
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Factori de diagnostic și prognostic în tumorile gliale maligne

Doctorand **Aurel Oșlobanu**

Conducător de doctorat Prof.dr. **Ioan Ștefan Florian**

Cluj-Napoca
2015



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

INTRODUCERE	13
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	
1. Gliomele maligne cerebrale	17
1.1. Introducere	17
1.2. Factorii de risc pentru dezvoltarea gliomelor: factorii de mediu și factorii genetici	19
1.3. Patologia moleculară în gliome	20
1.4. Clasificarea gliomelor maligne cerebrale	22
2. Biomarkerii tumorali	23
2.1. Introducere	23
2.2. YKL-40 la persoanele sănătoase	24
2.3. YKL-40 în patologia tumorală	24
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	
1. Studiul 1 - Chirurgia gliomelor de grad înalt - aprecierea gradului rezecției tumorale în funcție de localizarea tumorii și tipul histopatologic	39
1.1. Introducere	39
1.2. Ipoteza de lucru	40
1.3. Pacienți și metodă	40
1.4. Rezultate	42
1.5. Discuții	55
1.6. Concluzii	62
2. Studiul 2 - Supraviețuirea în gliomele de grad înalt - importanța gradului de rezecție tumorală și a localizării tumorii	63
2.1. Introducere	63
2.2. Ipoteza de lucru	63
2.3. Pacienți și metodă	64
2.4. Rezultate	67
2.5. Discuții	93
2.6. Concluzii	96
3. Studiul 3 - Determinarea valorilor serice de YKL-40 la pacienții cu diagnosticul de gliom de grad înalt	97
3.1. Introducere	97
3.2. Ipoteza de lucru	98
3.3. Material și metodă	99
3.4. Rezultate	101
3.5. Discuții	109
3.6. Concluzii	113
4. Concluzii generale	115
5. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	117
REFERINȚE	119

Cuvinte cheie: gliome de grad înalt, glioblastom, biomarkeri tumorali, YKL-40.

INTRODUCERE

Diagnosticul și tratamentul tumorilor maligne cerebrale primare a evoluat foarte mult în ultimele decenii și mai ales în ultimii ani. Introducerea tehnologiei ultraperformante în medicină și în cadrul specialității de neurochirurgie a reprezentat un salt calitativ major pentru îngrijirea pacientului oncologic. Diagnosticul clinic este

susținut de noile investigații imagistice, investigații care pentru domeniul neurochirurgiei a determinat o modificare totală de abordare din punct de vedere al tehnicilor chirurgicale. Evoluția rolului pe care îl are chirurgia în cadrul tratamentului multimodal al tumorilor cerebrale maligne a fost ondulantă. Rezecțiile tumorale maxime ameliorează prognosticul pacienților cu tumori maligne cerebrale, iar aceste rezecții au devenit tot mai mult posibile prin introducerea de noi metode care să favorizeze realizarea acestui scop, începând cu introducerea ultrasonografiei intraoperatorii, continuând cu introducerea neuronavigației și a colorațiilor intraoperatorii. Progresele înregistrate în domeniul biomarkerilor tumorali vor modifica posibilitățile de diagnostic, un diagnostic precoce oferind și posibilitatea îmbunătățirii prognosticului pacientului și, chiar mai mult, studiul biomarkerilor tumorali vor modifica tratamentul oncologic medical, chimioterapic sau radioterapeutic. Prezentul studiu vizează posibilitatea utilizării markerului tumoral CHI3-L1/YKL-40 ca și factor de diagnostic și prognostic în gliomele de grad înalt. Introducerea acestuia necesită în continuare construirea de noi studii în scopul promovării ei ca o nouă metodă de diagnostic și prognostic. Limita studiului este determinată de numărul redus de cazuri incluse, dar rezultatele obținute sunt promițătoare și se compară cu rezultatele obținute în cadrul altor studii, posibilitatea utilizării acestei metode de determinare devenind realitate. Utilizarea acestui test diagnostic va presupune și studierea costurilor necesare pentru implementarea lui ca și test diagnostic utilizat în practica clinică precum și dacă utilizarea testului va determina ameliorarea prognosticului pacienților cu gliom de grad înalt. Lucrarea a fost realizată în cadrul Catedrei de Neurochirurgie din Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, cu ajutorul colectivului Clinicii de Neurochirurgie, a Laboratorului Central al Spitalului Clinic Județean de Urgență Cluj-Napoca și al Colectivului Centrului de Cercetare al U.M.F. "Iuliu Hațieganu".

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

Studiu 1. Chirurgia gliomelor de grad înalt – aprecierea gradului rezecției tumorale în funcție de localizarea tumorii și tipul histopatologic

Introducere

Gliomele cerebrale reprezintă una dintre formele de tumori primare cerebrale, iar gliomele maligne/de grad înalt, și în special glioblastomul multiform, sunt considerate ca forme de tumori extrem de agresive. Din punct de vedere histopatologic în cadrul evoluției naturale a acestor tumori două aspecte sunt considerate importante în cadrul caracterului agresiv al acestor tumori și implicit al prognosticului lor nefavorabil: capacitatea de invadare a parenchimului cerebral normal și angiogeneza tumorală. În cadrul glioblastomului, pe lângă caracterul invaziv al tumorii la nivelul parenchimului cerebral s-a descris și prezența elementelor celulare tumorale „la distanță” de localizarea primară, inclusiv la nivelul emisferului contralateral.

Calitatea vieții acestor pacienți este profund modificată de dezvoltarea acestor tumori reprezentând un factor important în stabilirea unei conduite terapeutice adecvate, astfel încât obiectivele intervenției chirurgicale se rezumă la două aspecte (Shapiro – 1982): reducerea în volum a tumorii și diagnostic histopatologic.

Ipoteza de lucru

Studii recente au arătat importanța rezecțiilor cât mai complete pentru ameliorarea prognosticului acestor pacienți, rolul chirurgiei fiind foarte bine stabilit în cadrul tratamentului multimodal. Mai mult, rezultatele au fost comparabil mai favorabile pentru pacienții la care s-a reușit o rezecție tumorală cât mai completă, gradul de rezecție fiind influențat de o serie de factori, iar localizarea prezentând o importanță deosebită din acest punct de vedere.

Pacienți și metodă

Acest studiu reprezintă un studiu retrospectiv pe un lot de 318 pacienți internați și operați în Clinica de Neurochirurgie Cluj-Napoca în perioada 01.01.2000 – 31.12.2012. Pe lotul de studiu format din cei 318 pacienți s-a analizat statistic incidența cazurilor de gliom de grad înalt pe perioada studiată, variabila sex, localizare, gradul de rezecție tumorală, rezultatul histopatologic, iar tipul de rezecție a fost studiat în funcție de localizarea tumorii și în funcție de rezultatul histopatologic. Au fost stabilite o serie de criterii de includere și de excludere, iar pentru prelucrarea statistică s-a utilizat mediul de dezvoltare pentru calcule statistice și grafică R versiunea 3.2.0.

Rezultate

S-au analizat statistic o serie de variabile și s-au stabilit o serie de corelații între variabilele luate în studiu: incidența gliomelor de grad înalt pe o perioadă de 12 ani, descrierea variabilei sex, localizarea tumorii, tipul rezecției, rezultat histopatologic; tipul rezecției în funcție de localizarea tumorii, de rezultatul histopatologic, precum și tipul rezecției în funcție de fiecare localizare în parte, supra- sau infratentorială, lobară sau de linie mediană.

Discuții

Localizarea topografică a tumorii modifică opțiunile terapeutice și prognosticul. Totuși, sunt puține studii pe loturi mari de pacienți publicate cu detalii legate de corelația gliomelor cu localizarea lor anatomică. Studiul nostru de tip retrospectiv pe un lot de 318 pacienți diagnosticați cu gliom de grad înalt și care au urmat tratament chirurgical cu intenție de rezecție totală a tumorii a vizat stabilirea unor corelații între localizarea tumorii, tipul histopatologic de gliom de grad înalt și gradul de rezecție tumorală. Din punct de vedere al localizării, așa cum s-a sugerat și în literatura de specialitate, pentru localizările unilobare incidența cea mai mare a fost înregistrată pentru localizarea frontală dreaptă în 11,95% din cazuri urmată de localizarea la nivelul lobului frontal stâng cu 9,12% din cazuri, temporal stâng cu 9,12%, parietal drept în 8,18%, parietal stâng în 6,60%, temporal drept în 5,66% din

cazuri. Pentru cazurile cu localizări multiple s-a notat o frecvență mai mare pentru localizările fronto-parietală stângă și temporo-parietală stângă cu 5,03% din cazuri. Pentru localizările profunde – nucleii bazali, talamus, ventricul lateral – incidența a fost de 1,56%, iar pentru localizarea la nivelul trunchiului cerebral de 3,46% din cazuri. Rezultatele au evidențiat o predominanță pentru rezecția totală cu 87,11% comparativ cu rezecția subtotală la 12,89% din cazuri.

