

PREBIOPTICKÉ ZOBRAZENÍ GLIOMŮ POMOCÍ PET/CT S PODÁNÍM ^{18}F -FLUOROTHYMINU

PRE-BIOPTICAL IMAGING OF GLIOMAS USING PET/CT WITH APPLICATION OF ^{18}F -FLUOROTHYMININE

původní práce

Jiří Ferda¹
Eva Ferdová¹
Karel Mařík²
Jan Mraček¹
Ondřej Hes³

¹Klinika zobrazovacích metod LF UK a FN, Plzeň

²Oddělení neurochirurgie FN, Plzeň

³Šiklův ústav patologické anatomie LF UK a FN, Plzeň

Přijato: 15. 3. 2012.

Korespondenční adresa:

prim. doc. MUDr. Jiří Ferda, Ph.D.
Klinika zobrazovacích metod LF UK a FN
Alej Svobody 80, 304 60 Plzeň
e-mail: ferda@fnplzen.cz

Konflikt zájmů: Autoři neuvádějí žádný konflikt zájmů.

Podpořeno projektem Ministerstva zdravotnictví ČR Koncepční rozvoj výzkumné instituce 00669806 – FN Plzeň.

SOUHRN

Ferda J, Ferdová E, Mařík K, Mraček J, Hes O. Prebiptické zobrazení gliomů pomocí PET/CT s podáním ^{18}F -fluorothymidinu

Cíl. Zhodnotit zkušenosti s prebiptickou diagnostikou proliferační aktivity gliomů pomocí PET/CT s podáním ^{18}F -fluorothymidinu.

Metoda. Byl zhodnocen soubor 21 mozkových nádorů (u nemocných v průměrném věku 50,3 let v rozpětí 26–72 let), ^{18}F -FLT-PET/CT bylo provedeno před stanovením patologicko-anatomické diagnózy. Byla porovnána úroveň akumulace ^{18}F -FLT s proliferační aktivitou hodnocenou pomocí markeru Ki-67.

Výsledky. Bylo dosaženo následujících výsledků – přesnost (accuracy) 90,4 % (19/21), senzitivita 90 % (9/10), specifita 90,9 (10/11), pozitivní prediktivní hodnota 90 % (9/10) a negativní prediktivní hodnota 90,9 % (10/11).

Závěr. ^{18}F -FLT-PET/CT je vysoce spolehlivý test při prebiptickém hodnocení proliferační aktivity gliomů, vede k lepšímu cílení biopsie a k časnému nalezení maligního zvratu gliomů.

Klíčová slova: ^{18}F -FLT, PET/CT, proliferační aktivita, gliom.

SUMMARY

Ferda J, Ferdová E, Mařík K, Mraček J, Hes O. Pre-bioptical imaging of gliomas using PET/CT with application of ^{18}F -fluorothymidine

Aim. To evaluate a value of the proliferation activity assessment in gliomas using PET/CT with the application of ^{18}F -fluorothymidine.

Method. The sample of 21 tumors was analyzed (in patients with mean age 50.3, range 26–72 years), ^{18}F -FLT-PET/CT was performed before confirmation of the histological diagnosis, and the level of ^{18}F -FLT accumulation was compared with the assessment of proliferation activity using immunohistochemistry evaluation of Ki-67.

Results. Following results were reached accuracy 90.4% (19/21), sensitivity 90% (9/10), specificity 90.9 (10/11), positive predictive value 90% (9/10) and negative predictive value 90.9% (10/11).

Conclusion. ^{18}F -FLT-PET/CT is the valuable test to estimate the proliferation activity of gliom before biopsy, could leads to better targeting biopsy and early detection of malignant turnover of glioma.

Key words: ^{18}F -FLT, PET/CT, proliferation activity, glioma.

