla posizione O⁶ della guanina. Alti livelli di MGMT determinano un fenotipo resistente, annullando l'effetto terapeutico degli agenti alchilanti, mentre il silenziamento epigenetico provoca perdita dell'espressione dell'enzima e riduzione della capacità riparatrice con maggiore efficacia della chemioterapia [32]. Nei pazienti anziani (>65 anni) con metilazione di MGMT vi è crescente evidenza di efficacia della monoterapia con temozolomide come alternativa alla radioterapia [33]. Attualmente la ricerca della metilazione del promotore di *MGMT* rappresenta l'unico biomarcatore predittivo validato utilizzato nella pratica clinica nel trattamento del glioblastoma IDH *wildtype*.

L'età media alla diagnosi è di 65 anni [2] e comuni manifestazioni d'esordio sono cefalea, disturbi cognitivi e comportamentali, deficit neurologici focali e crisi epilettiche.

Il trattamento prevede la *gross total resection*, ovvero un'asportazione maggiore del 98% del volume del tumore. Vi è, inoltre, evidenza di come una resezione oltre i margini definiti alla RM, con estensione al tessuto non dotato di *enhancement* (*supratotal resection*), si associ ad un guadagno in termini di *overall survival* (OS) nei pazienti più giovani [34].

Dopo 3-4 settimane dalla chirurgia, viene avviata la radioterapia (60 Gy in 30 frazioni da 2 Gy in 5 giorni/settimana per 6 settimane) associata a temozolomide concomitante (75 mg/m²/die per 7 giorni/settimana per tutta la durata della radioterapia), seguita da 6 cicli di temozolomide adiuvante (150-200 mg/m² per 5 giorni durante ciascun ciclo da 28 giorni) [25].

La sopravvivenza mediana è di 12.6 mesi in assenza di metilazione di *MGMT* e di 23.4 mesi in presenza di metilazione di *MGMT* [35].

In Figura 1 si riporta l'algoritmo diagnostico nei gliomi diffusi dell'adulto secondo il concetto di diagnosi integrata isto-molecolare.

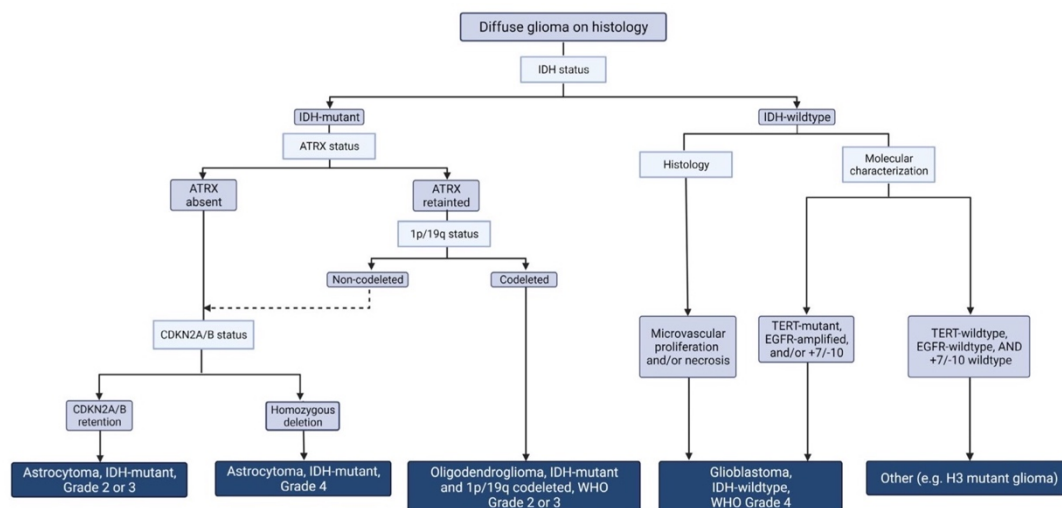


Figura 1. Algoritmo diagnostico nei gliomi diffusi dell'adulto basato sui principali parametri molecolari [26].

1.2.METASTASI CEREBRALI

1.2.1. Classificazione ed epidemiologia

WHO CNS5 identifica nell'ambito delle metastasi al SNC quelle che interessano il parenchima cerebrale e midollare e quelle che coinvolgono le meningi [9].

Le metastasi rappresentano i tumori intracranici più frequenti, con un'incidenza che è 3-10 volte superiore a quella dei tumori maligni primitivi del SNC [36]. L'incidenza annuale è di 8.3-14.3/100,000 nella popolazione generale, mentre è di 8.5-9.6/100 nei pazienti oncologici [37].

Negli ultimi anni l'incidenza delle metastasi al SNC è aumentata come conseguenza dell'incremento di sopravvivenza globale in molti tipi di neoplasie e del miglioramento delle capacità diagnostiche, grazie a sequenze RM sempre più sensibili. A ciò si aggiunge la protezione offerta alle cellule neoplastiche dalla BEE, che rende il SNC un santuario farmacologico e fa sì che terapie sistemiche sempre più efficaci contro il tumore primitivo e le metastasi extra-cerebrali non abbiano accesso alle lesioni intracraniche [38,39].

I tumori metastatici che più comunemente si riscontrano sono il carcinoma del polmone, che da solo costituisce il 50% delle metastasi cerebrali, il carcinoma della mammella (30%), il melanoma (10%), i carcinomi gastrointestinali (10%) e il carcinoma del rene (6.9%). Il 14% delle metastasi cerebrali ha origine sconosciuta [1]. Il rischio di sviluppare metastasi cerebrali è più alto per il melanoma (40-60%), seguito dal carcinoma del polmone (20-45%) e dal carcinoma della mammella (5-30%) [40]. L'incidenza di metastasi cerebrali alla diagnosi nei pazienti che si presentano con cancro metastatico all'esordio è superiore al 25% per l'adenocarcinoma del polmone e il melanoma, 10% per il carcinoma a cellule renali, 7% per il carcinoma della mammella, 5% per i carcinomi testa-collo ed esofageo e 2% per i carcinomi gastrointestinali non esofagei [41].

Le metastasi possono essere multiple, più probabili nel caso di carcinoma del polmone e melanoma, o solitarie, più frequenti nel carcinoma della mammella, del rene e del colon-retto [37].

Le metastasi cerebrali interessano in ordine decrescente i lobi frontale, parietale, temporale ed occipitale; meno frequenti sono le metastasi cerebellari e ancor più rare sono le localizzazioni secondarie al tronco encefalico, gravate dalla prognosi più infausta [42].

1.2.2. Patogenesi

Le metastasi sono tumori secondari che si formano in sedi lontane rispetto alla massa tumorale primaria attraverso una sequenza complessa di tappe biologiche.

Le metastasi cerebrali originano da cellule tumorali circolanti nel torrente ematico che si arrestano nei capillari cerebrali, vanno incontro ad extravasazione e colonizzano la nicchia perivascolare, aderendovi tenacemente; la crescita a metastasi clinicamente rilevabili richiede un adeguato apporto di ossigeno e nutrienti, garantito dalla cooptazione di microvasi preesistenti (melanoma) o dall'innescio precoce di un processo di neoangiogenesi (adenocarcinoma polmonare) [43].

La metastatizzazione preferenziale al cervello dipende dal flusso ematico, secondo l'ipotesi "meccanica" di Ewing (1866-1943), che spiega la distribuzione topografica delle metastasi cerebrali e la localizzazione al confine tra sostanza bianca e sostanza grigia e nelle cosiddette zone spartiacque (*watershed zones*), e dai fattori molecolari specifici prodotti a livello d'organo, secondo la teoria "*seed and soil*" di Paget (1855-1926). Se la prima ipotesi giustifica l'elevata frequenza delle metastasi cerebrali da carcinoma del polmone, la seconda razionalizza il tropismo per il SNC delle metastasi da melanoma o da carcinoma della mammella [1,44,45].

La crescita da micrometastasi (diametro <2 mm) a macrometastasi (diametro >2 mm) implica una compromissione strutturale e funzionale della BEE, evidenziata in RM dall'*enhancement* delle lesioni metastatiche dopo infusione del mezzo di contrasto (mdc). In realtà, il danno della BEE non sempre è completo e in alcuni tumori la BEE può rimanere intatta, con importanti implicazioni diagnostiche e terapeutiche [46,47].

1.2.3. Manifestazioni cliniche

L'esordio clinico può seguire quello del tumore primitivo (metastasi metacrone) o, meno frequentemente, essere contemporaneo (metastasi sincrone) o persino antecedente [44].

La clinica espressa dalle metastasi non differisce da quella delle lesioni primitive del SNC con segni da effetto massa, manifestazione dell'ipertensione endocranica, e segni legati alla sede per effetto irritativo o compressivo.

La cefalea è un sintomo comune, riportata dal 25-60% dei pazienti, più frequentemente nel contesto di lesioni multiple [48]. Tipicamente ha un decorso progressivo; la maggiore intensità al mattino e in clinostatismo, il peggioramento indotto dalla manovra di Valsalva e l'associazione a nausea e vomito sono suggestivi di ipertensione endocranica [6].

I disturbi della coscienza, comprendendo l'alterazione dello stato di coscienza e la riduzione del livello di coscienza, si osservano in circa il 20% dei pazienti, indipendentemente dalla localizzazione della lesione [49].

Le crisi epilettiche, probabilmente espressione del danno tessutale indotto da lesioni in rapida crescita con necrosi, emorragie e deposizione di emosiderina, sono riscontrate nel 20-35% dei pazienti con metastasi cerebrali [50].

I deficit neurologici focali costituiscono la manifestazione d'esordio nel 20-75% dei pazienti [48] e sono dipendenti dalla sede della lesione. Generalmente il decorso è progressivo, ma occasionalmente tali deficit possono avere insorgenza o deterioramento acuti nel contesto di un'emorragia intratumorale, più frequente nelle metastasi da melanoma, carcinoma a cellule renali e coriocarcinoma [51].

1.2.4. Diagnosi

La comparsa di nuovi segni e sintomi neurologici in un paziente oncologico impone di avviare un *work-up* neurologico che includa uno studio di neuroimaging per distinguere le metastasi cerebrali da altre possibili cause di danno neurologico, in particolare gli effetti collaterali della terapia antineoplastica. Il *gold standard* è rappresentato dalla RM cerebrale senza e con GBCA. La diagnosi definitiva viene posta con l'esame istopatologico del tessuto, associato all'analisi IHC e molecolare [52].

1.2.5. Trattamento

Il trattamento di supporto delle metastasi si basa sulla terapia antiedemigena (desametasone, mannitolo) ed analgesica [1]. La terapia antiepilettica è indicata nei pazienti che abbiano presentato crisi comiziali, mentre non è raccomandata a scopo profilattico [53].

Il trattamento locale si avvale di chirurgia, radiochirurgia stereotassica (*stereotactic radiosurgery*, SRS) e radioterapia (*whole brain radiation therapy*, WBRT, o *stereotactic radiotherapy*, SRT).

L'indicazione chirurgica dipende dalla clinica, dalla sede, dal numero di metastasi cerebrali e dallo stadio della malattia primitiva. La chirurgia è indicata per pazienti con lesioni voluminose con effetto massa, mentre per pazienti con lesioni piccole la SRS è una valida alternativa [54]. La WBRT riduce il rischio di recidiva in caso di metastasi >3 cm e/o malattia sistemica attiva [55]. Si può ricorrere alla SRT sulla cavità chirurgica in luogo della WBRT nei pazienti sottoposti a chirurgia per metastasi cerebrale unica <5 cm, con un beneficio in sopravvivenza libera da deterioramento cognitivo e miglior profilo di tollerabilità [56].

Mentre il beneficio della chirurgia nel trattamento delle metastasi singole è stato validato attraverso studi prospettici, non vi è un livello di evidenza altrettanto forte per quanto riguarda le metastasi multiple [38]. In pazienti con 2 o 3 metastasi, alto performance status e controllo della malattia sistemica la resezione completa consente di ottenere risultati paragonabili a quelli raggiunti in caso di lesione singola [57,58]. Inoltre, negli ultimi anni, la SRS è stata utilizzata per il trattamento di un numero sempre maggiore di lesioni cerebrali, arrivando fino a 10 [59].

Il trattamento sistemico delle metastasi al SNC si avvale di chemioterapia, terapie a bersaglio molecolare (*small molecules*) e immunoterapia. La presenza della BEE, sebbene spesso alterata nel processo di metastatizzazione [39], limita l'utilizzo della terapia sistemica, la quale è utilizzata raramente come terapia di prima scelta. Lo sviluppo di terapie target capaci di attraversare la BEE sta modificando tale approccio: in presenza di metastasi cerebrali asintomatiche è possibile trattare il paziente con una monoterapia sistemica (osimertinib nel *Non-Small Cell Lung Cancer* EGFR mutato o ipilimumab e nivolumab nel melanoma), ritardando il ricorso alla terapia locale a quando vi sia evidenza di progressione della malattia a livello intracranico [54].

1.2.6. Prognosi

La prognosi dei pazienti con metastasi cerebrali è generalmente severa.

Tra i pazienti con metastasi cerebrali sincrone la sopravvivenza mediana è di circa 12 mesi, indipendentemente dalla sede del tumore primitivo [41]. Considerando pazienti anziani (≥ 65 anni) con metastasi metacrone, la prognosi è ancora più infausta con una sopravvivenza mediana di 4 mesi o meno per tutte le sedi primarie [60].

2. IMAGING RM DELLE LESIONI ESPANSIVE CEREBRALI

La RM, tecnica di imaging d'elezione nella diagnosi dei processi espansivi cerebrali, indaga il sistema nervoso centrale attraverso tecniche di studio convenzionale (o morfologico) e tecniche di studio avanzato. Queste ultime sono rappresentate da *Diffusion-Weighted Imaging (DWI)*, *Perfusion-Weighted Imaging (PWI)*, *Magnetic Resonance Spectroscopy (MRS)*, *Blood Oxygen Level-Dependent (BOLD) Imaging*.

2.1. METODICA RM

2.1.1. Principi fisici di base

L'imaging RM sfrutta le proprietà magnetiche dei nuclei di idrogeno che, una volta introdotti in un campo magnetico e sottoposti ad una caratteristica radiofrequenza, assorbono ed emettono energia sotto forma di un segnale che viene ricevuto ed analizzato.

Il nucleo dell'atomo di idrogeno, costituito nella forma isotopica fondamentale da un solo protone, è alla base dell'applicazione clinica della RM per la sua abbondanza nel corpo umano, in quanto componente essenziale dell'acqua, dei liquidi organici e dei lipidi, e per le sue proprietà magnetiche e cinetiche di spin. Lo spin è una grandezza caratteristica della particella in rotazione attorno al proprio asse e ad esso è associato un momento magnetico μ (vettore).

In un piccolo elemento di volume (voxel) di tessuto biologico i diversi nuclei di idrogeno hanno dei momenti magnetici orientati in modo casuale e la magnetizzazione macroscopica è nulla. Sottoponendo il tessuto, e quindi il paziente, ad un campo magnetico statico e uniforme B_0 , i momenti magnetici μ si polarizzano e si orientano nella direzione del campo magnetico B_0 , assumendo una condizione stabile, detta di equilibrio (Figura 2).

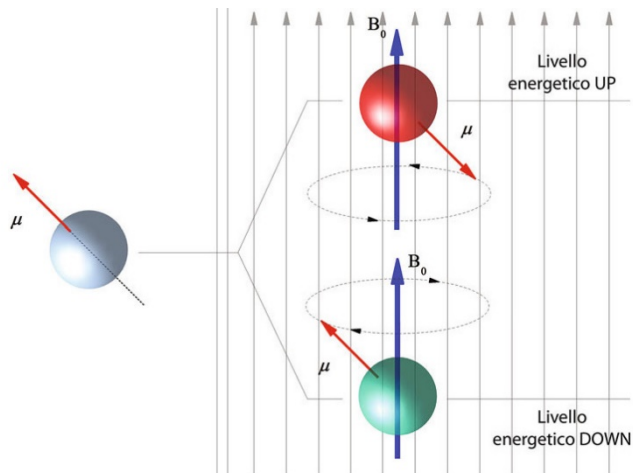


Figura 2. Effetto dell'introduzione di un campo magnetico esterno sul momento magnetico del nucleo di idrogeno.

In assenza di un campo magnetico esterno, il protone ruota intorno al proprio asse (moto di spin) e il momento magnetico μ ha orientamento casuale. A seguito dell'introduzione di un campo magnetico esterno B_0 , il momento magnetico acquisisce un moto di precessione attorno alla direzione di B_0 con orientamento parallelo (protone verde) o antiparallelo (protone rosso) a B_0 . Al livello UP corrisponde maggior energia rispetto al livello DOWN [62].

All'equilibrio, per effetto della lieve eccedenza di spin paralleli a B_0 rispetto agli spin antiparalleli a B_0 , i momenti magnetici, ciascuno in moto di precessione attorno all'asse del campo magnetico statico, producono una magnetizzazione risultante netta macroscopica (M_0) orientata lungo la direzione di B_0 e data dalla somma di due componenti: la magnetizzazione longitudinale M_z (proiezione di M sull'asse z parallelo a B_0 , coincidente con M_0 all'equilibrio) non nulla e la magnetizzazione trasversale M_{xy} (proiezione di M sul piano xy perpendicolare a B_0) nulla [61].

La perturbazione del sistema all'equilibrio, necessaria per poter individuare le due componenti M_z e M_{xy} della magnetizzazione, è prodotta da un'onda radio che investe i tessuti da sottoporre ad indagine per un breve intervallo di tempo, dell'ordine dei millisecondi (impulso di radiofrequenza, RF). L'impulso RF fornisce l'energia necessaria per l'eccitazione dei nuclei di idrogeno e, quindi, per la produzione del segnale RM (Figura 3). Una volta terminata l'eccitazione da parte dell'onda radio, il sistema ritorna alla configurazione di equilibrio attraverso fenomeni di rilassamento,

da cui dipende la progressiva scomparsa della magnetizzazione trasversale e il recupero della magnetizzazione longitudinale [62,63].

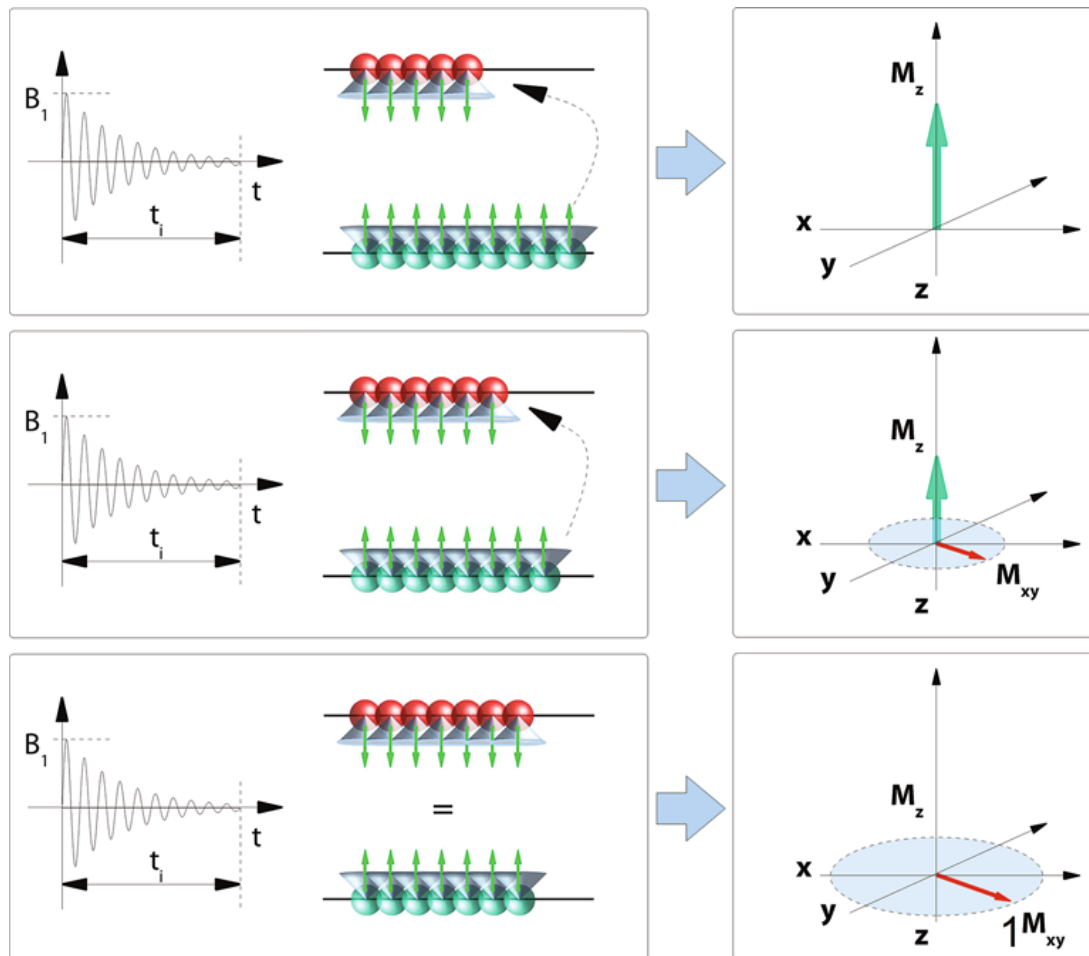


Figura 3. Effetti dell'impulso RF (ampiezza B_1 e durata t_i).

All'equilibrio, i momenti magnetici associati agli spin precessono attorno alla direzione di B_0 e producono una magnetizzazione longitudinale M_z coincidente con M_0 . Applicando un impulso RF, un numero crescente di protoni orienta lo spin nel verso antiparallelo con conseguente riduzione di M_z e comparsa della magnetizzazione trasversale M_{xy} . Al termine dell'impulso RF, si ha scomparsa di M_z e presenza di un vettore di magnetizzazione rotante sul piano xy , responsabile dell'induzione del segnale RM [62].

Il segnale RM emesso al termine dell'applicazione di un qualsiasi impulso RF, detto FID (*Free Induction Decay*), decresce rapidamente ed è troppo debole rispetto al rumore elettronico di fondo per poter essere registrato. Per questo motivo si preferisce non rilevare direttamente questo segnale, bensì il suo eco. Per poter registrare

quest'ultimo, è necessario rifocalizzare il cosiddetto FID attraverso un impulso RF di rifocalizzazione oppure mediante dei gradienti. In questo modo si otterrà un eco di spin o di gradiente, a seconda del tipo di sequenza utilizzato, una *Spin-Echo* o una *Gradient-Echo* rispettivamente (vide infra). L'eco rappresenta il vero segnale RM registrato.

L'unità di misura del campo magnetico è il Tesla (T). L'intensità del campo magnetico applicato varia dai decimi di T, per piccole macchine dedicate allo studio delle articolazioni, a campi magnetici più alti. Per lo studio del paziente neurologico sono richiesti alti campi, almeno 1.5 T e, ove presente, meglio un'apparecchiatura a 3 T. Alcuni scanner RM raggiungono anche i 7 T ed esistono prototipi di apparecchiature da 9.4 T e 11 T [62], attualmente approvati solo per la ricerca e non per l'uso clinico.

2.1.2. Parametri del segnale RM

Nella formazione dell'immagine RM entrano in gioco: 1) *Parametri intrinseci al substrato*, come la densità protonica (DP), il tempo di rilassamento longitudinale (o spin-reticolo o T1) e il tempo di rilassamento trasversale (o spin-spin o T2); 2) *Parametri estrinseci*, modificabili dall'operatore, come il tempo di ripetizione (TR) e il tempo di eco (TE).

2.1.2.1. Parametri intrinseci

Le caratteristiche del segnale RM dipendono in misura consistente da fattori intrinseci ai tessuti esplorati: l'intensità del segnale non riflette soltanto la "numerosità" dei nuclei contenuti nell'unità di volume del tessuto esaminato, ma anche altri fattori, quali l'entità e l'efficacia degli scambi termodinamici all'interno dell'ambiente molecolare.

DP: rappresenta il numero di nuclei di idrogeno risonanti per unità di volume, intendendo tutte le sostanze o i composti di adeguata mobilità molecolare che lo contengono (prevalentemente acqua).

T1: è la costante di tempo che caratterizza la dinamica di ritorno allo stato di equilibrio della componente longitudinale della magnetizzazione M_z ; corrisponde, dopo l'arresto

dell'impulso RF, al tempo impiegato da M_z per raggiungere il 63% del valore all'equilibrio. Il rilassamento longitudinale si realizza attraverso la cessione dell'energia al mezzo circostante (reticolo) da parte dei protoni al termine dell'impulso RF di eccitazione. Il valore di T1 dipende fortemente dall'intensità del campo magnetico B_0 utilizzato, nonché dalla microviscosità del mezzo e dalla massa e dimensioni delle molecole che compongono il tessuto. Il rilassamento T1 sarà lungo per l'acqua, i fluidi con scarsa componente proteica, i tessuti fibrosi e quelli con scarsa componente acquosa libera, mentre sarà breve per il tessuto adiposo.

T_2 : è il tempo che caratterizza la coerenza del moto di precessione del sistema di spin (coerenza di fase) alla base della genesi della magnetizzazione trasversale M_{xy} a seguito del cessare dell'impulso RF; dopo un intervallo di tempo T_2 , M_{xy} raggiunge il 37% del valore iniziale, ovvero diminuisce del 63% l'intensità raggiunta al termine dell'impulso RF di eccitazione. Il rilassamento trasversale si produce per effetto dello sfasamento dei moti di precessione degli spin, prodotto dall'interazione dipolare tra di essi, una volta cessata la perturbazione dell'impulso RF. Esso esprime l'efficienza delle interazioni che avvengono tra nuclei di idrogeno vicini. In realtà, la perdita della magnetizzazione trasversale è influenzata anche dalle eventuali proprietà magnetiche del tessuto e dall'omogeneità di campo dell'apparecchiatura. Si esprime come T_2^* il tempo misurato considerando tutte le possibili cause di perdita della coerenza di fase ed esso è sempre inferiore al T_2 effettivo ($T_2^* \ll T_2$). Il rilassamento T_2 sarà lungo nei liquidi, mentre sarà piuttosto breve nel tessuto adiposo [63,64].

2.1.2.2. Parametri estrinseci

I parametri operatore-dipendenti concorrono in maniera attiva alla formazione dell'immagine RM, in quanto, grazie alla loro variazione, è possibile modulare l'interferenza di ogni singola caratteristica intrinseca nel segnale RM, fornendo all'immagine una "pesatura" o dipendenza specifica (T1, T2, DP) a seconda delle esigenze. Avendo i tessuti (patologici e non) del nostro organismo una DP simile, il contrasto nell'immagine RM dipende soprattutto dai tempi di rilassamento T1 e T2 dei tessuti.

TR: rappresenta il tempo che intercorre tra l'applicazione di due impulsi RF di eccitazione consecutivi. Può essere considerato come il tempo concesso agli spin per il ripristino della componente longitudinale della magnetizzazione prima dell'invio del nuovo impulso e, quindi, la quantità di recupero T1 che si viene a formare tra un impulso e il successivo. Tanto più breve è il TR, quanto minore è il numero di protoni che ritornano allo stato di equilibrio, ovvero ritornano all'equilibrio solamente i protoni dei tessuti con un T1 molto breve. Con opportuni TR è possibile acquisire immagini nelle quali le strutture che hanno un T1 breve hanno recuperato la magnetizzazione longitudinale, mentre le strutture che presentano un T1 lungo non hanno ancora recuperato completamente la magnetizzazione longitudinale; all'arrivo del successivo impulso RF, i tessuti con T1 breve avranno un segnale elevato (iperintenso) grazie alla capacità di trasformare la magnetizzazione longitudinale in magnetizzazione trasversale, mentre i tessuti con T1 lungo forniranno un segnale meno intenso (ipointenso) a causa della risposta solo parziale all'impulso di eccitazione.

TE: indica il tempo intercorrente tra l'impulso RF e la registrazione dell'eco. Esprime la quantità di tempo concessa al verificarsi dello sfasamento dei moti di precessione degli spin prima della registrazione del segnale. Tanto più lungo è il TE, quanto maggiore è la perdita di coerenza di fase al momento del campionamento. Tessuti con T2 lungo avranno una coerenza di fase duratura e, se si campiona a TE lungo, avranno ancora una coerenza di fase e forniranno un segnale iperintenso.

Da quanto affermato si può dedurre che nelle immagini RM T1-pesate (TR breve per accentuare le differenze in T1, TE breve per annullare le differenze in T2) le componenti a T1 breve (tessuto adiposo) saranno iperintense, mentre quelle a T1 lungo (fluidi) appariranno ipointense. Nelle immagini T2-pesate (TR lungo per annullare le differenze in T1, TE lungo per accentuare le differenze in T2), al contrario, le strutture aventi T2 lungo (fluidi) risulteranno iperintense, mentre quelle a T2 breve (tessuti fibrosi) risulteranno ipointense. La descrizione riportata si riferisce a situazioni standard nelle quali le immagini sono state acquisite con normali sequenze *Spin-Echo*

o *Gradient-Echo* (vide infra). L'utilizzo di sequenze diverse e/o tecniche di acquisizione specifiche potrebbe variare i rapporti e le caratteristiche contrastografiche appena descritti [62,65,66].

2.1.3. Formazione dell'immagine RM

La formazione dell'immagine RM richiede un processo di selezione spaziale delle informazioni, che avviene attraverso l'impiego dell'impulso RF e di gradienti di campo magnetico (variazioni lineari del campo magnetico lungo le direzioni dello spazio cartesiano x, y, z) applicati in successione.

Il gradiente applicato lungo l'asse z , che coincide con la direzione del campo magnetico statico B_0 e con l'asse del paziente, è definito *gradiente di selezione dello strato* perché, agendo congiuntamente all'impulso RF, consente di localizzare e definire lo spessore della fetta (*slice*) di cui riprodurre l'immagine. Le informazioni sulla fetta selezionata vengono codificate attraverso il *gradiente di codifica in fase*, applicato lungo l'asse x , e il *gradiente di codifica in frequenza o di lettura*, applicato lungo l'asse y .

Per ogni TR viene acquisito un segnale che ha sperimentato l'azione combinata del gradiente di codifica in frequenza e del gradiente di codifica in fase. Da un segnale all'altro l'intensità del gradiente di codifica in fase viene modificata, ottenendo una matrice di segnali che, elaborata con la trasformata di Fourier bidimensionale, fornisce un'immagine in scala di grigi. Ciascun pixel dell'immagine finale corrisponde al segnale proveniente da un voxel del tessuto indagato. Per ogni pixel, l'intensità del segnale dipende dal valore locale dei parametri intrinseci DP, T1, e T2 e dalla sequenza utilizzata.

Per ridurre il tempo di acquisizione delle immagini si utilizzano sequenze di imaging rapido come le sequenze *Fast* o *Turbo Spin-Echo* (FSE o TSE) e le sequenze ecoplanari (*Echo Planar Imaging*, EPI). Queste ultime, consentendo di ottenere, oltre alle informazioni morfologiche, informazioni funzionali, vengono sfruttate per le tecniche RM di studio avanzato.

Le modalità 3D sono caratterizzate da un'acquisizione di tipo volumetrico in cui il gradiente di selezione ha il compito di selezionare una *slab* ("maxifetta"), sulla quale lo stesso gradiente di selezione opera un ulteriore processo di codifica a step, che

consente di formare il set dati 3D. La trasformata di Fourier, applicata successivamente alle tre dimensioni della matrice tridimensionale acquisita, permette la ricostruzione dell'immagine del volume esaminato [61–63].

2.2.SEQUENZE RM: TECNICHE CONVENZIONALI

2.2.1. Sequenze *Spin-Echo* e *Turbo Spin-Echo*

La sequenza *Spin-Echo* (SE), sequenza base della RM, è costituita da un impulso RF di eccitazione a 90° seguito, dopo un tempo pari a $TE/2$, da un impulso RF di rifocalizzazione a 180° . Ogni sequenza elementare di due impulsi può essere ripetuta dopo un intervallo di tempo TR. Una sequenza SE convenzionale è quindi costituita da: un impulso RF di eccitazione a 90° , un impulso RF di rifocalizzazione a 180° e una serie di gradienti per la codifica spaziale del segnale [65].

La sequenza *Turbo Spin-Echo* (TSE) è costituita anch'essa da un impulso di eccitazione a 90° , ma la rifocalizzazione del FID avviene mediante molteplici impulsi di rifocalizzazione a 180° . Mentre nella SE si ha la registrazione di un singolo eco per ciascun impulso di eccitazione, nella TSE vengono registrati tanti echi quanti sono gli impulsi di rifocalizzazione a 180° . Il numero degli echi registrabili prende il nome di *lunghezza del treno d'echi* (*Echo Train Length* o *Turbo Factor*) ed è variabile a seconda delle esigenze. Le varie rifocalizzazioni e, di conseguenza, i vari TE avranno tempi diversi all'interno del medesimo TR. Ciò può condurre a dei problemi di pesatura dell'immagine, in quanto, a fronte di un TR (potenzialmente) lungo, saranno presenti TE sia brevi sia lunghi. Per ovviare almeno in parte a questo imprevisto si sceglie un cosiddetto *TE effettivo*, vale a dire un determinato intervallo temporale i cui TE vengono acquisiti e registrati nelle linee centrali del *k-spazio*. Tali linee sono le più importanti per la formazione dell'immagine, dal momento che, oltre a presentare un rapporto segnale/rumore (*Signal-to-Noise Ratio*, SNR) maggiore, contribuiscono in maniera prioritaria al contrasto dell'immagine stessa. Nonostante ciò, una rifocalizzazione continua conduce al fenomeno del *J-coupling*, il quale fa apparire il tessuto adiposo con iperintensità di segnale sia nelle immagini T1 sia in quelle T2-pesate. Inoltre, la rifocalizzazione continua riduce la sensibilità della sequenza agli

effetti da suscettibilità magnetica (capacità di una sostanza di indurre una variazione di campo magnetico locale in presenza di un campo magnetico esterno), oltre a causare diversi artefatti, quali *edge enhancement* (esaltazione dei bordi), *blurring* (sfumatura dei bordi) e troncamento. Malgrado questi svantaggi, le sequenze TSE offrono altrettanti vantaggi. Il primo è rappresentato dalla riduzione del tempo di acquisizione (anche di minuti), particolarmente importante in caso di esami con soggetti non collaboranti e/o sedati. Il tempo di acquisizione sarà tanto più breve quanto maggiore sarà la lunghezza del treno d'echi. L'utilizzo di TR elevati, inoltre, permette di avere immagini con un elevato rapporto di contrasto. Infine, la rifocalizzazione continua si dimostra vantaggiosa nel ridurre gli artefatti da pulsazione e da flusso, particolarmente degradanti nelle immagini cerebrali quando presenti [67,68].

2.2.2. Sequenza *Gradient-Recalled-Echo* o *Gradient-Echo*

La sequenza *Gradient-Recalled-Echo* (GRE) o *Gradient-Echo* (GE) prevede l'applicazione successiva di due gradienti, di uguale intensità ma di segno opposto, per produrre rifocalizzazione della coerenza di fase generata da un impulso RF di eccitazione. A differenza della sequenza SE, l'impulso di eccitazione RF ha un *flip angle* (FA) $< 90^\circ$, consentendo di accorciare notevolmente i tempi di scansione. L'azione rifocalizzante del gradiente non è, però, sufficiente a contrastare gli effetti defasanti causati da disomogeneità locali del campo magnetico statico e presenza di interfacce tessutali di differenti proprietà magnetiche (effetto T2*): le GRE, indipendentemente dalla ponderazione scelta per la sequenza-immagine, dimostrano sempre una più o meno spiccata sensibilità per il rilassamento T2*. Quest'ultimo è più breve di T2 ed è una combinazione di rilassamento T2 "vero" e di rilassamento causato dalle disomogeneità di campo magnetico [66].

Nella classe delle sequenze GRE ricade un vasto numero di tipologie, tra cui le sequenze *Susceptibility-Weighted Imaging* (SWI), che esaltano le variazioni del campo magnetico locale generate da sostanze paramagnetiche (emosiderina, deossiemoglobina) e diamagnetiche (calcio, fibre della sostanza bianca), rivelando *microbleeds* (microemorragie), malformazioni vascolari e microcalcificazioni [69].

2.2.3. Sequenza *Inversion Recovery*

La sequenza *Inversion Recovery* (IR), utilizzata per la capacità di ottenere forti contrasti tissutali in T1, è costituita dalla successione di tre impulsi RF di eccitazione nell'ordine 180°-90°-180°. L'impulso iniziale è a 180° e produce una magnetizzazione parallela a B₀ ma di senso opposto. Dopo un intervallo di tempo T_i (tempo di inversione), un impulso di 90° capovolge la magnetizzazione nel piano di misurazione. Poi, come nella sequenza SE, un impulso di 180° rimette in fase le varie magnetizzazioni e il segnale viene rilevato dopo un intervallo di tempo TE.

Un'applicazione della sequenza IR, molto utile in campo neuroradiologico, è rappresentata dalle sequenze FLAIR (*FLuid-Attenuated Inversion Recovery*) che, "sopprimendo" il segnale del liquido cefalorachidiano e di altri liquidi a bassa viscosità, consentono di ottenere immagini T2-pesate con elevata risoluzione di contrasto e migliore evidenza di lesioni della sostanza bianca attigue a compartimenti con contenuto liquorale [63,70].

2.3.AZIONE DEI MEZZI DI CONTRASTO SUI TEMPI DI RILASSAMENTO

I mdc vengono somministrati per via endovenosa per alterare il contrasto ottenibile in condizioni basali.

Nella RM del SNC trovano applicazione come mdc i chelati di gadolinio (GBCA). In base alla struttura del chelante, che viene utilizzato per annullare la tossicità dello ione libero (Gd³⁺) senza modificarne le proprietà paramagnetiche, si distinguono chelati macrociclici (ad esempio gadobutrolo, Gadovist[®]) e chelati lineari (ad esempio gadopentetato dimeglumina, Magnevist[®]); all'interno di ciascuna categoria si identificano agenti ionici e non ionici.

Nonostante le diverse strutture molecolari, tutti i GBCA sono composti extracellulari che non attraversano la BEE intatta e, accelerando i trasferimenti di energia alla base dei fenomeni di rilassamento longitudinale e trasversale, accorciano i tempi di rilassamento T1 e T2/T2*. L'entità di questo accorciamento dipende dalla

concentrazione locale e dalla rilassività r_i (con $i = 1, 2, 2^*$), parametro che descrive l'efficacia del mdc.

I GBCA hanno come effetto principale l'aumento di segnale nelle sequenze T1-pesate (*enhancement*), ma, ad alte concentrazioni, determinano abbattimento del segnale nelle sequenze T2/T2*. Quest'ultimo effetto è sfruttato nell'imaging RM di perfusione [61,62,71].

2.4.SEQUENZE RM: TECNICHE AVANZATE

2.4.1. Diffusione

Nell'imaging di diffusione (DWI) il contrasto non dipende più tanto dai vari tempi di rilassamento dei tessuti, quanto dal moto casuale delle molecole d'acqua di origine termica (moto browniano) ed è, quindi, determinato dalla struttura microscopica dei tessuti.

La tecnica DWI prevede l'applicazione, a cavallo dell'impulso RF di rifocalizzazione a 180° di una sequenza SE-EPI T2-pesata, di gradienti di campo magnetico (gradienti di diffusione) di uguale intensità e direzione, ma con verso opposto. Durante l'applicazione del primo gradiente di diffusione la magnetizzazione trasversale dei nuclei stazionari lungo la direzione di applicazione del gradiente subisce uno sfasamento che l'applicazione del secondo gradiente compensa, per cui lo sfasamento finale è nullo e non vi è attenuazione del segnale. I nuclei in movimento casuale per i processi di diffusione, invece, sono soggetti al secondo gradiente in una posizione diversa rispetto a quella di applicazione del primo gradiente, il cui sfasamento non viene compensato, con conseguente sfasamento netto e attenuazione del segnale.