Din punct de vedere al rezultatului histopatologic rezultatele au fost similare cu datele din literatură, glioblastomul fiind diagnosticat la 76% din cazuri. Pe locul doi și la o diferență apreciabilă s-a situat astrocitomul anaplastic cu 19% din cazuri, urmat de oligodendrogliomul anaplastic cu 2,2%, ependimomul anaplastic cu 1,26%, oligoastrocitomul anaplastic cu 0,94% și cu numai 0,31% oligodendroastrocitomul anaplastic.

Pentru cazurile de *glioblastom* localizarea cea mai frecventă unilobară a fost la nivelul lobului frontal drept în 10,33% din cazuri, urmat de localizarea la nivel parietal drept și frontal stâng cu 9,5% din cazuri. Pentru localizarea multilobară cele mai frecvente localizări au fost la nivel temporo-parietal stâng la 5,78% din cazuri, fronto-parietal drept la 5,37% din cazuri și fronto-temporal stâng la 4,95% din cazuri.

Pentru *astrocitomul anaplastic* localizarea lobară cea mai frecventă a fost la nivelul lobului frontal drept (18,03%), urmat de frontal stâng, parietal stâng și temporal stâng fiecare cu 9,83% din cazuri, iar pentru localizarea multilobară localizarea fronto-parietală a fost cea mai frecventă (9,83%).

Localizarea la nivelul corpului calos sau localizarea bilaterală frontală a fost observată doar în cazul glioblastomului, în schimb localizarea la nivelul trunchiului cerebral a fost mai frecventă pentru astrocitomul anaplastic comparativ cu glioblastomul (5 și respectiv 3 cazuri).

S-a apreciat și gradul rezecției tumorale subtotale în funcție de rezultatul histopatologic, iar în acest caz rezecțiile subtotale au fost prezente la valorile cele mai mici pentru glioblastom (11,98%) și cele mai mari pentru oligoastrocitom anaplastic (33,33%).

Analizând gradul rezecției tumorale de tip T/ST în funcție de localizare, rezultate notabile au fost înregistrate, în principal, pentru localizarea frontală dreaptă (92,10%), frontală stângă (93,1%), parietală dreaptă (92,31%), temporo-parietală stângă (93,75%), temporală dreaptă (88,89%), temporală stângă (82,76%) pentru localizările cu incidență mai mare (mai mult de 1-2 cazuri).

În cadrul studiului nostru pe 318 pacienți am analizat comparativ tipul rezecției tumorale în funcție de localizarea tumorală. Din punct de vedere statistic localizarea frontală dreaptă favorizează posibilitatea unor rezecții totale comparativ cu alte localizări. Pentru localizarea parietală stângă statistic rezecția totală este mai probabilă comparativ cu alte localizări.

Localizarea parietală dreaptă este favorabilă unei rezecții totale comparativ cu alte localizări. Pentru localizarea temporală stângă riscul este mai mare pentru rezecțiile subtotale comparativ cu alte localizări. Localizarea temporală dreaptă este cu risc mai mare pentru rezecții subtotale comparativ cu alte localizări. Pentru localizarea occipitală stângă riscul unei rezecții subtotale este mai mare comparativ cu celelalte localizări. Localizarea occipitală dreaptă are un risc de rezecție subtotală mai mic decât alte localizări. Regiunea nucleilor bazali din stânga are un risc mai mare de rezecție subtotală comparativ cu alte localizări. Pentru regiunea nucleilor bazali din dreapta riscul rezecției subtotale este mai mare decât alte regiuni. Localizarea ventriculară este cu un risc mai mic de rezecție subtotală comparativ cu alte localizări. Corpul calos a înregistrat riscul cel mai mare de rezecție subtotală comparativ cu alte regiuni. Riscul în cazul localizării cerebeloase pentru rezecția subtotală este mai mic. Regiunea trunchiului cerebral prezintă un risc crescut pentru rezecția subtotală comparativ cu alte localizări. Localizarea talamică prezintă un risc mai mic de rezecție subtotală comparativ cu alte regiuni. Glanda pineală prezintă un risc mai mare pentru rezecția subtotală comparativ cu alte regiuni.

Comparând toate aceste date statistice se poate concluziona că există un risc mai mare pentru rezecție subtotală în cazul următoarelor localizări: lob temporal stâng/drept, lob occipital stâng, nucleii bazali, corp calos, trunchi cerebral, glanda pineală.

Concluzii

Rezecțiile tumorale totale sau subtotale în cazul gliomelor de grad înalt țin tot mai puțin de preferința subiectivă a chirurgului, atitudinea legată de tipul de rezecție tumorală devenind tot mai mult determinată de criterii obiective. Studiul statistic prezentat evidențiază existența unor corelații între gradul rezecției tumorale și localizarea tumorii, precum și între gradul rezecției tumorale și tipul histopatologic de tumoră, aspecte care pot deveni cu funcție de factor de prognostic sau/și pot deveni factori obiectivi de individualizare a tratamentului pentru fiecare pacient. Anumite localizări tumorale presupun posibilitatea dezvoltării de noi deficite neurologice postoperator, iar cunoașterea acestor localizări în arii elocvente din punct de vedere neurologic devine un instrument de lucru pentru chirurg. Atunci când localizarea se corelează și cu aspectul imagistic al tumorii în etapa preoperatorie, importanța gradului de rezecție tumorală devine și mai mare.

Studiu 2. Supraviețuirea în gliomale de grad înalt – importanța gradului de rezecție tumorală și a localizării tumorii

Introducere

Factorii de ameliorare a calității supraviețuirii în glioblastom depinde de mai mulți factori: vârsta (sub 45 ani), durata între debutul simptomatologiei și intervenția chirurgicală (mai mare de 6 luni), debutul clinic cu crize comițiale și nu cu alterarea stării de conștiență, localizarea frontală a tumorii și un status neurologic bun

preoperator. Pentru ameliorarea prognosticului este indicată o rezecție tumorală largă, dacă se poate rezecție totală. La pacienții la care s-a practicat ablarea totală supraviețuirea este mai bună comparativ cu cei la care s-a practicat ablarea subtotală. Gradul ablării tumorale ar putea fi stabilit și prin dozarea nivelului seric de YKL-40.

Ipooteza de lucru

Gradul de rezecție tumorală este influențat într-o foarte mare măsură de localizarea tumorii, tumorile gliale cu localizare în arii elocvente neurologic sau cu extensie spre aceste arii, cele cu localizare profundă sau cele cu localizare la nivelul trunchiului cerebral influențează gradul rezecției tumorale, modificarea gradului de rezecție influențând calitatea vieții pacientului dar și supraviețuirea. Prezentul studiu prezintă o evaluare a datelor privind supraviețuirea pacienților cu gliom de grad înalt în funcție de gradul de rezecție tumorală și în funcție de localizarea tumorii.

Pacienți și metodă

Pentru acest studiu retrospectiv au fost selecționați 318 pacienți la care s-au analizat statistic probabilitatea de supraviețuire și supraviețuirea în funcție de localizare. Analiza probabilității de supraviețuire s-a realizat în funcție de sex, tipul de rezecție tumorală și de rezultatul histopatologic. Pentru analiza supraviețuirii în funcție de localizare s-au luat în studiu localizările supra- sau infratentorială, lobară sau pe linia mediană.

Au fost stabilite o serie de criterii de includere și excludere în studiu, iar pentru prelucrarea statistică s-a utilizat mediul de dezvoltare pentru calcule statistice și grafică R versiunea 3.2.0.