ÚVOD

Úspěch léčby gliových nádorů mozku stále závisí především na biologickém chování vlastní nádorové tkáně. Nejdůležitějšími faktory jsou proliferativní aktivita a způsob růstu nádoru, ale také jeho uložení v mozkové tkáni a vztah k funkčním centřům mozku. Stanovení proliferativní aktivity u nádorů se provádí z biopsického vzorku, který je získán z peroperačního odběru tkáně nebo při stereotaktické biopsii. Protože je známa výrazná heterogenita nádorové populace u mozkových gliových nádorů, je stěžejní odebrání reprezentativní tkáně tak, aby byla zachycena ta, jež má nejvyšší proliferativní aktivitu. Cílem sdělení je porovnat výsledky hodnocení proliferativní aktivity stanovené na základě akumulace ^{18}F -fluorothymidinu (^{18}F -FLT) v nádorové tkáni s těmi, které byly získány imunohistochemickým vyšetřením biopsického vzorku patologickým anatomem.

METODIKA

Byl zhodnocen soubor 21 mozkových nádorů, jež byly vyšetřeny pomocí ^{18}F -FLT-PET/CT před stanovením patologicko-anatomické diagnózy. Šlo o 13 mužů a osm žen s průměrným věkem 50,3 let v rozpětí 26–72 let. Vyšetření byla indikována před plánovaným chirurgickým výkonem kvůli zpřesnění předoperačního zobrazení ve smyslu stanovení biologické aktivity nebo rozsahu onemocnění. Všechna vyšetření byla provedena na základě získaného informovaného souhlasu. U všech nádorů byla stanovena patologicko-anatomická diagnóza na základě histologického hodnocení včetně imunohistochemického hodnocení proliferativní aktivity markerem Ki-67. Byl proveden odběr vzorku tkáně buď během resekčního výkonu nádoru mozku, nebo stereotaktickou biopsií.

Všechna vyšetření byla prováděna pomocí hybridního systému PET/CT Biograph 16 (Siemens, Erlangen/Knoxville, Německo/USA) protokolem, který obsahoval emisní PET akvizici dat s vysokým rozlišením, které předcházela akvizice dat CT především ke korekci atenuace, ale také k topografickému zobrazení. Detaily akvizičního protokolu a rekonstrukce dat PET i CT jsou uvedeny v tabulce 1.

Vyšetření předcházela kanylace flexibilní plastovou kanylou, kterou byla aplikováno radiofarmakum ^{18}F -FLT (Radio-medice, Husinec-Řež, Česká republika) o aktivitě 150 MBq, vlastní zobrazení bylo provedeno již v prvních 10 minutách po aplikaci ^{18}F -FLT. Pokud nebyla zaznamenána v časném stadiu akumulace ^{18}F -FLT v ložisku podezřelém z tumoru, byl doplněn další emisní sken po 45 od intravenózní aplikace radiofarmaka.

Hodnocení bylo provedeno pomocí fúze CT a PET obrazů, byla posouzena akumulace radiofarmaka v nádorovém ložisku prostřednictvím maxima standardizovaných jednotek akumulace (Standardized uptake values – SUV_{max}). Nálezby byly porovnány s výsledky biopsického vyšetření hodnoceného specialistou v neuropatologii.

VÝSLEDKY

Hodnocená skupina vyšetření měla rovnoměrně zastoupené vysokostupňové a nízkostupňové nádory – u jedenácti ne-