Ogni struttura biologica presenta una sua diffusione caratteristica: ad esempio, nel liquido cefalorachidiano le molecole d'acqua sono libere di diffondere con moto casuale influenzato solo dalla temperatura; la restrizione della diffusione è, pertanto, assente in questo contesto. Se, però, si considera un qualsiasi tessuto biologico, risulta normale che la diffusione delle molecole d'acqua incontri degli ostacoli, risultando più o meno ristretta. Tale restrizione potrà essere uniforme nei tre piani dello spazio (diffusione isotropa), come avviene nella sostanza grigia cerebrale, oppure anisotropa,

come nel caso della sostanza bianca cerebrale. Essendo quest'ultima formata prevalentemente da fasci di assoni, risulta chiaro come la diffusione delle molecole d'acqua sia preferenziale nella direzione parallela all'assone, mentre sia piuttosto ridotta, se non assente, perpendicolarmente all'assone stesso.

L'intensità di segnale nell'immagine in diffusione è tanto maggiore quanto maggiore è la restrizione della diffusione delle molecole d'acqua. Il segnale del liquor del sistema ventricolare sarà, quindi, basso (diffusione massima), viceversa tessuti biologici ricchi di cellule avranno un segnale alto (diffusione ristretta) in almeno uno dei tre piani dello spazio.

Il contrasto nelle immagini DW fornisce una valutazione qualitativa dei processi di diffusione. Per poter, invece, quantificare l'entità della diffusione si ricorre a immagini in grado di rappresentare il coefficiente di diffusione apparente (*Apparent Diffusion Coefficient*, ADC), definite mappe di ADC. Le immagini in diffusione classiche, infatti, per quanto rappresentino il fenomeno della diffusione, restano pur sempre influenzate in qualche misura dal tempo di rilassamento T2. Per ridurre la dipendenza dell'immagine da T2 e aumentare la dipendenza dell'immagine dalla diffusione occorre aumentare il cosiddetto *b-value*. Per ottenere *b-value* differenti bisogna modificare i parametri dei gradienti di diffusione (potenza e/o durata e/o distanza). Campionando diverse immagini con *b-value* via via crescenti, si ottiene la curva di decadimento del segnale, dalla quale si può ricavare ADC. Una restrizione della diffusione delle molecole d'acqua avrà un segnale elevato nelle immagini in diffusione, mentre nelle mappe di ADC avrà un segnale basso: l'una rappresenta il "negativo" dell'altra [61,63,72].

2.4.2. Tensore di diffusione e trattografia

Il tensore di diffusione (*Diffusion Tensor Imaging*, DTI) e la trattografia sono tecniche che, oltre a valutare l'entità dei fenomeni diffusivi, introducono un ulteriore elemento di analisi rappresentato dalla direzionalità del flusso. DTI è particolarmente sensibile nella determinazione del danno microstrutturale a livello della sostanza bianca cerebrale, dove la diffusione è anisotropa.

Il tensore di diffusione, la cui misurazione richiede l'applicazione dei gradienti di diffusione in almeno 6 direzioni non colineari, è una matrice 3×3 simmetrica, che caratterizza in maniera completa la diffusione nello spazio 3D, ed è rappresentato da un ellissoide, il cui diametro in ogni direzione stima la diffusione in quel verso e il cui asse maggiore è orientato nella direzione della massima diffusione.

I fasci di fibre della sostanza bianca possono essere analizzati attraverso la misurazione di due parametri: diffusività media (*Mean Diffusivity*, MD), che indica l'entità globale della diffusione indipendentemente dalla direzionalità, e anisotropia frazionale (*Fractional Anisotropy*, FA), che misura la direzione preferenziale del movimento di diffusione e ha valori compresi tra 0 (diffusione isotropa) e 1 (diffusione anisotropa). Convenendo un codice colore per le tre direzioni preferenziali di diffusione dell'ellissoide contenuto in ciascun voxel cerebrale (solitamente il blu per rappresentare la direzione cranio-caudale, il verde per la direzione antero-posteriore, il rosso per la direzione latero-laterale) e moltiplicando per la mappa di FA, si ottengono mappe colorimetriche (*color map*), in cui il colore indica l'orientamento dei fasci di fibre e l'intensità del colore è proporzionale al valore di anisotropia (Figura 4) [61,63,73,74].

Applicando i gradienti di diffusione in un numero più elevato di direzioni non colineari, è possibile la ricostruzione tridimensionale dei fasci della sostanza bianca, chiamata trattografia (*fiber tracking*). L'orientamento dei fasci è ricostruito, pixel per pixel, in 3D dalle informazioni vettoriali bidimensionali dell'ellissoide, impiegando diversi tipi di algoritmi, tra i quali i più utilizzati sono quello deterministico a propagazione lineare e quello probabilistico [75,76].

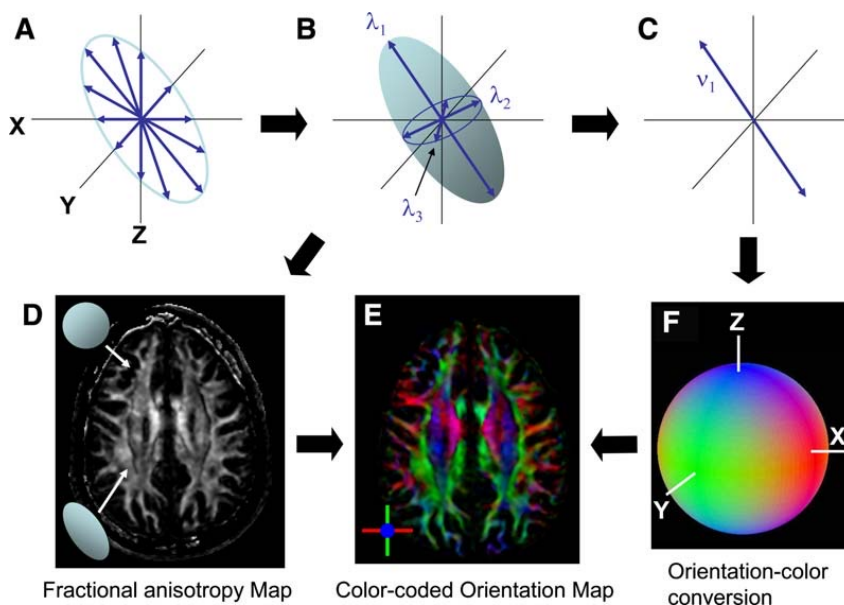


Figura 4. Principi di base del tensore di diffusione e della genesi del contrasto.

Dalla misurazione della diffusione in direzioni multiple (A) si stima la forma e l'orientamento dell'ellissoide (B), che rappresenta la diffusione all'interno di un singolo voxel. Nella mappa di anisotropia frazionale (D) le zone ipointense sono caratterizzate da diffusione isotropa (sfera) e quelle iperintense da diffusione anisotropa (ellissoide). L'asse maggiore dell'ellissoide (C) rappresenta l'orientamento locale delle fibre, convertito in un colore per ciascun pixel (F). Combinando la mappa di FA con l'informazione colorimetrica, si ottiene una *color map* [73].

2.4.3. Perfusionione

L'imaging RM di perfusione (PWI) valuta gli aspetti legati all'emodinamica del distretto arteriolocapillare.

Le principali tecniche per la misurazione della perfusione cerebrale sono *Dynamic Susceptibility Contrast-Enhanced* (DSCE), *Dynamic Relaxivity Contrast-Enhanced* (DRCE) e *Arterial Spin Labeling* (ASL). Le prime due tecniche sfruttano le alterazioni indotte da un mezzo di contrasto sul tempo di rilassamento dei tessuti, rispettivamente sul T2/T2* per la DSCE e sul T1 per la DRCE, mentre la tecnica ASL non utilizza un mezzo di contrasto esogeno, ma prevede una marcatura, mediante impulso di inversione della magnetizzazione, degli spin del sangue che affluisce al cervello, che permette una loro distinzione da quelli dei tessuti stazionari [77].

L'imaging RM di perfusione permette di definire i parametri emodinamici:

- *volume ematico cerebrale (Cerebral Blood Volume, CBV)*: quantità di sangue presente in una data quantità di tessuto cerebrale in un dato momento (ml/100 g di tessuto);
- *flusso ematico cerebrale (Cerebral Blood Flow, CBF)*: quantità di sangue che attraversa una data quantità di tessuto cerebrale nell'unità di tempo (ml/100 g di tessuto/min);
- *tempo medio di transito (Mean Transit Time, MTT)*: tempo medio che il sangue impiega ad attraversare una data quantità di tessuto cerebrale (secondi), corrisponde al rapporto CBV/CBF;
- *tempo di picco (Time To Peak, TTP)*: tempo di massima concentrazione di un tracciante (mdc) nel passaggio nel microcircolo cerebrale (secondi) [78].

2.4.3.1. Imaging di perfusione RM con tecnica DSCE

La tecnica DSCE, la più diffusa e la più utilizzata per studi clinici, si basa sugli effetti di suscettibilità magnetica prodotti dal primo passaggio di alte concentrazioni di mdc paramagnetico (GBCA) nel circolo arteriolocapillare.

In presenza di una BEE intatta, il GBCA, una volta somministrato per via endovenosa, rimane confinato all'interno dei vasi e modifica il campo magnetico locale (suscettibilità magnetica), creando una disomogeneità decrescente dall'interno del vaso per una distanza pari al raggio del vaso stesso. Questa disomogeneità microscopica induce una perdita della coerenza di fase, con conseguente accorciamento del tempo di rilassamento T2/T2* e riduzione del segnale T2/T2* nel tessuto cerebrale circostante (al di fuori del compartimento vascolare). La caduta del segnale T2/T2* viene rilevata utilizzando sequenze SE-EPI o GE-EPI e, sfruttando la relazione lineare tra segnale T2 e mdc, la curva intensità-tempo viene convertita in una curva concentrazione-tempo. A partire dalla curva di concentrazione, mediante algoritmi matematici, vengono calcolate le mappe di perfusione, che rappresentano sinteticamente i parametri emodinamici CBV, CBF, MTT e TTP [76,79]. CBV e CBF vengono solitamente espressi in termini di rCBV e rCBF, non essendo valori quantitativi assoluti, ma relativi ad un riferimento interno, come la sostanza bianca normale [63].

Laddove la BEE è alterata, il GBCA passa dallo spazio intravascolare all'ambiente extravascolare con riduzione degli effetti di suscettibilità magnetica, sia per diminuzione della compartimentalizzazione del mdc sia per aumento del segnale T1 dei tessuti. Tra i metodi per attenuare questa sottostima della caduta del segnale T2/T2* vi sono l'uso di un prebolo di GBCA, con dosaggi variabili in letteratura (0.025-0.1 mmol/kg), somministrato 5-10 min prima del bolo, e tecniche di *post-processing* di correzione dell'effetto T1 [63,80].

2.4.4. Spettroscopia

La spettroscopia RM (MRS) è una tecnica di studio avanzato basata sulle diverse reazioni dei nuclei di idrogeno al campo magnetico, dipendenti dall'interazione fra protoni adiacenti e dalla composizione chimica dell'ambiente circostante.

La frequenza di risonanza del nucleo di idrogeno è leggermente modificata dai campi magnetici locali, generati dagli elettroni di atomi e molecole vicine, che schermano il campo B_0 , facendo sperimentare al nucleo un campo magnetico effettivo minore. Questa variazione della frequenza di risonanza del nucleo in relazione alla natura della molecola e dell'ambiente elettronico si definisce *chemical shift* ed è espressa indicando in parti per milione (ppm) lo spostamento rispetto alla frequenza di un composto chimico di riferimento (spesso il tetrametilsilano). L'analisi delle differenti frequenze emesse dal nucleo porta alla creazione dello spettro, in cui i differenti composti biochimici sono rappresentati da diversi picchi, la cui ampiezza è proporzionale alla quantità dei metaboliti [63].

Con la *spettroscopia a volume singolo* si ottiene un singolo spettro che fornisce informazioni sul contenuto medio dei metaboliti all'interno del VOI (*Volume of interest*) selezionato. Tale tecnica garantisce l'acquisizione di spettri di qualità elevata e tempi di acquisizione ridotti, ma è gravata da una bassa risoluzione spaziale, non fornisce informazioni metaboliche di aree vicine al VOI né uno spettro di riferimento normale. È indicata per lesioni cerebrali singole, ben definite, omogenee e non estese, mentre non consente di studiare adeguatamente lesioni disomogenee o diffuse [81].

Con la *spettroscopia a volumi multipli (spectroscopic imaging o chemical shift imaging, CSI)* il segnale viene acquisito contemporaneamente da più voxel di

dimensioni inferiori rispetto a quelli della tecnica a volume singolo, consentendo di valutare la concentrazione dei principali metaboliti nelle differenti parti che compongono una lesione cerebrale disomogenea e di acquisire nello stesso tempo informazioni metaboliche dal tessuto cerebrale posto in prossimità della lesione e nell'emisfero non affetto. Permette, inoltre, di costruire mappe cerebrali metaboliche che forniscono una visione globale della distribuzione dei singoli metaboliti nelle sezioni e lesioni cerebrali, indirizzando un'analisi più dettagliata in *post-processing* verso regioni d'interesse. Rispetto alla tecnica a volume singolo, la tecnica a volumi multipli presenta risoluzione spettrale inferiore e tempi di acquisizione più lunghi, mentre garantisce una più elevata risoluzione spaziale [82].

2.4.4.1. Metaboliti rilevati nel cervello umano in condizioni fisiologiche e patologiche

La spettroscopia studia piccoli metaboliti liberi presenti nel SNC in concentrazione millimolare, previa soppressione del segnale generato dagli atomi di idrogeno delle molecole d'acqua (concentrazione ~ 90 mol/l) attraverso diverse tecniche, la più utilizzata delle quali è la *CHEmical-Shift Selective saturation* (CHESS).

Il numero di picchi metabolici identificati dipende dal parametro di acquisizione TE: spettri ottenuti con TE intermedio-lungo (144-288 ms) mostrano pochi picchi ben distinguibili, mentre spettri ottenuti con TE brevi (≤ 35 ms) presentano un numero maggiore di picchi.

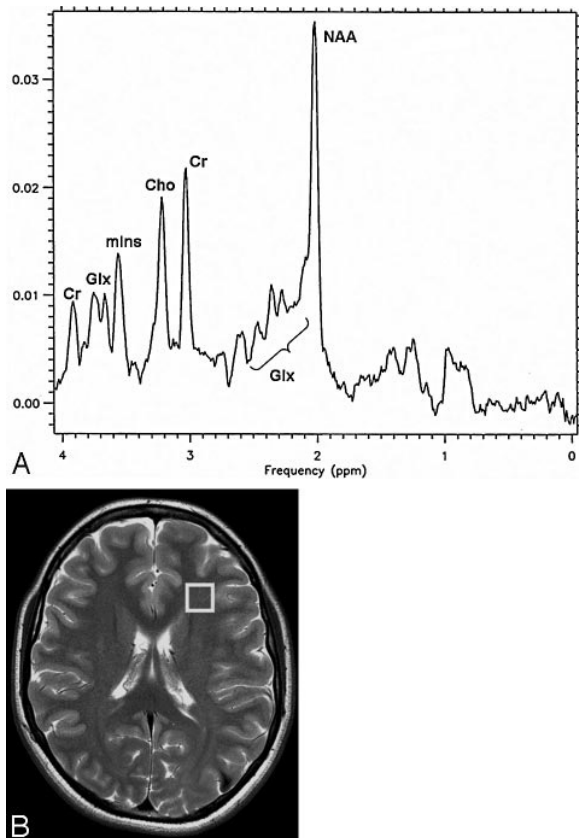


Figura 5. Scansione assiale T2-pesata di un cervello normale. Spettro acquisito a livello della sostanza bianca frontale di 16 volontari sani, ottenuto con sequenza PRESS (*Point Resolved Spectroscopy*) a 3 T (TR 2000 ms; TE 35 ms) (A). Posizionamento del VOI (8 cm³) su sequenza assiale T2-pesata FSE (TR 2000 ms; TE 93 ms) (B) [83].

Nello spettro di un adulto sano (Figura 5) si identificano:

- *N-Acetil-Aspartato* (NAA, 2.02 ppm): costituisce il picco più alto, è considerato un marker di densità e funzionalità dei neuroni e degli assoni e, dunque, si trova sia nella sostanza bianca sia nella sostanza grigia in quantità approssimativamente uguali. Si osserva riduzione di questo metabolita in condizioni di danno o di perdita neuronale e/o assonale, quali infarto, tumori cerebrali, sclerosi multipla, nonché completa assenza nelle lesioni endocraniche extra-assiali, come i meningiomi;
- *Creatina* (Cr, 3.02 e 3.91 ppm): è un marker del metabolismo energetico delle cellule cerebrali ed è utilizzata nella pratica clinica come valore di riferimento su cui riportare crescita o decremento degli altri picchi metabolici. Tuttavia,

Cr stessa è soggetta a variazioni individuali e regionali e, non essendo sintetizzata nell'encefalo, si può modificare in corso di patologie sistemiche;

- *Colina* (Cho, 3.22 ppm): è un indicatore di densità e turnover delle membrane cellulari. I tumori maligni cerebrali mostrano livelli notevolmente incrementati di Cho, mentre un aumento più modesto si riscontra nell'infiammazione, nella sclerosi multipla e nell'infarto cerebrale;
- *Glutammato* (Glu) e *Glutammina* (Gln): formano insieme un unico picco (Glx, 2.15-2.45 ppm) e sono identificabili separatamente utilizzando campi magnetici >3 T. Il picco di Glx costituisce un indice di detossificazione e regolazione dei neurotrasmettitori e un suo incremento è espressione di perdita neuronale e demielinizzazione [83];
- *Mioinositolo* (mI, 3.5-3.6 ppm): è uno zucchero semplice sintetizzato principalmente dalle cellule gliali, di cui è considerato un marker. Il suo aumento indica incremento del numero e delle dimensioni delle cellule gliali nel contesto di processi infiammatori cerebrali, lesioni demielinizzanti, malattia di Alzheimer, gliomatosi cerebrale.

Lipidi (Lip, 0.9 e 1.4 ppm) e *lattato* (Lac, 1.33 ppm) non sono identificabili nel tessuto cerebrale normale se non in minime quantità. Lip è marker di degradazione delle membrane cellulari e si osserva nelle patologie con necrosi cellulare; Lac è apprezzabile in condizioni di ipossia/ischemia che comportano aumento della glicolisi anaerobia, quali epilessia, patologie mitocondriali, cisti necrotiche e tumorali [84,85].

2.5.CARATTERISTICHE RADIOLOGICHE DELLE LESIONI ESPANSIVE CEREBRALI

2.5.1. Gliomi diffusi dell'adulto

2.5.1.1. Astrocitoma IDH mutato (WHO 2-4)

L'astrocitoma IDH mutato si localizza a livello degli emisferi cerebrali, con predominanza fronto-insulare [86], e presenta caratteristiche radiologiche variabili in funzione del grado.

L'astrocitoma di grado 2 si presenta come una lesione omogeneamente iperintensa in T2/FLAIR, ipointensa in T1, priva di *enhancement* dopo infusione di mdc, maggiormente circoscritta rispetto al glioblastoma e all'oligodendroglioma [19,87].

Un biomarcatore radiogenomico altamente specifico, sebbene poco sensibile, per la diagnosi di astrocitoma IDH mutato è il T2/FLAIR *mismatch*, caratterizzato da omogenea iperintensità in T2 e ipointensità con rima iperintensa periferica in FLAIR (Figura 6) [88,89].

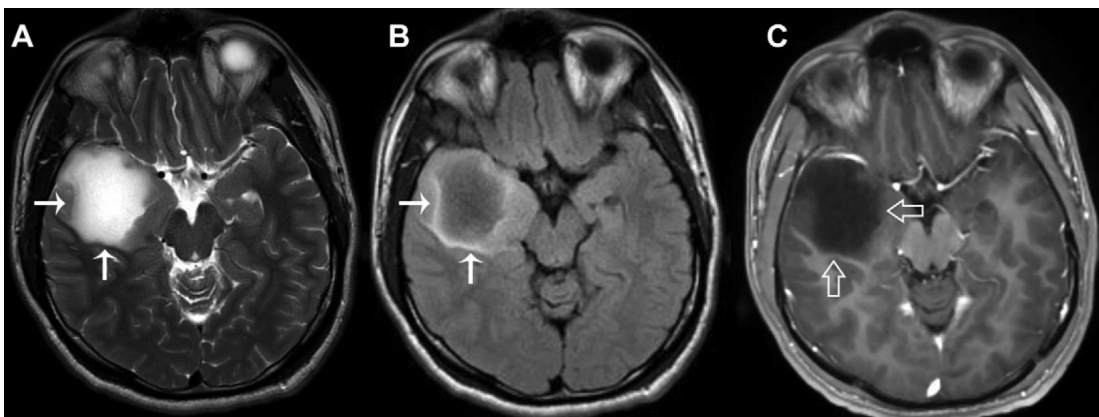


Figura 6. Astrocitoma IDH mutato di grado 2 temporo-polare destro con mutazione di *IDH1* (p.R132H), *ATRX* e *TP53*.

Le figure T2 (A) e FLAIR (B) evidenziano il T2/FLAIR *mismatch*. L'immagine T1 dopo mdc (C) mostra segnale ipointenso e assenza di *enhancement* [87].

Con le tecniche di imaging avanzato è possibile evidenziare l'assenza di restrizione della diffusione, l'aumento del rapporto Cho/NAA e l'alto rapporto ml/Cr [63]; gli astrocitomi IDH mutati privi di *enhancement* presentano valori significativamente minori di rCBV e valori di ADC significativamente maggiori rispetto ai gliomi IDH *wildtype* e agli oligodendrogliomi [90]. In particolare, si è evidenziato come CBV, indice di neoangiogenesi, sia in grado di predire lo status mutazionale di IDH: un suo aumento riduce la probabilità di essere in presenza di una lesione con mutazione di *IDH1/2*. Alla base di tale correlazione imaging-genotipo vi è una riduzione dei livelli del fattore di trascrizione pro-angiogenetico HIF1 α (*Hypoxia-Inducible Factor 1-Alpha*), indotta dall'attività neomorfica dell'isocitrato deidrogenasi mutante [91].

L'astrocitoma di grado 3 appare eterogeneamente iperintenso nelle sequenze T2 con aree di ridotto segnale in rapporto all'iper cellularità, circondato nella maggior parte dei casi da edema vasogenico, la cui iperintensità si somma a quella della neoplasia stessa senza la possibilità di distinguere l'uno dall'altra. L'*enhancement* dopo infusione di mdc è comune e mostra pattern variabili [63,87].

Lo studio di spettroscopia evidenzia aumento del rapporto Cho/Cr, riduzione di NAA e un più basso rapporto mI/Cr rispetto all'astrocitoma di grado 2. Il rilievo più specifico per l'identificazione della progressione a gradi più elevati è l'incremento di rCBV, anche in assenza di alterazione della BEE ed impregnazione contrastografica.

Negli astrocitomi di grado 4 spesso compare necrosi centrale, aumenta l'edema vasogenico locale e l'aspetto può essere indistinguibile dai glioblastomi IDH *wildtype*. Le caratteristiche radiologiche di astrocitomi IDH mutati definiti di grado 4 sulla base della delezione in omozigosi di *CDKN2A/B*, in assenza di proliferazione microvascolare e necrosi, possono essere indistinguibili da quelle di tumori astrocitari di più basso grado [87].

2.5.1.2. Oligodendroglioma IDH mutato e 1p/19q codeleto (WHO 2, 3)

L'oligodendroglioma si localizza negli emisferi cerebrali, più frequentemente nel lobo frontale [86], a livello cortico-sottocorticale.

Rispetto ai gliomi senza codelezione 1p/19q, l'oligodendroglioma si presenta con margini non definiti e struttura eterogenea per la presenza di cisti, emorragie intratumorali, necrosi e calcificazioni. In particolare, l'eterogeneità è un parametro sensibile (96.0%), mentre le calcificazioni sono un parametro specifico (90.8%) per la diagnosi di oligodendroglioma [92]. Al contrario, la presenza di T2/FLAIR *mismatch* è predittiva di un glioma non 1p/19q codeleto [93]. Nelle sequenze T2 è iso-iperintenso con aree cistiche a maggior segnale e aree di riduzione del segnale in rapporto all'iper cellularità e alle calcificazioni; queste ultime determinano netta ipointensità nelle sequenze T2*-pesate [63].

Non vi sono importanti differenze tra oligodendroglioma di grado 2 e 3, fatta eccezione per il più frequente *enhancement* nelle lesioni di grado più alto [19,87]. Laddove

presente, l'impregnazione contrastografica è parziale, con aspetto variabile, multifocale o *dot-like*, distinto rispetto all'impregnazione nodulare o *ring-like* dei gliomi non 1p/19q codeleti [94,95].

Nelle mappe di ADC l'oligodendroglioma presenta valori di ADC inferiori rispetto agli astrocitomi IDH mutati e superiori rispetto ai glioblastomi IDH *wildtype* [90]. Allo studio di spettroscopia vi è aumento del rapporto Cho/Cr e riduzione di NAA e, nelle forme più aggressive, compare il picco di Lip/Lac [63]. Il parametro rCBV è aumentato anche nelle forme più benigne, in relazione alla caratteristica vascolatura "*chicken wire*"; questo aspetto è d'aiuto nella diagnosi differenziale con gli astrocitomi IDH mutati di basso grado che, non presentando una netta ipervascolarizzazione, hanno valori significativamente inferiori di rCBV [96].

2.5.1.3. Glioblastoma IDH *wildtype* (WHO 4)

Il glioblastoma IDH *wildtype* insorge a livello degli emisferi cerebrali e, alla RM convenzionale, appare come una lesione disomogenea, prevalentemente iperintensa nelle sequenze T2/FLAIR, con aree di ipercellularità dove vi è una riduzione del segnale, iso-ipointensa nelle sequenze T1-pesate prima della somministrazione di mdc, con aree necrotiche a minor segnale, spesso dotata di *ring enhancement* (iperintensità ad "anello") dopo mdc. È presente, quasi invariabilmente, edema vasogenico abbondante, con effetto massa associato, e non è possibile stabilire con precisione il confine tra questo e l'infiltrazione tumorale (Figura 7); vi possono essere delle emorragie con segnale variabile in rapporto ai diversi stadi dei prodotti di degradazione dell'emoglobina [19,61,63,87].

Tumori astrocitari IDH *wildtype*, diagnosticati come glioblastomi sulla base dei soli parametri molecolari (mutazione del promotore di *TERT*, amplificazione di *EGFR*, +7/-10), comunemente non presentano *enhancement* e hanno un aspetto simile a quello dei gliomi di basso grado, analogamente a quanto visto per gli astrocitomi IDH mutati (Figura 8) [87].

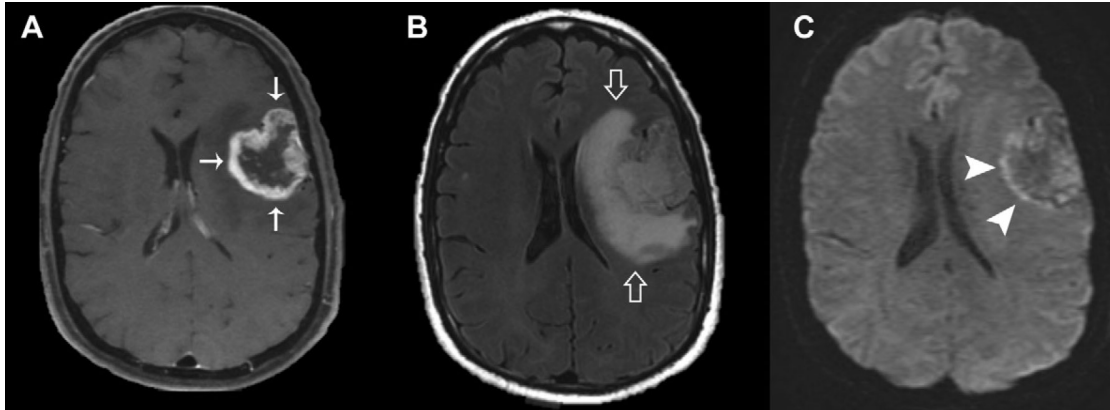


Figura 7. Glioblastoma IDH *wildtype* frontale sinistro con necrosi e proliferazione microvascolare all'esame istologico.

La sequenza T1 dopo mdc (A) evidenzia l'aspetto tipico con *ring enhancement*. La sequenza FLAIR (B) mostra l'edema perilesionale associato. In DWI (C) si apprezza restrizione della diffusione in corrispondenza del cerchione periferico dotato di *enhancement* [87].

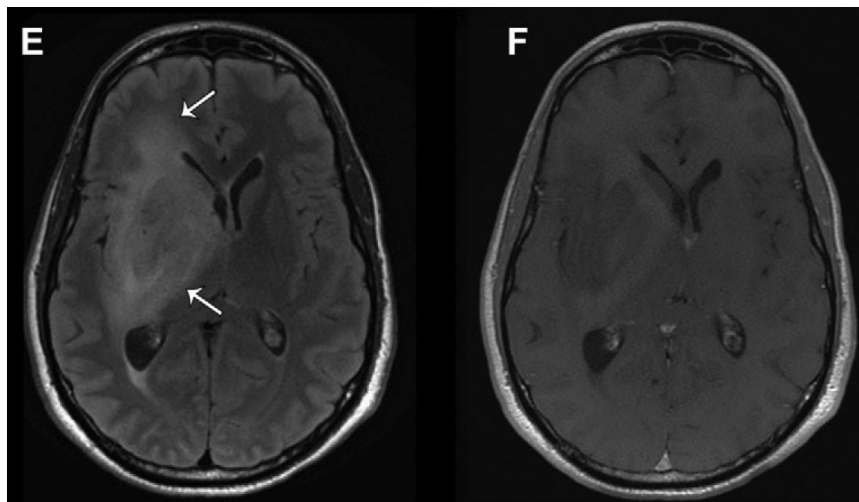


Figura 8. Glioblastoma IDH *wildtype* fronto-temporale destro con interessamento dei gangli della base con grado attribuito sulla base dei parametri molecolari (*TERT* c.-124C>T, amplificazione *EGFR*). L'immagine FLAIR (E) mostra una lesione dai margini non definiti. La sequenza T1 dopo mdc (F) evidenzia l'assenza di *contrast enhancement* [87].

Le tecniche di studio avanzato sono d'aiuto per la diagnosi differenziale con altre lesioni espansive cerebrali, in particolare linfoma primitivo del SNC e metastasi. Lo studio di spettroscopia evidenzia bassi valori di NAA e mI, con aumento del picco di Cho e comparsa del picco di Lip/Lac nelle aree necrotiche. L'imaging di perfusione mostra valori di rCBV molto aumentati, mentre le sequenze pesate in diffusione

dimostrano restrizione della diffusione nella regione periferica dotata di *enhancement* [90,97].

La correlazione tra caratteristiche radiologiche preoperatorie e genoma/epigenoma dei gliomi ha evidenziato come i glioblastomi caratterizzati da un pattern infiltrante alla RM presentino riattivazione di programmi genici propri di cellule staminali e precursori gliali e siano gravati da una riduzione della sopravvivenza rispetto ai glioblastomi in cui prevale la componente di edema vasogenico [98]. Si può osservare edema poco esteso, ADC elevato e perfusione ridotta, dunque un aspetto meno aggressivo, nei glioblastomi con metilazione del promotore di *MGMT*, fattore prognostico favorevole e predittivo di risposta alla chemioterapia con temozolomide [99].

L'imaging "molecolare" si può avvalere oggi dell'analisi radiomica, che estrae quelle *features* (indicatori numerici che descrivono le proprietà di una regione di interesse) di un'immagine che, attraverso valutazioni statistiche o metodi di *machine learning*, consentono di approfondire la caratterizzazione di una lesione. A partire da queste *features* è possibile, ad esempio, predire mutazioni, quali l'amplificazione di *EGFR* o la mutazione del promotore di *TERT*, che fanno attribuire il massimo grado di malignità a gliomi che all'imaging morfologico presentano un aspetto di basso grado [100]. L'analisi radiomica, al momento attuale, non è parte della pratica clinica, nella quale la caratterizzazione morfologica e molecolare della lesione si basa sull'esame del campione tissutale.

2.5.2. Metastasi cerebrali

Le metastasi si sviluppano a livello sopratentoriale nel 75-80% dei casi, tipicamente al confine tra sostanza bianca e sostanza grigia, e hanno caratteristiche di segnale variabili in relazione alla diversa struttura [44].

Le lesioni a prevalente componente solida presentano tenue ipointensità nelle sequenze T1-dipendenti e iperintensità in quelle T2-dipendenti e FLAIR. Le lesioni a prevalente componente necrotico-cistica (non emorragica) sono caratterizzate da una porzione interna con segnale disomogeneo simil-liquorale, iperintenso nelle sequenze T2,

circondata da una porzione neoplastica solida periferica. Le localizzazioni secondarie con emorragia intra-lesionale, originanti più spesso da melanoma, carcinoma a piccole cellule del polmone, carcinoma renale, carcinoma tiroideo e coriocarcinoma, sono tipicamente iperintense nelle sequenze T1 e ipointense in quelle T2/T2*-dipendenti, anche se il segnale varia in relazione alle fasi di degradazione dell'emoglobina [63].

L'edema vasogenico peritumorale, tipicamente moderato/severo, iperintenso in T2 ed ipointenso in T1, è conseguenza della compromissione funzionale e strutturale della BEE prodotta dalle metastasi macroscopiche. Tale fenomeno è il presupposto biologico dell'intensa impregnazione contrastografica, che consente di identificare piccoli focolai metastatici altrimenti difficili da rilevare (Figura 9) [47,61].

La principale diagnosi differenziale è rappresentata dai gliomi di alto grado. Rispetto ad essi, le lesioni secondarie hanno morfologia più sferica, contorni più netti e componente edemigena che segue le fibre della sostanza bianca, senza coinvolgimento della corteccia e senza superamento del corpo calloso. Tuttavia, la sovrapposizione tra gliomi di alto grado e metastasi cerebrali in termini di caratteristiche del segnale e pattern contrastografico è tale da rendere lo studio convenzionale spesso insufficiente e inadeguato alla distinzione tra origine primitiva o secondaria del processo espansivo [101].

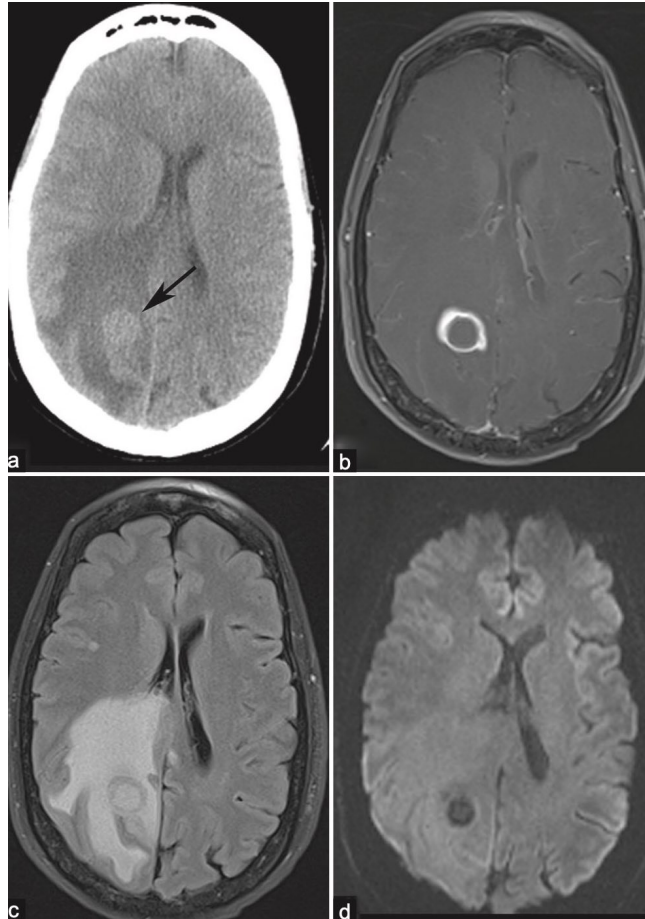


Figura 9. Metastasi cerebrale da adenocarcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC). La TC senza mdc (a) mostra una lesione in sede parietale destra, al confine tra sostanza bianca e sostanza grigia, con edema vasogenico associato. La sequenza T1 dopo mdc (b) evidenzia il *ring enhancement*. La sequenza FLAIR (c) conferma l'esteso edema vasogenico perilesionale. In DWI (d) si apprezza, in corrispondenza del *core* della lesione, un'area di ipointensità, indice di incrementata diffusione, utile per la diagnosi differenziale con un ascesso cerebrale [101].

Le tecniche di studio avanzato consentono di aumentare il potere diagnostico dell'imaging RM. Alla spettroscopia le metastasi possono presentare aumento del picco di Cho nel *core* tumorale (*tumor core*, TC), ma non nell'area peritumorale, comparsa del picco di Lip/Lac e riduzione dei livelli di NAA [102]. Il calcolo dei parametri FA, MD e ADC a livello del TC ha fornito risultati non statisticamente significativi o discordanti ai fini della diagnosi differenziale con i glioblastomi [48]. Analogamente, la perfusione non è utile nella differenziazione di metastasi e gliomi di alto grado

studiando il TC, mentre l'analisi della regione peritumorale e, in particolare, il confronto dei valori di rCBV, consente questa discriminazione [103].

Per comprendere la natura della lesione espansiva è, quindi, fondamentale spostare lo sguardo dal *core* tumorale all'area peritumorale, definita come la zona di tessuto adiacente la lesione con alterazione di segnale nello studio RM convenzionale, ma senza impregnazione contrastografica [63]. L'analisi di quest'area consente di far luce sulla diversa modalità di crescita di gliomi diffusi e metastasi cerebrali: tipicamente infiltrante con invasione del parenchima circostante per i primi, prevalentemente espansiva con dislocazione delle strutture adiacenti per le seconde.

3. EDEMA PERILESIONALE

3.1. EDEMA CEREBRALE

L'edema cerebrale può essere definito come l'anomalo accumulo di liquido all'interno del parenchima cerebrale, risultante in un aumento di volume dello stesso [104].

Sulla base delle vie di formazione si distinguono due principali tipi di edema cerebrale, vasogenico e citotossico, aventi caratteristiche differenti e propri di condizioni patologiche diverse.

L'*edema vasogenico*, di cui l'edema tumorale rappresenta l'archetipo, è causato dalla perdita dell'integrità della BEE, con conseguente stravasamento di plasma, ricco in albumina, nello spazio extracellulare del parenchima cerebrale. Può essere *localizzato*, in vicinanza di una neoplasia o di un sito di infiammazione, o *generalizzato*, in corso di traumi o nelle fasi più avanzate dell'encefalopatia ischemica.

L'*edema citotossico* è causato da una disfunzione della pompa sodio-potassio su base ipossico-ischemica o dismetabolica con accumulo intracitoplasmatico di acqua e sodio e rigonfiamento delle cellule endoteliali, gliali e neuronali [105]. L'edema citotossico non è un componente rilevante dell'edema tumorale, ma potrebbe entrare in gioco in quelle situazioni in cui la microcircolazione è impedita per la compressione esercitata dal tumore [106].

Le metastasi cerebrali e i tumori cerebrali primitivi, come il glioblastoma, producono fino a 90 ml di edema ogni giorno. Essendo la scatola cranica un contenitore inestensibile, un incremento nel volume del parenchima cerebrale determina diminuzione del liquor e dei laghi venosi cerebrali associati ai grandi seni venosi della volta e della base, come meccanismo di compenso per evitare l'aumento della pressione endocranica (legge di Monro-Kellie) [44,107].

Il gradiente di pressione idrostatica rappresenta la forza trainante la formazione dell'edema vasogenico e i suoi determinanti, quali pressione endocranica e pressione arteriosa sistemica, ne influenzano la dinamica [108]. Una volta guadagnato lo spazio extracellulare del parenchima cerebrale, per effetto della pressione idrostatica e della

pressione osmotica generate, rispettivamente, dall'effetto massa della neoplasia e dallo squilibrio elettrolitico, l'edema vasogenico si espande per *bulk flow* preferenzialmente attraverso i fasci della sostanza bianca, i quali costituiscono un sistema di canali extracellulari che offre meno resistenza rispetto al denso groviglio di elementi cellulari della sostanza grigia [107,108].