Rezultate

Studiul statistic a vizat probabilitatea de supraviețuire în funcție de Sex, de Tipul rezecției și în funcție de Rezultat histopatologic. De asemenea, s-a analizat și supraviețuirea în funcție de localizarea tumorii pentru fiecare regiune cerebrală anatomică în parte.

Discuții

În cadrul studiului propus s-a analizat statistic probabilitatea de supraviețuire în funcție de parametrii sex, tipul rezecției tumorale, rezultat histopatologic și localizarea tumorii. Supraviețuirea în funcție de Sex în grupul M este inferioară grupului F. Supraviețuirea în funcție de Tipul rezecției în grupul T este superioară grupului ST. Utilizând calculul hazardului se remarcă faptul că, în cazul astrocitomului anaplastic supraviețuirea a fost mai bună doar în comparație cu glioblastomul, iar comparativ cu ependimomul anaplastic, oligoastrocitomul anaplastic, oligodendroastrocitomului anaplastic și oligodendrogliomului anaplastic supraviețuirea a fost inferioară. Aceste rezultate sunt comparabile cu rezultatele din literatura de specialitate. O supraviețuire superioară comparativ cu celelalte localizări s-a constatat pentru următoarele localizări, cu preponderență pentru emisfera stângă: frontală stângă, parietală stângă/dreaptă, temporală stângă, occipitală stângă, ventricul lateral, cerebel, talamus. Localizarea tumorii influențează gradul de rezecție tumorală cu modificarea supraviețuirii, dar există și probabilitatea ca această localizare să influențeze și în mod direct supraviețuirea, independent de gradul de rezecție tumorală.

Concluzii

Pentru analiza supraviețuirii utilizarea unui singur factor este insuficientă. Utilizarea unui grup de factori poate oferi un caracter mai obiectiv de apreciere a supraviețuirii, iar în cadrul acestora unii factori pot fi dependenți de pacient (sex, localizare), alți factori aparținând caracteristicilor biologice ale tumorii (tipul histopatologic al tumorii).

Studiu 3. Determinarea valorilor serice de YKL-40 la pacienții cu diagnosticul de gliom de grad înalt

Introducere

Marile încercări din domeniul cercetării tumorale sunt reprezentate de descoperirea unor biomarkeri care să poată fi utilizați pentru diagnostic în fazele inițiale sau utilizarea acestora în monitorizarea post-terapeutică inițială. Proteina acidă fibrilară glială este în prezent considerată ca și marker imunohistochimic standard pentru diagnosticul diferențial între diferitele tipuri de gliome, dar într-un studiu s-a evidențiat că utilizarea colorațiilor pentru YKL-40 oferă o diferențiere mai clară între GBM și oligodendrogliomul anaplastic, iar combinarea celor 2 modalități de colorare oferă o diferențiere cu mai mare acuratețe. Recent YKL-40 a fost introdusă și în practica clinică, dar utilizarea ei rămâne restrânsă. Nivelul seric de YKL-40 și MMP-9 pot fi monitorizate cu scopul confirmării absenței recidivelor în GBM, iar YKL-40 și la pacienții cu gliom anaplastic. YKL-40 poate fi folosit ca și factor de predicție la pacienții cu gliom de grad înalt dar sunt necesare studii longitudinale pe grupe mai mari de pacienți pentru a confirma aceste aspecte.

Ipooteza de lucru

YKL-40 este una dintre proteinele secretate de către celulele tumorale din GBM prezentând un nivel seric ridicat la pacienții cu GBM. Ea este implicată în răspunsul imun fiind demonstrat rolul major al ei în maturizarea unor celule ale sistemului imunitar, în special al macrofagelor. A fost sugerat ca YKL-40 poate fi utilizată ca și un biomarker de prognostic în cazul tumorilor sau al bolilor inflamatorii.

Prezentul studiu are ca și obiectiv dozarea serică a YKL-40 la pacienții cu diagnostic de probabilitate de gliom de grad înalt, pe baza examenului clinic și a datelor oferite de investigațiile radiologice – CT-scan cu substanță de contrast și/sau rezonanță magnetică nucleară cu substanță paramagnetică, iar intraoperator prin utilizarea examenului histopatologic extemporaneu. Diagnosticul final histopatologic a decis includerea sau nu în studiu. S-a urmărit înregistrarea valorilor serice ale YKL-40 la pacienții diagnosticați intraoperator prin biopsie extemporanee cu gliom de grad înalt, pentru stabilirea corelațiilor între valorile serice de YKL-40 și diagnosticul histopatologic

definitiv. De asemenea, s-a urmărit înregistrarea valorilor serice de YKL-40 în etapa preoperatorie și imediat postoperator (la 48 ore postoperator) la pacienții diagnosticați intraoperator cu gliom de grad înalt și stabilirea corelațiilor între variațiile nivelului seric de YKL-40 și gradul de rezecție tumorală.

Material și metodă

Prezentul studiu s-a desfășurat în totalitate în Clinica de Neurochirurgie Cluj-Napoca, Departamentul de Neuroștiințe al Universității de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca pe perioada de studiu martie 2015 – iunie 2015. Pentru realizarea acestui studiu au fost selectați un număr de 20 de pacienți internați în Clinica de Neurochirurgie din cadrul Spitalului Clinic Județean de Urgență Cluj-Napoca. Selecționarea pacienților a fost aleatorie, în funcție de criteriile de includere și excludere. Având în vedere obiectivele studiului de a aduce date noi privitoare la o metodă de diagnostic în medicină, selecționarea pacienților nu a presupus nici o modificare a protocoalelor de diagnostic și tratament existente la momentul actual al studiului și fără a influența în sens pozitiv sau negativ evoluția și prognosticul pacientului. Pentru includerea în studiu au fost utilizate o serie de criterii de includere și excludere care au avut în vedere caracteristicile speciale ale prezenței acestui biomarker în serul pacientului. Pentru determinarea nivelului seric de YKL-40 a fost achiziționat și s-a utilizat "chitinase 3-like 1 (cartilage glycoprotein-39)(CHI3L1), ELISA Kit [Human Chitinase-3-like Protein 1, YKL-40/CHI3L1 ELISA Kit]" [http://www.mybiosource.com/datasheet.php?products_id=296189] care este utilizat pentru determinări cantitative ale concentrației de chitinase-3-like protein 1 (YKL-40/CHI3L1) din ser, plasmă sau omogenizat tisular uman. Determinarea prezenței de YKL-40 s-a efectuat din serul pacienților, iar pentru aceasta s-au recoltat 5 ml de sânge pe eprubetă fără substanță anticoagulantă cu favorizarea coagulării acestuia fie timp de 2 ore la temperatura camerei, fie prin refrigerare la 4°C peste noapte. Ulterior materialul a fost centrifugat timp de 15 minute la 1000xg. Serul astfel obținut a fost păstrat prin congelare la -20°C. Centrifugarea a fost realizată în cadrul Laboratorului Central al Spitalului Clinic Județean de Urgență Cluj-Napoca. Dozarea de YKL-40 din serul astfel obținut a fost efectuată conform instrucțiunilor oferite de către producător în cadrul Centrului de Aptitudini Practice și Simulare în medicină din U.M.F. "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca. Dozarea serică de YKL-40 la pacienții incluși în studiu s-a efectuat imediat preoperator (maxim o zi interval de la recoltare până la momentul operator) și în perioada postoperatorie, în primele 48 de ore postoperator. Dozarea serică de YKL-40 a fost efectuată pentru 2 serii separate, prima serie fiind efectuată din probele cu diluție de 1 la 40 pg/ml, iar a doua serie din probele nediluate. Aceste două serii au fost realizate având în vedere variațiile valorilor serice ale YKL-40 pentru fiecare pacient și variațiile valorilor în timpul postoperator. Culegerea datelor a fost de tip eșantion reprezentativ. Datele obținute, histopatologice și la dozarea serică a YKL-40 au fost înregistrate într-un tabel, împreună cu o serie de date generale ale pacientului. Aceste date au fost ulterior supuse analizei statistice. Datele obținute au fost analizate statistic utilizând aplicația SPSS: statistică descriptivă (medii±deviație standard, intervale de confidență, valori minime/maxime și frecvența); statistică analitică (compararea mediilor și semnificația statistică a acestor diferențe - „T-Test” pentru eșantioane pereche; dacă $p \leq 0,005$ există diferență de medii cu semnificație statistică).