Tab. 1. Akviziční protokol

Table 1. Acquisition protocol

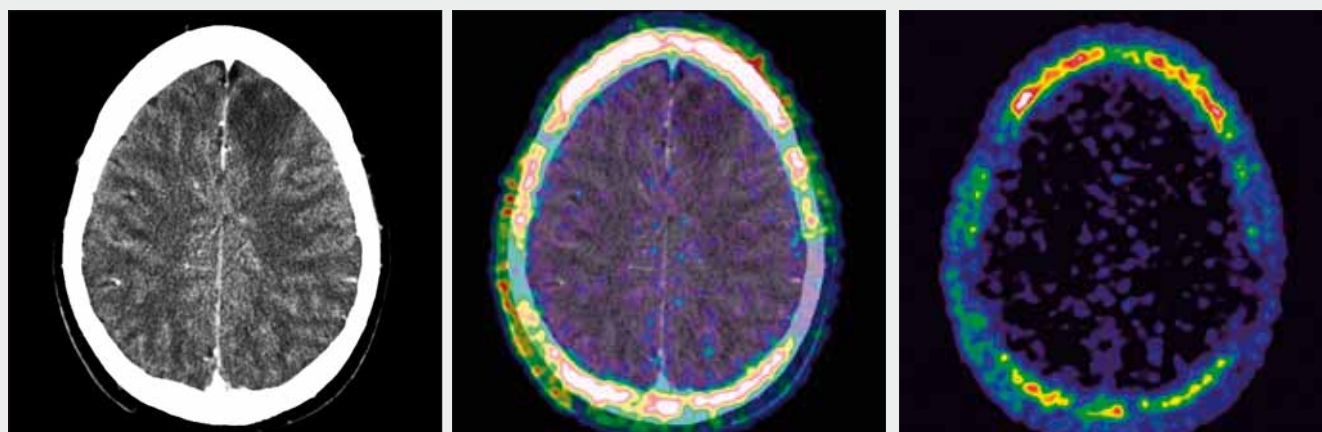
Akvizice dat CT	Rekonstrukce dat CT		Akvizice a rekonstrukce PET
	pro korekci	diagnostické obrazy	
120 kV	Kernel H10s very smooth	Kernel H31s medium smooth +	FoV 160 mm
Eff.mAs 320	šíře obrazu 3 mm	šíře obrazu 2,0 mm	time per bed 15 min
kolimace 16 × 0,75 mm	rekonstrukční increment 2,0 mm	rekonstrukční increment 1,0 mm	zoom 2,0
rotační čas 1,0 s	FoV 300 mm	FoV 250 mm	matrice 256 × 256
kraniokaudální směr skenování			Iterace 8, Subset 16
60 jódové k.l s koncentrací 350 mg/ml i.v.			filtr Gaussian
zpoždění skenu 35 s			post-processing MedDynamic
			Filter FWHM 2.0 mm
			Scatter correction ON

mocných bylo nádorové ložisko biopsicky hodnoceno jako vysokostupňový gliový nádor; u deseti nemocných jako nízkostupňový.

V souboru byly zachyceny celkem čtyři nádory hodnocené patologem jako grade 4, tedy glioblastoma multiforme, ve třech případech se jednalo o anaplastický astrocytom grade 3, v jednom případě o anaplastický smíšený nádor typu oligoastrocytomu a ve třech případech šlo o nádory původně nízkostupňové grade 2 – fibrilární astrocytom nebo gemistocytární astrocytom s ložiskovitou transformací v anaplastický astrocytom grade 3. Mezi těmito nádory bylo zachyceno celkem deset nádorů, u nichž byla patrná zvýšená akumulace ^{18}F -FLT. Průměrná hodnota SUV_{max} byla u vysokostupňových nádorů 2,1 v rozmezí 1,5–2,8 SUV_{max} . Pouze v jediném nádoru, již hodnoceném jako fibrilární astrocytom s přechodem v anaplastický astrocytom grade 3, byla akumulace ^{18}F -FLT zcela minimální jak v časné, tak i pozdní fázi – z hlediska detekce vysokostupňového gliomu šlo o případ hodnocený v analýze jako falešně negativní.

U deseti nemocných byly hodnoceny nádory jako nízkostupňové v sedmi případech se jednalo o fibrilární astrocytom, ve dvou případech šlo o oligoastrocytom grade 2 a jednou o oligodendrogliom. V celkem devíti případech se jednalo o nádory bez akumulace ^{18}F -FLT, a to jak v časné, tak i v pozdní fázi akvizice dat PET. Pouze u jediného nemocného byla zachycena vysoká akumulace ^{18}F -FLT dosahující hodnoty 2,2 SUV_{max} , patolog nachází v biopsii fibrilární astrocytom s lymfocytární infiltrací, bez známek zvýšeného počtu mitóz, ani při zpětném zhodnocení histologie nebylo možné nádor klasifikovat jako vysokostupňový. K pokusu o přehodnocení histologického nálezu vedla otázka, proč nemocný umírá na progresi tumoru do 1 měsíce od stanovení diagnózy a z důvodu nálezu vysoké akumulace ^{18}F -FLT. Tento případ byl hodnocen jako falešně pozitivní, i když dle klinického vývoje mohlo jít o stereotaktický odběr z místa s nižší proliferativní aktivitou.