3.2.EDEMA VASOGENICO

3.2.1. Anatomia e fisiologia della barriera emato-encefalica

La BEE è localizzata a livello dei capillari cerebrali e separa il sangue dai fluidi interstiziali cerebrali, mantenendo l'omeostasi del SNC.

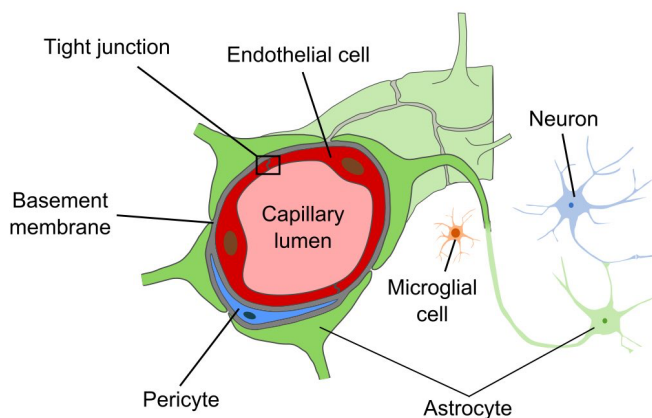


Figura 10. Struttura dell'unità neurovascolare.

La BEE è costituita da cellule endoteliali che rivestono i capillari cerebrali e sono sigillate da giunzioni strette. Astrociti, periciti, cellule della microglia e componenti della lamina basale interagiscono con le cellule endoteliali, fornendo un supporto strutturale e funzionale [109].

cerebrale, che consente alla BEE di modificare in maniera dinamica le proprie caratteristiche in risposta all'attività neuronale [108].

Le cellule endoteliali sono unite tra loro attraverso giunzioni strette e giunzioni aderenti. Le giunzioni strette, base anatomico-funzionale della BEE, sono costituite dalle proteine transmembrana claudine, occludina e *Junctional Adhesion Molecules* (JAM), legate al citoscheletro attraverso le proteine *Zonula Occludens* (ZO) e cingulina.

La BEE è formata dalle cellule endoteliali che rivestono la parete dei capillari cerebrali e che interagiscono con elementi cellulari (astrociti, periciti e cellule della microglia) e non cellulari (componenti della lamina basale), andando a costituire la cosiddetta unità neurovascolare (Figura 10) [109]. Tale termine riflette la costante comunicazione tra i costituenti della BEE e le cellule del parenchima

La lamina basale fornisce supporto alle cellule endoteliali ed è costituita dalle glicoproteine laminina, collagene di tipo IV e nidogeno, insieme al proteoglicano perlecano.

I periciti circondano le cellule endoteliali e condividono con esse la lamina basale.

Gli astrociti, attraverso i pedicelli dei loro prolungamenti citoplasmatici, avvolgono quasi totalmente la membrana basale; hanno un ruolo cruciale nell'induzione e nel mantenimento delle proprietà della BEE, sebbene questi processi siano tutt'ora oggetto di studio [110].

Le giunzioni strette rendono la BEE impenetrabile alle molecole idrofile; il passaggio di nutrienti essenziali polari, come glucosio e amminoacidi, è garantito da specifici trasportatori espressi dalle cellule endoteliali. Possono, invece, diffondere attraverso la BEE le sostanze lipofile, tra cui O_2 e CO_2 , sebbene anche questo meccanismo di trasporto sia regolato per mezzo di trasportatori ABC (*ATP-binding cassette*), che mediano l'efflusso di composti lipofili endogeni ed esogeni potenzialmente neurotossici. Le vescicole endocitotiche sono quasi assenti nei capillari cerebrali, suggerendo l'assenza di un significativo passaggio di macromolecole per transitosi, anche se sembra esserci una scarsa correlazione tra la permeabilità alle proteine e il numero di vescicole osservabili.

La BEE contribuisce a fare del SNC un sito immunologicamente privilegiato: l'accesso delle cellule mononucleate e dei neutrofili circolanti non può avvenire per via paracellulare in condizioni fisiologiche, ma solo tramite un processo di diapedesi finemente regolato [111]. In realtà, oggi, si preferisce parlare di sito immunologicamente distinto poiché si sono scoperti vasi linfatici funzionali a livello delle meningi, che drenano ai linfonodi cervicali, ed è stato documentato il passaggio di linfociti T deputati all'immunosorveglianza attraverso la BEE [112].

3.2.2. Meccanismi di danno della barriera emato-encefalica e edema perilesionale nei gliomi

I meccanismi che portano alla distruzione della BEE nei gliomi, con conseguente formazione di edema vasogenico, sono molteplici.

L'overespressione della citochina *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), in particolare di VEGF-A, e dei suoi recettori, VEGFR-1 e VEGFR-2, promuove la neoangiogenesi tumorale e la permeabilità vascolare. Tra i tumori gliali, il glioblastoma è quello che presenta il maggior grado di espressione di VEGF-A, la cui distribuzione segue un gradiente decrescente dal *core* tumorale verso l'area perilesionale, che riflette l'induzione di VEGF mediata dal fattore di trascrizione sensibile all'ipossia HIF-1 α [113,114]. L'overespressione di VEGF-A induce down-regolazione delle proteine transmembrana delle giunzioni strette claudina-5 e occludina, aumentando la permeabilità paracellulare della BEE [115].

La perdita dello *staining* IHC per claudina-3 nelle cellule endoteliali in corrispondenza delle aree perivascolari di infiltrazione leucocitaria si accompagna a perdita dell'integrità della BEE nel modello sperimentale di encefalomyelite autoimmune, analogamente a quanto accade nel glioblastoma. L'assenza di significativa infiammazione in quest'ultimo suggerisce la non assoluta dipendenza del processo dalla presenza di cellule infiammatorie [116].

Ulteriore evidenza della sensibilità delle giunzioni strette ai segnali forniti dal microambiente circostante si ha nella correlazione tra la perdita del proteoglicano della lamina basale subendoteliale agrina e il venir meno della distribuzione polarizzata del canale per l'acqua acquaporina 4 (AQP4) nei glioblastomi. La degradazione di agrina da parte della metalloproteasi di matrice (MMP)-3 determina il venir meno dell'integrità del complesso distrofina-distroglicano, co-localizzato a livello dei pedicelli degli astrociti con le cosiddette *Orthogonal Arrays of Particles* (OAP), strutture di assemblaggio di AQP4 [117]. Nei gliomi si ha dissociazione di AQP4 dalle OAP e dal complesso distrofina-distroglicano e redistribuzione lungo tutta la membrana cellulare delle cellule neoplastiche [118]. L'espressione aberrante di AQP4 porta ad un flusso d'acqua anomalo non più diretto tra cellule gliali e capillari, bensì tra cellule gliali e spazi interstiziali del parenchima cerebrale, dove si ha accumulo e formazione di edema [119]; l'espressione di AQP4 correla positivamente con l'edema peritumorale, con livelli più elevati nei pazienti con edema più prominente [120]. Inoltre, la perdita della clusterizzazione di AQP4 nelle OAP aumenta la capacità

invasiva delle cellule neoplastiche, suggerendo un substrato patogenetico comune dell'edema vasogenico e infiltrante nei gliomi [121].

L'espressione di VEGF, interleuchina (IL)-1, MMP e AQP4 da parte dei macrofagi associati al tumore (*tumor-associated macrophages*, TAM) rappresenta un altro possibile meccanismo implicato nella patogenesi dell'edema perilesionale. L'upregolazione di IL-1 da parte dei TAM aumenta la permeabilità della BEE e la formazione di edema; l'inibizione della produzione di IL-1 rappresenta uno dei meccanismi d'azione del desametasone, il cortisonico più efficace nel trattamento dell'edema peritumorale [122].

3.2.3. Meccanismi di danno della barriera emato-encefalica e edema perilesionale nelle metastasi

L'edema cerebrale associato alle metastasi è essenzialmente vasogenico e può essere, in termini volumetrici, molto più esteso rispetto alla massa tumorale. I sintomi neurologici sono spesso causati dall'edema piuttosto che dalla lesione, tuttavia, ad oggi, non vi è chiara evidenza di una relazione tra l'estensione dell'edema vasogenico e la sopravvivenza dei pazienti metastatici [123].

La distruzione della BEE è considerata una delle principali cause di sviluppo dell'edema perilesionale nelle metastasi cerebrali [124]. L'incapacità delle cellule metastatiche di produrre i segnali necessari per l'induzione e il mantenimento della BEE determina la perdita di espressione di occludina; a questa concorre anche la fosforilazione di occludina, esito dell'upregolazione di VEGF e della citochina SF/HGF (*Scatter Factor/Hepatocyte Growth Factor*) [125].

VEGF è sintetizzato non solo dalle cellule metastatiche, ma anche dai linfociti infiltranti il tumore (*tumor-infiltrating lymphocytes*, TIL) [126]. Si è evidenziata una correlazione tra l'entità dell'edema perilesionale e l'infiltrazione dei linfociti CD8+ nelle metastasi cerebrali, che può essere conseguenza del rilascio di citochine implicate nell'attivazione linfocitaria, come IL-2: l'edema peritumorale potrebbe rappresentare un segno indiretto dell'attivazione del sistema immunitario contro le metastasi cerebrali ed avere significato prognostico favorevole [127].

Hanno un ruolo nella genesi dell'edema vasogenico peritumorale anche gli astrociti reattivi presenti nell'area perimetastatica: l'overespressione astrocitaria di endotelina 1 (ET-1) induce eNOS (*endothelial Nitric Oxide Synthase*) che, a sua volta, porta ad attivazione di MMP-9 con conseguente degradazione di ZO-1 e apertura delle giunzioni strette [128].

Sebbene tradizionalmente l'edema perimetastatico sia considerato edema vasogenico puro, si è ipotizzata l'infiltrazione del parenchima cerebrale circostante sulla base della riduzione delle recidive locali a seguito dell'estensione dei margini di resezione oltre il bordo tumorale. Tuttavia, non si è ottenuta la conferma istopatologica della presenza di cellule tumorali vitali nel contesto dell'edema perimetastatico [123].

3.3. EDEMA INFILTRANTE

3.3.1. Edema vasogenico puro vs edema vasogenico misto

In riferimento alla classificazione dell'edema cerebrale basata sulle principali vie di formazione, l'edema peritumorale viene identificato come edema vasogenico. Tuttavia, esso non rappresenta una singola entità clinico-patologica: a differenza dell'edema che si sviluppa attorno alle metastasi e ai meningiomi, l'edema perilesionale associato ai gliomi può presentare un esteso infiltrato di cellule neoplastiche.

L'edema peritumorale può essere, pertanto, categorizzato in almeno due distinte entità: edema vasogenico puro e edema vasogenico misto. Il primo si sviluppa attorno a metastasi, meningiomi e gliomi di basso grado, il secondo circonda gliomi di basso e di alto grado e l'infiltrazione di cellule neoplastiche, oltre all'aumento di permeabilità della BEE, ne costituisce il substrato patologico [129]: può essere, pertanto, definito come edema infiltrante.

3.3.2. Pattern di crescita dei gliomi

I gliomi diffusi dell'adulto sono per definizione infiltranti. L'infiltrazione è di tipo sia microscopico sia macroscopico e ricorda la migrazione dei progenitori gliali durante lo sviluppo embrionale e delle cellule staminali adulte nel cervello maturo che,

similmente, avviene lungo strade extracellulari precostituite. Queste vie sono il parenchima cerebrale (satellitosi perineurale), i vasi sanguigni preesistenti, i fasci della sostanza bianca (la migrazione avviene a livello perifascicolare, intrafascicolare o interfibrillare) e lo spazio subpiale. L'interazione delle cellule neoplastiche infiltranti con il microambiente neurale dà luogo alle cosiddette "strutture secondarie di Scherer" [130].

A livello microscopico si hanno complesse interazioni tra neoplasia e matrice extracellulare (MEC), la quale può agire sia da barriera meccanica sia da substrato permissivo per l'invasione. Se da un lato la matrice viene degradata grazie all'attività proteolitica di MMP, uPA (*urokinase-type Plasminogen Activator*) e catepsine, dall'altro le proteine della MEC che stimolano la motilità cellulare, tra cui tenascina-C, localizzata principalmente nello spazio perivascolare, vengono upregolate [1,131,132]. Il risultato è un rimodellamento della matrice extracellulare tale da favorire la migrazione cellulare [129].

Una via di segnale implicata nella crescita tumorale è quella dipendente da EGFR, la cui amplificazione fa attribuire il grado 4 ai tumori astrocitari IDH *wildtype*. Il significato prognostico sfavorevole di questa alterazione molecolare riflette il comportamento biologico aggressivo dei gliomi con EGFR overespresso, dal momento che il *signaling* di EGFR promuove la proliferazione, la migrazione e l'invasione e inibisce l'apoptosi delle cellule neoplastiche [132].

Il dialogo tra glioma e MEC è mediato, oltre che da fattori solubili e recettori di membrana, anche da segnali biomeccanici, come testimonia l'infiltrazione preferenziale all'interfaccia tra superfici con proprietà meccaniche differenti, come la lamina basale dei vasi sanguigni e i fasci della sostanza bianca. La *stiffness* della MEC promuove la migrazione e la proliferazione cellulare e il glioma induce un incremento della rigidità del microambiente attraverso quel costante rimodellamento della MEC che caratterizza il processo di invasione [133].

L'infiltrazione lungo i vasi ematici rappresenta anche il primo meccanismo attraverso il quale i gliomi ottengono un supporto vascolare. Tale fenomeno di cooptazione vascolare, che avviene nei gliomi di basso grado e nell'area infiltrante dei gliomi di alto grado, prevede la formazione di "manicotti" di cellule neoplastiche attorno ai

microvasi sani e precede, in termini temporali, l'angiogenesi, ovvero la generazione di nuovi vasi a partire da vasi preesistenti, che è prerogativa dei gliomi di alto grado. I neovasi patologici sono dilatati, tortuosi, caratterizzati da un'eccessiva permeabilità, indotta dai livelli elevati di VEGF, e da un'alterazione della BEE, che si somma a quella prodotta a carico dei vasi preesistenti attraverso la dislocazione dei pedicelli degli astrociti da parte delle cellule neoplastiche infiltranti [134–137].

L'edema perilesionale conseguente rappresenta l'unica manifestazione macroscopica, osservabile con l'analisi radiologica, della diffusione microscopica della neoplasia [1].

3.3.3. Da edema peritumorale a *Peritumoral Brain Zone*

L'identificazione del confine tra edema peritumorale puro e infiltrazione tumorale rappresenta un problema clinico: è oggetto di dibattito fino a che distanza l'edema perilesionale rappresenti “malattia” e dove inizi il tessuto cerebrale con alterazioni solamente reattive [138].

Nei gliomi, dalla definizione di edema peritumorale si è passati a quella di *Peritumoral Brain Zone* (PBZ), che racchiude la complessità di un'area dove sono contestualmente presenti edema, cellule neoplastiche e cellule reattive. Ad oggi, non vi è in letteratura una definizione univoca di PBZ e ciò riflette la conoscenza ancora limitata di tale area. Tuttavia, la rilevanza clinica è enorme, dal momento che la PBZ rappresenta la principale sede di recidiva: anche in quei casi in cui si ottiene la resezione totale, ovvero del *core* tumorale compreso il bordo dotato di *enhancement*, l'85% delle recidive si verifica ai margini del cavo chirurgico [139].

La PBZ può essere definita come l'area che circonda il *core* tumorale [140] o come quella regione che radiologicamente e macroscopicamente assomiglia al parenchima cerebrale sano, ma che microscopicamente presenta un contenuto particolare, rappresentato da cellule neoplastiche infiltranti, astrociti reattivi, cellule infiammatorie e altre cellule stromali [141].

La maggior parte degli studi radiologici definisce la PBZ come l'area iperintensa nelle sequenze T2-pesate che circonda il cerchio di impregnazione contrastografica, visibile nelle sequenze T1-dipendenti e identificato come il bordo della neoplasia [142].

3.3.3.1. Caratterizzazione cellulare della *Peritumoral Brain Zone*

La PBZ presenta un contenuto cellulare eterogeneo che la differenzia sia dal *core* tumorale sia dal parenchima cerebrale sano.

L'infiltrazione di cellule neoplastiche nella PBZ si riscontra in un terzo dei casi all'esame istopatologico, nonostante l'aspetto macroscopico "normale" [141,142]. Le cellule infiltranti la PBZ sono fenotipicamente diverse da quelle del TC, essendo più invasive e dotate di una minor capacità di *self-renewal* [143].

La PBZ può essere alterata anche in assenza di cellule neoplastiche infiltranti. Si identificano astrociti reattivi, che esprimono elevati livelli di GFAP e, rispetto alle cellule neoplastiche, non presentano atipie nucleari né mitosi, e cellule stromali (*glioma-associated stromal cells*, GASC). Queste ultime sono diploidi, non presentano le alterazioni genomiche delle cellule neoplastiche e hanno delle somiglianze con i CAF (*cancer-associated fibroblasts*), sebbene ci siano evidenze discordanti sul loro ruolo nella crescita, proliferazione e migrazione delle cellule neoplastiche [140].

I vasi sanguigni della PBZ sono immaturi e altamente permeabili e tale aspetto istologico si riflette nell'edema vasogenico, osservabile nelle sequenze FLAIR come area di aumentato segnale che si estende oltre il bordo della neoplasia [113]. L'espressione di marker IHC di neovascolarizzazione nella PBZ, quali CD105, nestina, JNK (*Jun NH2 terminal kinase*) è indipendente dalla presenza di cellule tumorali e associata a prognosi sfavorevole [143].

I gliomi sono generalmente considerati come neoplasie con una ridotta infiltrazione linfocitaria [144]; il prevalere delle cellule della microglia e dei macrofagi sui TIL caratterizza un microambiente tumorale immunosoppressivo. Le cellule della microglia costituiscono la popolazione cellulare più rappresentata nella PBZ, contribuendo alla massa tumorale totale per almeno un terzo. Le cellule neoplastiche richiamano le cellule della microglia attraverso chemochine e ne inducono l'attivazione polarizzata verso il fenotipo M2, che è associato alla crescita e alla progressione tumorale [145].

3.3.3.2. Profilo molecolare della *Peritumoral Brain Zone*

L'analisi genomica mediante array-CGH risulta più sensibile rispetto all'esame istopatologico, rivelando in oltre il 50% dei casi la sovrapposizione tra il profilo genomico della PBZ e del TC anche in presenza di una PBZ istologicamente normale. Le alterazioni riscontrate nella PBZ sono quelle proprie del glioblastoma, come l'acquisizione di un cromosoma 7 con amplificazione di *EGFR*, la delezione del cromosoma 10 con perdita del gene *PTEN* (*Phosphatase and Tensin Homolog*) e la perdita del locus *CDKN2A/B* sul cromosoma 9. Tuttavia, alcune alterazioni sono esclusive della PBZ, in particolare l'acquisizione delle due regioni 11p11.2 e 16p13.3. Queste regioni contengono geni di interesse nella genesi del glioblastoma: *EXT2* (*Exostosin Glycosyltransferase 2*), codificante un enzima implicato nella biosintesi dell'eparan solfato, componente della MEC la cui deregolazione promuove l'invasione; *CIQTNF8* (*C1q And TNF Related 8*), codificante un ligando coinvolto nella resistenza a temozolomide [146]; *CACNA1H* (*Calcium Voltage-Gated Channel Subunit Alpha1 H*), codificante la subunità alpha di un canale del calcio voltaggio-dipendente, la cui inibizione riduce la proliferazione e la migrazione cellulare.

In alcuni casi le alterazioni genetiche identificate nella PBZ sono state riscontrate unicamente nelle cellule staminali del glioma (*glioma stem cells*, GSC), suggerendo che le cellule neoplastiche infiltranti la PBZ potrebbero essere le GSC [141]. È stato anche proposto che le GSC della PBZ siano una popolazione cellulare distinta rispetto alle GSC del TC, essendo capaci di migrare, infiltrando il parenchima sano, con meccanismi indipendenti dalla *stiffness* della MEC grazie all'attivazione di vie di meccano-trasduzione Rho e Rac-dipendenti [147].

L'analisi trascrittomica rivela, allo stesso modo, la compresenza di un profilo di espressione genica comune a TC e PBZ e di geni upregolati/downregolati esclusivamente nella PBZ. Ad esempio, si ha nella PBZ e nelle recidive di glioblastoma una sovraespressione della proteina *PDZ Binding Kinase* (PBK), la quale ha un ruolo nella promozione di proliferazione, migrazione e invasione cellulare, nonché nella resistenza a radioterapia e temozolomide [148].

In generale, è possibile affermare che le cellule della PBZ sono prone ad indurre rimodellamento della MEC, promuovendo invasione e migrazione, mentre nel TC prevalgono vie di trasduzione del segnale correlate a sopravvivenza e crescita cellulare, ipossia e angiogenesi [140].

Oltre alla caratterizzazione genomica, trascrittomica e proteomica della PBZ, recentemente è stato approfondito il ruolo dei microRNA (miRNA), evidenziando come si abbiano dei profili diversi di espressione tra TC, PBZ infiltrata e PBZ non infiltrata. Le cellule neoplastiche del glioma sono in grado di rilasciare vescicole extracellulari contenenti oncoMiR, ovvero miRNA oncogenici, che vengono veicolati alle cellule del microambiente tumorale, modificandolo per favorire la progressione tumorale [145].

3.4. VALUTAZIONE RADIOLOGICA DELL'EDEMA PERILESIONALE

3.4.1. Limiti della valutazione dell'edema perilesionale mediante tecniche RM di studio convenzionale

Essendo lo studio del TC spesso insufficiente alla diagnosi differenziale tra gliomi di alto grado e metastasi cerebrali, si è focalizzato lo sguardo sulla PBZ. Il termine di edema perilesionale in riferimento a quest'area, iperintensa nelle sequenze T2/FLAIR e priva di *contrast enhancement* nelle sequenze T1, risulta improprio o, quantomeno, riduttivo, dal momento che tale anomalia di segnale può essere espressione di molte condizioni istopatologiche differenti, quali edema vasogenico, infiltrazione neoplastica, necrosi, infiammazione e gliosi [149].

La valutazione mediante tecniche RM di studio convenzionale non consente di differenziare l'edema vasogenico puro, proprio delle metastasi cerebrali, dall'edema infiltrante, caratteristico dei gliomi di alto grado, né permette di distinguere tra neoplasia infiltrante e edema vasogenico nel contesto dei gliomi di basso e alto grado. A tal riguardo, lo studio RM morfologico dei gliomi di basso grado ha evidenziato che

la densità soglia di cellule tumorali per modificare le caratteristiche del segnale RM è pari a 500 cellule/mm³ [142].

La limitata caratterizzazione della PBZ mediante le tecniche RM di studio convenzionale può giustificare i risultati contrastanti degli studi che valutano il significato prognostico dell'edema perilesionale nei gliomi, dal momento che un'estensione della resezione alle aree iperintense in FLAIR può tradursi nella rimozione dell'edema vasogenico o nell'asportazione della neoplasia infiltrante [140].

L'interpretazione dell'immagine RM delle lesioni trattate è ancor più complessa rispetto alle lesioni non trattate poiché deve riconoscere le modifiche del normale assetto anatomico-strutturale prodotte da procedure neurochirurgiche, trattamenti radioterapici e farmacologici, e distinguerle dalla progressione tumorale [63].

Sebbene rappresentino la modalità tradizionalmente applicata nel follow-up, le tecniche RM di studio convenzionale sono poco accurate nella distinzione tra progressione tumorale e sequele post-terapia con sensibilità del 68% (95%CI 51% – 81%) e specificità del 77% (95%CI 45% – 93%) [150].

Nelle lesioni trattate i cambiamenti indotti dalla terapia locale e sistemica si aggiungono all'edema vasogenico, all'infiltrazione neoplastica, alla gliosi come possibile substrato patologico dell'iperintensità T2/FLAIR della PBZ [151]. Un incremento del segnale T2/FLAIR può essere espressione di progressione, ma può essere anche dovuto a diminuzione del dosaggio della terapia steroidea, danno ischemico, infezione, crisi epilettiche [152]. In particolare, il peggioramento dell'edema visibile in T2/FLAIR, associato a comparsa o aumento dell'impregnazione contrastografica, entro 3-6 mesi dalla radio-chemioterapia, che poi si stabilizza o va riducendosi nel follow-up in assenza di ulteriori trattamenti, si definisce come *pseudoprogressione* ed è dovuto al danno endoteliale indotto dalla radioterapia e potenziato dalla chemioterapia concomitante con temozolomide [153]. L'incremento dell'iperintensità T2/FLAIR può essere solo apparente e relativo alla riduzione della componente dotata di *enhancement* determinata dalla normalizzazione dello stato della BEE nei gliomi di alto grado trattati con bevacizumab, anticorpo monoclonale anti-VEGF approvato dalla FDA nel 2009 come seconda linea di terapia. Tale fenomeno,

noto come *pseudorisposta*, è osservabile già dopo un giorno dall'inizio della terapia, ma non è necessariamente indice di successo terapeutico [154]. Infine, a distanza di almeno 3-12 mesi dal termine della radioterapia, si può assistere alla comparsa di abbondante edema nelle sequenze T2, che circonda un focolaio dotato di *contrast enhancement* nel sito originario della neoplasia, espressione di *radionecrosi*, ovvero l'insulto provocato dalla radioterapia a carico delle strutture vascolari, con perdita della BEE, e del parenchima cerebrale, principalmente della sostanza bianca [155].

Il ricorso alle tecniche RM di studio avanzato è utile, dunque, non solo in fase diagnostica per aumentare l'accuratezza nella caratterizzazione dell'edema perilesionale, ma anche nel follow-up per distinguere la progressione tumorale dalle sequele post-terapia. In particolare, la RM multimodale può essere utilizzata per valutare la risposta precoce al trattamento, differenziando la progressione dalla pseudoprogressione [156].

3.4.2. Applicazione delle tecniche RM di studio avanzato nella valutazione dell'edema perilesionale pre-chirurgia

3.4.2.1. Diffusione

Le immagini DW consentono di valutare la libertà del moto delle molecole d'acqua nel contesto del *core* tumorale e dell'edema perilesionale, fornendo un'indicazione di cellularità.

Non vi sono differenze statisticamente significative nei valori di ADC del *core* tumorale, distinti per la componente solida e quella cistica, tra gliomi di alto grado e metastasi cerebrali, mentre i valori medi di ADC dell'edema perilesionale associato ai gliomi di alto grado sono significativamente minori di quelli dell'edema perimetastatico [157]. Questo dato è espressione della presenza, nell'edema vasogenico perilesionale dei gliomi, di cellule neoplastiche, che costituiscono una barriera al moto casuale delle molecole d'acqua, limitandone la diffusione [151].

Studi condotti per definire un cut-off ottimale di ADC e MD calcolati nell'edema perilesionale hanno rivelato un'accuratezza diagnostica moderata nella differenziazione tra gliomi di alto grado e metastasi, con sensibilità dell'84.7% (95%CI

73.6% – 91.6%) e specificità dell'84.0% (95%CI 71.8% – 91.6%) [158]; a tale scopo è stato suggerito per il parametro ADC minimo perilesionale un cut-off pari a $1.302 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, con sensibilità dell'82.9% e specificità del 78.9% [159].

Si è evidenziato un gradiente crescente di ADC nell'edema peritumorale dei glioblastomi, che indica un numero decrescente di cellule neoplastiche dal cerchio di impregnazione contrastografica verso la sostanza bianca normale, assente nelle lesioni metastatiche, dove i valori di ADC sono simili a diverse distanze dal *core* tumorale. Il gradiente di ADC potrebbe essere un marker di glioma infiltrante, utile nella diagnosi differenziale con lesioni espansive non infiltranti, quali metastasi, ma anche linfomi o ascessi [160].

3.4.2.2. Tensore di diffusione e trattografia

La sequenza di DTI, per la possibilità di indagare l'integrità e l'orientamento dei fasci della sostanza bianca, è utile per definire più accuratamente i margini dei tumori in corrispondenza dell'area di iperintensità in T2/FLAIR.

Il coinvolgimento dei fasci della sostanza bianca perilesionale può essere distinto in dislocazione, edema, infiltrazione o interruzione sulla base dei differenti pattern di anisotropia osservabili nelle *color maps* [161]. Una riduzione statisticamente significativa di FA nella sostanza bianca perilesionale rispetto alla sostanza bianca normale è stata riscontrata in caso di interruzione, a suggerire la distruzione, almeno parziale, delle fibre dei fasci interrotti. In caso di dislocazione, edema o infiltrazione non si hanno, invece, differenze statisticamente significative nei valori di FA tra sostanza bianca peritumorale e sostanza bianca normale [162]. Se alcuni autori riportano valori di FA più bassi nell'edema infiltrato rispetto all'edema vasogenico puro, causati dalla perdita della normale anisotropia della sostanza bianca, altri riferiscono valori di FA più alti nell'area peritumorale dei gliomi rispetto alle metastasi, attribuendo questo dato ad un certo grado di organizzazione dell'edema indotto dall'infiltrazione neoplastica [151]. FA risulta pertanto un parametro non specifico, che può essere alterato in maniera analoga dall'invasione tumorale e dall'aumento dello spazio extracellulare, con valori che tendono a sovrapporsi tra edema infiltrante e edema vasogenico puro.

È stato documentato un incremento significativo di MD nell'edema vasogenico puro rispetto all'edema infiltrante, legato al maggior contenuto d'acqua del primo [158,163]. La trattografia consente di aumentare l'accuratezza della caratterizzazione del coinvolgimento della sostanza bianca perilesionale, tuttavia vi sono dei problemi interpretativi. Tra questi il maggiore è rappresentato dall'interruzione del *tracking*, sempre dovuta al calo di FA al di sotto di un valore soglia, che può essere causato sia da marcato edema perilesionale sia da infiltrazione o distruzione delle fibre da parte della lesione. Ciò è in parte legato ai limiti intrinseci della metodica, parzialmente superabili da un lato con l'uso di algoritmi probabilistici, dall'altro con la correlazione con il decorso clinico post-operatorio [164,165].

3.4.2.3. Perfusion

La tecnica di perfusione DSCE, prevalentemente utilizzata nella pratica clinica nell'analisi del *core* tumorale, può essere usata anche nella valutazione dell'edema perilesionale.

I valori di rCBV della componente solida della neoplasia non consentono di discriminare tra metastasi cerebrali e gliomi di alto grado; al contrario i valori di rCBV dell'edema perilesionale permettono tale distinzione: i valori di rCBV peritumorale nei gliomi di alto grado sono più elevati dei valori di rCBV perimetastatico a causa dell'infiltrazione e neoangiogenesi neoplastica che caratterizzano i primi [97,166–168]. In particolare, i valori di rCBV perimetastatico sono più bassi rispetto alla normale sostanza bianca poiché l'edema vasogenico, associato al *leakage* attraverso capillari con ultrastruttura anomala, determina compressione del microcircolo in prossimità della lesione [169].

Il parametro rCBV perilesionale è validato e standardizzato per la diagnosi differenziale tra gliomi e metastasi, con sensibilità e specificità pari a 89% (95%CI 80% – 94%) e 88% (95%CI 74% – 95%) rispettivamente; il cut-off ottimale proposto ha una mediana di 1.2 (range: 0.46-1.7) [170].

È stato documentato un gradiente di rCBV nella PBZ dei glioblastomi, con valori decrescenti dal bordo dotato di *enhancement* verso la sostanza bianca normale, non riscontrato nell'area perimetastatica, caratterizzata da valori di rCBV sovrapponibili a

diverse distanze dalla massa. Questo gradiente riflette, a livello radiologico, il gradiente presente a livello istopatologico, legato alla presenza di una maggiore densità di cellule neoplastiche infiltranti in continuità con il *core* tumorale [167,171].

3.4.2.4. Spettroscopia

La spettroscopia a volumi multipli è utile nella valutazione della reale estensione delle lesioni espansive cerebrali e nella diagnosi differenziale tra gliomi e lesioni di natura secondaria.

Nell'ambito dei gliomi di alto grado, l'imaging spettroscopico, rispetto all'imaging anatomico, consente di definire con più accuratezza i margini della lesione, evidenziando come questa si estenda oltre il bordo dotato di *enhancement*, ma anche oltre i limiti dell'iperintensità T2/FLAIR [172].

Per quanto riguarda il profilo metabolico dell'edema infiltrante e dell'edema vasogenico puro, nel primo il picco di Cho è più elevato di quello di NAA, mentre nel secondo i valori di Cho non sono superiori a quelli di NAA per l'assenza di cellule maligne [151,173]. Stabilendo un cut-off pari a 1.24 per il rapporto Cho/Cr nell'area perilesionale, si ottengono valori di sensibilità e di specificità rispettivamente del 100% e 88.9% per la diagnosi differenziale tra gliomi di alto grado e metastasi. Se si pone un cut-off di 1.11 per il rapporto Cho/NAA perilesionale si hanno sensibilità del 100% e specificità del 91.1% [174]. Inoltre, un elevato rapporto Cho/NAA perilesionale all'imaging post-operatorio è un fattore prognostico sfavorevole, associato a recidiva precoce [175].

Regioni di interesse (ROI) caratterizzate da basso ADC ed elevato rCBV nel TC e nella PBZ dei glioblastomi presentano un rapporto Cho/NAA elevato e un'alta proporzione di queste ROI nella PBZ si associa a bassa sopravvivenza [176].

Alterazioni del profilo metabolico dell'edema perilesionale comuni a glioblastomi e metastasi sono l'aumento del picco di Glx, espressione di perdita neuronale e demielinizzazione, e la comparsa del picco di Lac, probabilmente proveniente dal *core* tumorale ipossico per diffusione [83].

3.4.2.5. Analisi radiomica

L'analisi radiomica, applicata ad uno studio RM multimodale, consente di caratterizzare la PBZ del glioblastoma, identificando le aree di infiltrazione neoplastica a rischio di progressione. In queste ultime si rilevano valori più bassi di ADC, per la presenza di cellule neoplastiche infiltranti, che riducono lo spazio extracellulare disponibile per il moto delle molecole d'acqua, segnale più intenso nelle sequenze FLAIR, indice di un'iniziale alterazione dell'integrità della BEE, non ancora apprezzabile all'esame visivo, nonché valori più elevati di rCBV e di Cho, espressione di neovascolarizzazione e proliferazione cellulare [177].

Considerando le *features* radiomiche della zona necrotica, del bordo proliferativo e della PBZ, queste ultime sono quelle che meglio predicono la sopravvivenza dei pazienti con glioblastoma. In particolare, l'analisi radiomica ha identificato due profili radiologici della PBZ associati a breve sopravvivenza (<7 mesi) e lunga sopravvivenza (>18 mesi) [178].

Questi studi rappresentano il tentativo di superare quella valutazione dell'edema perilesionale basata unicamente sulle caratteristiche all'imaging RM convenzionale, che costituisce un limite nella definizione della sua rilevanza prognostica. Uno studio multicentrico ha identificato l'edema peritumorale come fattore prognostico indipendente di sopravvivenza, con i pazienti con maggiore edema peritumorale gravati da OS inferiore rispetto ai pazienti con minore estensione dello stesso [179]. In una serie di 416 casi di glioblastoma, invece, l'estensione dell'edema non è risultata un fattore prognostico indipendente capace di predire la sopravvivenza dei pazienti [180].

3.4.3. Applicazione delle tecniche RM di studio avanzato nella valutazione delle lesioni trattate

3.4.3.1. Diffusione

Il parametro ADC può essere utilizzato per distinguere la progressione tumorale dalle sequele post-terapia, in particolare dalla pseudoprogressione.

Si riscontrano valori di ADC più elevati nella pseudoprogressione rispetto alla progressione, i quali riflettono il diverso substrato istopatologico: vasodilatazione,

necrosi fibrinoide e danno endoteliale nella prima, proliferazione cellulare nella seconda [181]. I valori di ADC sono particolarmente utili per la valutazione dell'area di iperintensità in T2/FLAIR nel post-operatorio: valori di ADC bassi precedono la comparsa di *enhancement* nodulare con una mediana di 3 mesi nei pazienti trattati per glioblastoma [182].

Nella valutazione della risposta al trattamento dei gliomi di alto grado, le mappe di ADC sono le meno accurate tra le tecniche di studio avanzato, sebbene le più disponibili nella pratica clinica. Vi è, quindi, l'indicazione ad integrare DWI con almeno una seconda tecnica RM avanzata nello studio delle lesioni trattate [150].

3.4.3.2. Tensore di diffusione e trattografia

Un limitato numero di studi ha applicato DTI per studiare lo stato dei fasci della sostanza bianca perilesionale post-terapia e i risultati ottenuti sono discordanti.

Si sono riscontrati valori di FA uguali, più alti e più bassi nella progressione tumorale rispetto alla pseudoprogressione [183]. Sia nella radionecrosi sia nella progressione di gliomi di alto grado e metastasi si evidenziano bassi valori di FA, che riflettono la perdita dell'anisotropia presente in entrambi i casi per distruzione di strutture cellulari e fibre nervose [155].

3.4.3.3. Perfusion

PWI rappresenta una tecnica fondamentale nella distinzione tra progressione tumorale e sequele post-terapia, con valori più elevati di rCBV nel primo caso in virtù dell'elevata densità capillare della malattia neoplastica [184].

Meta-analisi condotte su gliomi e metastasi [185] e su gliomi di alto grado trattati [186] evidenziano come rCBV, calcolato nella componente dotata di *enhancement*, sia più elevato nella progressione rispetto alle sequele post-terapia, con riferimento sia alla pseudoprogressione sia alla radionecrosi.

La tecnica DSCE, la più utilizzata nella pratica clinica, ha sensibilità dell'87% (95%CI 82% – 91%) e specificità dell'86% (95%CI 77% – 91%) per la valutazione della risposta al trattamento dei gliomi di alto grado. Il limite di tale tecnica è rappresentato

dai numerosi fattori capaci di modificare i valori calcolati, quali il timing dello studio, la terapia steroidea e il *post-processing* operatore-dipendente [150].

3.4.3.4. Spettroscopia

La spettroscopia ha elevata sensibilità (91%, 95%CI 79% – 97%) e specificità (95%, 95%CI 65% – 99%) nella valutazione della risposta alla terapia dei gliomi di alto grado. Tuttavia, essa presenta diversi limiti, che rendono difficile integrarla nella pratica clinica: lunghi tempi di acquisizione, difficile identificazione di lesioni di piccole dimensioni, contaminazione del segnale da parte di lipidi e acqua, presenti, rispettivamente, nello scalpo e nei ventricoli [150].

I rapporti Cho/Cr e Cho/NAA rappresentano i principali discriminanti ai fini della diagnosi differenziale tra progressione e sequele post-terapia: sia nei gliomi sia nelle metastasi trattate sono significativamente più elevati laddove vi è progressione rispetto alla necrosi indotta dalla radioterapia [185]. Mentre nella pseudoprogressione si riscontra aumento del picco di Lip e diminuzione del rapporto Cho/NAA, nella progressione si hanno alti valori di Cho e un elevato rapporto Cho/NAA [187].

I valori dei picchi metabolici vanno interpretati alla luce del timing dell'imaging, dal momento che le concentrazioni di colina e creatina nelle aree di necrosi post-radioterapia variano nel tempo: Cho aumenta nei primi mesi dopo la radioterapia ed inizia a ridursi quando compare la necrosi indotta dalla terapia. Un elevato rapporto Cho/NAA, che tende poi a ridursi al follow-up, è più probabilmente espressione non di progressione neoplastica, ma di infiammazione, gliosi o demielinizzazione [184,185].