Rezultate

Studiul statistic a vizat mai multe aspecte vizând astfel studiul pe grupe de sex, media vârstei pe grupe de sex - media de vârstă a fost mai redusă pentru sexul masculin comparativ cu sexul feminin.

S-a analizat separat distribuția cazurilor pe tip de rezecție (subtotală sau totală), localizarea tumorii și tip histopatologic în cadrul lotului studiat (20 de pacienți).

Corespunzător dozărilor serice ale YKL-40 s-a analizat distribuția în funcție de valorile serice preoperator/postoperator, media vârstei pe grupe de sex, distribuția pe tip histopatologic în funcție de valorile serice ale YKL-40, distribuția în funcție de tip de rezecție, localizare și tip histopatologic.

Rezultatele în funcție de tipul histopatologic au evidențiat valori de 91% pentru glioblastom și de 9% pentru oligodendrogliomul anaplastic. Distribuția valorilor absolute ale vârstei pacienților, este uniformă, iar ponderea revine în cadrul grupului de studiu, pacienților de gen masculin. În ce privește tipul rezecției, ponderea revine rezecției totale. Ca localizare a formațiunii tumorale, rezultă o frecvență mai mare pentru regiunea Fdr de tip histopatologic GBM. Pentru aplicarea T-Test, au fost eliminate cazurile pentru care valorile serice ale YKL-40 au fost "0" atât preoperator cât și postoperator, fiind recalculată media pe 10 cazuri, iar rezultatul este un p cu semnificație statistică.

Discuții

Distribuția cazurilor pe sex masculin/feminin a evidențiat o pondere mai mare a cazurilor pentru sexul masculin cu valori de 65% comparativ cu sexul feminin cu numai 35%. Aceste valori pot fi interpretate doar orientativ pentru a indica aceeași incidență mai mare la sexul masculin și care este similar cu rezultatele obținute în studiul 2. Diferența valorică poate fi explicată de dimensiunea redusă a lotului de studiu. Media vârstei pentru lotul de 20 de pacienți a fost de 59,60 ani (cu un interval între 25 de ani și 76 de ani), iar la repartitia pe grupe de gen s-a constatat că pentru sexul feminin media de vârstă a fost de 61,29 ani comparativ cu media de vârstă pentru sexul masculin care a fost de 58,69 ani.

Luând în considerare gradul rezecției tumorale, care favorizează aplicarea terapiei oncologice din cadrul protocoalelor terapeutice și care ameliorează supraviețuirea pacienților diagnosticați cu gliom de grad înalt, în cadrul studiului s-a observat că rezecția totală a fost obținută la 80% dintre pacienți, iar pentru rezecția subtotală valorile au fost de 20% din cazuri. Din acest punct de vedere chiar dacă dimensiunea lotului de studiu a fost redusă se observă că din punct de vedere procentual raportul între gradul de rezecție totală versus subtotală se menține.

Distribuția cazurilor în funcție de localizarea tumorii au evidențiat localizarea preponderentă la nivelul lobului frontal drept la 35% din cazuri, urmată de localizarea la nivelul lobului frontal stâng cu 15%, occipitală stângă și temporală stângă cu 10%, iar restul localizărilor cu valori de 5%. Incidența localizării este explicată actual de volumul de țesut glial existent la nivelul fiecărui lob sau mai precis de raportul dintre substanța albă și substanța cenușie cerebrală, incidența maximă fiind pentru localizarea frontală (50% din cazuri pentru localizarea sumată dreaptă și stângă). Dar localizarea frontală poate fi „favorizantă” pentru diagnosticarea tumorilor tardiv, doar atunci când ele ajung la un volum apreciabil ca să se manifeste din punct de vedere clinic.

Din punct de vedere histopatologic rezultatele prezentului studiu sunt similare cu rezultatele studiilor anterioare. Astfel că, procentul cel mai mare a fost de 75% pentru glioblastoame, urmate de astrocitomul anaplastic cu 15% și oligodendrogliomul anaplastic cu 5%. În prezentul studiu s-a menținut includerea unui caz de metastază de melanom malign, acesta fiind considerat ca și un reper comparativ între gliomele de grad înalt și tumorile secundare cerebrale, cunoscut fiind că nivelul seric poate fi modificat și în acest caz. Prezența unui procent ridicat de glioblastoame incluse în studiu reprezintă un indiciu că și pentru faza preoperatorie, posibilitatea de diagnostic de GBM devine foarte mare în prezența elementelor clinice de diagnostic susținute de investigațiile neuroimagistice.

Considerând lotul de studiu în totalitate s-a constatat că pentru o parte din cele 20 de cazuri incluse valorile serice ale YKL-40 s-a atribuit valoarea „0” (considerate ca și nedetectabile) în 40% din cazuri preoperator și pentru 75% din cazuri în postoperator. Valori diferite de „0” au fost înregistrate la 75% din cazuri preoperator și la 25% din cazuri postoperator. Aceste valori au fost ulterior evaluate separat în funcție de rezultatele dozărilor serice preoperator comparativ cu rezultatele postoperatorii în funcție de gradul de diluție al probelor și diferențiat pentru cazurile cu valori „0” sau valori diferite de „0”. Valorile mari procentuale pentru stadiul preoperator la cazurile considerate cu valori diferite de „0” care se suprapun cu valori similare pentru stadiul postoperator la cazurile considerate cu valoarea „0” oferă o imagine a sensibilității testului la nivelul lotului de studiu în totalitate.

S-a luat în calcul prezența sau absența serică a marker-ului YKL-40 pe fiecare tip histopatologic prezent în studiu. Pentru glioblastom, din 15 cazuri la 11 era prezent acest marker în serul pacientului. Pentru astrocitomul anaplastic nu s-a evidențiat prezența acestui marker, dar a fost prezent în cazul oligodendrogliomului anaplastic. De asemenea, a fost absent în serul pacientului cu metastază de melanom malign. Aceste rezultate sunt orientative ele putând fi modificate pe loturi mai mari de pacienți. Totuși devine evidentă preponderența prezenței acestui marker în cazul pacienților diagnosticați cu glioblastom. În cazul oligodendrogliomului există probabilitatea foarte mare ca fiind prezent acest biomarker să fie un indiciu de evoluție spre GBM.

În cazul determinărilor valorilor serice de YKL-40 din probele cu diluție 1/40 pg/ml s-a analizat și distribuția cazurilor în funcție de gradul rezecției tumorale, localizarea tumorii și tipul histopatologic. Pentru gradul rezecției tumorale s-au obținut valori de 83% în cazul rezecțiilor totale și de 17% pentru rezecțiile de tip subtotal. Aceste valori sunt diferite comparativ cu valorile obținute pentru lotul de studiu în totalitate. Localizarea tumorii a fost de 33% la nivelul lobului frontal drept, de 17% pentru localizarea la nivelul lobului temporal stâng și valori de 8% pentru localizările la nivelul lobilor frontal stâng, occipital stâng, parieto-occipital drept sau stâng și temporo-parietal drept. Localizarea frontală și în această situație a fost de 50%. Rezultatele în funcție de tipul histopatologic au evidențiat valori de 91% pentru glioblastom și de 9% pentru oligodendrogliomul anaplastic.

Valorile serice ale YKL-40 determinate din probele nediluate analizate comparativ în timpul preoperator cu timpul postoperator au evidențiat diferențe ale valorilor serice cu semnificație statistică, dar și o semnificație practică. Diferențele mari între valorile preoperatorii comparativ cu valorile postoperatorii sunt susținute de celelalte date statistice, respectiv preponderența GBM, localizarea frontală și mai ales de gradul de rezecție tumorală ST/T.

Valorile serice ale YKL-40 determinate din probele cu diluție de 1/40 pg/ml analizate comparativ pentru timpul preoperator cu timpul postoperator au evidențiat o diferență notabilă între cele două determinări, chiar și în cazul utilizării diluțiilor de 1/40 ng/ml. Posibilitatea determinării nivelului seric al acestui marker din diluții fie preoperator, fie postoperator dau semnificație sensibilității și specificității utilizării acestui marker ca factor de diagnostic și prognostic. Cu toate acestea, utilizarea acestui marker ca și unic factor de diagnostic și prognostic în cazul gliomelor de grad înalt încă nu este recomandabilă, dar în combinație cu alți factori de prognostic poate deveni cu importanță clinică reală.