Při stanovení spolehlivosti ^{18}F -FLT-PE/CT v hodnocení proliferativní aktivity pomocí ^{18}F -FLT ve srovnání s imunohistochemickým barvením markerem Ki-67 bylo dosaženo

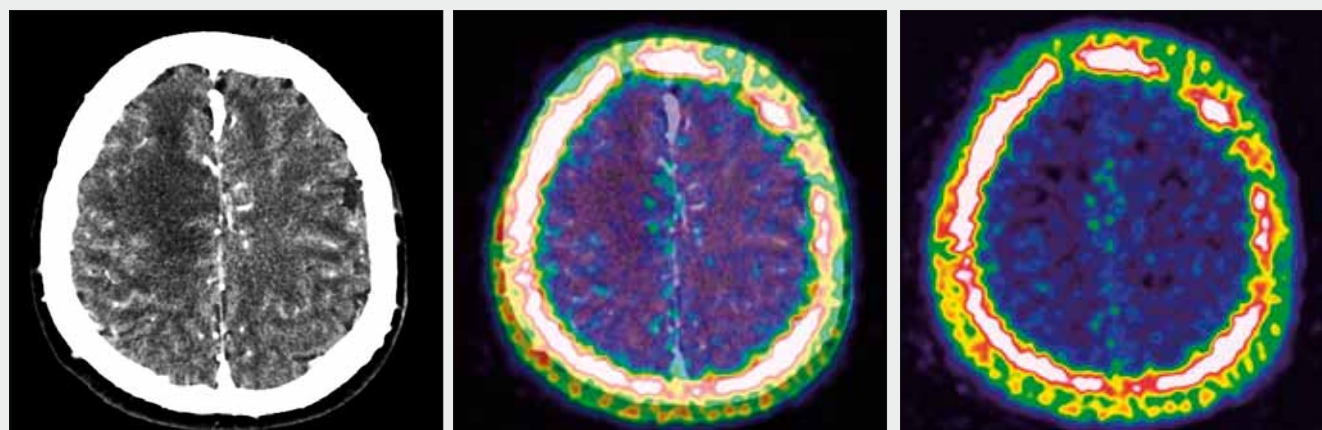


▲ Obr. 1A

▲ Obr. 1B

▲ Obr. 1C

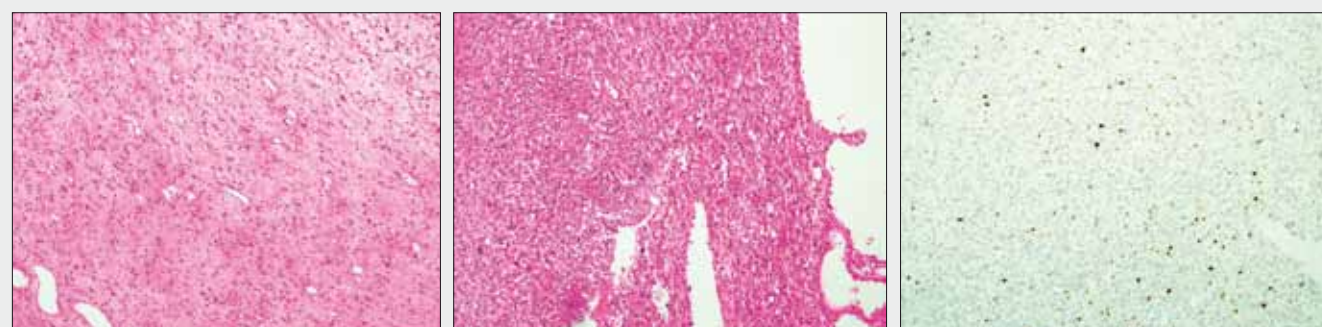
Obr. 1. Fibrilární astrocytom G2 vlevo frontálně. A – CT; B – PET/CT; C – PET
 Fig. 1. Fibrillary astrocytoma G2 left frontal. A – CT; B – PET/CT; C – PET