PARTE II – STUDIO

4. SCOPO DELLO STUDIO

Lo scopo di questo studio è caratterizzare l'edema perilesionale nelle lesioni espansive cerebrali in fase pre-operatoria, facendo diagnosi differenziale tra edema vasogenico e edema infiltrante, mediante l'imaging RM multimodale, nonché indagarne le modifiche in fase post-operatoria attraverso l'analisi integrata dei parametri quantitativi ottenuti dall'imaging RM avanzato e dalle tecniche di segmentazione.

5. MATERIALI E METODI

5.1. DISEGNO DELLO STUDIO E IDENTIFICAZIONE DEI PAZIENTI

Sono stati identificati in maniera prospettica 213 pazienti con diagnosi di lesione espansiva cerebrale, afferiti all'ospedale di Treviso da gennaio 2020 ad agosto 2023. I pazienti da arruolare nello studio sono stati individuati attraverso la valutazione degli esami neuroradiologici, istologici e molecolari, dei verbali operatori, delle lettere di dimissione e dei certificati di morte.

Sono stati selezionati pazienti di sesso maschile e femminile applicando i seguenti criteri di inclusione:

1. Età ≥ 18 anni;
2. Lesione espansiva cerebrale edemigena, singola, sopratentoriale, di nuovo riscontro;
3. Studio di risonanza magnetica pre-operatorio e post-operatorio a 3 mesi eseguito con magnete 3 T presso l'U.O.C. di Neuroradiologia dell'AULSS 2 Marca Trevigiana;
4. Intervento di craniotomia presso l'U.O.C. di Neurochirurgia dell'AULSS 2 Marca Trevigiana;
5. Diagnosi istologica di glioma diffuso di alto grado o metastasi cerebrale.

I criteri di esclusione utilizzati sono:

1. Studio di RM pre-operatorio non disponibile perché eseguito presso un'altra sede (44 pazienti), eseguito con magnete 1.5 T (4 pazienti), non eseguito (19 pazienti) o non adeguato per mancata acquisizione delle sequenze isovolumetriche T1 *Volumetric Interpolated Breath-hold Examination* (VIBE) con mdc o FLAIR (11 pazienti);
2. Studio di RM post-operatorio a 3 mesi non disponibile perché eseguito presso un'altra sede o non eseguito o per morte del paziente (39 pazienti);

3. Lesione espansiva cerebrale non edemigena o priva di *enhancement* dopo mdc (18 pazienti) o lesione multicentrica (2 pazienti);
4. Recidiva di lesione gliale (20 pazienti);
5. Trattamento non chirurgico della lesione cerebrale espansiva o biopsia (13 pazienti) o intervento presso un'altra sede (1 paziente);
6. Diagnosi di ascesso intracranico (5 pazienti), linfoma (3 pazienti), glioma circoscritto (1 paziente), radionecrosi (1 paziente).

A partire da 213 pazienti iniziali, si sono identificati 32 pazienti da arruolare nello studio.

5.2.RACCOLTA DATI

Per ciascun paziente si sono raccolti i seguenti dati: età alla diagnosi, sesso, tipologia di intervento (anestesia generale con intubazione/*awake surgery*), sede della lesione, diagnosi istologica, volume dell'edema perilesionale pre- e post-operatorio a 3 mesi, rapporto tra ADC dell'edema perilesionale pre-operatorio e ADC del parenchima controlaterale sano (*ADC ratio* perilesionale pre-operatorio), rapporto tra ADC dell'edema perilesionale post-operatorio e ADC del parenchima controlaterale sano (*ADC ratio* perilesionale post-operatorio), neoangiogenesi nell'edema perilesionale pre- e post-operatorio, residuo all'imaging post-operatorio (presenza/assenza di *enhancement* patologico), complicanze chirurgiche/mediche dell'intervento, trattamento post-chirurgico, durata del follow-up, progressione, sede della progressione, *free survival time* (mesi), trattamento della recidiva (chirurgia/chemioterapia/radioterapia/terapia di supporto), morte, *time to death* (mesi). Per i glioblastomi si sono valutati anche Ki-67, parametri immunohistochimici (IDH1, ATRX, p53) e molecolari (*IDH1/2*, *TERT*, *MGMT*).

Per le metastasi si sono valutati anche sede del tumore primitivo e presenza di metastasi extracerebrali.

5.3.INTERVENTO CHIRURGICO

Tutti i pazienti sono stati sottoposti a intervento chirurgico con lo scopo di asportazione radicale della massa tumorale mediante tecnica microchirurgica.

Il disegno del lembo chirurgico, il centraggio della craniotomia e la localizzazione della lesione sono stati eseguiti con il neuronavigatore (StealthStation S8, Medtronic, Minneapolis, MN, USA). La TC pre-operatoria con protocollo per neuronavigatore e le sequenze RM isovolumetriche T1 VIBE con mdc e FLAIR sono state utilizzate per la neuronavigazione intraoperatoria. Si è sfruttata la funzionalità di tracciamento ottico, che si basa su una localizzazione per mezzo di telecamere a raggi infrarossi e prevede la fissazione con testiera a tre punte Mayfield.

In presenza di lesioni in aree eloquenti (aree direttamente coinvolte nel controllo sensori-motorio e nelle funzioni del linguaggio, della vista, della memoria) sono state messe in atto metodiche di *brain mapping*, ovvero neurofisiologia intraoperatoria in pazienti sottoposti ad anestesia generale e *awake surgery*. Tali metodiche hanno lo scopo di rimuovere il più possibile della massa tumorale rispettando allo stesso tempo l'integrità funzionale del paziente: la resezione è stata proseguita fino all'identificazione e al raggiungimento dei circuiti funzionali presenti intorno al tumore (*maximal safe resection*) [188].

Per l'intervento in anestesia generale con intubazione sono stati somministrati, mediante pompa *target-controlled infusion* (TCI), propofol (1.5-4.5 mg/kg/h) e remifentanil (0.025-0.1 µg/kg/min).

Il monitoraggio neurofisiologico intraoperatorio è stato attuato attraverso potenziali evocati motori (*Motor Evoked Potentials*, MEPs) e somatosensoriali (*Somatosensory Evoked Potentials*, SSEPs), nonché elettromiografia (EMG), elettrocorticografia (EcoG) e stimolazione corticale diretta (*Direct Electrical Stimulation*, DES) con stimolatori (*probe*) monopolari (8-20 mA) o bipolari (2-8 mA). Per localizzare il solco centrale ed il giro precentrale è stata impiegata la tecnica *Phase Reversal*.

I pazienti sono stati considerati eleggibili per la procedura AS dopo il completamento di una batteria di test neuropsicologici. Il posizionamento del paziente e la somministrazione dei test neuropsicologici intraoperatori sono stati simulati il giorno prima dell'intervento chirurgico come *training* del paziente.

Prima dell'intervento, è stato eseguito il blocco dello scalpo e l'infiltrazione dei siti per il fissaggio della testiera a tre punte Mayfield con una soluzione di anestetico locale (2% lidocaina e 0.25% bupivacaina) e adrenalina (5 µg/ml).

Il protocollo AS prevede sedazione con maschera laringea e ventilazione spontanea con basse dosi di farmaci sedativi, dexmedetomidina (0.5-1.6 µg/kg/h) e propofol, somministrati mediante pompa TCI.

Tutte le procedure AS sono state svolte con monitoraggio intraoperatorio mediante MEPs, SSEPs, EMG, EcoG e DES con *probe* monopolari o bipolari.

5.4. TRATTAMENTO POST-CHIRURGICO E FOLLOW-UP

Dopo la dimissione, i pazienti sono stati seguiti dal Gruppo Oncologico Multidisciplinare, composto da un oncologo, un neurologo, un neuroradiologo, un radioterapista, un patologo e un neurochirurgo. Il gruppo stabilisce il timing di visite ambulatoriali, medicazioni, controlli radiologici e terapia.

I pazienti con glioblastoma sono stati sottoposti, entro 6 settimane dalla diagnosi istologica, a radio-chemioterapia secondo diversi protocolli:

- protocollo Stupp, prevede radioterapia conformazionale tridimensionale con una dose totale di 60 Gy in 30 frazioni in 6 settimane (2.00 Gy/frazione) associata a chemioterapia concomitante con temozolomide orale (75 mg/m²/die per tutta la durata della radioterapia); dopo una pausa di 4 settimane, seguono 6 cicli di temozolomide orale adiuvante (150-200 mg/m²) per 5 giorni per ogni ciclo da 28 giorni [25];
- protocollo Perry, per pazienti fragili/anziani (>65-70 anni) o con prognosi sfavorevole; prevede radioterapia conformazionale tridimensionale con una dose totale di 40.05 Gy in 15 frazioni in 3 settimane (2.67 Gy/frazione)

associata a temozolomide orale concomitante (75 mg/m²/die per tutta la durata della radioterapia) e temozolomide orale adiuvante a partire da 4 settimane dopo la fine del trattamento combinato (150-200 mg/m²) per 5 giorni per ciascun ciclo da 28 giorni fino a progressione di malattia e comunque fino ad un massimo di 12 cicli [189,190];

- protocollo W Roa, per pazienti fragili/anziani con tumori piccoli; prevede radioterapia conformazionale tridimensionale con una dose totale di 25 Gy in 5 frazioni in 1 settimana (5.00 Gy/frazione) associata a temozolomide orale concomitante (150 mg/m²) per 5 giorni, seguita da temozolomide adiuvante (150-200 mg/m²) per 5 giorni per ciascun ciclo da 28 giorni fino a progressione di malattia e comunque fino ad un massimo di 12 cicli [190–192].

Il trattamento radioterapico è stato effettuato con tecnica *Volumetric intensity-Modulated Arc Therapy* (VMAT) con arco di fotoni di energia pari a 6 mV.

I pazienti con metastasi cerebrale dopo la chirurgia hanno ricevuto una terapia diversa sulla base delle condizioni cliniche e dell'andamento della malattia primitiva, con combinazioni differenti di radioterapia stereotassica, chemioterapia, terapie a bersaglio molecolare e immunoterapia.

5.5.PROTOCOLLO DI STUDIO RM

5.5.1. Acquisizione delle immagini RM

Lo studio di RM è stato eseguito con magnete 3 T (Magnetom Vida, Siemens Healthineers, Germany).

È stato applicato il protocollo di studio per pazienti con lesione espansiva cerebrale che prevede le sequenze: FLAIR assiale, DWI assiale, FLAIR 3D, T1 VIBE isovolumetrica, T2 TSE assiale, PWI con tecnica DSCE, T1 VIBE isovolumetrica dopo mdc (T1-CE).

È stato utilizzato come mdc il chelato macrociclico di gadolinio Gadovist® (Gadobutrolo, 1 mmol/ml) secondo la seguente modalità: somministrazione endovenosa di un prebolo di 2 ml dopo la sequenza T1 VIBE isovolumetrica, seguito

da un bolo di 0.1 ml/kg dopo la sequenza T2 TSE. Tale modalità di somministrazione è importante per attenuare la sottostima della caduta del segnale T2/T2* legata all'alterazione della BEE.

Nella maggior parte degli studi di RM preoperatori sono state aggiunte alle sequenze di tale protocollo anche sequenze T2 SWI, prima della somministrazione di mdc, DTI e MRS a volumi multipli (CSI 30), eseguite dopo le sequenze T1-CE.

Lo studio di RM eseguito per il follow-up dei pazienti con diagnosi istologica di metastasi cerebrale non ha sempre previsto le sequenze PWI.

La durata del protocollo di studio per pazienti con lesione espansiva cerebrale è 22.53 minuti; diviene 27.35 minuti aggiungendo le sequenze T2 SWI, 35.31 minuti con CSI 30 e 43.5 minuti con DTI trattografia.

I parametri di acquisizione sono riportati in Tabella II.

Tabella II. Parametri di acquisizione delle immagini RM.

	FLAIR	FLAIR 3D	T1 VIBE	T2 TSE	DWI	DTI	PWI	SWI	CSI 30
Orientation	assiale	sagittale	assiale	assiale	assiale	assiale	assiale	assiale	assiale
TE (ms)	102	386	8.8	74	66	94	30	20	30
TR (ms)	8500	8500	3.29	4090	2900	3600	1600	29	1700
TI (ms)	160	160							
TA (min)	4.32	5.57	3.38	2.08	1.18	8.12	1.42	4.42	7.56
FOV (mm)	220	245	250	230	230	220	235	220	160
Slices (number)	28	192	240	28	28	63	20	88	
Slice thickness (mm)	4.0	0.85	0.7	4.0	4.0	2.2	4.0	1.5	15
Matrix	384 × 512	256 × 256	384 × 512	384 × 512	200 × 256	256 × 256	128 × 128	512 × 512	
Voxel size (mm)		0.9 × 0.9 × 0.9	0.7 × 0.7 × 0.7					0.4 × 0.4 × 1.5	10 × 10 × 15
b value (s/mm ²)					0-1000				

CSI, *Chemical Shift Imaging*; DTI, *Diffusion Tensor Imaging*; DWI, *Diffusion-Weighted Imaging*; FLAIR, *FLuid-Attenuated Inversion Recovery*; FOV, *Field of View*; PWI, *Perfusion-Weighted Imaging*; SWI, *Susceptibility-Weighted Imaging*; TA, Tempo di acquisizione; TE, Tempo di eco; TI, Tempo di inversione; TR, Tempo di ripetizione; TSE, *Turbo Spin-Echo*; VIBE, *Volumetric Interpolated Breath-hold Examination*.

5.5.2. Analisi ed elaborazione delle immagini RM

L'analisi delle sequenze di studio convenzionale ha permesso la definizione delle seguenti aree (Figura 11):

- *core* tumorale, ovvero l'area dotata di *contrast enhancement* nelle sequenze T1 VIBE dopo mdc;

- edema perilesionale, ovvero l'area attorno al *core* tumorale, iperintensa nelle sequenze T2/FLAIR e priva di *contrast enhancement* nelle sequenze T1 VIBE dopo mdc;
- parenchima cerebrale sano, ovvero l'area con normale intensità del segnale in tutte le sequenze.

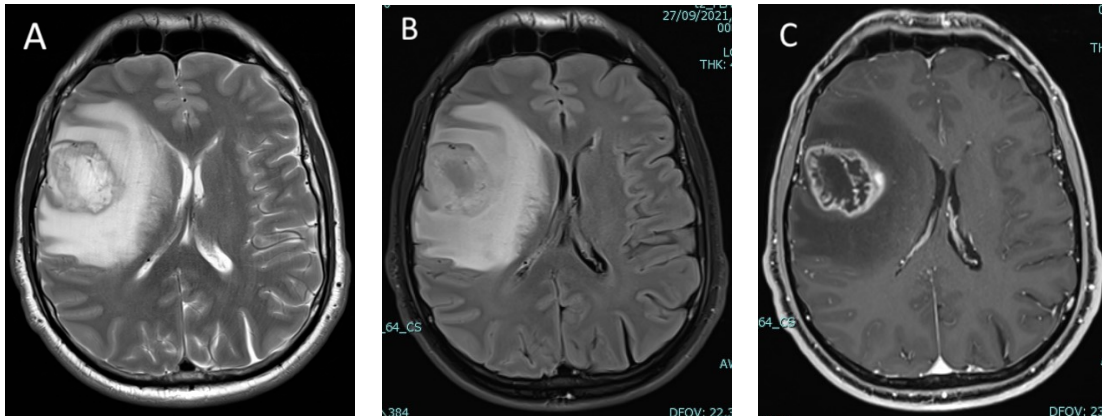


Figura 11. Glioblastoma frontale destro.

Le sezioni T2 TSE (A) e FLAIR (B) sul piano assiale mostrano l'esteso edema perilesionale; la sequenza T1 VIBE isovolumetrica (C) evidenzia il *core* tumorale dotato di *enhancement* periferico.

DWI – Le immagini ottenute con gradienti di diffusione sono state ricostruite e rappresentate in forma isotropa. Successivamente, mediante l'utilizzo di una *workstation* dedicata, è stato eseguito il calcolo delle mappe di ADC, applicando per ciascun pixel la formula $ADC = \ln [(S_0/S)/b]$, dove S_0 è l'intensità del segnale nell'immagine DWI acquisita con $b = 0 \text{ s/mm}^2$ (immagine pesata in T2) e S è l'intensità del segnale nell'immagine DWI acquisita con $b = 1000 \text{ s/mm}^2$ (immagine pesata in diffusione).

PWI – L'elaborazione dei dati ottenuti dallo studio di perfusione ha previsto i seguenti passaggi fondamentali:

- Ispezione visiva delle curve segnale-tempo;
- *Masking*, per confinare l'analisi di perfusione ai tessuti appartenenti all'encefalo, e correzione di eventuali movimenti del paziente;

- Scelta e misura della funzione di input arterioso (*Arterial Input Function*, AIF) mediante posizionamento di una ROI su un vaso vicino alla lesione, al fine di minimizzare gli effetti di ritardo e dispersione del bolo di mdc;
- Calcolo delle mappe di CBV, CBF e MTT mediante algoritmi matematici.

DTI e trattografia – La ricostruzione trattografica è stata realizzata con algoritmo a propagazione lineare; in particolare, a partire da un voxel di partenza (*seed voxel*), i voxel adiacenti sono connessi in base all'orientamento dell'autovettore principale fino a quando non si ha interruzione del *tracking* in corrispondenza di un voxel con FA al di sotto di una soglia prestabilita o con eccessiva angolazione dell'autovettore principale. La rappresentazione tridimensionale del fascio di fibre nervose così ottenuta è stata sovrapposta a un'immagine RM morfologica acquisita con tecnica 3D.

CSI 30 – La spettroscopia con tecnica a volumi multipli è stata svolta effettuando multipli campionamenti del *core* tumorale, dell'edema perilesionale e del parenchima cerebrale sano per confrontare gli spettri patologici acquisiti nelle diverse componenti della lesione tra di loro e con gli spettri di riferimento del tessuto sano. L'impiego di TE breve ha consentito di rilevare un numero maggiore di metaboliti, in particolare il picco di mI, e, allo stesso tempo, di non allungare eccessivamente i tempi di acquisizione.

5.5.3. Timing dello studio RM

Lo studio di RM pre-operatorio è stato eseguito entro 1 mese dalla chirurgia.

I pazienti sono stati sottoposti a RM e/o TC post-operatoria senza e con mdc entro 24-48 ore dall'intervento chirurgico per individuare eventuali complicanze, quali emorragia/ischemia, e per documentare la radicalità dell'asportazione.

Il controllo RM post-operatorio è stato eseguito nei pazienti con diagnosi istologica di glioblastoma dopo 1 mese dal termine del trattamento combinato chemio-radioterapico, prima dell'avvio del primo ciclo di temozolomide adiuvante, dunque a distanza di circa 3 mesi dalla chirurgia.

Nei pazienti con diagnosi istologica di metastasi cerebrale il controllo RM post-operatorio è stato eseguito dopo la radioterapia stereotassica, a circa 2 mesi dalla chirurgia, o a scopo di ristadiatione prima dell'eventuale radioterapia, a maggiore distanza ma sempre entro 6 mesi dall'intervento chirurgico.

5.6. ANALISI MULTIMODALE DELL'EDEMA PERILESIONALE

L'analisi multimodale dell'edema perilesionale è stata effettuata sullo studio di RM pre-operatorio e sul controllo RM post-operatorio eseguito a circa 3 mesi dalla chirurgia.

L'imaging svolto entro 24-48 ore dalla chirurgia è stato valutato solamente al fine di identificare un eventuale residuo dotato di *enhancement*, mentre non si è esaminato l'edema perilesionale, dal momento che questo non si modifica sostanzialmente nell'immediato post-operatorio.

5.6.1. Segmentazione

La segmentazione dei tumori cerebrali, che rappresenta il primo passo per una corretta quantificazione volumetrica, consiste nella separazione delle diverse componenti della neoplasia, come la massa solida o tumore attivo, la necrosi e l'edema, dal parenchima cerebrale sano. Vi sono tre metodi di segmentazione, distinti sulla base del grado di intervento umano richiesto: manuale, semi-automatica e automatica [193].

In questo studio la segmentazione è stata eseguita in maniera semi-automatica con il software gratuito *open source* 3D Slicer (Slicer 3D 5.2.2, www.slicer.org). Questo software è stato sviluppato per la ricerca e lo sviluppo di biomarcatori radiologici e può essere utilizzato per l'analisi qualitativa e quantitativa delle immagini ottenute attraverso diverse tecniche radiologiche [194].

5.6.1.1. Segmentazione e quantificazione volumetrica dell'edema perilesionale pre-operatorio

La procedura seguita per l'analisi volumetrica dell'edema perilesionale pre-operatorio ha previsto: 1) caricamento dello studio RM pre-operatorio nel software 3D Slicer; 2) segmentazione; 3) calcolo del volume dell'edema perilesionale.

Le immagini RM sono state importate in formato DICOM (*Digital Imaging and Communications in Medicine*) nel software 3D Slicer.

È stata eseguita, utilizzando il modulo *Segment Editor*, una segmentazione 2D sui piani assiale, sagittale e coronale su sequenze isovolumetriche T1 VIBE dopo mdc (T1-CE) e FLAIR. Con lo strumento *Paint (round brush, diametro 1%)* si sono delineati su una singola fetta di ciascun piano i seguenti segmenti:

- il *core* tumorale (*segment 1*), ovvero l'area dotata di *enhancement* nella sequenza T1-CE, corrispondente al tumore attivo con distruzione della BEE, insieme all'eventuale necrosi centrale, e il relativo contorno (*segment 2*);
- l'iperintensità patologica nella sequenza FLAIR (*segment 3*), coincidente con il *core* tumorale e l'edema perilesionale associato, e il relativo confine (*segment 4*) (Figura 13, A e C).

Usando lo strumento *Grow from Seeds*, si è generata in maniera completamente automatizzata la segmentazione 3D, ottenuta dall'interpolazione della segmentazione 2D eseguita manualmente (Figura 13, B e D). Questo strumento si basa sull'algoritmo *GrowCut*, che consente la segmentazione 2D e 3D di strutture di interesse sfruttando un criterio di similarità, quale un intervallo di valori di luminosità dei pixel dell'immagine. A partire da un set di pixel tracciati manualmente (*seeds*) viene ricostruita una regione o un volume di interesse [195].

Il modello 3D così ottenuto è stato corretto manualmente con gli strumenti *Paint* e *Erase*, aggiungendo o eliminando alcune aree sulle diverse fette, appartenenti principalmente al piano assiale. L'algoritmo *GrowCut* consente di aggiornare automaticamente il modello 3D sulla base delle modifiche apportate manualmente (Figura 12).

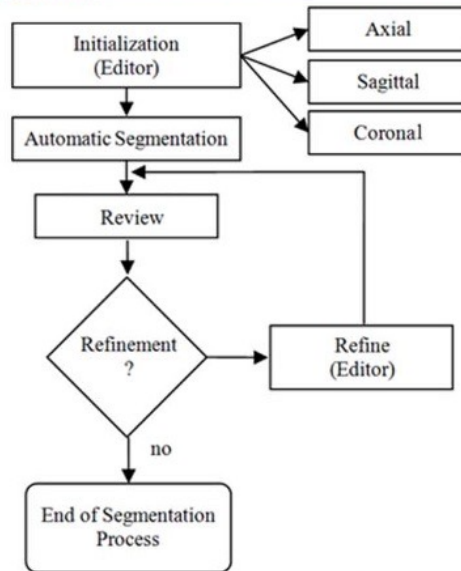


Figura 12. Scomposizione della procedura di segmentazione.

La procedura inizia con una segmentazione 2D sui piani assiale, sagittale e coronale, eseguita manualmente con lo strumento *Paint (Inizialization)*. Usando lo strumento *Grow from Seeds*, si ottiene in maniera completamente automatizzata il modello 3D. Se non appropriato, il risultato della segmentazione automatica può essere modificato manualmente con gli strumenti del modulo *Segment Editor (Refinement)* [195].

Per il calcolo dei volumi si è utilizzato il modulo *Quantification - Segment Statistics*, applicato al *core* tumorale e all'iperintensità patologica FLAIR.

Il volume dell'edema perilesionale pre-operatorio è stato ottenuto sottraendo al volume dell'iperintensità patologica FLAIR il volume del *core* tumorale.

Si è calcolato, quindi, il rapporto percentuale tra il volume dell'edema perilesionale e il volume dell'iperintensità patologica FLAIR per quantificare l'impatto dell'edema sul volume della malattia neoplastica in maniera indipendente dal volume del *core* tumorale.

Si riportano le formule utilizzate per la quantificazione volumetrica dell'edema perilesionale pre-operatorio:

- 1) Volume edema perilesionale pre-operatorio (mm³) = Volume iperintensità patologica FLAIR pre-operatoria (mm³) – Volume *core* tumorale pre-operatorio (mm³);

- 2) % edema perilesionale pre-operatorio (mm^3) = Volume edema perilesionale pre-operatorio (mm^3) / Volume iperintensità patologica FLAIR pre-operatoria (mm^3).

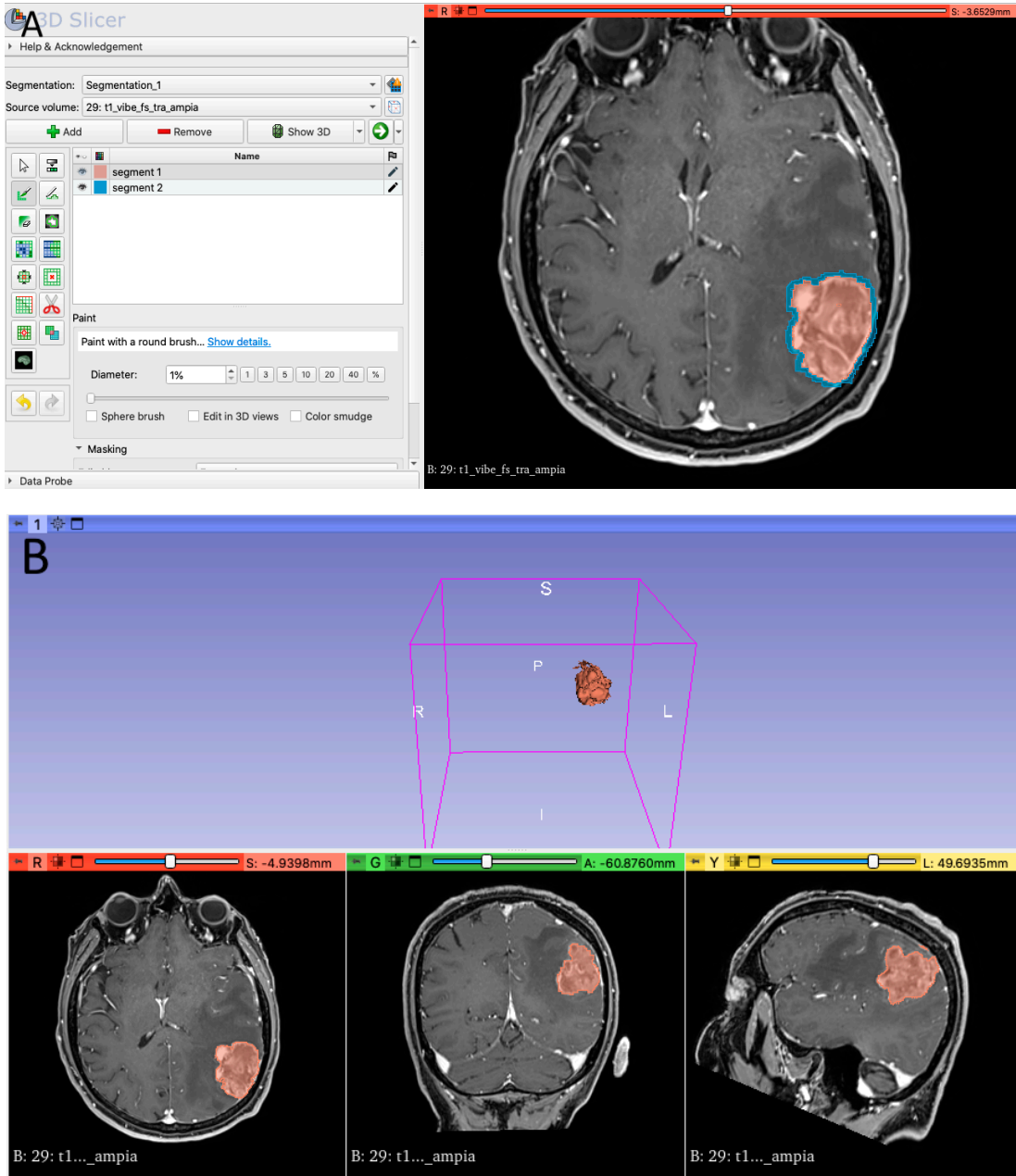


Figura 13 A, B. Esempio di segmentazione semi-automatica con 3D Slicer. Segmentazione sul piano assiale del *core* tumorale di un glioblastoma in sede parietale sinistra (A). Dall'interpolazione della segmentazione 2D, eseguita manualmente sui 3 piani assiale, coronale e sagittale, si ottiene in maniera automatizzata il modello 3D (B).

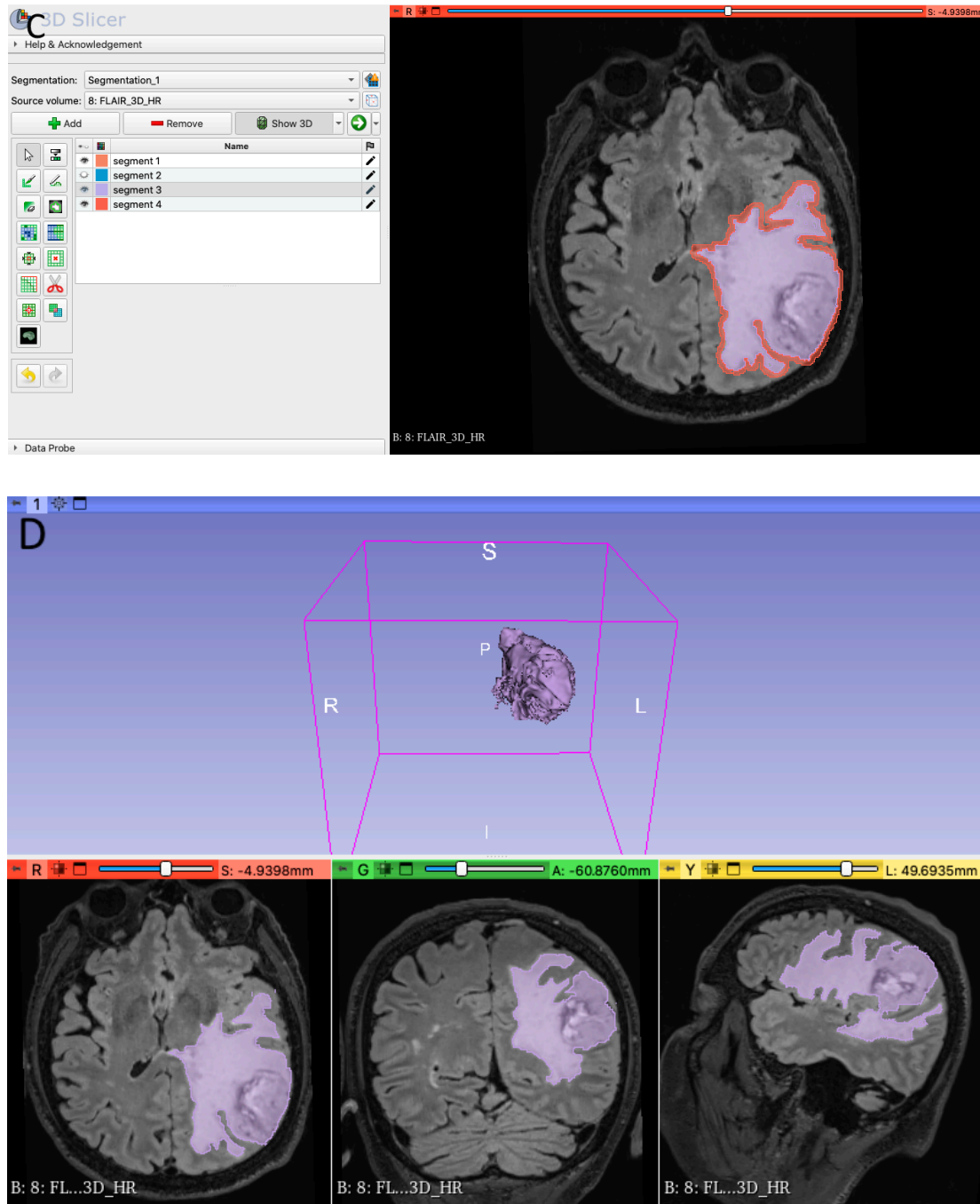


Figura 13 C, D. Esempio di segmentazione semi-automatica con 3D Slicer. Segmentazione sul piano assiale dell'iperintensità patologica FLAIR dello stesso glioblastoma mostrato in A e B (C). A partire dalla segmentazione 2D, eseguita sui 3 piani assiale, coronale e sagittale, si ottiene in maniera automatizzata il modello 3D (D).

5.6.1.2. Segmentazione e quantificazione volumetrica dell'edema perilesionale post-operatorio

La procedura adottata per l'analisi volumetrica dell'edema perilesionale post-operatorio ha previsto gli stessi step dell'analisi volumetrica svolta nel pre-operatorio, con l'accortezza di distinguere l'edema dagli esiti della terapia: 1) caricamento dello studio RM post-operatorio nel software 3D Slicer; 2) segmentazione; 3) calcolo del volume dell'edema perilesionale residuo.

Una volta caricate le immagini DICOM nel software 3D Slicer, la segmentazione è stata eseguita in maniera semi-automatica sulle sequenze isovolumetriche T1 VIBE dopo mdc e FLAIR, utilizzando il modulo *Segment Editor* con gli strumenti *Paint* e *Grow from Seeds*, analogamente a quanto fatto nel pre-operatorio. La valutazione combinata delle sequenze di studio avanzato è stata fondamentale per riconoscere gli esiti dell'intervento chirurgico e del trattamento chemio-radioterapico, distinguendoli dalla progressione tumorale, al fine di eseguire una segmentazione appropriata.

In conformità con le linee guida RANO [152], nella segmentazione 2D manuale sulle sequenze isovolumetriche T1 VIBE dopo mdc non si è inclusa l'intera cavità chirurgica, ma solamente l'area di *enhancement* nodulariforme con segni di neoangiogenesi nelle mappe di CBV e CBF, indice di progressione (Figura 14, A). Nella segmentazione eseguita sulle sequenze isovolumetriche FLAIR si è compresa l'iperintensità corrispondente all'*enhancement* patologico e all'edema perilesionale residuo, senza includere le zone di aumento del segnale compatibili con esiti di radioterapia o microvascolari, caratterizzate da ipointensità nelle sequenze DWI ($b = 1000 \text{ s/mm}^2$), iperintensità nelle mappe di ADC e assenza di neoangiogenesi nelle mappe di perfusione. Qualora queste aree venissero comunque incluse nel modello 3D ottenuto in maniera automatizzata, si è effettuata una correzione manuale con lo strumento *Erase*, operando principalmente sulle fette del piano assiale (Figura 14, B). Per il calcolo dei volumi si è utilizzato il modulo *Quantification – Segment Statistics*. Il volume dell'edema perilesionale residuo è stato calcolato sottraendo al volume dell'iperintensità patologica FLAIR il volume dell'*enhancement* patologico.

Di seguito le formule usate per la quantificazione volumetrica dell'edema perilesionale post-operatorio:

- 1) Volume edema perilesionale post-operatorio (mm^3) = Volume iperintensità patologica FLAIR post-operatoria (mm^3) – Volume *enhancement* patologico post-operatorio (mm^3)

- 2) % edema perilesionale post-operatorio (mm^3) = Volume edema perilesionale post-operatorio (mm^3) / Volume iperintensità patologica FLAIR post-operatoria (mm^3)

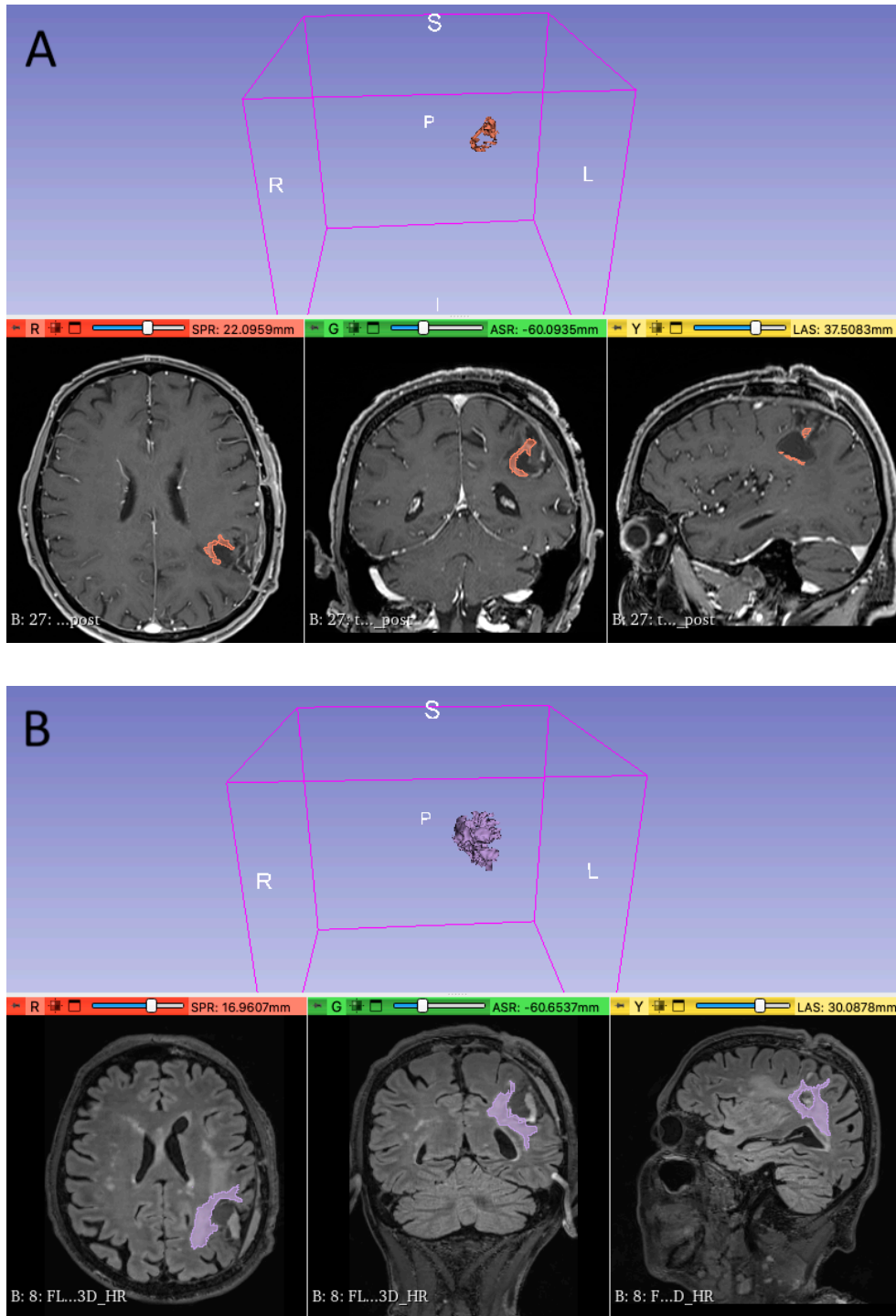


Figura 14. Esempio di segmentazione semi-automatica con 3D Slicer – controllo RM a 3 mesi dall'intervento (caso mostrato in Figura 13).

Segmentazione 2D e modello 3D dell'*enhancement* patologico nodulariforme con aspetti di neoangiogenesi allo studio di perfusione (A). Segmentazione 2D e modello 3D dell'iperintensità patologica FLAIR, comprendente l'*enhancement* patologico e l'edema perilesionale residuo, senza includere le zone di aumento del segnale compatibili con esiti di radioterapia/microvascolari (B).

5.6.2. Determinazione dell'ADC *ratio* perilesionale

Le mappe di ADC sono state utilizzate per ottenere una valutazione quantitativa della diffusione nell'edema perilesionale pre- e post-operatorio.