Așa cum se poate observa din valorile cantitative ale nivelului seric variațiile acestuia sunt foarte mari în cadrul seriei. Aceste variații mari ale nivelului seric pot avea o explicație dată de variațiile volumetriche ale tumorii, atât între cazurile incluse în studiu cât și în ce privește variațiile pre-postoperatorii pentru fiecare caz în parte. Astfel, testarea devine utilă pentru aprecierea în dinamică a variațiilor serice, aceasta oferind informații legate de eficacitatea rezecției tumorale sau de posibilitatea apariției recidivelor la diverse intervale de timp în cursul evoluției. Dozarea nivelului seric al YKL-40 ca și test screening de sine unic, în patologia tumorală nu poate fi utilizată, dar în asocieră cu alți biomarkeri tumorali devine un instrument extrem de util chiar cu caracter prognostic.

Concluzii

Având în vedere sensibilitatea și specificitatea testului, determinarea valorilor serice ale YKL-40 poate oferi informații privitoare la prezența unui proces patologic, în special a prezenței unui proces tumoral, cu interes deosebit pentru gliomele de grad înalt. Utilizarea dozării acestuia oferă informații importante legate de agresivitatea procesului tumoral și, prin aceasta, oferă informații importante legate de prognostic.

Valorile absolute la un moment dat pot oferi date legate de volumul tumoral, nivelele serice fiind în concordanță cu acesta. Determinările în dinamică, pre-postoperator, oferă informații legate de gradul de rezecție tumorală cu orientarea tratamentului adjuvant oncologic.

De asemenea, determinările valorilor serice la intervale de timp prestabilite poate oferi informații importante legate de apariția recidivelor tumorale. În funcție de nivelele serice obținute se pot orienta opțiunile terapeutice, respectiv oferă indicații legate de oportunitatea unei noi intervenții chirurgicale.

Concluzii generale

Localizarea tumorii și tipul histopatologic reprezintă factori importanți și determinanți în stabilirea gradului de rezecție tumorală, totală sau subtotală; țesutul glial reprezintă punctul de dezvoltare al gliomelor, iar acest țesut glial este reprezentat diferit în regiuni diferite cerebrale și mai mult raportul substanță albă/substanță cenușie este determinant în localizarea preferențială a acestora la nivelul sistemului nervos central; tipul histopatologic al tumorii, de asemenea reprezintă un factor important al gradului de rezecție tumorală, având în vedere caracteristicile infiltrative ale unor gliome, dar și particularitățile vascularizației tumorale.

Supraviețuirea pacientului cu gliom de grad înalt este în relație și cu gradul rezecției tumorale și localizarea tumorii gliale. Localizările profunde în țesutul cerebral, localizările pe linia mediană sau localizările în zone importante din punct de vedere funcțional limitează atât posibilitățile de rezecție tumorală, cât și metodologia aplicării terapiei oncologice adjuvante (radioterapie). Rezecția tumorală oferă avantaje chimioterapiei și/sau radioterapiei prin reducerea masei tumorale cu ameliorare clinică (ameliorarea indicilor de performanță a pacientului) și favorizarea acțiunii chimioterapicelor sau a radioterapiei.

Localizarea tumorii, gradul de rezecție tumorală și supraviețuirea pacienților cu gliom de grad înalt sunt dependente de biologia tumorală. Modificările în sens tumoral al celulelor presupune modificări la nivel genetic și molecular, iar aceste modificări vor lăsa amprente asupra biochimiei celulare. Biomarkerii tumorali, acești produși de secreție tumorală, pot fi utilizați în diagnosticul și/sau tratamentul pacienților, ei prezentând un real avantaj mai ales în cazul tumorilor cu grad ridicat de malignitate. YKL-40 reprezintă un marker tumoral important pentru toate componentele tumorale, de la celula tumorală la citoschelet și până la vascularizație patologică. La momentul actual poate fi dozat utilizând kit-uri de tip ELISA cu o sensibilitate și specificitate crescută. Rezultatele dozării concentrației sanguine pot fi obținute rapid și pot fi ușor de interpretat. Limitele utilizării lui în diagnosticul gliomelor de grad înalt sunt determinate fie de costurile aferente determinărilor, fie deficiențelor de prelucrare a materialului în vederea dozării acestuia din sânge sau din omogenizatul tisular. Cu toate acestea, beneficiile utilizării lui în practica clinică pot fi imense, dar aceste beneficii pot fi la momentul actual dificil de apreciat.

Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei

Teza a fost structurată pornind de la rata supraviețuirii în gliomele de grad înalt. Rata supraviețuirii este încă modestă, mai ales pentru gliomele de grad IV – GBM. Rata supraviețuirii este determinată de eficiența protocoalelor terapeutice care se modifică frecvent pentru ameliorarea rezultatelor. Eficiența protocolului terapeutic depinde de eficiența fiecărei terapii în parte. Terapia chirurgicală de cele mai multe ori este începutul, iar eficiența acesteia este dependentă la rândul ei de o serie de factori, dintre care 2 au fost analizați în această lucrare. Localizarea gliomelor a fost prea puțin studiată în literatura de specialitate, iar localizarea este importantă pentru gradul de rezecție tumorală, care poate asigura o rată a succesului mai mare. Gradul de rezecție tumorală cu importanța lui în rata supraviețuirii a fost, la fel ca și localizarea tumorii, prea puțin studiată și prezentată în literatura de specialitate. Localizarea, gradul de rezecție depind într-o măsură mare de tipul histopatologic al tumorii. Tipul histopatologic al tumorii, până la diagnosticul definitiv, poate fi apreciat aproximativ pe baza elementelor clinice și neuroimagistice. Dar, în ultimii ani o evoluție impresionantă în literatura de specialitate au prezentat studiile legate de biomarkerii tumorali. Acești biomarkeri pot fi utilizați în scop diagnostic sau prognostic. Pentru glioblastoame studiile biomarkerilor sunt la început, iar din punct de vedere al studiilor clinice foarte puține au fost prezentate în literatură, inclusiv la noi în țară. Posibilitatea de a oferi un diagnostic mai rapid, inclusiv al subtipurii de glioblastom, respectiv al agresivității acestuia, poate crește eficiența terapiei oncologice cu ameliorarea prognosticului, iar utilizarea determinărilor serice în evoluție poate oferi date legate de posibile recidive și de diagnostic diferențial. În final, determinarea valorilor serice poate fi un criteriu obiectiv de eficiență a tratamentului chirurgical.

PhD THESIS SUMMARY

Diagnostic and Prognostic Factors in High Grade Gliomas

PhD Student **Aurel Oșlobanu**

PhD Supervisor Prof.dr. **Ioan Ștefan Florian**

Cluj-Napoca
2015



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION	13
CURRENT STATE OF KNOWLEDGE	
1. High grade gliomas of the brain	17
1.1. Introduction	17
1.2. Risk factors for the development of gliomas: environmental factors and genetic factors	19
1.3. Molecular pathology in gliomas	20
1.4. Classification of high grade gliomas	22
2. Tumoral biomarkers	23
2.1. Introduction	23
2.2. YKL-40 in healthy people	24
2.3. YKL-40 in tumors pathology	24
PERSONAL CONTRIBUTIONS	
1. Study 1 – High grade gliomas surgery – assess the degree of tumor resection depending on the location and type of tumor pathology	39
1.1. Introduction	39
1.2. Hypothesis	40
1.3. Patients and methods	40
1.4. Results	42
1.5. Discussions	55
1.6. Conclusions	62
2. Study 2 – Survival in high grade gliomas – the importance of the tumor resection and tumor localization	63
2.1. Introduction	63
2.2. Hypothesis	63
2.3. Patients and methods	64
2.4. Results	67
2.5. Discussions	93
2.6. Conclusions	96
3. Study 3 – Determination of serum YKL-40 in patients with high grade gliomas diagnosis	97
3.1. Introduction	97
3.2. Hypothesis	98
3.3. Material and method	99
3.4. Results	101
3.5. Discussions	109
3.6. Conclusions	113
4. General conclusions	115
5. The originality and innovative contributions of the thesis	117
REFERENCES	119