▲ Obr. 2A

▲ Obr. 2B

▲ Obr. 2C



▲ Obr. 2D

▲ Obr. 2E

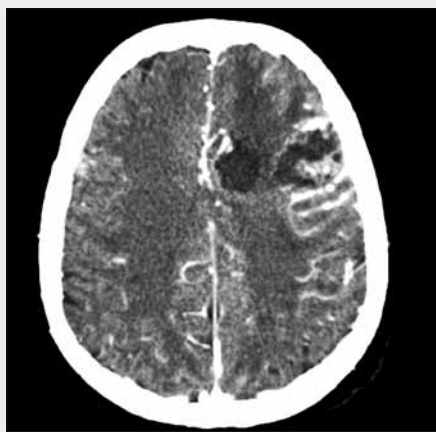
▲ Obr. 2F

Obr. 2. Anaplastický astrocytom G3 vpravo frontálně. A – CT; B – PET/CT; C – PET; D – histologie, barvení hematoxylin-eosin – část tumoru grade 2; E – histologie, barvení hematoxylin-eosin – část tumoru grade 3; F – histologie, imunohistochemie Ki-67 – část tumoru grade 3 se zvýšeným proliferčním indexem

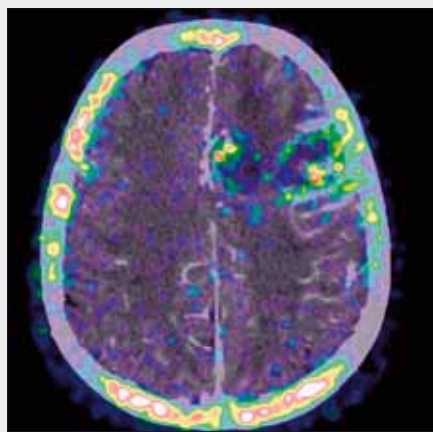
Fig. 2. Anaplastic astrocytoma G3 right frontal. A – CT; B – PET/CT; C – PET; D – histology gross, staining with hematoxyline-eosine – tumorous tissue grade 2; E – histology gross, staining with hematoxyline-eosine – tumorous tissue grade 3; F – histology gross, immunochemistry with proliferation marker Ki-67 – tumorous tissue grade 3 with increased proliferation rate

následujících výsledků – přesnost (accuracy) 90,4% (19/21), senzitivita 90% (9/10), specifita 90,9 (10/11), pozitivní prediktivní hodnota 90% (9/10) a negativní prediktivní hodnota 90,9% (10/11). Jedná se o vyrovnané výsledky ukazující na značnou spolehlivost testu.

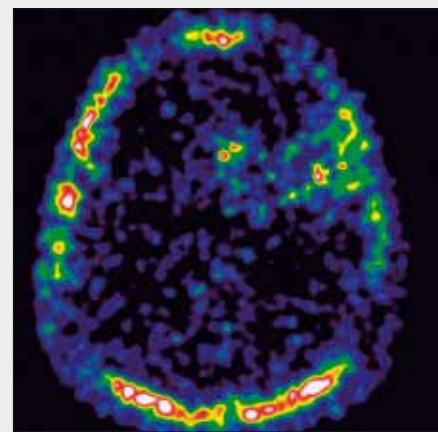
Pokud by ovšem byly současně zhodnoceny i výsledky interpretace nálezu ve vztahu nejen k histopatologické diagnóze, ale i ke klinickému vývoji i s přihlédnutím k hodnocení pomocí magnetické rezonance. Tedy reálné hodnocení v neuroonkologickém týmu, pak byly správně zařazeny i diagnózy