In particolare, è stato determinato il rapporto tra ADC medio dell'edema perilesionale e ADC medio del parenchima controlaterale sano (ADC *ratio* perilesionale) nello studio di RM pre- e post-operatorio. Questo metodo per la valutazione quantitativa ha risposto all'esigenza di garantire la più alta riproducibilità intra- e inter-osservatore dei valori di ADC.

5.6.2.1. Determinazione dell'ADC *ratio* perilesionale pre-operatorio

Avvalendosi dell'ispezione combinata delle sequenze T2 TSE, FLAIR, DWI e T1-CE, sono state tracciate due ROI ovali (area $\sim 50 \text{ mm}^2$) sulle mappe di ADC in corrispondenza dell'edema perilesionale, iperintenso nelle sequenze T2/FLAIR e nelle mappe di ADC e ipointenso nelle sequenze DWI e T1 VIBE dopo mdc.

La scelta di utilizzare due ROI è stata dettata dalla volontà di rappresentare quantitativamente l'eterogeneità dell'edema perilesionale, individuando, laddove possibile, una sede adiacente alla lesione solida dotata di *enhancement* e una sede a maggiore distanza da essa. L'analisi combinata delle sequenze RM convenzionali è stata essenziale per il posizionamento delle ROI, anche al fine di evitare la contaminazione da parte di componenti tessutali non neoplastiche.

È stata poi disegnata una ROI ovale (area $\sim 50 \text{ mm}^2$) sul parenchima controlaterale sano, anatomicamente corrispondente a una delle due ROI patologiche.

Si è, quindi, misurato il valore di ADC medio per ciascuna delle tre ROI identificate, ottenendo tre misurazioni per ciascun paziente (Figura 15).

L'ADC *ratio* perilesionale è stato calcolato dividendo il valore di ADC medio dell'edema perilesionale per il valore di ADC medio del parenchima controlaterale sano.

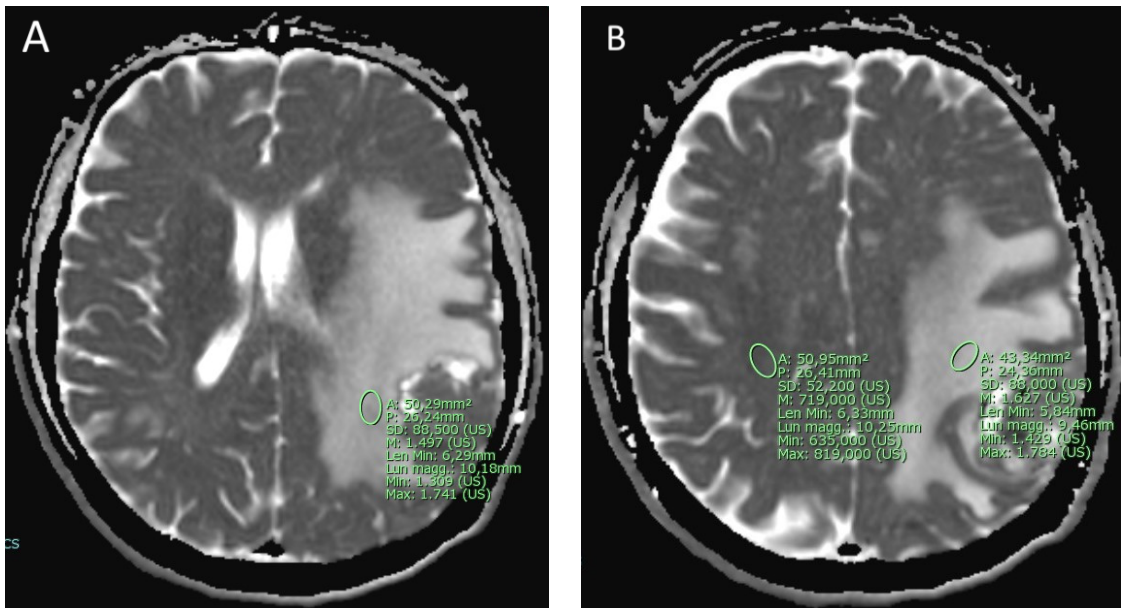


Figura 15. Misurazione di ADC sulle mappe di ADC dello studio RM pre-operatorio. Posizionamento di una ROI sull'edema perilesionale del glioblastoma parietale sinistro mostrato nelle Figure 13 e 14 (A). Posizionamento di due ROI, una sull'edema perilesionale e una sul parenchima controlaterale sano, in una fetta più craniale rispetto a quella visibile in A (B). Il valore a cui si è fatto riferimento è il valore di ADC medio, indicato come "M".

5.6.2.2. Determinazione dell'ADC *ratio* perilesionale post-operatorio

È stata seguita la stessa procedura messa in atto per lo studio di RM pre-operatorio, con l'accortezza di mantenere la corrispondenza con quest'ultimo nel posizionamento delle ROI.

Si sono tracciate tre ROI ovali (area $\sim 50 \text{ mm}^2$), di cui due collocate in corrispondenza dell'edema perilesionale residuo e una a livello dell'emisfero controlaterale sano. In assenza di edema perilesionale nello studio di RM post-operatorio le due ROI patologiche sono state collocate a livello dell'alterazione di segnale compatibile con esiti di radioterapia e/o modificazioni reattive, dopo aver accuratamente ricercato le sedi corrispondenti alle due ROI patologiche nello studio di RM pre-operatorio.

Si è, quindi, misurato il valore di ADC medio per ciascuna delle tre ROI identificate, ottenendo tre misurazioni per ciascun paziente (Figura 16).

L'ADC *ratio* perilesionale è stato calcolato dividendo il valore di ADC medio dell'edema perilesionale per il valore di ADC medio del parenchima controlaterale sano, analogamente a quanto fatto per lo studio di RM pre-operatorio.

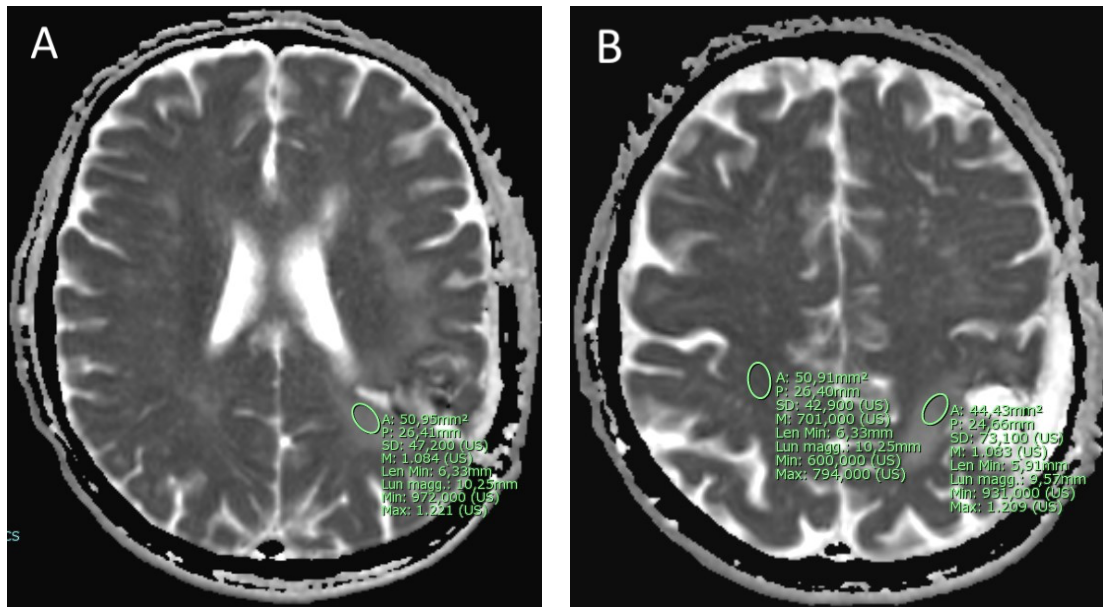


Figura 16. Misurazione di ADC sulle mappe di ADC dello studio RM post-operatorio. Posizionamento di due ROI sull'edema perilesionale residuo e di una ROI sul parenchima controlaterale sano del caso mostrato nelle Figure 13-15 (A, B). Si noti il tentativo di mantenere il più possibile la corrispondenza anatomica con le ROI disegnate nello studio RM pre-operatorio.

5.6.3. Valutazione della neoangiogenesi perilesionale nei gliomi diffusi

La valutazione della neoangiogenesi nell'edema perilesionale pre- e post-operatorio è stata effettuata solamente nei casi con diagnosi istologica di glioma diffuso di alto grado, dal momento che lo studio di perfusione non sempre è stato effettuato nel follow-up delle metastasi cerebrali.

Tale valutazione è stata condotta mediante la semplice ispezione delle mappe di CBV. Queste ultime sono state interpretate confrontando l'area corrispondente all'edema perilesionale con la sostanza grigia e bianca normali controlaterali in riferimento ad una scala colorimetrica, che prevede il colore rosso per i valori di rCBV più elevati e il colore blu per i valori di rCBV più bassi. Individuando nelle mappe di perfusione le sedi corrispondenti alle ROI tracciate sulle mappe di ADC, si è riportata la presenza di

neoangiogenesi in caso di rCBV aumentato (colore verde/giallo/rosso) e l'assenza di neoangiogenesi in caso di rCBV ridotto (colore blu) (Figura 17).

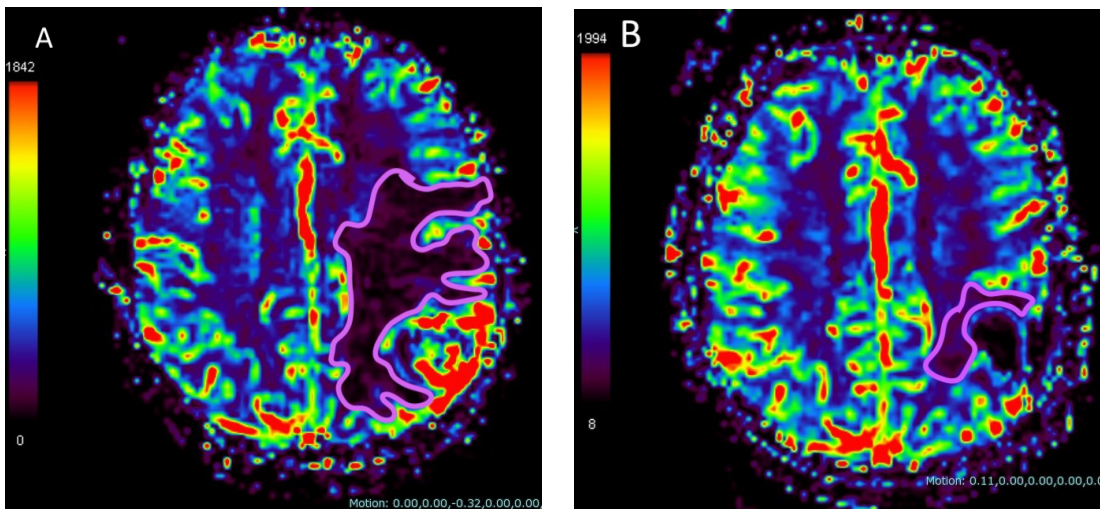


Figura 17. Valutazione della neoangiogenesi sulle mappe di CBV.

La mappa di perfusione del caso mostrato nelle Figure 13-16 mostra riduzione di rCBV in corrispondenza dell'edema perilesionale pre-operatorio (contorno lilla) (A). Allo studio di RM post-operatorio si mantiene la riduzione di rCBV nell'edema perilesionale residuo (contorno lilla) in prossimità dell'area di resezione chirurgica (B).

5.7. ANALISI STATISTICA

Statistiche descrittive sono state riportate per mezzo di mediana e range interquartile (IQR, *Interquartile Range*) o media e deviazione standard (SD, *Standard Deviation*) per le variabili continue e come proporzione e percentuale per le variabili categoriali.

Le differenze in termini di edema perilesionale residuo e ADC *ratio* perilesionale tra pazienti con glioblastoma e affetti da metastasi cerebrale sono state indagate utilizzando il test t di Student in caso di confronto parametrico, mentre i confronti non parametrici sono stati eseguiti utilizzando il test U di Mann-Whitney.

I confronti categoriali tra i due gruppi sono stati eseguiti utilizzando il test chi-quadrato di Pearson e il test esatto di Fischer, a seconda dei casi.

Tutti i test statistici utilizzati erano a 2 code e il livello alfa (α) era fissato a 0.05. Tutte le analisi sono state eseguite utilizzando software disponibili in commercio (Stata 13.0, StataCorp, College Station, TX, USA).

6. RISULTATI

6.1. CARATTERISTICHE CLINICO-DEMOGRAFICHE

Sono stati inclusi 32 pazienti con lesione espansiva cerebrale di nuovo riscontro, con localizzazione sopratentoriale e edema perilesionale associato, sottoposti ad intervento chirurgico di asportazione radicale presso l'U.O.C. di Neurochirurgia e studio RM 3 T presso l'U.O.C. di Neuroradiologia dell'ospedale di Treviso.

La coorte di pazienti arruolati ha presentato una prevalenza del sesso maschile (65.6%, rapporto M:F = 1.9:1). L'età mediana alla diagnosi era 66 anni (IQR: 54.3-71.3 anni). In questa coorte c'erano 23 pazienti con glioblastoma (età mediana: 67 anni, IQR: 53.5-71.5 anni; rapporto M:F = 2.8:1) e 9 pazienti con metastasi cerebrale (età mediana: 62 anni, IQR: 55-71 anni; rapporto F:M = 1.25:1).

Si sono riscontrati 14 casi di lesione espansiva cerebrale in sede frontale (43.8%), 12 in sede temporale (37.5%) e 6 in sede parietale (18.8%); la lesione si localizzava in 17 pazienti nell'emisfero destro (53.1%) e in 15 pazienti nell'emisfero sinistro (46.9%).

Considerando il gruppo di pazienti con metastasi cerebrale, il tumore primitivo più frequente è risultato l'adenocarcinoma polmonare con 5 casi (55.6%), seguito dal melanoma con 2 casi (22.2%); si è riscontrato 1 caso di localizzazione secondaria da carcinoma a cellule renali (11.1%) e 1 caso di metastasi da carcinoma ovarico (11.1%) (Tabella III).

Sempre in riferimento ai pazienti metastatici, 6 pazienti avevano come unica localizzazione secondaria quella cerebrale (66.7%), mentre 3 pazienti avevano anche metastasi extra-cerebrali (33.3%).

Tabella III. Caratteristiche clinico-demografiche.

	GBM	METASTASI
Numero totale	23	9
Età mediana alla diagnosi (anni)	67 (IQR: 53.5-71.5)	62 (IQR: 55-71)
Sesso (%)		
Maschi	73.9	44.4
Femmine	26.1	55.6
Sede (lobo)		
Frontale		
N (%)	9 (39.1)	5 (55.6)
Parietale		
N (%)	4 (17.4)	2 (22.2)
Temporale		
N (%)	10 (43.5)	2 (22.2)
Sede (emisfero)		
Destro		
N (%)	12 (52.2)	5 (55.6)
Sinistro		
N (%)	11 (47.8)	4 (44.4)
Tumore primitivo		
Melanoma		
N (%)		2 (22.2)
Carcinoma ovarico		
N (%)		1 (11.1)
Carcinoma polmonare		
N (%)		5 (55.6)
Carcinoma a cellule renali		
N (%)		1 (11.1)

GBM, Glioblastoma; IQR, *Interquartile Range*; N, Numero di pazienti.

6.2. CARATTERISTICHE IMMUNOISTOCHEMICHE E MOLECOLARI DEI GLIOBLASTOMI

L'esame istopatologico, basato sulla valutazione integrata di caratteristiche morfologiche, immunoistochimiche e molecolari, ha portato alla diagnosi di glioblastoma IDH *wildtype* in 22 casi (95.7%) e di astrocitoma IDH mutato (grado 4) in 1 caso.

La caratterizzazione immunohistochimica, valutata per i marcatori IDH1, ATRX e p53, ha rivelato mutazione di IDH1 R132H (sostituzione di arginina in posizione 132 con istidina) in 1 caso (4.3%), perdita dell'espressione nucleare di ATRX in 4 casi (17.4%) ed accumulo nucleare di p53 in 10 casi (43.5%). Si è riscontrato un valore mediano dell'indice di proliferazione Ki-67 pari a 30% (IQR: 20-35%).

Le indagini molecolari hanno identificato metilazione del promotore del gene *MGMT* in 14 casi (60.9%) e mutazione del promotore del gene *TERT* (c.-124C>T/c.146C>T) in 19 casi (82.6%) (Tabella IV).

Tabella IV. Profilo immunohistochimico e molecolare dei glioblastomi (N = 23).

Ki-67 mediano (%)	30 (IQR: 20-35)
IDH1 mutato	
N (%)	1 (4.3)
ATRX conservato	
N (%)	19 (82.6)
p53 mutato	
N (%)	5 (43.5)
<i>MGMT</i> _p metilato	
N (%)	14 (60.9)
<i>TERT</i> _p mutato	
N (%)	19 (82.6)

ATRX, *Alpha-Thalassemia/mental Retardation syndrome X-linked*; *IDH1*, Isocitrato deidrogenasi isoforma 1; *IQR*, *Interquartile Range*; *MGMT*_p, promotore del gene *O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase*; *N*, Numero di pazienti; *TERT*_p, promotore del gene *TElomerase Reverse Transcriptase*.

6.3. *OUTCOME* OPERATORI E POST-CHIRURGICI

Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad intervento chirurgico con lo scopo di asportazione radicale della lesione espansiva cerebrale mediante tecnica microchirurgica e con ausilio del neuronavigatore: la craniotomia è stata svolta in

anestesia generale con intubazione in 27 pazienti (84.4%) e con protocollo AS in 5 pazienti (15.6%).

La RM o TC post-operatoria senza e con mdc entro 24-48 ore dall'intervento chirurgico ha documentato la presenza di *enhancement* patologico, compatibile con residuo della lesione, in 12 casi (37.5%), mentre non si sono riscontrate grossolane impregnazioni di mdc da riferire a persistenza della patologia di base in 20 casi (62.5%).

Nel decorso post-operatorio si sono verificate complicanze chirurgiche precoci (entro 30 giorni dall'intervento) in 1 caso (3.1%), caratterizzato da infarcimento emorragico del cavo chirurgico, e complicanze mediche in 7 casi (21.9%): disturbi dell'eloquio in 3 casi (9.4%), emianopsia omonima controlaterale in 2 casi (6.3%), peggioramento dell'emisindrome sensitivo-motoria in 1 caso (3.1%), crisi epilettica generalizzata in 1 caso (3.1%). Nessun paziente ha riportato complicanze chirurgiche tardive (dopo 30 giorni dall'intervento).

Dopo la dimissione, i pazienti sono stati seguiti dal Gruppo Oncologico Multidisciplinare. Considerando l'intera coorte di pazienti inclusi nello studio, 28 pazienti sono stati sottoposti a radioterapia (87.5%) e 25 pazienti hanno ricevuto una terapia medica sistemica (78.1%).

In riferimento al gruppo di pazienti con glioblastoma, tutti sono stati avviati a radio-chemioterapia post-operatoria secondo i seguenti protocolli:

- protocollo Stupp in 16 pazienti (69.6%);
- protocollo Perry in 5 pazienti (21.7%);
- protocollo W Roa in 2 pazienti (8.7%).

Dei pazienti con metastasi cerebrale, 5 sono stati sottoposti a radioterapia stereotassica di completamento sul cavo chirurgico (55.6%) e 2 hanno intrapreso immunoterapia con *checkpoint inhibitors* (22.2%).

6.4.OUTCOME DI SOPRAVVIVENZA

Il follow-up mediano post-chirurgia è stato di 11.5 mesi (IQR: 7-18 mesi).

Il *free survival time*¹ mediano è stato di 4 mesi (IQR: 3-10 mesi).

La progressione di malattia si è verificata in 26 pazienti del campione in esame (81.3%); di questi, in 15 la recidiva è avvenuta in sede primaria (57.7%), ovvero a livello del cavo chirurgico, e in 11 in sede distale (42.3%).

Le principali modalità di trattamento della progressione sono state la radioterapia e/o la chemioterapia, effettuate in 22 casi (84.6%); 2 pazienti sono stati sottoposti ad intervento chirurgico (7.7%) e 2 pazienti hanno ricevuto un trattamento di supporto (7.7%).

Sono deceduti 15 pazienti del campione in esame (46.9%). La sopravvivenza mediana è stata di 13 mesi (IQR: 7-17 mesi).

Considerando il gruppo di pazienti con glioblastoma, sono deceduti 10 pazienti (43.5%). In questa sottopopolazione la sopravvivenza mediana è stata di 12 mesi (IQR: 7.3-17 mesi).

Dei pazienti con metastasi cerebrale ne sono deceduti 5 (55.6%). La sopravvivenza mediana è stata pari a 13 mesi (IQR: 6-13 mesi) (Tabella V).

¹ *Free survival time*, definito come il periodo di tempo intercorrente dall'intervento chirurgico alla progressione di malattia.

Tabella V. *Outcome* operatori, post-chirurgici e di sopravvivenza.

	GBM (N = 23)	METASTASI (N = 9)
Intervento chirurgico		
GA		
N (%)	19 (82.6)	8 (88.9)
AS		
N (%)	4 (17.4)	1 (11.1)
Radio/chemioterapia post-operatoria		
N (%)	23 (100)	6 (66.7)
Progressione		
N (%)	19 (82.6)	7 (77.8)
<i>Free Survival Time</i> mediano (mesi)	3 (IQR: 3-9)	5 (IQR: 3-9.5)
Mortalità		
Follow-up mediano (mesi)	11 (IQR: 7-17.5)	13 (IQR: 6-18)
Sopravvivenza mediana (mesi)	12 (IQR: 7.3-17)	13 (IQR: 6-13)

AS, *Awake Surgery*; GA, *General Anesthesia*; GBM, Glioblastoma; IQR, *Interquartile Range*; N, Numero di pazienti.

6.5. RISULTATI DELL'ANALISI MULTIMODALE DELL'EDEMA PERILESIONALE

6.5.1. Risultati dell'analisi quantitativa volumetrica

La percentuale media dell'edema perilesionale pre-operatorio (rapporto percentuale tra il volume dell'edema perilesionale e il volume dell'iperintensità patologica FLAIR) era pari a 62.8% (SD: 23.8%) nei pazienti con glioblastoma e a 77.5% (SD: 20.7%) nei pazienti con metastasi cerebrale.

Nel campione esaminato i pazienti con metastasi cerebrale tendevano ad avere un volume di edema perilesionale pre-operatorio maggiore dei glioblastomi, con una differenza media stimata del 14.6% (95% CI 2.7% – 32%, p-value: 0.096) (Figura 18, A).

L'edema perilesionale post-operatorio aveva un valore medio pari a 55.3% (SD: 32.8%) nei pazienti con glioblastoma e a 11.1% (SD: 33.2%) nei pazienti con metastasi.

Un edema perilesionale residuo a tre mesi dalla chirurgia era consistentemente presente nei pazienti con glioblastoma rispetto alle metastasi (p-value: 0.003). Inoltre, i pazienti con glioblastoma avevano una tendenza all'aumento dello stesso a 3 mesi dalla chirurgia rispetto al pre-operatorio (differenza media 49.5%, 95% CI 24.7% – 74.3%, p-value: 0.049). Tale comportamento non si è rilevato nei pazienti con metastasi, nei quali si è documentata una riduzione significativa e consistente dell'edema (p-value: 0.0001) (Tabella VI e Figura 18, B).

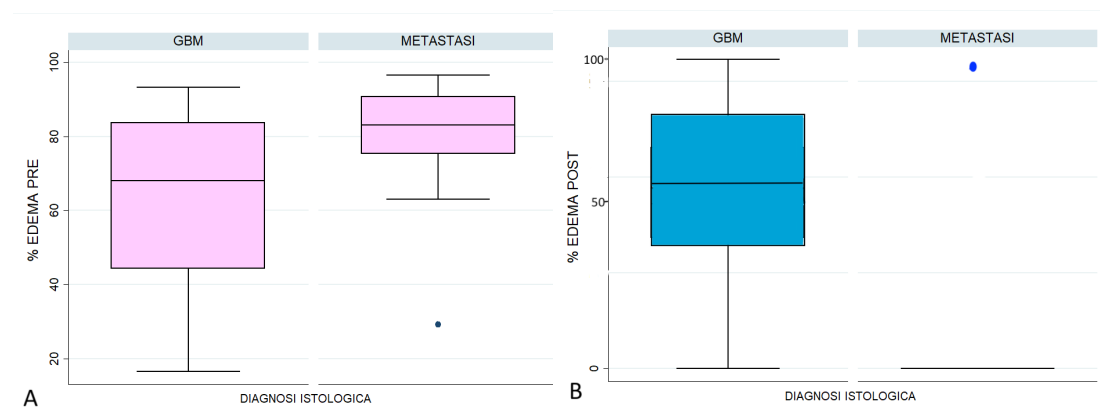


Figura 18. Analisi volumetrica: confronto tra glioblastomi (GBM) e metastasi cerebrali. Confronto del volume dell'edema perilesionale pre-operatorio nei pazienti con GBM e metastasi (A): i pazienti con metastasi tendono ad avere un volume di edema perilesionale pre-operatorio maggiore dei GBM. Confronto del volume di edema perilesionale post-operatorio nei pazienti con GBM e metastasi (B): nei pazienti con GBM vi è una consistente persistenza dell'edema perilesionale post-chirurgia, con tendenza all'aumento dello stesso, mentre nei pazienti con metastasi si ha una riduzione significativa dell'edema perilesionale.

6.5.2. Risultati dell'analisi delle mappe di ADC

L'ADC *ratio* perilesionale pre-operatorio aveva un valore medio di 1.79 (SD: 0.48) nei glioblastomi, e di 2.25 (SD: 0.45) nelle metastasi cerebrali.

Si è riscontrato un ADC *ratio* perilesionale pre-operatorio significativamente maggiore nei pazienti con metastasi cerebrale rispetto ai pazienti affetti da glioblastoma, con una differenza media pari a 0.47 (95% CI -0.82 – 0.86, p-value: 0.019) (Tabella VI e Figura 19, A).

L'ADC *ratio* perilesionale post-operatorio nei glioblastomi aveva un valore medio di 1.60 (SD: 0.40), nelle metastasi cerebrali l'ADC *ratio* perilesionale post-operatorio medio era pari a 1.16 (SD: 0.30).

Si è riscontrato un ADC *ratio* perilesionale post-operatorio significativamente maggiore in pazienti con glioblastoma, con una differenza media di 0.44 (95% CI 0.09 – 0.79, p-value: 0.016) (Tabella VI e Figura 19, B).

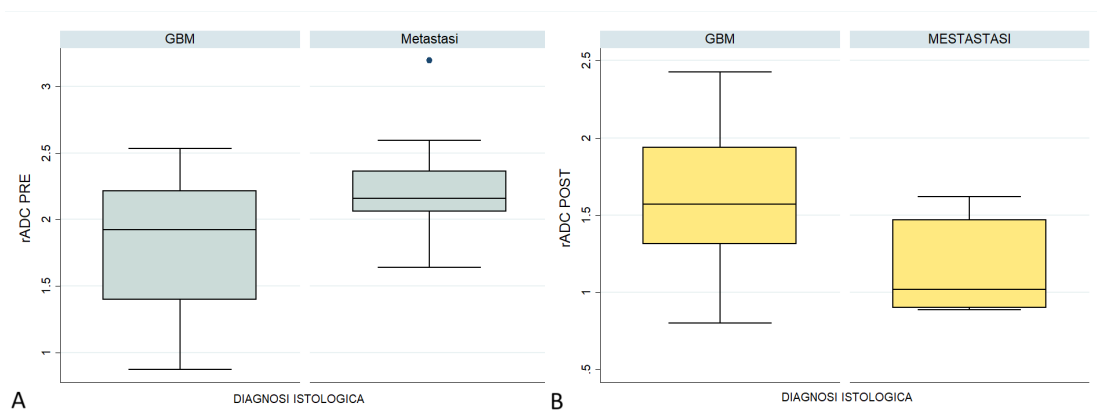


Figura 19. Analisi delle mappe di ADC: confronto tra glioblastomi (GBM) e metastasi cerebrali. Confronto dell'ADC *ratio* perilesionale pre-operatorio nei pazienti con GBM e metastasi (A): l'ADC *ratio* perilesionale pre-operatorio è significativamente maggiore nei pazienti con metastasi. Confronto dell'ADC *ratio* perilesionale post-operatorio nei pazienti con GBM e metastasi (B): l'ADC *ratio* perilesionale post-operatorio è significativamente maggiore nei pazienti con GBM.

Tabella VI. Differenze significative in termini di volume dell'edema perilesionale e ADC *ratio* perilesionale tra glioblastomi e metastasi cerebrali.

PARAMETRO QUANTITATIVO	GBM	METASTASI	P-value
Edema perilesionale postoperatorio			
Media (%) ± SD	55.3 ± 32.8	11.1 ± 33.2	0.003
ADC <i>ratio</i> perilesionale			
Preoperatorio			
Media (%) ± SD	1.79 ± 0.48	2.25 ± 0.45	0.019
Postoperatorio			
Media (%) ± SD	1.60 ± 0.40	1.16 ± 0.30	0.016

GBM, Glioblastoma; SD, *Standard Deviation*.

6.5.3. Risultati della valutazione della neoangiogenesi perilesionale nei glioblastomi

Nei 23 casi di glioblastoma si è documentata la presenza di neangiogenesi nell'edema perilesionale pre-operatorio in 13 casi (56.5%) e nell'edema perilesionale post-operatorio in 9 casi (39.1%).

6.6. CASI ILLUSTRATIVI

6.6.1. Glioblastoma IDH *wildtype*: un caso di edema infiltrante

A. G., 65 anni, si è presentato all'attenzione medica per una crisi epilettica focale a evoluzione bilaterale tonico-clonica. L'obiettività neurologica all'esordio era nella norma.

Lo studio di RM ha mostrato una lesione espansiva cerebrale in sede parietale sinistra, caratterizzata da multipli *enhancement* con aspetto nodulare dopo infusione di mdc e da edema perilesionale, iperintenso nelle sequenze FLAIR. L'edema presentava segni di infiltrazione della sostanza bianca sottocorticale profonda fino in sede periventricolare, con spiccati segni di neoangiogenesi nelle mappe di perfusione, picco di Cho e abbattimento di NAA allo studio spettroscopico, nonché distruzione delle radiazioni ottiche apprezzabile con la sequenza di DTI (Figure 20, 21). Tali reperti suggerivano una lesione primitiva del SNC, verosimilmente della linea gliale, con caratteristiche di alto grado.

Il paziente è stato sottoposto con protocollo AS ad intervento di craniotomia ed exeresi della lesione. Alla TC post-operatoria non si sono rilevate complicanze né patologici *enhancement* dopo mdc.

Nel decorso post-operatorio è comparsa emianopsia omonima laterale destra; la TC svolta a seguito del riscontro di tale sintomo non ha mostrato variazioni rispetto all'esame svolto nell'immediato post-operatorio.

L'esame istopatologico del materiale da aspirazione della lesione cerebrale ha consentito di porre diagnosi di glioblastoma IDH *wildtype* (WHO 4). La caratterizzazione IHC e molecolare è di seguito riportata: Ki67 10%, IDH1 (R132H)

–, ATRX perso nel 70% delle cellule neoplastiche, p53 + in rare cellule neoplastiche, *MGMTp* metilato, *TERTp* non mutato.

Il paziente è stato avviato, secondo indicazione del Gruppo Oncologico Multidisciplinare, a radio-chemioterapia secondo il protocollo Stupp.

La RM, svolta a distanza di un mese dal termine del trattamento combinato radio-chemioterapico, ha evidenziato la progressione della malattia in profondità del cavo chirurgico (Figura 22).

Tale reperto non ha modificato il percorso terapeutico del paziente, che ha intrapreso il trattamento con temozolomide adiuvante.

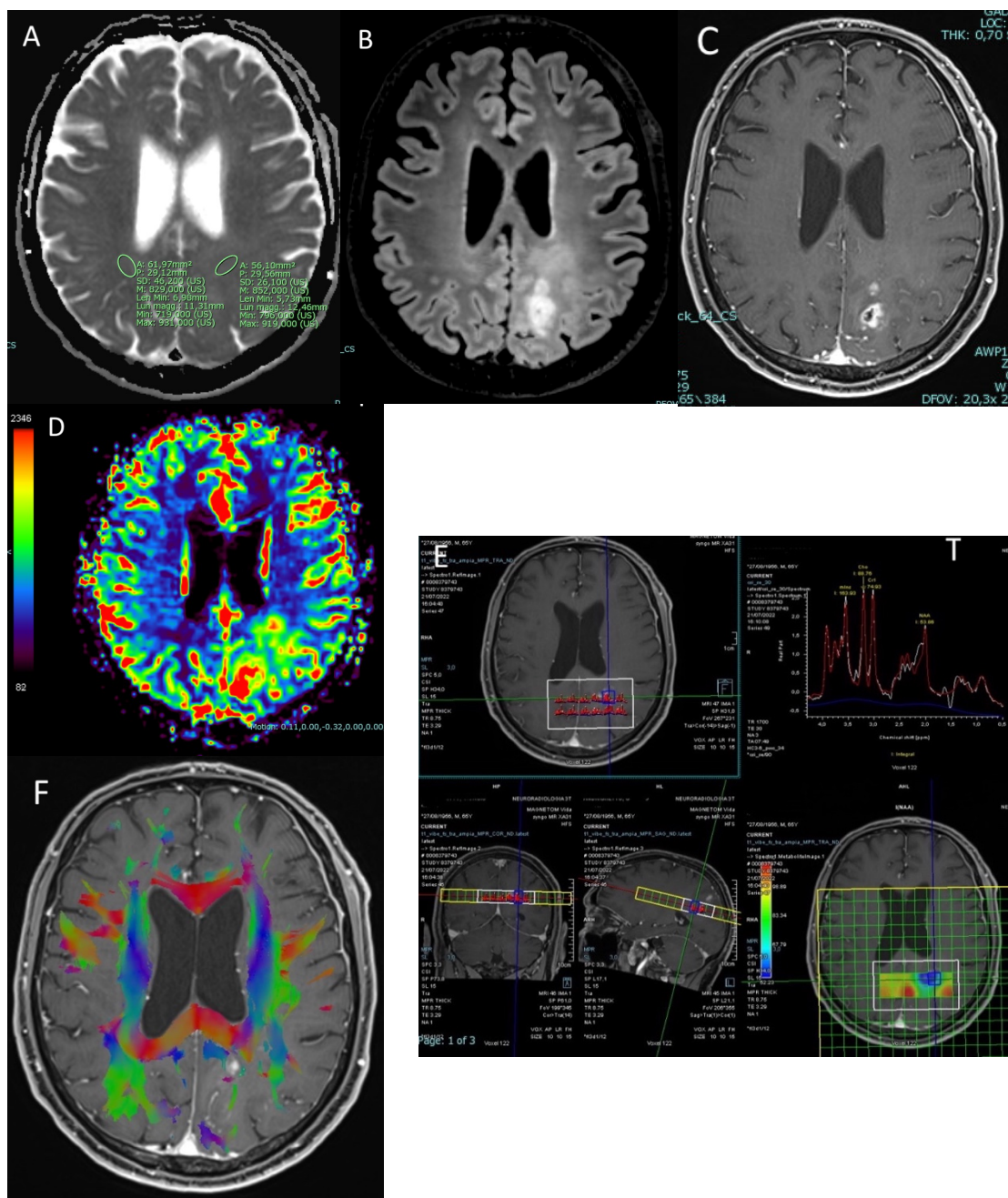


Figura 20. Analisi multimodale dell'edema perilesionale pre-operatorio – glioblastoma IDH *wildtype* in sede parietale sinistra.

Posizionamento di due ROI ovali per il calcolo dell'ADC *ratio* perilesionale pre-operatorio sulle mappe di ADC (A). L'edema perilesionale appare iperintenso nelle sequenze FLAIR 3D (B) e non presenta impregnazione contrastografica nelle sequenze T1-pesate dopo infusione di mdc (C). L'edema perilesionale mostra aumento di rCBV nelle mappe di perfusione (D), picco di Cho e riduzione di NAA nello studio di spettroscopia, infiltrazione e distruzione della componente superiore delle radiazioni ottiche nella sequenza di DTI (F). Tali reperti documentano la natura infiltrante dell'edema e suggeriscono una lesione primitiva del SNC, della linea gliale e con caratteristiche di alto grado.

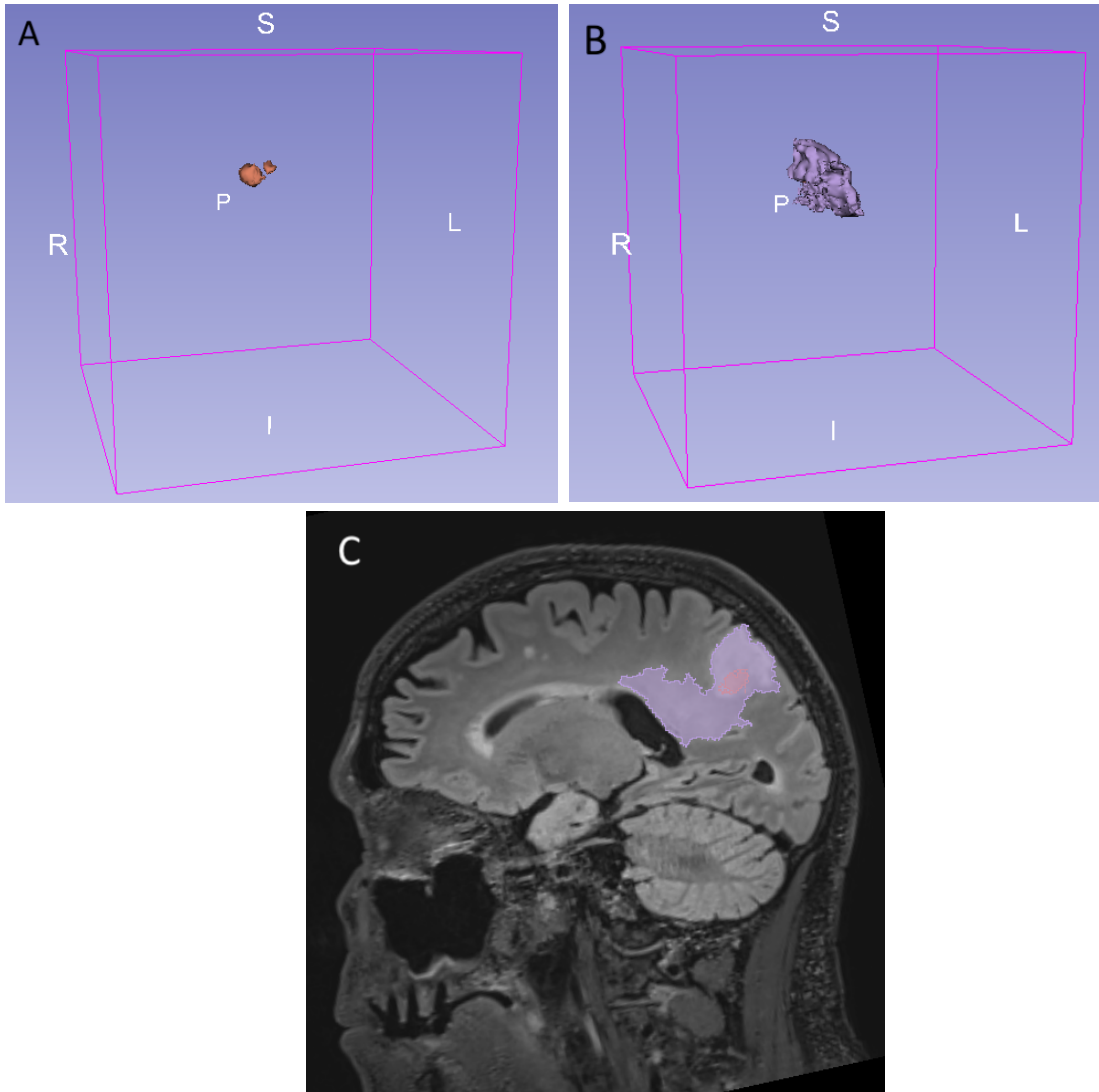


Figura 21. Segmentazione con il software 3D Slicer – glioblastoma IDH *wildtype* in sede parietale sinistra.