Key words: high grade glioma, glioblastoma, tumor biomarker, YKL-40

INTRODUCTION

Diagnosis and treatment of malignant primary brain has evolved a lot in recent decades and particularly in recent years. The introduction of high performance technology in medicine and the specialty of neurological surgery

was a major qualitative leap for oncology patient care. Clinical diagnosis is supported by new imaging investigations, investigations for the neurosurgery which caused a total approach in terms of surgical techniques. Evolution has the role of surgery in the treatment of malignant brain tumors multimodal was curled. Maximal tumor resection improves the prognosis of the patients with malignant brain tumors, and these resections have become increasingly possible by introducing new methods to further this goal, starting with the introduction of intraoperative ultrasound, continuing with the introduction of intraoperative neuronavigation and intraoperative dyes. Advances in tumor biomarkers will change the possibilities for diagnosis, early diagnosis offering the possibility to improve patient prognosis and, even more, the study of tumor biomarkers will change medical cancer treatment, chemotherapy or radiotherapy. This study aims at the possibility of using CH13-L1/YKL-40 as a diagnostic and prognostic factor in high grade gliomas. Entering it still requires the construction of new studies in order to promote them as a new method of diagnosis and prognosis. The limit of the study is determined by the low number of cases included, but the results are promising and compared with results obtained in other studies, the possibility of using this method for determining becoming a reality. Using this diagnostic test and study will involve costs required for implementation as a diagnostic test used in clinical practice and test will determine if the use of improved prognosis of patients with high grade gliomas. The work was performed in the Department of Neurosurgery of the University of Medicine and Pharmacy "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, using collective Neurosurgery Clinic, Central Laboratory of Clinical Emergency Hospital Cluj-Napoca and research Centre team UMF "Iuliu Hațieganu."

PERSONAL CONTRIBUTIONS

Study 1. Surgery in high grade gliomas – assess the degree of tumor resection depending on the location and type of tumor pathology

Introduction

Cerebral gliomas is one form of primary brain tumors and malignant gliomas/high grade, especially glioblastoma multiforme, are considered highly aggressive tumor forms. In terms of pathology in the natural evolution of these tumors two aspects are considered important in the aggressive character of these tumors and their unfavorable prognosis: the ability to invade normal brain parenchyma and tumor angiogenesis. In glioblastoma, tumor invasiveness in addition to brain parenchyma described the presence of tumor cell elements "away" from the primary site, including the contralateral hemisphere.

The quality of life of these patients is profoundly altered by the development of these tumors represent an important factor in determining a suitable therapeutic conduct so that the aims of surgery is limited to two aspects (Shapiro – 1982): reduction in tumor volume and pathology diagnosis.

Hypothesis

Recent studies have shown the importance of complete resections as improved prognosis for these patients, surgery is well established role in the multimodal treatment. Moreover, favorable results were comparable for patients who achieved a complete tumor resection as degree of resection influenced by a number of factors, showing the location of particular importance in this regard.

Patients and Methods

This study is a retrospective study on a group of 318 patients admitted and operated in the Department of Neurosurgery Cluj-Napoca during the period 01.01.2000-31.12.2012. The study group consists of the 318 patients were statistically analyzed the incidence of high grade glioma study period, the variable sex, location, degree of tumor resection, pathological outcome and type of resection was studied according to tumor location and depending on the outcome pathology. They were set a series of inclusion and exclusion criteria, and was used for statistical processing development environment for statistical calculations and graphics R version 3.2.0.

Results

There are a number of variables statistically analyzed and settled a number of correlations between variables studied: incidence of high grade gliomas for a period of 12 years, describing the variable sex, tumor location, type of resection, pathological results; type of resection based on the location of the tumor, the result pathologic and the type of resection according to each location supra- or infratentorial, lobar or midline.

Discussions

The location of the tumor modifies the treatment options and prognosis. However, there are few studies on large groups of patients published with details of their anatomical location correlation with glioma. Our retrospective study on a group of 318 patients diagnosed with high grade glioma who have undergone surgical resection intentionally total targeted tumor correlations between tumor location, pathological type and degree of tumor resection. In terms of location, as suggested in the literature to locate unilobare highest incidence was recorded for the location of the front right in 11.95% of cases, followed by the location of the left frontal lobe 9.12% of cases, with 9.12% left temporal, parietal as the 8.18%, 6.60% in the left parietal, temporal lobe in 5.66% of cases. For cases with multiple locations noted a higher frequency for fronto-parietal locations left and temporo-parietal left with 5.03% of cases. For deep locations – basal nuclei, thalamus, lateral ventricle – the incidence was 1.56% and for the location of the brain stem level 3.46% of cases. Results showed a predominance for total resection in 87.11% of the cases, compared to subtotal resection in 12.89% of cases.

From the point of view of the result of the pathological findings were similar to the literature, glioblastoma be diagnosed in 76% of cases. The second place was for anaplastic astrocytoma with 19% of cases, followed by

anaplastic oligodendrogliomas 2.2%, 1.26% anaplastic ependymoma, anaplastic oligoastrocytoma 0.94% and only 0.31% for oligodendroastrocytomas anaplastic.

For cases of glioblastoma most frequent location was right frontal lobe in 10.33% of cases, followed by the location at the right parietal and left frontal 9.5% of cases. To multilobar locations most common sites were temporo-parietal left in 5.78% of the cases, fronto-parietal right in 5.37%, and fronto-temporal left in 4.95% of cases. For lobar location anaplastic astrocytoma was the most frequent right frontal lobe (18.03%), followed by the left frontal, left temporal, and parietal left each with 9.83% of cases, and the fronto-parietal location it was the most common (9.83%). Location at the corpus calosum or the location of the bilateral frontal lobes was only observed in glioblastoma, instead locating in the brain stem was more common for anaplastic astrocytoma compared with glioblastoma (5 and 3 cases).

To appreciate the extent of tumor resection subtotal depending on the outcome pathological and in this case subtotal resections were present in lower values for glioblastoma (11.98%), and the largest for anaplastic oligoastrocytoma (33.33%).

Analyzing the degree of tumor resection type T/ST depending on location, notable results were recorded mainly for the location front right (92.10%), front left (93.1%), right parietal (92.31%), temporo-parietal left (93.75%), right temporal (88.89%), left temporal (82.76%) for locations with higher incidence (less than 1-2 cases).

In our study we analyzed 318 patients compared the type of tumor resection based on the location of the tumor. In terms of location right frontal statistically favors the possibility of total resection compared with other locations. For location on the left parietal, total resection statistically are more likely than other locations.

Locating the right parietal supports a total resection compared to other locations. To the left temporal localization risk is higher for subtotal resections compared to other locations. Locating the right temporal is at higher risk for subtotal resection compared to other locations. For the location of the left occipital subtotal resections risk is higher compared to other locations. Locating the right occipital subtotal resection has a lower risk than other sites. Left basal nuclei region has a higher risk of subtotal resection compared to other locations. For basal nuclei region subtotal resection of the right risk is higher than other regions. Location ventricular is a subtotal resection lower risk compared to other locations. Corpus calosum recorded the highest risk subtotal resection compared with other regions. The risk for subtotal resection of cerebellar localization is lower. Brainstem region increased risk for subtotal resection compared to other locations. Locating thalamic lower risk subtotal resection compared with other regions. The pineal gland presents a higher risk for subtotal resection compared with other regions.

Comparing these statistics it can be concluded that there is a higher risk for subtotal resection to the following locations: temporal lobe left / right, left occipital lobe, the basal nucleus, corpus calosum, brain stem, the pineal gland.

Conclusion

Total or subtotal tumor resection for high-grade gliomas take more than subjective preference of the surgeon's attitude on the type of tumor resection becoming increasingly driven by objective criteria. The statistical study highlights the existence of correlations between the degree of tumor resection and tumor location and extent of tumor resection between histopathological type of tumor and issues that may become official prognostic factor or / and become objective factors to individualize treatment for each patient. Certain tumor localizations involving the possibility of developing new postoperative neurological deficits, and knowledge of these locations in neurologically eloquent areas becomes a tool for the surgeon. When the location is correlated with imaging preoperative tumor stage, tumor resection degree of importance becomes even greater.