▲ Obr. 3A

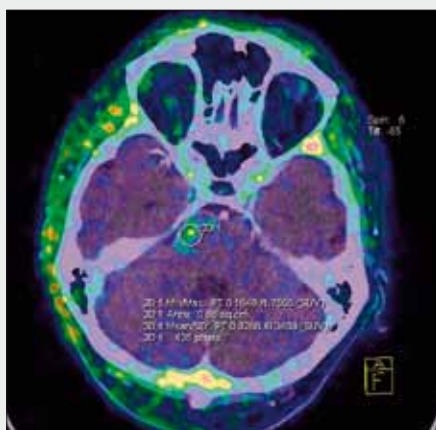


▲ Obr. 3B

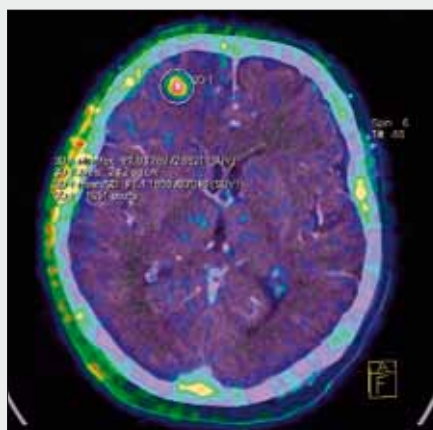


▲ Obr. 3C

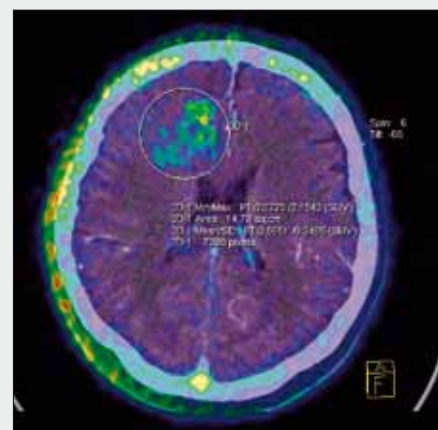
Obr. 3. **Glioblastoma multiforme G4 vlevo frontálně. A – CT; B – PET/CT; C – PET**
 Fig. 3. **Glioblastoma multiforme G4 left frontal. A – CT; B – PET/CT; C – PET**



▲ Obr. 4A



▲ Obr. 4B



▲ Obr. 4C

Obr. 4. **Multifokální glioblastoma multiforme**
 Fig. 4. **Multifocal glioblastoma multiforme**

u pacientů s falešně pozitivním i falešně negativním PET obrazem. Byť se to zdá nepravděpodobné, ale mezi 21 nemocnými jsme nezaznamenali jedinou chybnou diagnózu z hlediska interpretace nálezu. Tento výsledek ukazuje na velmi významnou úlohu syntézy multimodalitního zobrazení.

DISKUSE

^{18}F -FLT je syntetická látka, která je odvozena od molekuly fluorothymidinu, známé od šedesátých let 20. století (1, 2) jako látka, jíž je možné zablokovat syntézu deoxyribonukleové kyseliny (DNA). ^{18}F -FLT je látkou, která jako radiofarmakum vzbuzuje již po léta velké naděje v monitorování proliferační aktivity tkání in vivo. Vícečetné práce ukázaly na jeho význam při prebiopstickém hodnocení proliferační aktivity nádorů mozku, resp. nádorů gliové řady (3–5).

^{18}F -FLT je v buňkách fosforylován thymidinkinázou 1 (TK-1), klíčovým enzymem syntézy DNA. Jelikož ^{18}F -FLT-fosfát již

nemůže vstoupit dále do finální inkorporace do řetězce DNA, hromadí se v buňce. Analytické studie ukázaly, že jen skutečně stopové množství ^{18}F -FLT je přítomno v konečném vlákně DNA. Hodnocení proliferační aktivity – tedy rychlosti syntézy DNA – se děje na základě hromadění nepoužitelného intermediálního produktu v cytosolu buněk. V mozkové tkáni hraje při zobrazení pomocí ^{18}F -FLT zásadní roli ten fakt, že TK-1 je aktivní jen v buňkách v syntetické (S) fázi buněčného cyklu a její aktivita je poměrná k rychlosti výstavby DNA. Jelikož mozková tkáň obsahuje především buňky nacházející se v klidové G_0 fázi buněčného cyklu a u těchto buněk je aktivita TK-1 potlačena, nedochází v těchto tkáních po nitrožilním podání ^{18}F -FLT k jeho akumulaci. Kromě jevu, že ^{18}F -FLT se akumuluje pouze v aktivně se dělících buňkách, je v diagnostice nádorů mozku velmi podstatný i jev druhý – ^{18}F -FLT prochází v časně fázi do mozkové tkáně jen v případě, že je narušena hematoencefalická bariéra (HEB). Porušení HEB je jedním ze základních atributů vysokostupňových nádorů, u nichž právě její narušení je jednou z prvních známek

up-gradingu. V pozdější době – již po 10 minutách – začínají játra konjugovat ^{18}F -FLT na ^{18}F -FLT-glukuronát, který již HEB proniká.