Modello 3D del *core* tumorale (A) e dell'iperintensità patologica FLAIR (B): si apprezza come il volume dell'edema perilesionale aumenti notevolmente il volume della malattia. Segmentazione 2D manuale sul piano sagittale dell'iperintensità patologica FLAIR (colore lilla) (C): si apprezzano i bordi mal definiti dell'edema, che ne suggeriscono la natura infiltrante.

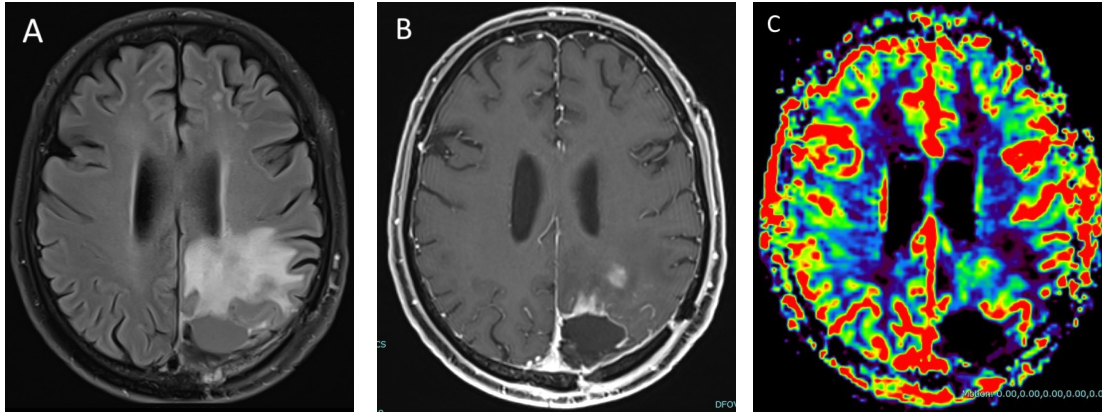


Figura 22. Analisi multimodale dell'edema perilesionale post-operatorio – glioblastoma IDH *wildtype* in sede parietale sinistra.

Si apprezza la persistenza dell'edema perilesionale con le caratteristiche contrastografiche descritte nel pre-operatorio: iperintensità di segnale nella sequenza FLAIR (A) e assenza di *enhancement* nelle sequenze T1 dopo mdc (B). Lo studio di perfusione è utile nel differenziare tra edema infiltrante ed esiti di radioterapia, entrambi iperintensi in FLAIR: l'edema presenta aumento di rCBV (colore verde/giallo), apprezzabile medialmente nell'immagine considerata, le sequele post-radioterapia si caratterizzano per riduzione di rCBV (colore blu), visibile nella componente più laterale dell'iperintensità FLAIR (C).

6.6.2. Metastasi cerebrale da adenocarcinoma polmonare: un caso di edema vasogenico puro

B. S., 62 anni, si è presentato per disturbo della lettura di recente comparsa. Eccetto tale difficoltà, l'esame obiettivo neurologico era nella norma. L'anamnesi patologica remota riportava un episodio di pleurite essudativa sinistra due anni prima circa.

Lo studio di RM ha mostrato una lesione espansiva cerebrale in sede temporale sinistra con *enhancement* periferico e discreti segni di neoangiogenesi. Le sequenze a TR lungo (T2/FLAIR) evidenziavano iperintensità di segnale compatibile con edema perilesionale, con riduzione di rCBV nelle mappe di perfusione e dislocazione del fascicolo longitudinale inferiore nella sequenza di DTI (Figure 23, 24). Lo studio di spettroscopia non era affidabile poiché artefattato per la presenza di necrosi. Il quadro radiologico orientava verso una lesione secondaria, sebbene con un certo grado di incertezza.

Alla luce del quadro neuroradiologico non dirimente tra lesione primitiva e metastatica, si è svolta una TC torace-addome con mdc, che ha evidenziato un nodulo a livello del lobo inferiore del polmone sinistro.

Il paziente è stato sottoposto con protocollo AS a intervento di craniotomia ed asportazione della lesione. Alla TC post-operatoria non si sono riscontrate impregnazioni patologiche dopo mdc.

Il decorso post-operatorio si è svolto regolarmente con progressivo miglioramento del disturbo del linguaggio.

La diagnosi istologica è stata di ripetizione neoplastica metastatica da adenocarcinoma polmonare, con le seguenti caratteristiche IHC e molecolari: CK7 +, TTF1 +, CK20 -, CDX2 -, PD-L1 + con TPS (*Tumor Proportion Score*) 55%, ALK1 -, ROS1 -, EGFR *wildtype* e KRAS mutato (c. 35G>C).

Alla luce della diagnosi istologica, si è posta indicazione a radioterapia stereotassica sul cavo chirurgico.

La RM, svolta a circa sei mesi dal completamento della radioterapia, ha evidenziato l'assenza di significativi *enhancement* in sede temporale sinistra e la marcata riduzione dell'iperintensità di segnale nelle sequenze a TR lungo (Figura 25). Si è riscontrata una piccola lesione espansiva marcatamente edemigena e con intenso *enhancement* in sede frontale destra, compatibile con una nuova localizzazione secondaria della primitività polmonare. Tale lesione è stata trattata con radioterapia stereotassica.

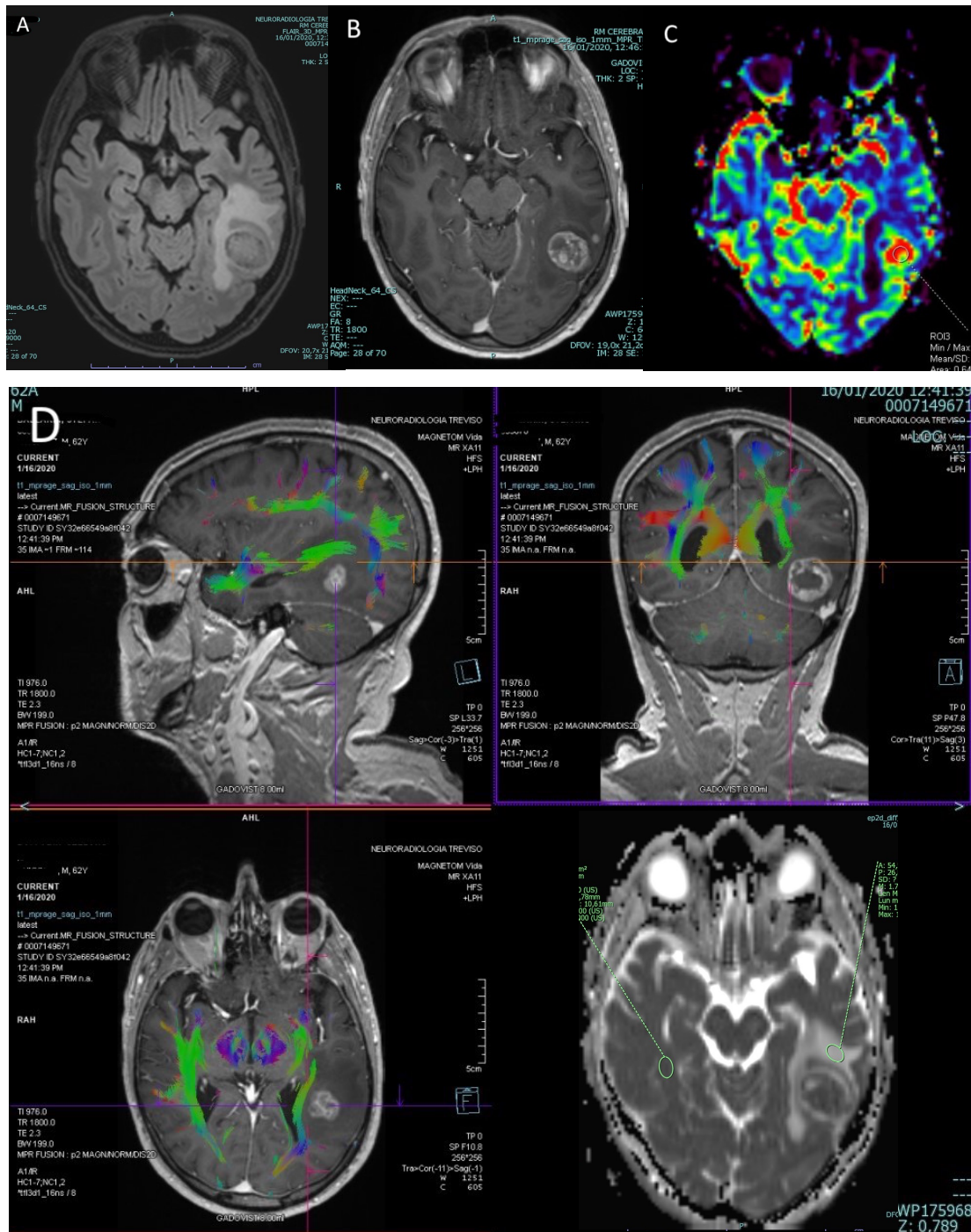


Figura 23. Analisi multimodale dell'edema perilesionale pre-operatorio – metastasi da adenocarcinoma polmonare in sede temporale sinistra.

L'immagine assiale FLAIR 3D mostra un'area di iperintensità che circonda il *core* tumorale dotato di *enhancement*, compatibile con edema perilesionale (A). Quest'ultimo appare ipointenso nelle sequenze T1-pesate dopo infusione di mdc (B) e con riduzione di rCBV nelle mappe di perfusione (C). Posizionamento di due ROI ovali per il calcolo dell'ADC *ratio* perilesionale sulle mappe di ADC ottenute dalla sequenza di DTI (in basso a destra); la ricostruzione trattografica evidenzia dislocazione, senza interruzione, del fascicolo longitudinale inferiore da parte dell'edema (D). Tali caratteristiche sono compatibili con edema vasogenico ed orientano verso una lesione di natura secondaria.

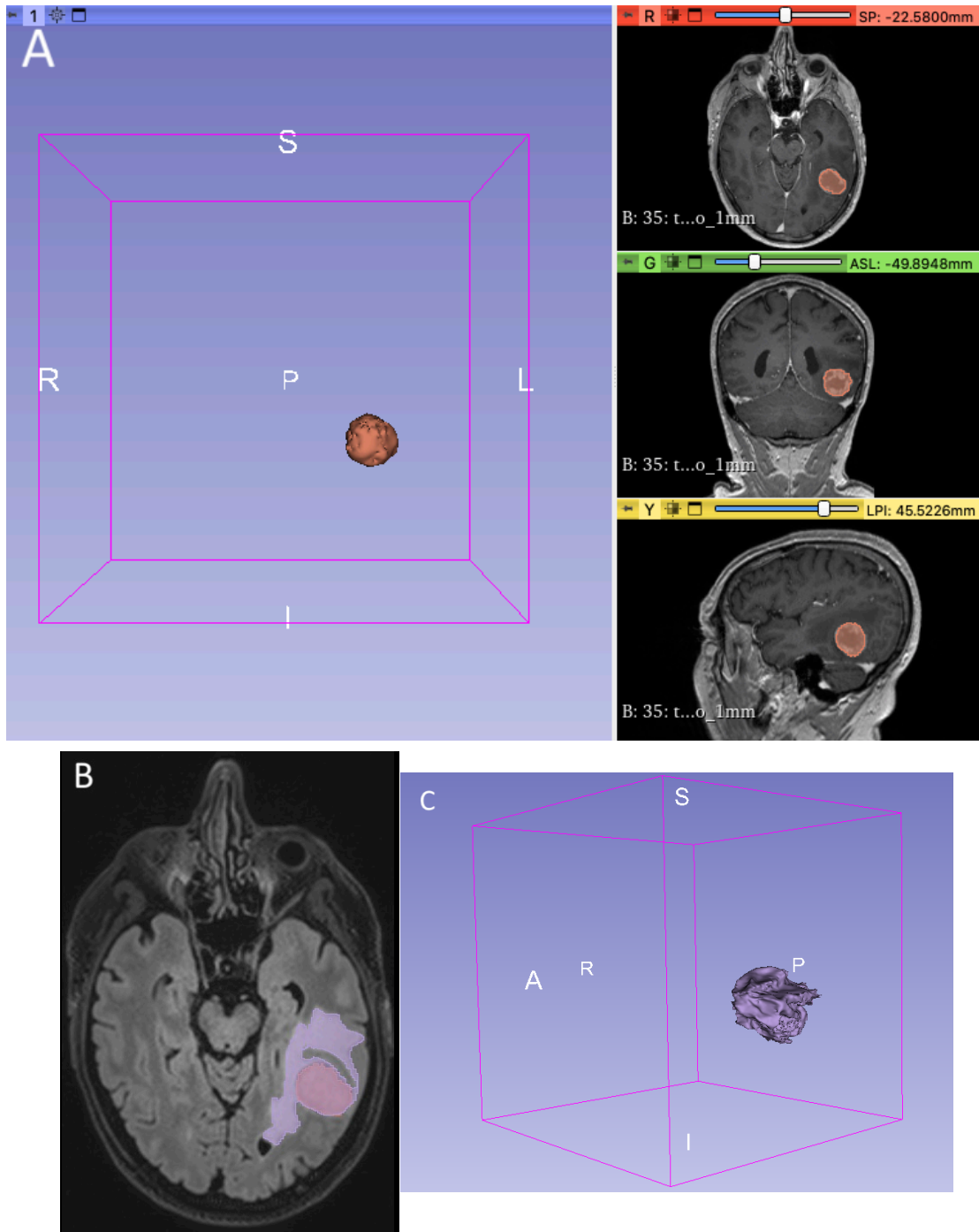


Figura 24. Segmentazione con il software 3D Slicer – metastasi cerebrale da adenocarcinoma polmonare. Risultato della segmentazione 3D del *core* tumorale ottenuta in maniera semi-automatica (A). Segmentazione 2D manuale, eseguita sul piano assiale, dell'iperintensità patologica FLAIR (colore lilla). È possibile apprezzare l'estendersi dell'edema perilesionale oltre la lesione solida dotata di *enhancement* (B). Modello 3D dell'iperintensità patologica FLAIR ottenuto dalla segmentazione semi-automatica (C).

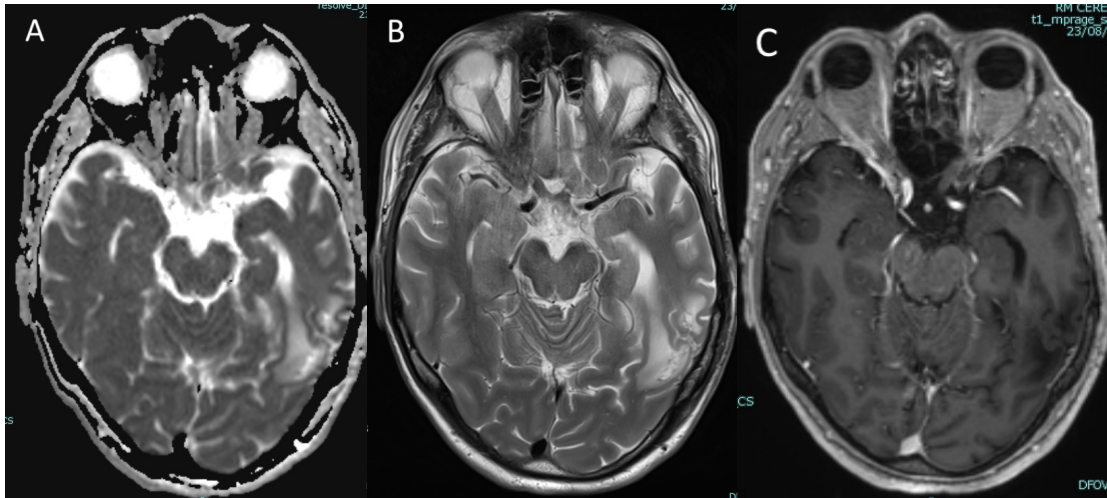


Figura 25. Analisi dell'edema perilesionale post-operatorio – metastasi da adenocarcinoma polmonare in sede temporale sinistra.

Le mappe di ADC (A) e le sezioni T2 TSE sul piano assiale (B) evidenziano un segnale iperintenso a livello del cavo chirurgico, da riferire a sequele post-terapia. Non si apprezzano *enhancement* patologici dopo somministrazione di mdc nelle acquisizioni T1 sul piano assiale (C).

7. DISCUSSIONE

Le manifestazioni neurologiche delle lesioni espansive cerebrali sono spesso causate dall'edema perilesionale piuttosto che dalla massa tumorale, dal momento che il volume dell'edema può essere notevolmente maggiore rispetto al volume del tumore stesso, raddoppiando l'effetto massa. Nonostante l'aspetto radiologico simile nelle sequenze RM convenzionali, l'edema perilesionale presenta nei gliomi diffusi e nelle metastasi cerebrali fisiopatologia, natura e andamento post-chirurgia differenti, che i parametri RM quantitativi, ottenuti dall'imaging multimodale e dalla segmentazione, consentono di cogliere e descrivere.

Vi sono in letteratura numerosi studi sull'imaging RM convenzionale e avanzato dell'edema perilesionale per la diagnosi differenziale delle lesioni espansive cerebrali, mentre vi sono pochi lavori sull'analisi quantitativa volumetrica dell'edema perilesionale e questi sono condotti separatamente su pazienti con glioma diffuso di alto grado o pazienti con metastasi cerebrale. Non ci sono, invece, sulla base della ricerca bibliografica condotta, studi che, integrando l'analisi quantitativa volumetrica con le sequenze RM di studio avanzato, valutino, non solo l'edema perilesionale pre-operatorio, ma anche il suo andamento a distanza dall'intervento chirurgico, operando un confronto tra gliomi diffusi e metastasi cerebrali. Il nostro studio indaga in maniera prospettica aspetti neuroradiologici qualitativi e quantitativi dell'edema perilesionale pre- e post-chirurgia per farne emergere l'evoluitività nei gliomi diffusi e nelle metastasi cerebrali.

I gliomi sono i più frequenti tumori intra-assiali primitivi e l'80.9% dei tumori maligni primitivi del SNC [2]. I glioblastomi rappresentano il tipo più cospicuo e aggressivo di gliomi, costituendo circa il 50% dei gliomi diffusi dell'adulto. Nonostante l'asportazione chirurgica, seguita dalla radioterapia e dalla chemioterapia con temozolomide, ad oggi queste neoplasie sono incurabili e la prognosi rimane infausta, con un OS mediano di 14-16 mesi [196]. Recentemente, con l'aggiunta del trattamento con campi elettrici alternati (*Tumor-treating fields*) alla temozolomide di

mantenimento si è raggiunto un OS mediano di 20.9 mesi dopo la chirurgia [197]. Tuttavia, la progressione si verifica nel 90% dei casi entro 12 mesi dalla diagnosi [196]. In particolare, la recidiva si verifica nell'80-90% dei casi ai margini del cavo chirurgico, a livello della PBZ [139,142].

Le metastasi cerebrali si riscontrano nel 25% dei pazienti affetti da una neoplasia metastatica e sono 10 volte più frequenti dei tumori maligni primitivi del SNC [40]. Esse rappresentano solitamente un segno di malattia avanzata e sono storicamente gravate da elevata mortalità, con una sopravvivenza mediana di 12 mesi indipendentemente dalla sede del tumore primitivo, che scende a 4 mesi o meno nei pazienti anziani (età ≥ 65 anni) [41,60]. I dati raccolti da trial clinici e centri accademici coinvolti nell'elaborazione dell'indice GPA (*Graded Prognostic Assessment*) suggeriscono una prognosi più favorevole, con una sopravvivenza mediana variabile da 8 a 16 mesi in base al tumore primitivo. Tale prognosi migliore potrebbe riflettere le procedure di screening o la selezione dei pazienti sulla base dei criteri di arruolamento [198]. Il rischio di recidiva, a 2 anni dalla chirurgia, è pari al 59% in sede primaria e al 42% in sede distale, ridotto rispettivamente al 27% e al 23% dalla WBRT [199].

Gliomi diffusi e metastasi cerebrali possono essere indistinguibili allo studio RM condotto con sequenze convenzionali: entrambi possono presentarsi come singola lesione espansiva sopratentoriale con necrosi centrale, *ring enhancement* disomogeneo e abbondante edema perilesionale.

L'edema peritumorale è tradizionalmente classificato come edema vasogenico, causato dalla perdita di integrità della BEE, con conseguente stravasamento di plasma e proteine nello spazio extracellulare del parenchima cerebrale [106]. Tuttavia, esso non rappresenta una singola entità clinico-patologica, ma se ne possono identificare almeno due tipi: edema vasogenico puro e edema vasogenico misto. Il primo è unicamente reattivo e si sviluppa attorno alle metastasi cerebrali per effetto massa o secrezione di citochine infiammatorie in assenza di cellule maligne [123], il secondo circonda i gliomi diffusi di basso e alto grado e l'infiltrazione di cellule neoplastiche, oltre all'aumento di permeabilità della BEE, ne costituisce il substrato fisiopatologico [129]. L'edema che

si associa ai gliomi diffusi è, dunque, meglio definito come edema infiltrante e riflette la modalità di crescita di questi tumori, caratterizzata dall'infiltrazione lungo vie extracellulari precostituite [130].

La diversa natura e fisiopatologia dell'edema che circonda gliomi diffusi e metastasi non emerge allo studio RM con sequenze convenzionali; queste ultime non consentono di distinguere tra edema vasogenico puro e edema infiltrante, entrambi caratterizzati da iperintensità nelle sequenze T2/FLAIR e assenza di *contrast enhancement* nelle sequenze T1-pesate dopo infusione di mdc [149]. Una caratterizzazione accurata dell'edema perilesionale richiede, pertanto, l'integrazione dell'imaging anatomico con tecniche RM avanzate.

L'imaging di diffusione (DWI) è una tecnica RM di studio avanzato in cui il contrasto dipende dal moto casuale delle molecole d'acqua di origine termica (moto browniano) e fornisce informazioni sulla struttura microscopica di un tessuto. Il parametro ADC, misurato nel parenchima cerebrale, consente di quantificarne le caratteristiche diffusive. Diversi studi hanno mostrato come ADC correli con la cellularità neoplastica all'esame istologico e come il calcolo di ADC sia d'ausilio alla RM convenzionale nella caratterizzazione dei tumori cerebrali [200–202].

Studi precedenti hanno evidenziato che il valore di ADC calcolato nel *core* tumorale non è utile nella diagnosi differenziale tra glioblastomi e metastasi [157,159,200]. Il *core* tumorale di glioblastomi e metastasi spesso presenta variazioni nell'intensità del segnale RM secondarie a necrosi e artefatti da suscettibilità magnetica. La necrosi centrale può aumentare il valore di ADC, sovrastando l'effetto di riduzione dello stesso legato all'aumentata densità cellulare. Una diminuzione di ADC può essere dovuta anche a ipossia/ischemia, che precede ed eventualmente causa la necrosi centrale. La relazione tra i valori di ADC e la densità cellulare è, dunque, particolarmente complessa a livello del *core* tumorale, nel contesto del quale il calcolo di ADC può essere impreciso o inaccurato [203].

Avendo consapevolezza che la diffusione dell'acqua è maggiormente facilitata nell'edema vasogenico puro rispetto all'edema infiltrante a causa dell'assenza di cellule neoplastiche nel primo, la sequenza di diffusione è stata utilizzata nella

differenziazione di questi due tipi di edema perilesionale. I valori di ADC, in particolare, sono in grado di delineare l'infiltrazione da parte di cellule neoplastiche. Nel nostro campione si è riscontrato un ADC *ratio* perilesionale pre-operatorio significativamente maggiore nei pazienti con metastasi cerebrale rispetto ai pazienti affetti da glioblastoma. Tale risultato è paragonabile ai risultati ottenuti in uno studio simile compiuto da Lee et al., in cui sono stati calcolati nell'edema perilesionale valori di ADC minimo e di ADC *ratio* significativamente inferiori nei glioblastomi rispetto alle metastasi. Nel medesimo studio, Lee et al. ha definito per l'ADC minimo dell'edema perilesionale un cut-off di $1.302 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, avente la migliore combinazione di sensibilità (82.9%) e specificità (78.9%) per la diagnosi differenziale tra glioblastomi e metastasi [159]. Analogamente, altri studi hanno evidenziato un valore medio di ADC dell'edema perilesionale significativamente minore nei gliomi rispetto alle metastasi [157,168,173,204]. Questi risultati confermano che il parametro ADC consente di caratterizzare in maniera quantitativa l'edema perilesionale nelle lesioni espansive cerebrali, distinguendo l'edema vasogenico puro dall'edema infiltrante, nel quale la presenza di cellule tumorali costituisce una barriera al moto casuale delle molecole d'acqua.

Alcuni autori hanno ottenuto risultati discordanti rispetto a quanto rilevato nel nostro campione. Uno studio ormai datato ha mostrato che vi era una tendenza dei glioblastomi a presentare valori medi di ADC e di ADC *ratio* nell'edema perilesionale maggiori rispetto alle metastasi cerebrali. Tuttavia, questo studio ha incluso solamente 16 pazienti e ha tracciato una sola ROI sull'edema perilesionale, non rappresentativa dell'eterogeneità dello stesso [205]. Romano et al. non ha rilevato differenze statisticamente significative nei valori medi di ADC medio e minimo dell'edema perilesionale di glioblastomi e metastasi. Questi risultati sono, però, poco confrontabili con quelli ottenuti nel nostro studio e con quelli presenti in letteratura poiché l'analisi è stata realizzata su volumi di interesse (VOI) e non su regioni di interesse (ROI) [167]. Uno studio di Tsougos et al. ha evidenziato valori superiori di ADC nell'edema perilesionale delle metastasi rispetto ai glioblastomi con differenze che, però, non raggiungevano la significatività statistica; questo studio concludeva, perciò, che il calcolo di ADC nell'edema perilesionale non costituisce uno strumento per la diagnosi

differenziale tra glioblastomi e metastasi, la quale si può avvalere del parametro rCBV, ottenuto dalle mappe di perfusione, e dei rapporti NAA/Cr, Cho/Cr e Cho/NAA, ricavati dall'imaging spettroscopico [206].

Nel nostro studio la presenza o meno di neoangiogenesi nell'edema perilesionale è stata documentata attraverso la semplice valutazione delle mappe di CBV e CBF, senza includere nell'analisi statistica il dato quantitativo di rCBV e rCBF. Questa scelta da un lato si è basata sui dati presenti in letteratura, essendo il parametro rCBV ormai validato e standardizzato nella diagnosi differenziale tra edema vasogenico ed edema infiltrante [170], con numerosi studi che ne hanno documentato l'elevata accuratezza diagnostica in fase pre-operatoria [97,166–168], dall'altro è stata dettata dal follow-up neuroradiologico effettuato nel nostro centro, che non sempre prevede lo studio di perfusione nei pazienti con metastasi.

Per quanto concerne la spettroscopia, anch'essa è una metodica avanzata ormai affermata nella diagnosi differenziale dell'edema perilesionale [151,173,174], mentre la sua applicazione presenta diversi limiti nel follow-up radiologico [150]. Alla luce di quanto già presente in letteratura, questa metodica è stata utilizzata in tutti i pazienti nella valutazione pre-operatoria, non sempre nei controlli successivi e, dunque, non ha rappresentato uno strumento utile per una valutazione prospettica sull'evoluitività dell'edema perilesionale.

Nel nostro campione un edema perilesionale residuo a tre mesi dalla chirurgia era consistentemente presente nei pazienti con glioblastoma rispetto a quelli con metastasi, con una tendenza nei primi all'aumento dello stesso rispetto al pre-operatorio. Nei pazienti con metastasi si è documentata una riduzione significativa e consistente dell'edema perilesionale post-chirurgia. Tale variazione quantitativa dell'edema perilesionale nei glioblastomi e nelle metastasi cerebrali era in linea con la differente caratterizzazione delineata nel pre-operatorio attraverso la determinazione dell'ADC *ratio* perilesionale, nonché con i dati presenti in letteratura sui caratteri istopatologici e neuroradiologici dell'edema perilesionale.

Nelle metastasi cerebrali l'edema perilesionale è solamente di tipo vasogenico, causato dalla distruzione della BEE, non essendo le cellule metastatiche in grado di produrre i

segnali necessari per la sua induzione e il mantenimento [124,125]. Hanno un ruolo nella genesi dell'edema perilesionale anche le citochine infiammatorie prodotte dagli astrociti reattivi presenti nell'area perimetastatica. L'effetto finale, comune a queste due vie, è l'apertura delle giunzioni strette che sigillano la BEE, con perdita dell'integrità di quest'ultima e accumulo di acqua e proteine nello spazio extracellulare del parenchima cerebrale circostante [128]. La riduzione significativa e consistente dell'edema perilesionale post-chirurgia nei pazienti metastatici del nostro campione è coerente con questa fisiopatologia dell'edema perimetastatico.

In realtà, vi sono delle teorie che sostengono l'infiltrazione del parenchima cerebrale circostante da parte delle cellule metastatiche. Yoo et al. [207] e Kamp et al. [208] hanno riscontrato una riduzione delle recidive locali estendendo la resezione all'edema perilesionale, ovvero di 2-5 mm oltre il margine della lesione secondaria. Tuttavia, entrambi gli autori riportano come non sia stata rilevata la presenza di cellule neoplastiche all'esame istopatologico del tessuto asportato oltre il margine tumorale. Berghoff et al. ha studiato la modalità di crescita delle metastasi cerebrali attraverso l'esame autoptico, il quale risulta più affidabile dell'analisi del pezzo operatorio. Generalmente, infatti, il tessuto nervoso attorno al margine di resezione non è ben preservato, trattandosi di materiale da aspirazione o di frammenti, inadeguati alla valutazione del fronte di invasione. L'esame autoptico ha documentato una crescita espansiva con margini ben demarcati nel 50.9% dei casi e un'infiltrazione del parenchima circostante da parte di singole cellule metastatiche nel 31.6% dei casi. La massima distanza misurabile delle cellule metastatiche dal bordo della massa tumorale era di 56.2 μm (range 12.5-450 μm) [209]. Pertanto, l'infiltrazione nell'edema perimetastatico si è riscontrata in una casistica limitata e non è risultata estesa al pari di quella che si osserva nei gliomi diffusi.

Nei gliomi diffusi l'edema perilesionale ha una natura più complessa, ovvero oltre all'edema vasogenico, causato dalla distruzione della BEE [113,115], presenta un esteso infiltrato di cellule neoplastiche. La modalità di infiltrazione ricorda, a livello microscopico, la migrazione dei progenitori gliali e delle cellule staminali adulte, avvenendo lungo vie extracellulari precostituite: il parenchima cerebrale (satellitosi perineurale), i vasi sanguigni preesistenti, i fasci della sostanza bianca e lo spazio

subpiaie [130]. La presenza di cellule neoplastiche nell'edema perilesionale dei gliomi diffusi è documentata ampiamente e ormai da lungo tempo in letteratura ed è espressione della natura infiltrante di queste lesioni: le cellule neoplastiche si estendono microscopicamente per diversi centimetri oltre la massa tumorale visibile radiologicamente e macroscopicamente [113,142,210]. Per esprimere la complessità dell'edema infiltrante è stato coniato, in riferimento ai glioblastomi, il termine di *Peritumoral Brain Zone* (PBZ). La PBZ, a livello istopatologico, è descritta come quell'area che si estende tra il *core* tumorale e il tessuto nervoso sano, in cui sono contestualmente presenti edema, cellule neoplastiche e cellule reattive [141]. A livello radiologico, la PBZ è definita come una regione iperintensa nelle sequenze T2/FLAIR che si sviluppa attorno al bordo dotato di *enhancement* [142], dunque con caratteristiche contrastografiche non dissimili da quelle dell'edema perimetastatico.

A partire dall'ipotesi che le caratteristiche istopatologiche dell'edema perilesionale correlino con le modifiche funzionali e microstrutturali osservabili con le tecniche RM di studio avanzato, sono stati condotti numerosi studi di imaging avanzato per la caratterizzazione dell'edema perilesionale, importanti anche alla luce della difficoltà e, talvolta, impossibilità di ottenere campioni per l'esame anatomopatologico nel SNC.

L'edema vasogenico puro, ovvero l'edema perimetastatico, determina aumento della frazione d'acqua libera, con valori più elevati di ADC e MD nelle sequenze di DWI e DTI rispetto all'edema infiltrante [157,158,163,168,173,204]. Le mappe di perfusione mostrano valori di rCBV più bassi della normale sostanza bianca nell'edema vasogenico puro e più elevati nell'edema infiltrante, in associazione alla neoangiogenesi che caratterizza il secondo [166–169,211]. All'imaging spettroscopico l'edema vasogenico puro non mostra valori di Cho superiori a quelli di NAA per l'assenza di cellule maligne, mentre l'edema infiltrante presenta picco di Cho più elevato di quello di NAA [151,173,206]. Le tecniche RM di studio avanzato distinguono in maniera non invasiva l'edema vasogenico puro dall'edema infiltrante, consentendo spesso di fare diagnosi differenziale tra lesione primitiva di natura gliale e lesione secondaria. L'integrazione di queste tecniche nell'imaging multimodale consente di aumentare ulteriormente l'accuratezza diagnostica.

Coerentemente con quanto appena affermato, ci sono in letteratura numerosi studi sull'imaging multimodale applicato all'edema perilesionale delle lesioni espansive cerebrali, aventi come obiettivo la diagnosi differenziale tra gliomi diffusi di alto grado e metastasi cerebrali. Non ci sono, invece, lavori in cui l'imaging multimodale venga impiegato per caratterizzare l'edema perilesionale sia nel pre-operatorio sia nel post-operatorio, confrontando gliomi diffusi e metastasi. In particolare, l'analisi quantitativa volumetrica basata sulle tecniche di segmentazione, che nel nostro campione ha consentito di dimostrare la persistenza dell'edema infiltrante e la riduzione/scomparsa dell'edema vasogenico puro, trova poco spazio, soprattutto nella pratica clinica.

Studi condotti separatamente su metastasi (Berghoff et al., Spanberger et al.) e glioblastomi (Pope et al., Schoenegger et al., Wu et al.) hanno effettuato un'analisi puramente descrittiva dell'edema perilesionale pre-operatorio, basata sulla misurazione del diametro dello stesso, al fine di correlare l'estensione dell'edema con l'OS [127,179,212–214]. Tuttavia, considerando che la crescita della neoplasia avviene nelle tre dimensioni dello spazio e in maniera asimmetrica nelle diverse direzioni e che ciò è ancor più vero per l'edema perilesionale, in particolare l'edema infiltrante dei gliomi, risulta chiaro come una misurazione uni- (1D, diametro massimo della lesione/dell'edema) o bi-dimensionale (2D, area della lesione/dell'edema) sia poco accurata.

Con lo sviluppo di software sempre più precisi e facilmente disponibili, si sono affermate tecniche di misurazione più accurate basate sull'analisi quantitativa volumetrica. In particolare, la segmentazione 3D semi-automatica, utilizzata nel nostro studio per quantificare l'edema perilesionale pre- e post-operatorio, rappresenta il *gold standard* tra le tecniche di misurazione [215]. La segmentazione automatica consentirebbe di annullare la variabilità inter-osservatore e di velocizzare il processo, ma, ad oggi, viene usata solamente in ambito di ricerca. Ad ogni modo, gli studi presenti in letteratura considerano separatamente glioblastomi e metastasi e valutano *outcome* di sopravvivenza. Tran et al. ha utilizzato il software 3D Slicer su sequenze isovolumetriche T1 *Magnetization-Prepared Rapid Gradient-Echo* (MP-RAGE) e FLAIR per ottenere modelli 3D delle metastasi cerebrali e dell'edema perimetastatico con i corrispondenti volumi. L'analisi quantitativa volumetrica è stata condotta in

modo simile a quanto effettuato nel nostro studio, ma la popolazione era profondamente diversa, costituita da pazienti metastatici sottoposti ad immunoterapia [124]. Analogamente, una quantificazione volumetrica dell'edema perilesionale con 3D Slicer è stata condotta da Wangaryattawanich et al.; questo studio includeva, però, unicamente pazienti con glioblastoma e ne valutava in maniera retrospettiva l'edema perilesionale pre-operatorio per identificare l'impatto dell'edema su OS e *progression-free survival* [216].

Quanto affermato riguardo l'accuratezza della misurazione del *core* tumorale e dell'edema perilesionale nel pre-operatorio, è ancor più valido nel post-operatorio: le lesioni trattate possono presentare morfologie irregolari e margini difficili da delineare e, conseguentemente, la segmentazione 3D semi-automatica è la più accurata per la misurazione dei vari compartimenti tumorali, laddove vi sia residuo o progressione. Tuttavia, attualmente, tale metodica non è sufficientemente standardizzata e disponibile e l'analisi quantitativa volumetrica non è adottata nella pratica clinica per la valutazione della risposta alla terapia né nei gliomi di alto grado né nelle metastasi cerebrali [152,217]. In ambito di ricerca l'analisi quantitativa volumetrica nel post-operatorio viene utilizzata nei glioblastomi non tanto per identificare l'edema perilesionale residuo a distanza dalla chirurgia, quanto per definire l'*Extent Of Resection* (EOR), parametro che si è rivelato un forte fattore prognostico. Ad ogni modo, l'EOR viene solitamente considerato in riferimento alla componente dotata di *enhancement* piuttosto che all'iperintensità T2/FLAIR [215,218]; solo pochi studi, tra cui uno condotto nel nostro centro [219], hanno analizzato in maniera indipendente l'impatto su ricorrenza e OS dell'EOR calcolato su sequenze FLAIR.

Oltre all'analisi volumetrica quantitativa, l'uso di sequenze RM avanzate è stato essenziale per dimostrare la persistenza di un edema perilesionale residuo a tre mesi dalla chirurgia nei pazienti con glioblastoma. Nel nostro campione si è riscontrato un ADC *ratio* perilesionale post-operatorio significativamente maggiore nei pazienti con glioblastoma rispetto ai pazienti con metastasi cerebrale. Al contrario di quanto rilevato allo studio neuroradiologico pre-operatorio, i valori medi di ADC *ratio* perilesionale

post-operatorio delle metastasi erano più bassi dei glioblastomi, a suggerire il riassorbimento dell'acqua extracellulare, la normalizzazione della BEE e il ripristino della normale architettura del tessuto nervoso nell'area perimetastatica. I valori medi di *ADC ratio* perilesionale post-operatorio nei glioblastomi indicavano la persistenza di una frazione di acqua libera di muoversi nell'area iperintensa in T2/FLAIR attorno al cavo chirurgico, compatibile con edema perilesionale residuo. Questo risultato, che ha corroborato il dato volumetrico, non è direttamente confrontabile con i risultati trovati in letteratura. Oltre a non essere presenti studi di imaging che analizzino congiuntamente il decorso post-operatorio di gliomi diffusi e metastasi, sono pochi gli studi che esaminano le modificazioni della componente iperintensa in T2/FLAIR e priva di *enhancement* in T1 e, ancor meno numerosi, gli studi che integrano sequenze RM convenzionali e avanzate per descrivere questa componente tumorale. Al momento attuale, le tecniche RM di studio avanzato non sono ancora validate per la determinazione della risposta alla terapia, tuttavia consentirebbero di "attribuire un nome" all'aumento dell'iperintensità T2/FLAIR che si può riscontrare nei gliomi diffusi al follow-up neuroradiologico. I criteri RANO (*Response Assessment in Neuro-Oncology*) [152], rispetto ai precedenti criteri di Macdonald [220], hanno introdotto la valutazione dell'iperintensità T2/FLAIR nella determinazione della progressione dei gliomi di alto grado, riconoscendone l'importanza nella storia della malattia, ma, allo stesso tempo, ammettendo la difficoltà nel misurarla. Questa difficoltà è legata al fatto che l'iperintensità T2/FLAIR potrebbe essere edema infiltrante, ma anche sequela post-chirurgica o esito di radio-chemioterapia [151]. Nondimeno, è importante identificare e quantificare l'incremento dell'alterazione di segnale T2/FLAIR (*T2-progress*) perché predice la comparsa di *enhancement* nodulare (*T1-progress*) [221].