Survival in Study 2. High grade gliomas - the importance degree of tumor resection and tumor localization

Introduction

Quality improvement factors in glioblastoma survival depends on several factors: age (under 45 years), duration between onset of symptoms and surgery (more than 6 months), clinical onset of seizures and not altered consciousness, location frontal lobe and a good preoperative neurologic status. To improve prognosis tumor resection is indicated range, if possible total resection. In patients who underwent total resection it is better survival compared with those who underwent subtotal resection. The degree of tumor resection could be established by dosing serum levels of YKL-40.

Hypothesis

The extent of tumor resection is influenced to a great extent on the location of the tumor, glial tumors localized in neurological eloquent areas or extension to those areas, those with deep location or the location of the brainstem level affects the extent of tumor resection, a change in the resection influence the quality of life and survival of the patient. This study presents an assessment of the survival of patients with high grade glioma depending on the degree of tumor resection and depending on tumor location.

Patients and Methods

For the retrospective study of 318 patients were selected who were statistically analyzed probability of survival and survival depending on the location. Survival probability analysis was performed by sex, type of tumor resection and histopathological result. For survival analysis based on the location were studied supra- or

infratentorial locations, lobar or midline.

They were set a series of exclusion criteria and inclusion criteria and was used for statistical processing development environment for statistical calculations and graphics R version 3.2.0.

Results

The statistical study was aimed probability of survival by sex, depending on the type of resection and histopathological. It was also analyzed survival depending on the location of anatomical brain tumor for each region separately.

Discussions

The study aimed to analyze the statistical probability of survival according to the parameters sex, type of tumor resection, histopathological and tumor location. Survival by sex in group F. Group M is lower survival. Survival by type of resection in group T is superior to group ST. Using the calculation of hazard is noted that, if anaplastic astrocytoma survival was better only in comparison with glioblastoma and anaplastic ependymoma compared, anaplastic oligoastrocytoma, anaplastic oligodendroglioma and anaplastic oligodendroastrociomului survival was lower. These results are comparable to the results from the literature. A superior survival compared with other locations found for the following sites, mainly for left hemispheres: the left frontal parietal left / right, left temporal, occipital left ventricle lateral cerebellum, thalamus. The location of the tumor influences the degree of tumor resection survival change, but there is the likelihood that the location and directly influence the survival, regardless of the degree of tumor resection.

Conclusion

For survival analysis using a single factor is insufficient. Using a series of factors may provide a more objective assessment of survival, and within them some factors may be addicted patient (sex, location) other factors from the biological characteristics of the tumor (histopathological type of tumor).

Study 3. Determination of serum YKL-40 in patients with high grade glioma diagnosis

Introduction

Large tumor research trials are the discovery of biomarkers that can be used for diagnosis in the early stages or use in the initial post-treatment monitoring.

Glial fibrillary acidic protein is currently considered as standard immunohistochemical marker for differential diagnosis between different types of gliomas, but in one study it was found that the use of YKL-40 staining to provide a clearer differentiation between GBM and anaplastic oligodendrogliomas, and the combination of two ways of coloring provides more accurately differentiate. Recently YKL-40 was introduced in clinical practice but its use remains limited. Serum levels of YKL-40 and MMP-9 can be monitored in order to confirm the lack of relapse of GBM, and YKL-40 in patients with anaplastic glioma. YKL-40 may be used as a predictive factor in patients with high grade glioma but longitudinal studies are needed on a larger group of patients to confirm these issues.

Hypothesis

YKL-40 is one of the secreted proteins in the GBM tumor cells showing elevated serum levels in patients with GBM. She is involved in the immune response was demonstrated major role in the maturation of her immune cells, especially macrophages. It has been suggested that YKL-40 may be used as a biomarker in the prognosis of tumors or inflammatory diseases.

This study has as objective determination of serum YKL-40 in patients diagnosed with high-grade glioma probability, based on clinical examination and radiological data from the investigations - CT scan with contrast and / or nuclear magnetic resonance paramagnetic substance and intraoperative frozen sections using histopathological examination. The final diagnosis histopathological decided whether or not the study. It sought registration of YKL-40 in serum intraoperative biopsy in patients diagnosed with high grade glioma extemporaneous for correlations between serum levels of YKL-40 and the final histopathological diagnosis. Also, to watch the serum YKL-40 preoperative and immediate postoperative stage (48 hours after surgery) in patients diagnosed with high grade glioma intraoperative and establish correlations between changes in serum YKL-40 and the degree of tumor resection.

Material and method

This study was conducted entirely in Cluj-Napoca Department of Neurosurgery, Department of Neuroscience at the University of Medicine and Pharmacy "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca during the study period March 2015 - June 2015. For this survey were a number of 20 patients admitted in the Clinic of Neurosurgery of the Clinical Emergency County Hospital Cluj-Napoca. Random Selection of patients was based on inclusion and exclusion criteria. Given the objectives of the study brings new data about a diagnostic method in medicine, the selection of patients did not involve any change to existing diagnostic and treatment protocols currently study without a positive or negative influence on the evolution and patient prognosis. For inclusion in the study they were used a series of inclusion and exclusion criteria that took into account the special characteristics of the presence of this biomarker in patient serum. To determine serum levels of YKL-40 was purchased and use "chitinase 3-like 1 (cartilage glycoprotein-39) (CHI3L1) ELISA Kit [Human Chitinase 3-like protein 1, YKL-40 / CHI3L1 ELISA Kit] "[http://www.mybiosource.com/datasheet.php?products_id=296189], which is used for the quantitative determination of the concentration of chitinase 3-like protein 1 (YKL-40 / CHI3L1) of serum, plasma or human tissue homogenate. Determination of the presence of YKL-40 in serum was performed, and to this were harvested 5 ml of

blood per tube without anticoagulants or favoring its coagulation for 2 hours at room temperature or refrigerated at 4°C overnight. Subsequently the material was centrifuged for 15 minutes at 1000 x g. The serum thus obtained was kept frozen at -20°C. Centrifugation was carried out in the Central Laboratory of Clinical Emergency Hospital Cluj-Napoca. Dosage of serum YKL-40 thus obtained was performed according to the manufacturer's instructions at the Center of Practical Skills and Simulation in Medicine and Pharmacy "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca. Dosage serum YKL-40 in patients in the study was performed immediately before surgery (maximum one day harvest interval until the operator) and the postoperative period within the first 48 hours postoperatively. Determination of serum YKL-40 was carried out for two separate series, the first series are made of the samples with a dilution of 1 to 40 pg/ml, and the second number of the samples undiluted. These two series were established considering the changes in serum YKL-40 values for each patient and changes during surgery. Data collection was representative sample type. The data, histopathology and serum YKL-dosing 40 were recorded in a table along with a series of general data of the patient. These data were then subjected to statistical analysis. Data were statistically analyzed using the SPSS: Descriptive statistics (mean \pm standard deviation, confidence intervals, minimum value / maximum frequency); analytical statistics (comparing averages and statistical significance of these differences - "T-Test" for paired samples; $p \leq 0.005$ if there is statistically significant difference in average).

Results

The statistical study was aimed more study groups on such issues of sex, gender media age groups - average age was lower for males compared to females.

Distribution of cases was analyzed separately by type of resection (subtotal or total), histopathological tumor location and type in the study group (20 patients).

Corresponding dosages serum YKL-40 was analyzed distribution of the preoperative serum / surgery, the average age of group sex, distribution depending on the histopathological type of serum YKL-40 distribution by type of resection, location and histopathological type.

Histopathological results by type showed values of 91% for glioblastoma and anaplastic oligodendrogliomas 9% for. Distribution of absolute values of patient age, is uniform and the weight returns within study group of male patients. In terms of type of resection, total resection weight returns. As the location of tumor formation results in a higher frequency region frontal right histopathological type GBM. For t-Test, are cases for which YKL-40 serum levels were "0" both preoperative and postoperative average 10 cases being recalculated, and the result is statistically significant p.

Discussions

Distribution of cases the male / female showed a higher proportion of cases for males with values of 65% compared with only 35% female. These values can be interpreted only as a guide to indicate the same higher incidence in males, which is similar to results obtained in study 2. The difference can be explained value of the small size of the study group. The mean age for the group of 20 patients was 59.60 years (with a range between 25 and 76 years) and the gender distribution group found that the average age for females was 61.29 years compared to the average age for males was 58.69 years which.