Alla luce di queste recenti acquisizioni sull'edema perilesionale nel post-operatorio, nel nostro studio si è effettuato anche su di esso uno studio RM multimodale con sequenze convenzionali e sequenze avanzate, in particolare le sequenze di diffusione e di perfusione nei glioblastomi e la sequenza di diffusione nelle metastasi. Uno studio di Chang et al. ha valutato l'andamento del segnale FLAIR e del parametro ADC nell'area peritumorale al follow-up neuroradiologico, includendo, però, solo pazienti con glioblastoma: è stata identificata una diminuzione statisticamente significativa del

segnale FLAIR e del valore di ADC nei voxel in cui successivamente è avvenuta la progressione tumorale [222]. I risultati di questo studio suggeriscono che i cambiamenti della diffusività media nell'area peritumorale co-localizzano con le sedi di progressione e confermano che ADC è un parametro capace di riconoscere l'infiltrazione di cellule neoplastiche. Un lavoro di Lutz et al. ha delineato le possibili modificazioni di ADC nell'edema perilesionale post-operatorio di pazienti con glioblastoma: inizialmente l'aumento dell'edema vasogenico determina un incremento dei valori medi di ADC i quali, successivamente, si riducono a causa della continua e progressiva infiltrazione di cellule neoplastiche. Infine, quando compare la lesione dotata di *enhancement*, i valori medi di ADC calano ulteriormente [223].

Vi sono diversi lavori in letteratura che hanno utilizzato il parametro quantitativo rCBV per identificare la progressione nei gliomi diffusi di alto grado trattati, posizionando le ROI a livello della componente dotata di *enhancement* [186]. Nella nostra esperienza, invece, è stata focalizzata l'attenzione sull'area iperintensa in T2/FLAIR per distinguere l'edema perilesionale residuo dagli esiti della radioterapia. È noto, infatti, come la neoangiogenesi neoplastica determini aumento di rCBV, mentre il danno endoteliale indotto dalla radioterapia ne causi la riduzione [184]: la valutazione delle mappe di CBV e CBF ha consentito di differenziare l'infiltrazione neoplastica dalle sequele post-terapia, escludendo queste ultime dalla segmentazione ed evitando la sovrastima dell'edema perilesionale residuo a cui avrebbe inevitabilmente condotto l'analisi esclusiva delle sequenze RM convenzionali.

Le profonde differenze dell'edema perilesionale tra gliomi diffusi e metastasi cerebrali in termini di fisiopatologia, istopatologia ed evolutività spiegano la diversa storia di queste lesioni a seguito dell'intervento chirurgico di asportazione radicale.

Nei glioblastomi, dopo l'asportazione completa della massa dotata di *enhancement*, la progressione avviene nell'85% dei casi a livello del margine di resezione, in corrispondenza dell'edema perilesionale, ed è causata dalle cellule tumorali che lo infiltrano estesamente, aumentando di fatto il volume della malattia neoplastica [139,142]. Il trattamento radio-chemioterapico post-chirurgico non modifica il pattern di recidiva che, nella maggior parte dei casi, avviene comunque in prossimità del cavo

chirurgico [224]. Nel tentativo di controllare localmente la malattia si sono condotte esperienze di *supratotal resection*, ovvero di estensione della resezione chirurgica oltre i limiti suggeriti dalla RM; tuttavia, sebbene i risultati ottenuti siano promettenti, la letteratura scoraggia una sua applicazione estensiva nei pazienti con glioma diffuso, sottolineando la necessità di garantire la sicurezza della resezione [21].

Nelle metastasi cerebrali il rischio di recidiva, a 2 anni dalla chirurgia, è pari al 59% in sede primaria e al 42% in sede distale, ridotto rispettivamente al 27% e al 23% dalla WBRT [199]. A differenza dei gliomi diffusi, si ritiene che la recidiva sia provocata dal *seeding* continuo a partire dai foci sistemici della malattia neoplastica, sebbene vi siano delle teorie che ipotizzano l'infiltrazione dell'area perimetastatica come possibile causa [209].

Il nostro studio ha affrontato la problematica della caratterizzazione e della quantificazione dell'edema perilesionale nelle lesioni espansive cerebrali con una modalità innovativa rispetto alle esperienze riportate in letteratura: sono stati studiati in maniera prospettica gliomi diffusi e metastasi cerebrali, utilizzando l'imaging multimodale e conducendo una segmentazione 3D semi-automatica sia nel pre- sia nel post-operatorio.

Nell'interpretazione dei risultati ottenuti è importante, però, ricordare i limiti del nostro studio, rappresentati dal ridotto numero di pazienti arruolati e dalla disparità numerica tra i due gruppi di pazienti affetti da glioblastoma e metastasi cerebrale. Questo studio deve essere, pertanto, considerato come indagine preliminare, la quale andrebbe riproposta su una casistica più ampia al fine di confermare i nostri risultati.

Un altro limite è rappresentato dall'eterogeneità del follow-up messo in atto nei pazienti con metastasi cerebrale del nostro campione in termini di trattamento post-chirurgico, timing del controllo neuroradiologico e protocollo di studio RM. L'applicazione sistematica dello studio di perfusione nel follow-up consentirebbe di ottenere informazioni aggiuntive soprattutto nei pazienti sottoposti, dopo la chirurgia, a radioterapia, nei quali potrebbero essere presenti nell'area perilesionale delle alterazioni del segnale di significato incerto.

8. CONCLUSIONI

Questo studio prospettico ha confermato, mediante lo studio RM multimodale e l'analisi quantitativa volumetrica, che l'edema perilesionale nelle lesioni espansive cerebrali ha una diversa fisiopatologia, istopatologia ed evolutività.

L'edema è solamente di tipo vasogenico nelle metastasi cerebrali, avendo come principale meccanismo patogenetico la distruzione della BEE, mentre presenta un esteso infiltrato di cellule neoplastiche nei gliomi diffusi, rappresentando la manifestazione macroscopica della diffusione microscopica della malattia neoplastica. Alla luce di questa natura profondamente differente, celata dall'aspetto simile e, a volte, indistinguibile nelle immagini di RM convenzionale, si comprende la persistenza dell'edema perilesionale nei gliomi diffusi e la graduale riduzione dell'edema perimetastatico a seguito dell'asportazione della massa principale.

I nostri risultati confermano il ruolo chiave dell'edema perilesionale nella storia dei gliomi diffusi, suggerendo come uno studio multimodale quantitativo e qualitativo sull'edema perilesionale residuo possa essere utile nella pratica clinica per la pianificazione del percorso di cura di questi pazienti.

BIBLIOGRAFIA

1. Angelini C, Battistin L. Neurologia clinica. III edizione. Bologna: Esculapio; 2022.
2. Ostrom QT, Price M, Neff C, Cioffi G, Waite KA, Kruchko C, Barnholtz-Sloan JS. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2015-2019. *Neuro Oncol.* 2022 Oct 5;24(5):1–95.
3. Pekmezci M, Rice T, Molinaro AM, Walsh KM, Decker PA, Hansen H, Sicotte H, Kollmeyer TM, McCoy LS, Sarkar G, Perry A, Giannini C, Tihan T, Berger MS, Wiemels JL, Bracci PM, Eckel-Passow JE, Lachance DH, Clarke J, Taylor JW, Luks T, Wiencke JK, Jenkins RB, Wrensch MR. Adult infiltrating gliomas with WHO 2016 integrated diagnosis: additional prognostic roles of ATRX and TERT. *Acta Neuropathol.* 2017 Jun 1;133(6):1001–16.
4. Molinaro AM, Taylor JW, Wiencke JK, Wrensch MR. Genetic and molecular epidemiology of adult diffuse glioma. *Nat Rev Neurol.* 2019 Jul;15(7):405–17.
5. Wen PY, Kesari S. Malignant Gliomas in Adults. *N Engl J Med.* 2008 Jul; 359(5):492-507.
6. Olesen J. Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS) The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition. *Cephalalgia.* 2018 Jan;38(1):1–211.
7. DeAngelis LM. Brain Tumors. *N Engl J Med.* 2001 Jan; 344(2):114-23.
8. Weller M, van den Bent M, Preusser M, Le Rhun E, Tonn JC, Minniti G, Bendszus M, Balana C, Chinot O, Dirven L, French P, Hegi ME, Jakola AS, Platten M, Roth P, Rudà R, Short S, Smits M, Taphoorn MJB, von Deimling A, Westphal M, Soffiatti R, Reifenberger G, Wick W. EANO guidelines on the diagnosis and treatment of diffuse gliomas of adulthood. *Nat Rev Clin Oncol.* 2021 Mar 1;18(3):170–86.
9. Louis DN, Perry A, Wesseling P, Brat DJ, Cree IA, Figarella-Branger D, Hawkins C, Ng HK, Pfister SM, Reifenberger G, Soffiatti R, Von Deimling A, Ellison DW. The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: A summary. *Neuro Oncol.* 2021 Aug 1;23(8):1231–51.
10. Brat DJ, Aldape K, Colman H, Figarella-Branger D, Fuller GN, Giannini C, Holland EC, Jenkins RB, Kleinschmidt-DeMasters B, Komori T, Kros JM, Louis DN, McLean C, Perry A, Reifenberger G, Sarkar C, Stupp R, van den Bent MJ, von Deimling A, Weller M. cIMPACT-NOW update 5: recommended

grading criteria and terminologies for IDH-mutant astrocytomas. *Acta Neuropathol.* 2020 Mar 1;139(3):603–8.

11. Louis DN, Wesseling P, Aldape K, Brat DJ, Capper D, Cree IA, Eberhart C, Figarella-Branger D, Fouladi M, Fuller GN, Giannini C, Haberler C, Hawkins C, Komori T, Kros JM, Ng HK, Orr BA, Park SH, Paulus W, Perry A, Pietsch T, Reifenberger G, Rosenblum M, Rous B, Sahm F, Sarkar C, Solomon DA, Tabori U, van den Bent MJ, von Deimling A, Weller M, White VA, Ellison DW. 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 Jul 1;30(4):844–56.
12. Brat DJ, Aldape K, Colman H, Holland EC, Louis DN, Jenkins RB, Kleinschmidt-DeMasters BK, Perry A, Reifenberger G, Stupp R, von Deimling A, Weller M. cIMPACT-NOW update 3: recommended diagnostic criteria for “Diffuse astrocytic glioma, IDH-wildtype, with molecular features of glioblastoma, WHO grade IV.” *Acta Neuropathol.* 2018 Nov; 136(5):805–10.
13. Tesileanu CMS, Dirven L, Wijnenga MMJ, Koekkoek JAF, Vincent AJPE, Dubbink HJ, Atmodimedjo PN, Kros JM, van Duinen SG, Smits M, Taphoorn MJB, French PJ, van den Bent MJ. Survival of diffuse astrocytic glioma, IDH1/2 wildtype, with molecular features of glioblastoma, WHO grade IV: A confirmation of the cIMPACT-NOW criteria. *Neuro Oncol.* 2020 Apr 15;22(4):515–23.
14. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, Ohgaki H, Wiestler OD, Kleihues P, Ellison DW. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol* 2016 Jun; 131(6):803–20.
15. Gallo P, D’Amati G. *Anatomia patologica - La sistematica.* II edizione. Milano: Edra Masson; 2018.
16. McLendon R, Friedman A, Bigner D, Van Meir EG, Brat DJ, Mastrogianakis GM, Olson JJ, Mikkelsen T, Lehman N, Aldape K, Yung WKA, Bogler O, Weinstein JN, Vandenberg S, Berger M, Prados M, Muzny D, Morgan M, Scherer S, Sabo A, Nazareth L, Lewis L, Hall O, Zhu Y, Ren Y, Alvi O, Yao J, Hawes A, Jhangiani S, Fowler G, San Lucas A, Kovar C, Cree A, Dinh H, Santibanez J, Joshi V, Gonzalez-Garay ML, Miller CA, Milosavljevic A, Donehower L, Wheeler DA, Gibbs RA, Cibulskis K, Sougnez C, Fennell T, Mahan S, Wilkinson J, Ziaugra L, Onofrio R, Bloom T, Nicol R, Ardlie K, Baldwin J, Gabriel S, Lander ES, Ding L, Fulton RS, McLellan MD, Wallis J, Larson DE, Shi X, Abbott R, Fulton L, Chen K, Koboldt DC, Wendl MC, Meyer R, Tang Y, Lin L, Osborne JR, Dunford-Shore BH, Miner TL, Delehaunty K, Markovic C, Swift G, Courtney W, Pohl C, Abbott S, Hawkins A, Leong S, Haipek C, Schmidt H, Wiechert M, Vickery T, Scott S, Dooling DJ, Chinwalla

- A, Weinstock GM, Mardis ER, Wilson RK, Getz G, Winckler W, Verhaak RGW, Lawrence MS, O’Kelly M, Robinson J, Alexe G, Beroukhir R, Carter S, Chiang D, Gould J, Gupta S, Korn J, Mermel C, Mesirov J, Monti S, Nguyen H, Parkin M, Reich M, Stransky N, Weir BA, Garraway L, Golub T, Meyerson M, Chin L, Protopopov A, Zhang J, Perna I, Aronson S, Sathiamoorthy N, Ren G, Yao J, Wiedemeyer WR, Kim H, Sek WK, Xiao Y, Kohane IS, Seidman J, Park PJ, Kucherlapati R, Laird PW, Cope L, Herman JG, Weisenberger DJ, Pan F, Van Den Berg D, Van Neste L, Joo MY, Schuebel KE, Baylin SB, Absher DM, Li JZ, Southwick A, Brady S, Aggarwal A, Chung T, Sherlock G, Brooks JD, Myers RM, Spellman PT, Purdom E, Jakkula LR, Lapuk A V., Marr H, Dorton S, Yoon GC, Han J, Ray A, Wang V, Durinck S, Robinson M, Wang NJ, Vranizan K, Peng V, Van Name E, Fontenay G V., Ngai J, Conboy JG, Parvin B, Feiler HS, Speed TP, Gray JW, Brennan C, Socci ND, Olshen A, Taylor BS, Lash A, Schultz N, Reva B, Antipin Y, Stukalov A, Gross B, Cerami E, Wei QW, Qin LX, Seshan VE, Villafania L, Cavatore M, Borsu L, Viale A, Gerald W, Sander C, Ladanyi M, Perou CM, Hayes DN, Topal MD, Hoadley KA, Qi Y, Balu S, Shi Y, Wu J, Penny R, Bittner M, Shelton T, Lenkiewicz E, Morris S, Beasley D, Sanders S, Kahn A, Sfeir R, Chen J, Nassau D, Feng L, Hickey E, Barker A, Gerhard DS, Vockley J, Compton C, Vaught J, Fielding P, Ferguson ML, Schaefer C, Zhang J, Madhavan S, Buetow KH, Collins F, Good P, Guyer M, Ozenberger B, Peterson J, Thomson E. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. *Nature*. 2008 Oct 23;455(7216):1061–8.
17. Dang L, White DW, Gross S, Bennett BD, Bittinger MA, Driggers EM, Fantin VR, Jang HG, Jin S, Keenan MC, Marks KM, Prins RM, Ward PS, Yen KE, Liao LM, Rabinowitz JD, Cantley LC, Thompson CB, Vander Heiden MG, Su SM. Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. *Nature*. 2009 Dec 10;462(7274):739–44.
 18. Turcan S, Rohle D, Goenka A, Walsh LA, Fang F, Yilmaz E, Campos C, Fabius AWM, Lu C, Ward PS, Thompson CB, Kaufman A, Guryanova O, Levine R, Heguy A, Viale A, Morris LGT, Huse JT, Mellinghoff IK, Chan TA. IDH1 mutation is sufficient to establish the glioma hypermethylator phenotype. *Nature*. 2012 Mar 22;483(7390):479–83.
 19. Berger TR, Wen PY, Lang-Orsini M, Chukwueke UN. World Health Organization 2021 Classification of Central Nervous System Tumors and Implications for Therapy for Adult-Type Gliomas: A Review. *JAMA Oncol*. 2022 Oct;8(10):1493–501.
 20. Danussi C, Bose P, Parthasarathy PT, Silberman PC, van Arnem JS, Vitucci M, Tang OY, Heguy A, Wang Y, Chan TA, Riggins GJ, Sulman EP, Lang F, Creighton CJ, Deneen B, Miller CR, Picketts DJ, Kannan K, Huse JT. Atrx inactivation drives disease-defining phenotypes in glioma cells of origin through global epigenomic remodeling. *Nat Commun*. 2018 Dec 1;9:1057.

21. De Leeuw CN, Vogelbaum MA. Supratotal resection in glioma: A systematic review. *Neuro Oncol.* 2019 Feb 14;21(2):179–88.
22. van den Bent MJ, Afra D, de Witte O, ben Hassel M, Schraub S, Hoang-Xuan K, Malmström PO, Collette L, Piérart M, Mirimanoff R, Karim ABMF. Long-term efficacy of early versus delayed radiotherapy for low-grade astrocytoma and oligodendroglioma in adults: The EORTC 22845 randomised trial. *Lancet.* 2005 Sep 17;366(9490):985–90.
23. Bell EH, Zhang P, Shaw EG, Buckner JC, Barger GR, Bullard DE, Mehta MP, Gilbert MR, Brown PD, Stelzer KJ, McElroy JP, Fleming J, Timmers CD, Becker AP, Salavaggione AL, Liu Z, Aldape K, Brachman DG, Gertler SZ, Murtha AD, Schultz CJ, Johnson D, Laack NN, Hunter GK, Crocker IR, Won M, Chakravarti A. Comprehensive Genomic Analysis in NRG Oncology/RTOG 9802: A Phase III Trial of Radiation Versus Radiation Plus Procarbazine, Lomustine (CCNU), and Vincristine in High-Risk Low-Grade Glioma. *J Clin Oncol.* 2020 Jun 10;38(29):3407-417.
24. van den Bent MJ, Tesileanu CMS, Wick W, Sanson M, Brandes AA, Clement PM, Erridge S, Vogelbaum MA, Nowak AK, Baurain JF, Mason WP, Wheeler H, Chinot OL, Gill S, Griffin M, Rogers L, Taal W, Rudà R, Weller M, McBain C, Reijneveld J, Enting RH, Caparrotti F, Lesimple T, Clenton S, Gijtenbeek A, Lim E, Herrlinger U, Hau P, Dhermain F, de Heer I, Aldape K, Jenkins RB, Dubbink HJ, Kros JM, Wesseling P, Nuyens S, Golfinopoulos V, Gorlia T, French P, Baumert BG. Adjuvant and concurrent temozolomide for 1p/19q non-co-deleted anaplastic glioma (CATNON; EORTC study 26053-22054): second interim analysis of a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet Oncol.* 2021 Jun 1;22(6):813-23.
25. Stupp R, Mason WP, Van Den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJB, Belanger K, Brandes AA, Marosi C, Bogdahn U, Curschmann J, Janzer RC, Ludwin SK, Gorlia T, Allgeier A, Lacombe D, Cairncross JG, Eisenhauer E, Mirimanoff RO. Radiotherapy plus Concomitant and Adjuvant Temozolomide for Glioblastoma. 2005 Mar 10;352(10):987-96.
26. Whitfield BT, Huse JT. Classification of adult-type diffuse gliomas: Impact of the World Health Organization 2021 update. *Brain Pathol.* 2022 Jul;32(4):e13062.
27. Griffin CA, Burger P, Morsberger L, Yonescu R, Swierczynski S, Weingart JD, Murphy KM. Identification of der(1;19)(q10;p10) in Five Oligodendrogliomas Suggests Mechanism of Concurrent 1p and 19q Loss. *J Neuropathol Exp Neurol* 2006 Oct 1;65(10):988-94.
28. Jenkins RB, Blair H, Ballman K v., Giannini C, Arusell RM, Law M, Flynn H, Passe S, Felten S, Brown PD, Shaw EG, Buckner JC. A t(1;19)(q10;p10)

Mediates the Combined Deletions of 1p and 19q and Predicts a Better Prognosis of Patients with Oligodendroglioma. 2006 Oct 15;66(20):9852-61.

29. Buckner JC, Shaw EG, Pugh SL, Chakravarti A, Gilbert MR, Barger GR, Coons S, Ricci P, Bullard D, Brown PD, Stelzer K, Brachman D, Suh JH, Schultz CJ, Bahary JP, Fisher BJ, Kim H, Murtha AD, Bell EH, Won M, Mehta MP, Curran WJ. Radiation plus Procarbazine, CCNU, and Vincristine in Low-Grade Glioma. *N Engl J Med*. 2016 Apr 7;374(14):1344–55.
30. van den Bent MJ, Brandes AA, Taphoorn MJB, Kros JM, Kouwenhoven MCM, Delattre JY, Bernsen HJJA, Frenay M, Tijssen CC, Grisold W, Sipos L, Enting RH, French PJ, Dinjens WNM, Vecht CJ, Allgeier A, Lacombe D, Gorlia T, Hoang-Xuan K. Adjuvant procarbazine, lomustine, and vincristine chemotherapy in newly diagnosed anaplastic oligodendroglioma: Long-term follow-up of EORTC brain tumor group study 26951. *J Clin Oncol*. 2013 Jan 20;31(3):344–50.
31. Killela PJ, Reitman ZJ, Jiao Y, Bettegowda C, Agrawal N, Diaz LA, Friedman AH, Friedman H, Gallia GL, Giovanella BC, Grollman AP, He TC, He Y, Hruban RH, Jallo GI, Mandahl N, Meeker AK, Mertens F, Netto GJ, Ahmed Rasheed B, Riggins GJ, Rosenquist TA, Schiffman M, Shih IM, Theodorescu D, Torbenson MS, Velculescu VE, Wang TL, Wentzensen N, Wood LD, Zhang M, McLendon RE, Bigner DD, Kinzler KW, Vogelstein B, Papadopoulos N, Yan H. TERT promoter mutations occur frequently in gliomas and a subset of tumors derived from cells with low rates of self-renewal. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013 Apr 9;110(15):6021–6.
32. Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, Hamou MF, de Tribolet N, Weller M, Kros JM, Hainfellner JA, Mason W, Mariani L, Bromberg EC, Hau P, Mirimanoff RO, Cairncross JG, Janzer RC, Stupp R. MGMT Gene Silencing and Benefit from Temozolomide in Glioblastoma. *N Engl J Med*. 2005 Mar 10;352(10):997-1003.
33. Zarnett OJ, Sahgal A, Gosio J, Perry J, Berger MS, Chang S, Das S. Treatment of elderly patients with glioblastoma a systematic evidence-based analysis. *JAMA Neurol*. 2015 May;72(5):589–96.
34. Molinaro AM, Hervey-Jumper S, Morshed RA, Young J, Han SJ, Chunduru P, Zhang Y, Phillips JJ, Shai A, Lafontaine M, Crane J, Chandra A, Flanigan P, Jahangiri A, Cioffi G, Ostrom Q, Anderson JE, Badve C, Barnholtz-Sloan J, Sloan AE, Erickson BJ, Decker PA, Kosel ML, Lachance D, Eckel-Passow J, Jenkins R, Villanueva-Meyer J, Rice T, Wrensch M, Wiencke JK, Oberheim Bush NA, Taylor J, Butowski N, Prados M, Clarke J, Chang S, Chang E, Aghi M, Theodosopoulos P, McDermott M, Berger MS. Association of Maximal Extent of Resection of Contrast-Enhanced and Non-Contrast-Enhanced Tumor

With Survival Within Molecular Subgroups of Patients With Newly Diagnosed Glioblastoma. *JAMA Oncol.* 2020 Apr 1;6(4):495–503.

35. Stupp Roger, Hegi E Monika, Mason P Warren, van den Bent J Martin, Taphoorn JB Martin, Janzer C Robert. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *The Lancet.* 2009 May;10(5):459–66.
36. Davis FG, Dolecek TA, McCarthy BJ, Villano JL. Toward determining the lifetime occurrence of metastatic brain tumors estimated from 2007 United States cancer incidence data. *Neuro Oncol.* 2012 Sep 1;14(9):1171–7.
37. Nayak L, Lee EQ, Wen PY. Epidemiology of brain metastases. *Curr Oncol Rep.* 2012 Feb;14(1):48–54.
38. Proescholdt MA, Schödel P, Doenitz C, Pukrop T, Höhne J, Schmidt NO, Schebesch KM. The management of brain metastases—systematic review of neurosurgical aspects. 2021. *Cancers.* 2021 Apr;13(7):1616.
39. Rick JW, Shahin M, Chandra A, Dalle Ore C, Yue JK, Nguyen A, Yagnik G, Sagar S, Arfaie S, Aghi MK. Systemic therapy for brain metastases. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2019 Oct 1;142:44–50.
40. Ostrom QT, Wright CH, Barnholtz-Sloan JS. Brain metastases: epidemiology. *Handb Clin Neurol.* 2018;149:27–42.
41. Cagney DN, Martin AM, Catalano PJ, Redig AJ, Lin NU, Lee EQ, Wen PY, Dunn IF, Bi WL, Weiss SE, Haas-Kogan DA, Alexander BM, Aizer AA. Incidence and prognosis of patients with brain metastases at diagnosis of systemic malignancy: a population-based study. *Neuro Oncol.* 2017 Oct 19;19(11):1511–21.
42. Monroy-Sosa A, Chakravarthi SS, de La Garza-Salazar JG, Meneses A, Amin G, Kassam B. *Brain & Skull Base Principles of Neuro-Oncology.* Berlin: Springer Nature; 2021.
43. Kienast Y, Von Baumgarten L, Fuhrmann M, Klinkert WEF, Goldbrunner R, Herms J, Winkler F. Real-time imaging reveals the single steps of brain metastasis formation. *Nat Med.* 2010 Jan;16(1):116–22.
44. Fontanella MM. *Neurochirurgia in dieci lezioni.* Torino: Edizioni Minerva Medica; 2019.
45. Gavrilovic IT, Posner JB. Brain metastases: Epidemiology and pathophysiology. *J Neurooncol.* 2005 Oct; 75(1):5–14.

46. Weiberg RA. *La biologia del cancro*. I edizione. Bologna: Zanichelli; 2016.
47. Eichler AF, Chung E, Kodack DP, Loeffler JS, Fukumura D, Jain RK. The biology of brain metastases-translation to new therapies. *Nat Rev Clin Onc*. 2011 Jun;8(6):344–56.
48. Ramakrishna R, Magge RS, Baaj AA, Knisely JPS. *Diagnosis and Treatment Central Nervous System Metastases*. Cham, Switzerland: Springer International Publishing;2020.
49. Cacho-Díaz B, Lorenzana-Mendoza NA, Chávez-Hernandez JD, González-Aguilar A, Reyes-Soto G, Herrera-Gómez Á. Clinical manifestations and location of brain metastases as prognostic markers. *Curr Probl Cancer*. 2019 Aug 1;43(4):312–23.
50. van Breemen MS, Wilms EB, Vecht CJ. Epilepsy in patients with brain tumours: epidemiology, mechanisms, and management. *Lancet Neurology*. 2007 May;6(5):421–30.
51. Hamed M, Schäfer N, Bode C, Borger V, Potthoff AL, Eichhorn L, Giordano FA, Güresir E, Heimann M, Ko YD, Landsberg J, Lehmann F, Radbruch A, Scharnböck E, Schaub C, Schwab KS, Weller J, Herrlinger U, Vatter H, Schuss P, Schneider M. Preoperative Metastatic Brain Tumor-Associated Intracerebral Hemorrhage Is Associated With Dismal Prognosis. *Front Oncol*. 2021 Sep 14;11:3612.
52. Le Rhun E, Guckenberger M, Smits M, Dummer R, Bachelot T, Sahm F, Galldiks N, de Azambuja E, Berghoff AS, Metellus P, Peters S, Hong YK, Winkler F, Schadendorf D, van den Bent M, Seoane J, Stahel R, Minniti G, Wesseling P, Weller M, Preusser M. EANO–ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up of patients with brain metastasis from solid tumours . *Annals of Oncology*. 2021 Nov 1;32(11):1332–47.
53. Mikkelsen T, Paleologos NA, Robinson PD, Ammirati M, Andrews DW, Asher AL, Burri SH, Cobbs CS, Gaspar LE, Kondziolka D, Linskey ME, Loeffler JS, McDermott M, Mehta MP, Olson JJ, Patchell RA, Ryken TC, Kalkanis SN. The role of prophylactic anticonvulsants in the management of brain metastases: A systematic review and evidence-based clinical practice guideline. *J Neurooncol*. 2010 Jan 3;96(1):97–102.
54. Vogelbaum MA, Brown PD, Messersmith H, Brastianos PK, Stuart Burri, Cahill D, Dunn IF, Gaspar LE, Gatson TN, Gondi V, Jordan JT, Lassman AB, Maues J, Mohile N, Redjal N, Stevens G, Sulman E, van den Bent M, Wallace J H, Weinberg JS, Zadeh G, Schiff D. Treatment for Brain Metastases: ASCO-SNO-ASTRO Guideline. *J Clin Oncol* 2021 Oct;40(5):492–516.

55. Soffietti R, Abacioglu U, Baumert B, Combs SE, Kinhult S, Kros JM, Marosi C, Metellus P, Radbruch A, Freixa SSV, Brada M, Carapella CM, Preusser M, le Rhun E, Rudà R, Tonn JC, Weber DC, Weller M. Diagnosis and treatment of brain metastases from solid tumors: Guidelines from the European Association of neuro-oncology (EANO). *Neuro Oncol.* 2017 Feb 1;19(2):162–74.
56. AIOM, Linee guida neoplasia cerebrali, 2021.
57. Pollock BE, Brown PD, Foote RL, Stafford SL, Schomberg PJ. Properly selected patients with multiple brain metastases may benefit from aggressive treatment of their intracranial disease. *J Neurooncol.* 2003 Jan;61(1):73–80.
58. Salvati M, Tropeano MP, Maiola V, Lavallo L, Brogna C, Colonnese C, Frati A, D’Elia A. Multiple brain metastases: a surgical series and neurosurgical perspective. *Neurological Sciences.* 2018 Apr 1;39(4):671–7.
59. Yamamoto M, Serizawa T, Shuto T, Akabane A, Higuchi Y, Kawagishi J, Yamanaka K, Sato Y, Jokura H, Yomo S, Nagano O, Kenai H, Moriki A, Suzuki S, Kida Y, Iwai Y, Hayashi M, Onishi H, Gondo M, Sato M, Akimitsu T, Kubo K, Kikuchi Y, Shibasaki T, Goto T, Takanashi M, Mori Y, Takakura K, Saeki N, Kunieda E, Aoyama H, Momoshima S, Tsuchiya K. Stereotactic radiosurgery for patients with multiple brain metastases (JLGK0901): a multi-institutional prospective observational study. *Lancet Oncol.* 2014 Apr 1;15(4):387–95.
60. Lamba N, Kearney RB, Catalano PJ, Hassett MJ, Wen PY, Aizer AA. Population-based estimates of survival among elderly patients with brain metastases. *Neuro Oncol.* 2021 Apr 12;23(4):661–76.
61. Doyon D., Cabanis E. A., Iba-Zizen M. T., Roger B., Frijia J., Pariente D., Idy-Peretti I. *Manuale di Risonanza Magnetica.* Roma: Verduci Editore; 2004.
62. Coriasco M, Rampado O, Bradac G. *Elementi di risonanza magnetica.* Milano: Springer; 2014.
63. Andreula C, Cirillo S, Colosimo C, Gallucci M, Scarabino T. *Manuale di RM in neuroradiologia.* Milano: Poletto editore; 2017.
64. Haacke EM, Brown RW, Thompson MR, Venkatesan R. *Magnetic Resonance Imaging, physical principles and sequence design.* New York: Wiley-Liss; 1999.
65. Jung BA, Weigel M. Spin echo magnetic resonance imaging. *J Magn Reson Imaging.* 2013 Apr; 37(4):805–17.
66. Markl M, Leupold J. Gradient echo imaging. *J Magn Reson Imaging.* 2012 May;35(6):1274–89.

67. Jones KM, Mulkem R V, Schwartz RB, Oshio K, Barnes PD, Jolesz1 FA. Fast Spin-Echo MR Imaging of the Brain and Spine: Current Concepts. *AJR Am J Roentgenol.* 1992 Jun; 158(6):1313-20.
68. Buxton RB. Introduction to functional magnetic resonance imaging: principles and techniques. Cambridge University Press; 2009.
69. Haller S, Haacke EM, Thurnher MM, Barkhof F. Susceptibility-weighted imaging: Technical essentials and clinical neurologic applications. *Radiology.* 2021 Apr;299(1):3–26.
70. De Coene B, Hajnal JV, Gatehouse P, Longmore DB, White SJ, Oatridge A, Pennoc JM, Young IR, Bydder GM. MR of the Brain Using Fluid-Attenuated Inversion Recovery (FLAIR) Pulse Sequences. *AJNR Am J Neuroradiol.* 1992 Nov-Dec; 13(6):1555-64.
71. Kanal E, Maravilla K, Rowley HA. Gadolinium contrast agents for CNS imaging: Current concepts and clinical evidence. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2014 Dec;35(12):2215–26.
72. Dietrich O, Biffar A, Baur-Melnyk A, Reiser MF. Technical aspects of MR diffusion imaging of the body. Vol. 76, *Eur J Radiol.* 2010 Dec;76(3)314–22.
73. Mori S, Zhang J. Principles of Diffusion Tensor Imaging and Its Applications to Basic Neuroscience Research. *Neuron.* 2006 Sep 7. 51(5): 527–39.
74. Hagmann P, Jonasson L, Maeder P, Thiran JP, Wedeen J Van, Meuli R. Understanding diffusion MR imaging techniques: From scalar diffusion-weighted imaging to diffusion tensor imaging and beyond. *Radiographics.* 2006 Oct;26(Suppl 1): S205-23.
75. Mori S, van Zijl PCM. Fiber tracking: Principles and strategies - A technical review. *NMR Biomed.* 2002 Nov-Dec; 15(7-8):468–80.
76. Bozzao A, Colonnese C, Pantano P. *Lezioni di neuroradiologia.* Italia: Società Editrice Esculapio; 2019.
77. Deibler AR, Pollock JM, Kraft RA, Tan H, Burdette JH, Maldjian JA. Arterial spin-labeling in routine clinical practice, part 1: Technique and artifacts. Vol. 29, *AJNR Am J Neuroradiol.* 2008 Dec; 29(7):1228–34.
78. McGehee BE, Pollock JM, Maldjian JA. Brain perfusion imaging: How does it work and what should I use? *J Magn Reson Imaging.* 2012; 36(6):1257–72.

79. Huisman TAGM, Sorensen AG. Perfusion-weighted magnetic resonance imaging of the brain: Techniques and application in children. *Eur Radiol.* 2004 Jan 25;14(1):59–72.
80. Boxerman JL, Quarles CC, Hu LS, Erickson BJ, Gerstner ER, Smits M, Kaufmann TJ, Barboriak DP, Huang RH, Wick W, Weller M, Galanis E, Kalpathy-Cramer J, Shankar L, Jacobs P, Chung C, van den Bent MJ, Chang S, Al Yung WK, Cloughesy TF, Wen PY, Gilbert MR, Rosen BR, Ellingson BM, Schmainda KM. Consensus recommendations for a dynamic susceptibility contrast MRI protocol for use in high-grade gliomas. *Neuro Oncol.* 2020 Sep 1;22(9):1262–75.
81. Near J, Harris AD, Juchem C, Kreis R, Marjańska M, Öz G, Slotboom J, Wilson M, Gasparovic C. Preprocessing, analysis and quantification in single-voxel magnetic resonance spectroscopy: experts' consensus recommendations. *NMR Biomed.* 2021 May;34(5):e4257.
82. Zeng QS, Li CF, Zhang K, Liu H, Kang XS, Zhen JH. Multivoxel 3D proton MR spectroscopy in the distinction of recurrent glioma from radiation injury. *J Neurooncol.* 2007 Aug;84(1):63–9.
83. Ricci R, Bacci A, Tugnoli V, Battaglia S, Maffei M, Agati R, Leonardi M. Metabolic findings on 3T 1H-MR spectroscopy in peritumoral brain edema. *American Journal of Neuroradiology.* 2007 Aug;28(7):1287–91.
84. Wang Q, Zhang H, Zhang JS, Wu C, Zhu WJ, Li FY, Chen XL, Xu BN. The diagnostic performance of magnetic resonance spectroscopy in differentiating high-from low-grade gliomas: A systematic review and meta-analysis. *Eur Radiol.* 2016 Aug 1;26(8):2670–84.
85. Soares DP, Law M. Magnetic resonance spectroscopy of the brain: review of metabolites and clinical applications. *Clin Radiol.* 2009 Jan;64(1):12–21.
86. Wijnenga MMJ, Voort SR van der, French PJ, Klein S, Dubbink HJ, Dinjens WNM, Atmodimedjo PN, Groot M de, Kros JM, Schouten JW, Dirven CMF, Vincent AJPE, Smits M, Bent MJ van den. Differences in spatial distribution between WHO 2016 low-grade glioma molecular subgroups. *Neurooncol Adv.* 2019 May 1;1(1):1–9.
87. Johnson DR, Giannini C, Vaubel RA, Morris JM, Eckel LJ, Kaufmann TJ, Guerin JB. A Radiologist's Guide to the 2021 WHO Central Nervous System Tumor Classification: Part I—Key Concepts and the Spectrum of Diffuse Gliomas. *Radiology.* 2022 Sep; 304(3):495–508.
88. Rajan J, Derek RJ, Sohil HP, Mauricio C, Marion S, van den Martin JB, Andrew SC, Daniel PC. Real world" use of a highly reliable imaging sign: "t2-FLAIR

- mismatch” for identification of IDH mutant Astrocytomas. *Neuro Oncol.* 2020 Jul 1;22(7):936–43.
89. Patel SH, Poisson LM, Brat DJ, Zhou Y, Cooper L, Snuderl M, Thomas C, Franceschi AM, Griffith B, Flanders AE, Golfinos JG, Chi AS, Jain R. T2–FLAIR mismatch, an imaging biomarker for IDH and 1p/19q status in lower-grade gliomas: A TCGA/TCIA project. *Clinical Cancer Research.* 2017 Oct 15;23(20):6078–86.
 90. Pruis IJ, Koene SR, van der Voort SR, Incekara F, Vincent AJPE, van den Bent MJ, Lycklama À Nijeholt GJ, Nandoe Tewarie RDS, Veldhuijzen Van Zanten SEM, Smits M. Noninvasive differentiation of molecular subtypes of adult nonenhancing glioma using MRI perfusion and diffusion parameters. *Neurooncol Adv.* 2022 Jan 1;4(1).
 91. Kickingreder P, Sahm F, Radbruch A, Wick W, Heiland S, von Deimling A, Bendszus M, Wiestler B. IDH mutation status is associated with a distinct hypoxia/angiogenesis transcriptome signature which is non-invasively predictable with rCBV imaging in human glioma. *Scientific Reports.* 2015 Nov 5;5(1):1–9.
 92. van Lent DI, van Baarsen KM, Snijders TJ, Robe PAJT. Radiological differences between subtypes of WHO 2016 grade II-III gliomas: A systematic review and meta-analysis. *Neurooncol Adv.* 2020 Apr 4;2(1):vdaa044.
 93. Lasocki A, Gaillard F, Gorelik A, Gonzales M. MRI features can predict 1p/19q status in intracranial gliomas. *American Journal of Neuroradiology.* 2018 Apr 1;39(4):687–92.
 94. Kyung Nam Y, Eun Park J, Young Park S, Lee M, Kim M, Jung Nam S, Sung Kim H. Reproducible imaging-based prediction of molecular subtype and risk stratification of gliomas across different experience levels using a structured reporting system. *Eur Radiol.* 2021 Oct;31(10):7374-85.
 95. Lasocki A, Anjari M, Örs Kokurcan S, Thust SC. Conventional MRI features of adult diffuse glioma molecular subtypes: a systematic review. *Neuroradiology.* 2021 Mar 1;63(3):353–62.
 96. Cha S, Tihan T, Crawford F, Fischbein NJ, Chang S, Bollen A, Nelson SJ, Prados M, Berger MS, Dillon WP. Differentiation of Low-Grade Oligodendrogliomas from Low-Grade Astrocytomas by Using Quantitative Blood-Volume Measurements Derived from Dynamic Susceptibility Contrast-Enhanced MR Imaging. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2005 Feb;26(2):266-73.
 97. Lundy P, Domino J, Ryken T, Fouke S, McCracken DJ, Ormond DR, Olson JJ. The role of imaging for the management of newly diagnosed glioblastoma in

- adults: a systematic review and evidence-based clinical practice guideline update. *J Neurooncol.* 2020 Nov;150(2):95–120.
98. Diehn M, Nardini C, Wang DS, McGovern S, Jayaraman M, Liang Y, Aldape K, Cha S, Kuo MD, analyzed data M. Identification of noninvasive imaging surrogates for brain tumor gene-expression modules contributed new reagents/analytic tools. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008 Apr 1;105(13):5213-8.
 99. Suh CH, Kim HS, Jung SC, Choi CG, Kim SJ. Clinically relevant imaging features for MGMT promoter methylation in multiple glioblastoma studies: A systematic review and meta-analysis. *American Journal of Neuroradiology.* 2018 Aug 1;39(8):1439–45.
 100. Park CJ, Han K, Kim H, Ahn SS, Choi D, Park YW, Chang JH, Kim SH, Cha S, Lee SK. MRI features may predict molecular features of glioblastoma in isocitrate dehydrogenase wild-type lower-grade gliomas. *American Journal of Neuroradiology.* 2021 Mar 1;42(3):448–56.
 101. Fink K, Fink J. Imaging of brain metastases. *Surg Neurol Int.* 2013 Oct 1;4(SUPPL4).
 102. Fan G, Sun B, Wu Z, Guo Q, Guo Y. In vivo single-voxel proton MR spectroscopy in the differentiation of high-grade gliomas and solitary metastases. *Clin Radiol.* 2004;59(1):77–85.
 103. Hakyemez B, Erdogan C, Bolca N, Yildirim N, Gokalp G, Parlak M. Evaluation of different cerebral mass lesions by perfusion-weighted MR imaging. *J Magn Reson Imaging.* 2006 Oct;24(4):817–24.
 104. Klatzo I. Pathophysiological aspects of brain edema. *Acta Neuropathol.* 1987;72(3):236-9.
 105. Kumar V, Klatt EC, Robbins e Cotran – Le basi patologiche delle malattie. Vol 2. X edizione. Milano: Edra Masson; 2015.
 106. Kaal ECA, Vecht CJ. The management of brain edema in brain tumors. *Curr Opin Oncol.* 2004 Nov;16(6):593-600.
 107. Papadopoulos MC, Saadoun S, Binder DK, Manley GT, Krishna S, Verkman AS. Molecular mechanisms of brain tumor edema. *Neuroscience.* 2004;129(4):1009–18.
 108. Stokum JA, Gerzanich V, Simard JM. Molecular pathophysiology of cerebral edema. *J Cerebr Blood Flow and Metab.* 2016 Mar;36(3):513–38.

109. Heye AK, Culling RD, Valdés Hernández MDC, Thrippleton MJ, Wardlaw JM. Assessment of blood-brain barrier disruption using dynamic contrast-enhanced MRI. A systematic review. *Neuroimage Clin.* 2014 Sep 10;6:262–74.
110. Ballabh P, Braun A, Nedergaard M. The blood-brain barrier: An overview: Structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiol Dis.* 2004 Jun;16(1):1–13.
111. Abbott NJ, Patabendige AAK, Dolman DEM, Yusof SR, Begley DJ. Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiol Dis.* 2010 Jan;37(1):13–25.
112. Sampson JH, Gunn MD, Fecci PE, Ashley DM. Brain immunology and immunotherapy in brain tumours. *Nat Rev Cancer.* 2020 Jan;20(1):12–25.
113. Tamura R, Ohara K, Sasaki H, Morimoto Y, Yoshida K, Toda M. Histopathological vascular investigation of the peritumoral brain zone of glioblastomas. *J Neurooncol.* 2018 Jan 1;136(2):233–41.
114. Chaudhry IH, O'Donovan DG, Brenchley PEC, Reid H, Roberts ISD. Vascular endothelial growth factor expression correlates with tumour grade and vascularity in gliomas. *Histopathology.* 2001;39(4):409–15.
115. Argaw AT, Gurfein BT, Zhang Y, Zameer A, John GR. VEGF-mediated disruption of endothelial CLN-5 promotes blood-brain barrier breakdown. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Feb 10;106(6):1977–82.
116. Wolburg H, Wolburg-Buchholz K, Kraus J, Rascher-Eggstein G, Liebner S, Hamm S, Duffner F, Grote EH, Risau W, Engelhardt B. Localization of claudin-3 in tight junctions of the blood-brain barrier is selectively lost during experimental autoimmune encephalomyelitis and human glioblastoma multiforme. *Acta Neuropathol.* 2003 Jun 1;105(6):586–92.
117. Warth A, Kröger S, Wolburg H. Redistribution of aquaporin-4 in human glioblastoma correlates with loss of agrin immunoreactivity from brain capillary basal laminae. *Acta Neuropathol.* 2004 Apr;107(4):311–8.
118. Wolburg H, Noell S, Fallier-Becker P, MacK AF, Wolburg-Buchholz K. The disturbed blood-brain barrier in human glioblastoma. *Mol Aspects Med.* 2012 Oct-Dec;33(5-6):579–89.
119. Noell S, Ritz R, Wolburg-Buchholz K, Wolburg H, Fallier-Becker P. An Allograft Glioma Model Reveals the Dependence of Aquaporin-4 Expression on the Brain Microenvironment. *PLoS One* 7(5):e36555.
120. Warth A, Simon P, Capper D, Goepfert B, Tabatabai G, Herzog H, Dietz K, Stubenvoll F, Ajaaj R, Becker R, Weller M, Meyermann R, Wolburg H,

- Mittelbronn M. Expression pattern of the water channel aquaporin-4 in human gliomas is associated with blood-brain barrier disturbance but not with patient survival. *J Neurosci Res.* 2007 May 1;85(6):1336–46.
121. Simone L, Pisani F, Mola MG, De Bellis M, Merla G, Micale L, Frigeri A, Vescovi AL, Svelto M, Nicchia GP. AQP4 aggregation state is a determinant for glioma cell fate. *Cancer Res.* 2019;79(9):2182–94.
 122. Herting CJ, Chen Z, Maximov V, Duffy A, Szulzewsky F, Shayakhmetov DM, Hambardzumyan D. Tumour-associated macrophage-derived interleukin-1 mediates glioblastoma-associated cerebral oedema. *Brain.* 2019 Dec 1;142(12):3834–51.
 123. Kerschbaumer J, Bauer M, Popovscaia M, Grams AE, Thomé C, Freyschlag CF. Correlation of tumor and peritumoral edema volumes with survival in patients with cerebral metastases. *Anticancer Res.* 2017;37(2):871–6.
 124. Tran TT, Mahajan A, Chiang VL, Goldberg SB, Nguyen DX, Jilaveanu LB, Kluger HM. Perilesional edema in brain metastases: Potential causes and implications for treatment with immune therapy. *J Immunother Cancer.* 2019 Jul 30;7(1).
 125. Papadopoulos MC, Saadoun S, Woodrow CJ, Davies DC, Costa-Martins P, Moss RF, Krishna S, Bell BA. Occludin expression in microvessels of neoplastic and non-neoplastic human brain. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2001;27(5):384–95.
 126. Trembath DG, Davis ES, Rao S, Bradler E, Saada AF, Midkiff BR, Snavely AC, Ewend MG, Collichio FA, Lee CB, Karachaliou GS, Ayvali F, Ollila DW, Krauze MT, Kirkwood JM, Vincent BG, Nikolaishvilli-Feinberg N, Moschos SJ. Brain Tumor Microenvironment and Angiogenesis in Melanoma Brain Metastases. *Front Oncol.* 2021 Jan 21;10.
 127. Berghoff AS, Fuchs E, Ricken G, Mlecnik B, Bindea G, Spanberger T, Hackl M, Widhalm G, Dieckmann K, Prayer D, Bilocq A, Heinzl H, Zielinski C, Bartsch R, Birner P, Galon J, Preusser M. Density of tumor-infiltrating lymphocytes correlates with extent of brain edema and overall survival time in patients with brain metastases. *Oncoimmunology.* 2016;5(1).
 128. Solar P, Hendrych M, Barak M, Valekova H, Hermanova M, Jancalek R. Blood-Brain Barrier Alterations and Edema Formation in Different Brain Mass Lesions. *Front. Cell Neurosci.* 2022 Jul 15;16.
 129. Morita K ichi, Matsuzawa H, Fujii Y, Tanaka R, Kwee IL, Nakada T. Diffusion tensor analysis of peritumoral edema using lambda chart analysis indicative of

- the heterogeneity of the microstructure within edema. *J Neurosurg.* 2005 Feb;102(2):336-41.
130. Cuddapah VA, Robel S, Watkins S, Sontheimer H. A neurocentric perspective on glioma invasion. *Nat Rev Neurosci.* 2014 Jul;15(7):455–65.
 131. Demuth T, Berens ME. Molecular mechanisms of glioma cell migration and invasion. *J Neurooncol.* 2004 Nov;70(2):217-28.
 132. Nakada M, Nakada S, Demuth T, Tran NL, Hoelzinger DB, Berens ME. Molecular targets of glioma invasion. *Cell Mol Life Sci.* 2007 Feb;64(4):458–78.
 133. Ulrich TA, De Juan Pardo EM, Kumar S. The mechanical rigidity of the extracellular matrix regulates the structure, motility, and proliferation of glioma cells. *Cancer Res.* 2009 May 15;69(10):4167–74.
 134. Hardee ME, Zagzag D. Mechanisms of glioma-associated neovascularization. *Am J Pathol.* 2012 Oct;181(4):1126–41.
 135. Farin A, Suzuki SO, Weiker M, Goldman JE, Bruce JN, Canoll P. Transplanted glioma cells migrate and proliferate on host brain vasculature: A dynamic analysis. *Glia.* 2006 Jun;53(8):799–808.
 136. Stadlbauer A, Zimmermann M, Heinz G, Oberndorfer S, Doerfler A, Buchfelder M, Rössler K. Magnetic resonance imaging biomarkers for clinical routine assessment of microvascular architecture in glioma. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism.* 2017;37(2):632–43.
 137. Ahir BK, Engelhard HH, Lakka SS. Tumor Development and Angiogenesis in Adult Brain Tumor: Glioblastoma. *Mol Neurobiol.* 2020 May;57(5):2461–78.
 138. Engelhorn T, Savaskan NE, Schwarz MA, Kreutzer J, Meyer EP, Hahnen E, Ganslandt O, Dörfler A, Nimsky C, Buchfelder M, Eyüpoglu IY. Cellular characterization of the peritumoral edema zone in malignant brain tumors. *Cancer Sci.* 2009 Oct;100(10):1856–62.
 139. Petrecca K, Guiot MC, Panet-Raymond V, Souhami L. Failure pattern following complete resection plus radiotherapy and temozolomide is at the resection margin in patients with glioblastoma. *J Neurooncol.* 2013 Jan;111(1):19–23.
 140. Giambra M, Di Cristofori A, Valtorta S, Manfrellotti R, Bigioger V, Basso G, Moresco RM, Giussani C, Bentivegna A. The peritumoral brain zone in glioblastoma: where we are and where we are going. *J Neurosci Res.* 2023 Feb;101(2):199–216.

141. Giambra M, Messuti E, Cristofori A Di, Cavandoli C, Bruno R, Buonanno R, Marzorati M, Zambuto M, Rodriguez-Menendez V, Redaelli S, Giussani C, Bentivegna A. Characterizing the Genomic Profile in High-Grade Gliomas: From Tumor Core to Peritumoral Brain Zone, Passing through Glioma-Derived Tumorspheres. *Biology (Basel)*. 2021 Nov 9;10(11):1157.
142. Lemée JM, Clavreul A, Aubry M, Com E, de Tayrac M, Eliat PA, Henry C, Rousseau A, Mosser J, Menei P. Characterizing the peritumoral brain zone in glioblastoma: a multidisciplinary analysis. *J Neurooncol*. 2015 Mar 1;122(1):53–61.
143. Lemée JM, Clavreul A, Menei P. Intratumoral heterogeneity in glioblastoma: Don't forget the peritumoral brain zone. *Neuro Oncol*. 2015 Oct 1;17(10):1322–32.
144. Thorsson V, Gibbs DL, Brown SD, Wolf D, Bortone DS, Ou Yang TH, Porta-Pardo E, Gao GF, Plaisier CL, Eddy JA, Ziv E, Culhane AC, Paull EO, Sivakumar IKA, Gentles AJ, Malhotra R, Farshidfar F, Colaprico A, Parker JS, Mose LE, Vo NS, Liu J, Liu Y, Rader J, Dhankani V, Reynolds SM, Bowlby R, Califano A, Cherniack AD, Anastassiou D, Bedognetti D et al. The Immune Landscape of Cancer. *Immunity*. 2018 Apr 17;48(4):812-830.e14.
145. Altieri R, Barbagallo D, Certo F, Broggi G, Ragusa M, Pietro C Di, Caltabiano R, Magro G, Peschillo S, Purrello M, Barbagallo G. brain sciences Review Peritumoral Microenvironment in High-Grade Gliomas: From FLAIRectomy to Microglia-Glioma. *Brain Sci*. 2021 Feb 6;11(2):200.
146. Thanasupawat T, Glogowska A, Burg M, Kreck J, Beiko J, Pitz M, Zhang GJ, Hombach-Klonisch S, Klonisch T. C1q/TNF-related peptide 8 (CTRP8) promotes temozolomide resistance in human glioblastoma. *Mol Oncol*. 2018 Sep 1;12(9):1464–79.
147. Ruiz-Ontañón P, Orgaz JL, Aldaz B, Elosegui-Artola A, Martino J, Berciano MT, Montero JA, Grande L, Nogueira L, Diaz-Moralli S, Esparís-Ogando A, Vazquez-Barquero A, Lafarga M, Pandiella A, Cascante M, Segura V, Martínez-Clement JA, Sanz-Moreno V, Fernandez-Luna JL. Cellular plasticity confers migratory and invasive advantages to a population of glioblastoma-initiating cells that infiltrate peritumoral tissue. *Stem Cells*. 2013 Jun;31(6):1075–85.
148. Kruthika BS, Jain R, Arivazhagan A, Bharath RD, Yasha TC, Kondaiah P, Santosh V. Transcriptome profiling reveals PDZ binding kinase as a novel biomarker in peritumoral brain zone of glioblastoma. *J Neurooncol*. 2019 Jan 30;141(2):315–25.
149. Villanueva-Meyer JE, Mabray MC, Cha S. Current clinical brain tumor imaging. *Clin Neurosurg*. 2017 Sep 1;81(3):397–415.

150. van Dijken BRJ, van Laar PJ, Holtman GA, van der Hoorn A. Diagnostic accuracy of magnetic resonance imaging techniques for treatment response evaluation in patients with high-grade glioma, a systematic review and meta-analysis. *Eur Radiol.* 2017 Oct 1;27(10):4129–44.
151. Martín-Noguerol T, Mohan S, Santos-Armentia E, Cabrera-Zubizarreta A, Luna A. Advanced MRI assessment of non-enhancing peritumoral signal abnormality in brain lesions. *Eur J Radiol.* 2021 Oct;43:109900.
152. Wen PY, Macdonald DR, Reardon DA, Cloughesy TF, Sorensen AG, Galanis E, DeGroot J, Wick W, Gilbert MR, Lassman AB, Tsien C, Mikkelsen T, Wong ET, Chamberlain MC, Stupp R, Lamborn KR, Vogelbaum MA, Van Den Bent MJ, Chang SM. Updated response assessment criteria for high-grade gliomas: Response assessment in neuro-oncology working group. *J Clin Oncol.* 2010 Apr;28(11):1963–72.
153. Chaskis C, Neyns B, Michotte A, De Ridder M, Everaert H. Pseudoprogression after radiotherapy with concurrent temozolomide for high-grade glioma: clinical observations and working recommendations. *Surg Neurol.* 2009 Oct;72(4):423–8.
154. Batchelor TT, Sorensen AG, di Tomaso E, Zhang WT, Duda DGG, Cohen KS, Kozak KR, Cahill DP, Chen PJ, Zhu M, Ancukiewicz M, Mrugala MM, Plotkin S, Drappatz J, Louis DN, Ivy P, Scadden DTT, Benner T, Loeffler JS, Wen PY, Jain RK. AZD2171, a Pan-VEGF Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor, Normalizes Tumor Vasculature and Alleviates Edema in Glioblastoma Patients. *Cancer Cell.* 2007 Jan 1;11(1):83–95.
155. Ali FS, Arevalo O, Zorofchian S, Patrizz A, Riascos R, Tandon N, Blanco A, Ballester LY, Esquenazi Y. Cerebral Radiation Necrosis: Incidence, Pathogenesis, Diagnostic Challenges, and Future Opportunities. *Curr Oncol Rep.* 2019 Jun 19;21(8):66.
156. Suh CH, Kim HS, Jung SC, Choi CG, Kim SJ. Multiparametric mri as a potential surrogate endpoint for decision-making in early treatment response following concurrent chemoradiotherapy in patients with newly diagnosed glioblastoma: A systematic review and meta-analysis. *Eur Radiol.* 2018 Jan 26;28(6):2628–38.
157. Shi Z, Jiang J, Xie L, Zhao X. Efficacy evaluation of contrast-enhanced magnetic resonance imaging in differentiating glioma from metastatic tumor of the brain and exploration of its association with patients' neurological function. *Front Behav Neurosci.* 2022 Sep 6;16.
158. Suh CH, Kim HS, Jung SC, Kim SJ. Diffusion-weighted imaging and diffusion tensor imaging for differentiating high-grade glioma from solitary brain

- metastasis: A systematic review and meta-analysis. *American Journal of Neuroradiology*. 2018 Jul 1;39(7):1208–14.
159. Lee EJ, TerBrugge K, Mikulis D, Choi DS, Bae JM, Lee SK, Moon SY. Diagnostic value of peritumoral minimum apparent diffusion coefficient for differentiation of glioblastoma multiforme from solitary metastatic lesions. *American Journal of Roentgenology*. 2011 Jan;196(1):71–6.
 160. Lemercier P, Maya SP, Patrie JT, Flors L, Leiva-Salinas C. Gradient of apparent diffusion coefficient values in peritumoral edema helps in differentiation of glioblastoma from solitary metastatic lesions. *American Journal of Roentgenology*. 2014;203(1):163–9.
 161. Witwer BP, Roham M, Khader HM, Praveen D, Haughton V, Field A, Arfanakis K, Noyes J, Moritz CH, Meyerand E, Rowley HA, Alexander AL, Badie B. Diffusion-tensor imaging of white matter tracts in patients with cerebral neoplasm. *J Neurosurg*. 2002 Sep;97:568–75.
 162. Yen PS, Teo BT, Chiu CH, Chen SC, Chiu TL, Su CF. White matter tract involvement in brain tumors: a diffusion tensor imaging analysis. *Surg Neurol*. 2009 Nov;72(5):464–9.
 163. Jiang R, Du FZ, He C, Gu M, Ke ZW, Li JH. The value of diffusion tensor imaging in differentiating high-grade gliomas from brain metastases: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2014 Nov 7;9(11):e112550.
 164. Stadlbauer A, Nimsy C, Buslei R, Salomonowitz E, Hammen T, Buchfelder M, Moser E, Ernst-Stecken A, Ganslandt O. Diffusion tensor imaging and optimized fiber tracking in glioma patients: Histopathologic evaluation of tumor-invaded white matter structures. *Neuroimage*. 2007 Feb 1;34(3):949–56.
 165. Jenabi M, Peck KK, Young RJ, Brennan N, Holodny AI. Identification of the corticobulbar tracts of the tongue and face using deterministic and probabilistic DTI fiber tracking in patients with brain tumor. *American Journal of Neuroradiology*. 2015 Nov 1;36(11):2036–41.
 166. Cha S. Update on Brain Tumor Imaging. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2005;5:169–77.
 167. Romano A, Moltoni G, Guarnera A, Pasquini L, Di Napoli A, Napolitano A, Espagnet MCR, Bozzao A. Single brain metastasis versus glioblastoma multiforme: a VOI-based multiparametric analysis for differential diagnosis. *Radiologia Medica*. 2022 May 1;127(5):490–7.

168. Liu J, Han H, Xu Y, Jin Y, Ma F, Mu J, Wang Y. A comparison of the multimodal magnetic resonance imaging features of brain metastases vs. high-grade gliomas. *Am J Transl Res*. 2021 Apr 15;13(4):3543-3548.
169. Law M, Cha S, Knopp E, Johnson G, Arnett J, Litt A. High-grade gliomas and solitary metastases: differentiation by using perfusion and proton spectroscopic MR imaging. *Radiology*. 2002 Mar 1;222(3):715–21.
170. Suh CH, Kim HS, Jung SC, Choi CG, Kim SJ. Perfusion MRI as a diagnostic biomarker for differentiating glioma from brain metastasis: a systematic review and meta-analysis. *Eur Radiol*. 2018 Sep;28(9):3819–31.
171. She D, Xing Z, Cao D. Differentiation of Glioblastoma and Solitary Brain Metastasis by Gradient of Relative Cerebral Blood Volume in the Peritumoral Brain Zone Derived from Dynamic Susceptibility Contrast Perfusion Magnetic Resonance Imaging. *J Comput Assist Tomogr*. 2019 Jan 1;43(1):13–7.
172. Pirzkall A, Mcknight TR, Graves EE, Carol MP, Sneed PK, Wara WW, Nelson SJN, Verhey LJ, Larson DA. MR-spectroscopy guided target delineation for high-grade gliomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2001 Jul 15;50(4):915-28.
173. Chiang IC, Kuo YT, Lu CY, Yeung KW, Lin WC, Sheu FO, Liu GC. Distinction between high-grade gliomas and solitary metastases using peritumoral 3-T magnetic resonance spectroscopy, diffusion, and perfusion imagings. *Neuroradiology*. 2004;46(8):619–27.
174. Server A, Josefsen R, Kulle B, Mæhlen J, Schellhorn T, Gadmar Ø, Kumar T, Haakonsen M, Langberg CW, Nakstad PH. Proton magnetic resonance spectroscopy in the distinction of high-grade cerebral gliomas from single metastatic brain tumors. *Acta Radiol*. 2010 Apr 1 ;51(3):316–25.
175. Cui Y, Zeng W, Jiang H, Ren X, Lin S, Fan Y, Liu Y, Zhao J. Higher Cho/NAA Ratio in Postoperative Peritumoral Edema Zone Is Associated With Earlier Recurrence of Glioblastoma. *Front Neurol*. 2020 Dec 4;11:592155.
176. Boonzaier NR, Larkin TJ, Matys T, Van Der Hoorn A, Yan JL, Price SJ. Multiparametric MR imaging of diffusion and perfusion in contrast-enhancing and nonenhancing components in patients with glioblastoma. *Radiology*. 2017 Jul 1;284(1):180–90.
177. Yan JL, Li C, Hoorn A van der, Boonzaier NR, Matys T, Price SJ. A Neural Network Approach to Identify the Peritumoral Invasive Areas in Glioblastoma Patients by Using MR Radiomics. *Sci Rep*. 2020 Dec 1;10(1):9748.
178. Prasanna P, Patel J, Partovi S, Madabhushi A, Tiwari P. Radiomic features from the peritumoral brain parenchyma on treatment-naïve multi-parametric MR

- imaging predict long versus short-term survival in glioblastoma multiforme: Preliminary findings. *Eur Radiol.* 2017 Oct 1;27(10):4188–97.
179. Schoenegger K, Oberndorfer S, Wuschitz B, Struhal W, Hainfellner J, Prayer D, Heinzl H, Lahrmann H, Marosi C, Grisold W. Peritumoral edema on MRI at initial diagnosis: An independent prognostic factor for glioblastoma? *Eur J Neurol.* 2009 Jul;16(7):874–8.
 180. Lacroix M, Abi-Said D, Fourney DR, Gokaslan ZL, Shi W, DeMonte F, Lang FF, McCutcheon IE, Hassenbusch SJ, Holland E, Hess K, Michael C, Miller D, Sawaya R. A multivariate analysis of 416 patients with glioblastoma multiforme: prognosis, extent of resection, and survival. *J Neurosurg.* 2001;95(2):190–8.
 181. Yu Y, Ma Y, Sun M, Jiang W, Yuan T, Tong D. Meta-analysis of the diagnostic performance of diffusion magnetic resonance imaging with apparent diffusion coefficient measurements for differentiating glioma recurrence from pseudoprogression. *Medicine (Baltimore).* 2020 Jun 5;99(23):e20270.
 182. Gutin PH, Holodny AI, Lassman AB, Gupta A, Young RJ, Karimi S, Sood S, Zhang Z, Mo Q. Subset of Patients with Glioblastoma Development of Enhancing Tumor in a Isolated Diffusion Restriction Precedes the Isolated Diffusion Restriction Precedes the Development of Enhancing Tumor in a Subset of Patients with Glioblastoma. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2023 ;32(7):1301–6.
 183. Strauss SB, Meng A, Ebani EJ, Chiang GC. Imaging Glioblastoma Posttreatment: Progression, Pseudoprogression, Pseudoresponse, Radiation Necrosis. *Radiol Clin North Am.* 2019 Nov;57(6):1199-1216.
 184. Smits M. MRI biomarkers in neuro-oncology. *Nat Rev Neurol.* 2021 Aug;17(8):486–500.
 185. Chuang MT, Liu YS, Tsai YS, Chen YC, Wang CK. Differentiating radiation-induced necrosis from recurrent brain tumor using MR perfusion and spectroscopy: A meta-analysis. *PLoS One.* 2016 Jan 7;11(1):e0141438.
 186. Patel P, Baradaran H, Delgado D, Askin G, Christos P, Tsiouris AJ, Gupta A. MR perfusion-weighted imaging in the evaluation of high-grade gliomas after treatment: A systematic review and meta-analysis. *Neuro Oncol.* 2017 Jan;19(1):118–27.
 187. Sawlani V, Taylor R, Rowley K, Redfern R, Martin J, Poptani H. Magnetic Resonance Spectroscopy for Differentiating Pseudo-Progression from True Progression in GBM on Concurrent Chemoradiotherapy. *Neuroradiol J.* 2012 Nov;25(5):575-86.

188. De Witt Hamer PC, Robles SG, Zwinderman AH, Duffau H, Berger MS. Impact of intraoperative stimulation brain mapping on glioma surgery outcome: A meta-analysis. *Journal of Clinical Oncology*. 2012 Jul 10;30(20):2559–65.
189. Perry JR, Laperriere N, O’Callaghan CJ, Brandes AA, Menten J, Phillips C, Fay M, Nishikawa R, Cairncross JG, Roa W, Osoba D, Rossiter JP, Sahgal A, Hirte H, Laigle-Donadey F, Franceschi E, Chinot O, Golfopoulos V, Fariselli L, Wick A, Feuvret L, Back M, Tills M, Winch C, Baumert BG, Wick W, Ding K, Mason WP. Short-Course Radiation plus Temozolomide in Elderly Patients with Glioblastoma. *New England Journal of Medicine*. 2017 Mar 16;376(11):1027–37.
190. Niyazi M, Andratschke N, Bendszus M, Chalmers AJ, Erridge SC, Galldiks N, Lagerwaard FJ, Navarria P, Munck af Rosenschöld P, Ricardi U, van den Bent MJ, Weller M, Belka C, Minniti G. ESTRO-EANO guideline on target delineation and radiotherapy details for glioblastoma. *Radiotherapy and Oncology*. 2023 Jul 1;184.
191. Roa W, Kepka L, Kumar N, Sinaika V, Matiello J, Lomidze D, Hentati D, De Castro DG, Dytus-Cebulok K, Drodge S, Ghosh S, Jeremić B, Rosenblatt E, Fidarova E. International Atomic Energy Agency randomized phase III study of radiation therapy in elderly and/or frail patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme. *Journal of Clinical Oncology*. 2015 Dec 10;33(35):4145–50.
192. Arakawa Y, Sasaki K, Mineharu Y, Uto M, Mizowaki T, Mizusawa J, Sekino Y, Ono T, Aoyama H, Satomi K, Ichimura K, Kinoshita M, Ohno M, Ito Y, Nishikawa R, Fukuda H, Nishimura Y, Narita Y. A randomized phase III study of short-course radiotherapy combined with Temozolomide in elderly patients with newly diagnosed glioblastoma; Japan clinical oncology group study JCOG1910 (AgedGlio-PIII). *BMC Cancer*. 2021 Dec 1;21(1).
193. Gordillo N, Montseny E, Sobrevilla P. State of the art survey on MRI brain tumor segmentation. *Magn Reson Imaging*. 2013 Oct;31(8): 1426–38.
194. Fedorov A, Beichel R, Kalpathy-Cramer J, Finet J, Fillion-Robin JC, Pujol S, Bauer C, Jennings D, Fennessy F, Sonka M, Buatti J, Aylward S, Miller J V., Pieper S, Kikinis R. 3D Slicer as an image computing platform for the Quantitative Imaging Network. *Magn Reson Imaging*. 2012 Nov;30(9):1323–41.
195. Egger J, Kapur T, Fedorov A, Pieper S, Miller J V., Veeraraghavan H, Freisleben B, Golby AJ, Nimsy C, Kikinis R. GBM volumetry using the 3D slicer medical image computing platform. *Sci Rep*. 2013;3.

196. Idbaih FA, Hoang-Xuan K, Ricard FD, Idbaih A, Delattre J y, Ricard D, Ricard D, Idbaih A, Ducray F, Lahutte M, Hoang-Xuan K, Delattre JY. Seminar AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Service de Neurologie 2-Mazarin Primary brain tumours in adults. *Lancet*. 2012;379:1984–96.
197. Stupp R, Taillibert S, Kanner A, Read W, Steinberg DM, Lhermitte B, Toms S, Idbaih A, Ahluwalia MS, Fink K, Di Meo F, Lieberman F, Zhu JJ, Stragliotto G, Tran DD, Brem S, Hottinger AF, Kirson ED, Lavy-Shahaf G, Weinberg U, Kim CY, Paek SH, Nicholas G, Burna J, Hirte H, Weller M, Palti Y, Hegi ME, Ram Z. Effect of tumor-treating fields plus maintenance temozolomide vs maintenance temozolomide alone on survival in patients with glioblastoma a randomized clinical trial. *JAMA - Journal of the American Medical Association*. 2017 Dec 19;318(23):2306–16.
198. Lamba N, Wen PY, Aizer AA. Epidemiology of brain metastases and leptomeningeal disease. *Neurooncol*. 2021 Sep 1;23(9):1447–56.
199. Kocher M, Soffietti R, Abacioglu U, Villà S, Fauchon F, Baumert BG, Fariselli L, Tzuk-Shina T, Kortmann RD, Carrie C, Ben Hassel M, Kouri M, Valeinis E, Van Den Berge D, Collette S, Collette L, Mueller RP. Adjuvant whole-brain radiotherapy versus observation after radiosurgery or surgical resection of one to three cerebral metastases: Results of the EORTC 22952-26001 study. *Journal of Clinical Oncology*. 2011 Jan 10;29(2):134–41.
200. Yamasaki F, Kurisu K, Satoh K, Arita K, Sugiyama K, Ohtaki M, Takaba J, Tominaga A, Hanaya R, Yoshioka H, Hama S, Ito Y, Kajiwara Y, Yahara K, Saito T, Thohar MA. Apparent Diffusion Coefficient of Human Brain Tumors at MR Imaging. *Radiology*. 2005;235(3):985–91.
201. Ryusaku Yamada Shakudo and, Morino M, Ohata K, Wakasa Kinuko Kono K, Inoue Y, Nakayama K, Kono K, Shakudo M, Wakasa K, Yamada R. Patients with Brain Tumors The Role of Diffusion-weighted Imaging in The Role of Diffusion-weighted Imaging in Patients with Brain Tumors. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2001 Jun;22(6):1081-8.
202. Kitis O, Altay H, Calli C, Yuntun N, Akalin T, Yurtseven T. Minimum apparent diffusion coefficients in the evaluation of brain tumors. *Eur J Radiol*. 2005 Sep;55(3):393–400.
203. Kalpathy-Cramer J, Gerstner ER, Emblem KE, Andronesi OC, Rosen B. Advanced magnetic resonance imaging of the physical processes in human Glioblastoma. *Cancer Res*. 2014 Sep 1;74(17):4622–37.
204. Zhao J, Yang ZY, Luo BN, Yang JY, Chu JP. Quantitative evaluation of diffusion and dynamic contrast-enhanced MR in tumor parenchyma and

- Peritumoral area for distinction of brain tumors. *PLoS One*. 2015 Sep 18;10(9):e0138573.
205. Guzman R, Altrichter S, El-Koussy M, Gralla J, Weis J, Barth A, Seiler RW, Schroth G, Lövlblad KO. Contribution of the apparent diffusion coefficient in perilesional edema for the assessment of brain tumors. *Journal of Neuroradiology*. 2008 Oct;35(4):224–9.
 206. Tsougos I, Svolos P, Kousi E, Fountas K, Theodorou K, Fezoulidis I, Kapsalaki E. Differentiation of glioblastoma multiforme from metastatic brain tumor using proton magnetic resonance spectroscopy, diffusion and perfusion metrics at 3 T. *Cancer Imaging*. 2012;12(3):423–36.
 207. Yoo H, Kim YZ, Nam BH, Shin SH, Yang HS, Lee JS, Zo J Il, Lee SH. Reduced local recurrence of a single brain metastasis through microscopic total resection: Clinical article. *J Neurosurg*. 2009 Apr;110(4):730–6.
 208. Kamp MA, Dibué M, Niemann L, Reichelt DC, Felsberg J, Steiger HJ, Szelényi A, Rapp M, Sabel M. Proof of principle: Supramarginal resection of cerebral metastases in eloquent brain areas. *Acta Neurochir (Wien)*. 2012 Nov;154(11):1981–6.
 209. Berghoff AS, Rajky O, Winkler F, Bartsch R, Furtner J, Hainfellner JA, Goodman SL, Weller M, Schittenhelm J, Preusser M. Invasion patterns in brain metastases of solid cancers. *Neuro Oncol*. 2013 Dec 1;15(12):1664–72.
 210. Kelly PJ, Dumas-Duport C, Scheithauer BW, Kall BA, Kispert DB. Stereotactic Histologic Correlations of Computed Tomography- and Magnetic Resonance Imaging-Defined Abnormalities in Patients with Glial Neoplasms. *Mayo Clin Proc*. 1987;62(6):450–9.
 211. Lundy P, Domino J, Ryken T, Fouke S, McCracken DJ, Ormond DR, Olson JJ. The role of imaging for the management of newly diagnosed glioblastoma in adults: a systematic review and evidence-based clinical practice guideline update. *J Neurooncol*. 2020 Nov;150(2):95–120.
 212. Spanberger T, Berghoff AS, Dinhof C, Ilhan-Mutlu A, Magerle M, Hutterer M, Pichler J, Wöhrer A, Hackl M, Widhalm G, Hainfellner JA, Dieckmann K, Marosi C, Birner P, Prayer D, Preusser M. Extent of peritumoral brain edema correlates with prognosis, tumoral growth pattern, HIF1a expression and angiogenic activity in patients with single brain metastases. *Clin Exp Metastasis*. 2013 Apr;30(4):357–68.
 213. Mischel PS, Cloughesy Whitney B Pope TF, Sayre J, Perlina A, Pablo J, Pope WB, Pablo Villablanca J, Cloughesy TF. Patients with High-Grade Gliomas MR Imaging Correlates of Survival in MR Imaging Correlates of Survival in Patients

- with High-Grade Gliomas. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2005 Nov-Dec;26(10):2466-74.
214. Wu CX, Lin GS, Lin ZX, Zhang JD, Chen L, Liu SY, Tang WL, Qiu XX, Zhou CF. Peritumoral edema on magnetic resonance imaging predicts a poor clinical outcome in malignant glioma. *Oncol Lett.* 2015 Nov 1;10(5):2769–76.
215. Henker C, Kriesen T, Glass Ä, Schneider B, Piek J. Volumetric quantification of glioblastoma: experiences with different measurement techniques and impact on survival. *J Neurooncol.* 2017 Nov 1;135(2):391–402.
216. Wangaryattawanich P, Hatami M, Wang J, Thomas G, Flanders A, Kirby J, Wintermark M, Huang ES, Bakhtiari AS, Luedi MM, Hashmi SS, Rubin DL, Chen JY, Hwang SN, Freymann J, Holder CA, Zinn PO, Colen RR. Multicenter imaging outcomes study of The Cancer Genome Atlas glioblastoma patient cohort: Imaging predictors of overall and progression-free survival. *Neuro Oncol.* 2015 Nov 1;17(11):1525–37.
217. Lin NU, Lee EQ, Aoyama H, Barani IJ, Barboriak DP, Baumert BG, Bendszus M, Brown PD, Camidge R, Chang SM, Dancey J, De Vries EGE, Gaspar LE, Harris GJ, Hodi S, Kalkanis SN, Linskey ME, Macdonald DR, Margolin K, Mehta MP, Schiff D, Soffi R, Suh JH, Van Den Bent J, Vogelbaum MA, Wen PY. Response assessment criteria for brain metastases: proposal from the RANO group. *Lancet Oncology.* 2015;16:e270-78.
218. Grabowski MM, Recinos PF, Nowacki AS, Schroeder JL, Angelov L, Barnett GH, Vogelbaum MA. Residual tumor volume versus extent of resection: Predictors of survival after surgery for glioblastoma. *J Neurosurg.* 2014 Nov 1;121(5):1115–23.
219. Curzi C, Giordan E, Guerriero A, Bendini M, Canova G, Feletti A, Marton E. The extent of resection of T2-flair hyperintense area for eloquent glioblastomas: outcomes analysis between awake and general anesthesia patients. *J Neurosurg Sci.* 2023 Aug;67(4):480-490.
220. Macdonald DR, Cascino TL, Schold Jr SC, Cairncross JG. Response Criteria for Phase II Studies of Supratentorial Malignant Glioma. *J Clin Oncol.* 1990;8(7):1277–80.
221. Radbruch A, Lutz K, Wiestler B, Bäumer P, Heiland S, Wick W, Bendszus M. Relevance of T2 signal changes in the assessment of progression of glioblastoma according to the Response Assessment in Neurooncology criteria. *Neuro Oncol.* 2012 Feb;14(2):222–9.
222. Chang PD, Chow DS, Yang PH, Filippi CG, Lignelli A. Predicting glioblastoma recurrence by early changes in the apparent diffusion coefficient value and

- signal intensity on FLAIR images. *AJR Am J Roentgenol.* 2017 Jan 1;208(1):57–65.
223. Lutz K, Wiestler B, Graf M, Bäumer P, Floca R, Schlemmer HP, Heiland S, Wick W, Bendszus M, Radbruch A. Infiltrative patterns of glioblastoma: Identification of tumor progress using apparent diffusion coefficient histograms. *J Magn Reson Imaging.* 2014;39(5):1096–103.
224. Sherriff J, Tamangani J, Senthil L, Cruickshank G, Spooner D, Jones B, Brookes C, Sanghera P. Patterns of relapse in glioblastoma multiforme following concomitant chemoradiotherapy with temozolomide. *Br J Radiol.* 2013 Feb;86(1022):20120414.