Considering the extent of tumor resection, which favors the application of therapeutic protocols cancer therapy that improves survival and patients diagnosed with high-grade glioma in the study it was observed that total resection was achieved in 80% of patients and subtotal resection values were 20% of the cases. From this point of view even if the size of the study group was reduced it is noted that in terms of percentage ratio of the total versus subtotal resection level is maintained. Distribution of cases according to the location of the tumor showed predominant localization at right frontal lobe in 35% of cases, followed by the location on the left frontal lobe by 15%, occipital and temporal left lobe by 10%. Incidence current location is explained existing glial tissue volume in each lobe, or more precisely the ratio of cerebral white matter and gray matter, the peak incidence being the front location (50% of cases left and right combiners for location). But front location can be "encouraged" to diagnosing tumors be lately, only when they reach an appreciable volume to be clinically manifested.

From the histopathologic point of view, the results of this study are similar to results of previous studies. So, the highest percentage was 75% for glioblastomas, anaplastic astrocytoma followed with 15% and 5% anaplastic oligodendrogliomas. In this study it held the inclusion of a case of metastases of malignant melanoma, considered as a benchmark comparison between high-grade gliomas and secondary tumors of the brain, known as the serum level can be altered in this case. The presence of a high percentage of glioblastomas included in the study is an indication that phase preoperative diagnosis of GBM possibility is very high in the presence of the clinical diagnostic neuroimaging investigations supported.

Considering the total study group found that for some of the 20 cases included serum YKL-40 was assigned the value "0" (regarded as undetectable) in 40% of cases preoperatively and postoperatively in 75% of cases. Different values of "0" were recorded in 75% of cases preoperatively and postoperatively in 25% of cases. These values were then evaluated separately according to the results of preoperative serum dosages compared with the postoperative results depending on the degree of sample dilution and differential cases with values '0' or different values of "0". High values for the percentage of cases treated with preoperative stage different values of "0" that overlap with similar values for cases deemed postoperative stage with "0" provides a sensitivity test to the full study group.

It took into account the presence or absence of serum YKL-40's marker on each histopathological type under

study. For glioblastoma, the 15 cases, 11 were present in this patient's serum marker. For anaplastic astrocytoma no evidence of the presence of this marker, but was present when anaplastic oligodendroglioma. Also, it was absent in sera from patients with metastatic malignant melanoma. These results are indicative as they may be amended on larger groups of patients. However, it becomes obvious that most of the presence of this marker in patients diagnosed with glioblastoma. If there oligodendroglioma very high likelihood that this biomarker is present is an indication of progression to GBM.

When determinations of serum YKL-40 in the samples with dilution 1/40 pg / ml was examined and distribution of cases according to the degree of tumor resection, tumor location and histopathological type. For the degree of tumor resection and patients achieved 83% in total and 17% resection of the subtotal resection. These values are different compared to values obtained for the study group as a whole. The location of the tumor was 33% in the right front lobe of 17% for the left temporal lobe of the location and values of 8% for the left frontal lobe localization in, the left occipital, parietal-occipital right or left temporo-parietal and right. Locating front and this was 50%. Histopathological results by type showed values of 91% for anaplastic oligodendrogliomas and 9% for glioblastoma.

YKL-40 serum samples undiluted during postoperative benchmarking determined during preoperative differences statistically were significant elevations, but also practical significance. Great differences compared with preoperative values supported by postoperative values have other statistics, namely the predominance of GBM, frontal location and especially the degree of tumor resection ST / T

Serum YKL-40 values from the samples determined with a dilution of 1/40 g / ml analyzed during the preoperative time compared to postoperative have a notable difference between the two assays, even in the case of using dilutions of 1 / 40 ng / ml. The possibility of determining the level of this marker in serum dilutions of either preoperative or postoperative sensitivity and specificity give meaning using this marker as a diagnostic and prognostic factor. However, the use of this marker as a single diagnostic and prognostic factor in the case of high-grade gliomas has not recommended, but in combination with other prognostic factors of can become real clinical significance.

I can be seen from the quantitative values of STI variations in serum levels are very high for the series. These have large variations in serum may explanation given variations tumor volume, both among the cases included in the study and in the pre-postoperative variations for each case. The test is useful in assessing the dynamics of changes in serum, it offers information on the effectiveness of tumor resection or the possibility of relapses at various times during evolution. Dosage of YKL-40 in serum screening test as unique itself in tumor pathology can not be used, but in combination with other tumor biomarkers is a very useful tool even prognostic nature.

Conclusion

Given the sensitivity and specificity of the test, the determination of serum YKL-40 it may provide information on the presence of the pathological process, particularly the presence of a tumor process, with particular interest for high-grade gliomas. Using its dosing provides important information about the aggressiveness of tumor process and thereby provide important information about prognosis.

Absolute values at the time of can provide the date on tumor volume, serum levels being consistent with it. Dynamic measurements, pre-surgery, provides information on the degree of tumor resection adjuvant therapy oncology orientation.

Also, serum measurements at predetermined intervals can provide important information on the occurrence of tumor recurrence. Depending on serum levels obtained could guide therapeutic options that provide indications about whether the new surgery.

General Conclusions

Histopathological tumor location and type has important factors in establishing the extent and determinants of tumor resection, subtotal or total; glial tissue represents the development of gliomas, and this is represented differently glial tissue in different cerebral white matter and more regions ratio / gray matter is their preferred determinant in the central nervous system in location, histopathological type of tumor, also important factor is year of the degree of tumor resection, given the characteristics of infiltrating the glioma tumor vasculature and peculiarities.

Survival of patients with high grade glioma is related and glial tumor resection and tumor grade location. The locations deep in the brain tissue, or midline location areas functionally limited locations in major tumor resection and adjuvant opportunities both cancer therapy application methodology (radiotherapy). Tumor advantages resection chemotherapy and / or radiation therapy by reducing the tumor mass with clinical improvement (improvement of performance indexes of the patient) and favoring the action of chemotherapeutic agents or radiotherapy.

Tumor location, tumor resection and survival of the patient's degree with high grade glioma tumor is dependent on biology. Changes in tumor cells involves genetic and molecular level sense changes, and changes these will toll on cellular biochemistry. Biomarkers, tumor secretion of these may be used in the diagnosis and / or treatment of patients, they present a real advantage especially in tumors with a high degree of malignancy. YKL-40 tumor marker is important year for all of the tumor, the tumor cell to the cytoskeleton and to pathological

vascularization. At the moment it can be using ELISA kits dosed with high sensitivity and specificity. Dosing results in blood levels obtained can be quickly and easily performed. Limits its use in the diagnosis of high-grade gliomas have either determined by the costs of measurements, or processing of the material deficiencies to tissue homogenates or blood its dosing. However, the benefits of its use in clinical practice can be huge, but these can be difficult to assess at present.

The originality and innovative contributions of the thesis

The thesis was structured from the rate of survival in high grade gliomas. The survival rate is still modest, especially for grade IV gliomas - GBM. The survival rate is determined by the effectiveness of therapeutic protocols to improve results that change frequently. The effectiveness of the therapeutic protocol depends on the efficiency of each therapy separately. Surgical therapy is often the beginning and effectiveness in turn is dependent on a number of factors, of which were analyzed in this paper two. Location of gliomas has been little studied in the literature, and the location is important for tumor resection to deliver higher degrees can that success rate. The level of significance in the tumor resection survival rate was the same as the location of the tumor, little studied and reported in the literature. The location, extents of resection depends to a large extents histopathological type of tumor. Histopathological type of tumor, until a definitive diagnosis can be appreciated about on the basis of the clinical and neuroimaging. But in recent years' studies presented an impressive literature on biomarkers. Are these can be used biomarkers for diagnosis or prognosis. Biomarkers for glioblastoma trials have beginning, and in terms of clinical trials have been very few reported in the literature, including in our country. The ability to provide a faster diagnosis, including subtype of glioblastoma, respectively aggressiveness of its can increase the efficiency of cancer therapy and prognosis with improved use of serum measurements evolving can provide information related to relapses and differential diagnosis possible. Finally, the determination of serum can be an objective criterion for the surgical treatment efficiency.