V poslední době se objevují i kvantitativní analýzy korelující dynamické konstanty transferu ^{18}F -FLT do tkáně s aktivitou i dalších enzymů, především aktivitou přenašeče nukleotidů (6). Nové poznatky se týkají právě příčinné souvislosti zvýšení akumulace ^{18}F -FLT s vysokou expresí genu pro přenašeč ENT1, diskutovány jsou konsekvence aktivity nukleosidového přenašeče a následné aktivace systému TK-1.

Většina publikací využívá v diagnostice mozkových nádorů komplikované hodnocení dynamické akvizice PET dat, kdy je hodnocen influx radiofarmaka, a hodnoceny tedy kinetické parametry výměny látek mezi plazmou a tkání (3, 4). Na našem pracovišti jsme zjednodušili akviziční režim na provedení doplňujícího pozdního PET, kdy by se již mohla uplatnit konjugovaná frakce ^{18}F -FLT při zobrazení akcelerované proliferativní aktivity při zachované funkci ^{18}F -FLT. Jelikož jsme však nezaznamenali žádné nové informace u v časně době neakumulujících nádorů, zdá se, že časná jednorázová akvizice je postačující. Umožňuje navíc větší flexibilitu při organizaci práce PET/CT pracoviště.

Při porovnání s výsledky uvedených studií jsou naše výsledky srovnatelné s nimi, dosažená maximální akumulace je podobná. Stejně jako spolehlivost i ojedinělé falešně pozitivní nebo falešně negativní nálezy. Naše studie se liší od ostatních především zjednodušenou metodikou akvizice PET dat a dále rovnoměrným zastoupením nízkostupňových a vysokostupňových gliomů. U většiny studií je totiž i 80% převaha vysokostupňových nádorů. Rozdíl v zastoupení grade 2 nádorů je v naší studii dán především tím, že ^{18}F -FLT-PET/CT je prováděno výběrově u nádorů se spíše nejasným rozsahem nebo nejistou proliferativní aktivitou. U nádorů jednoznačně svědčících pro vysokostupňový gliom z MRI tato vyšetření neprovádíme. Je zde nutné podotknout, že zcela mimořádný význam má komplexní hodnocení nálezů, kdy vysoká úroveň aktivních zkušeností s hodnocením nádorů mozku magnetickou rezonancí umožňuje směřovat k ^{18}F -FLT-PET/CT ty nádory, u nichž je třeba získat další informace. Rutinně kombinujeme vyšetření ^{18}F -FLT-PET/CT s magnetickou rezonancí včetně difuzního zobrazení, zobrazení tenzory difuze i spektroskopii. Nověji pak i s možností farmakodynamické analýzy.

Akumulace ^{18}F -FLT v nádorech je často výrazně heterogenní, nerovnoměrnost akumulace vyjadřuje intratumorální heterogenitu populace nádorových buněk (7, 8). Tato promě-

livost tkáně je dána intratumorální evolucí a ukazuje často na hierarchicky se měnící chování nádorových subpopulací. Nerovnoměrnosti v akumulaci ^{18}F -FLT lze využít k přesnějším plánování biopsie nádoru, která dovoluje správně cílit biopsii na oblast s nejvyšší biologickou aktivitou – proliferací. Cílení biopsie dle PET nálezu vede k zachytu většího počtu zvrátů v anaplastické nádory. Časnější záchyt up-gradingu původně nízkostupňových nádorů vede ke zvýšení počtu přežití i ve skupině nádorů vysokostupňových.

Vzácněji jsou jako jednotlivé publikovány nebo komentovány falešně pozitivní vysoké akumulace ^{18}F -FLT v nízkostupňových nádorech mozku. V našem souboru jsme se setkali s jediným takovým případem, kdy klinický vývoj – exitus letalit během jediného měsíce – spíše potvrdil domněnku o nereprezentativnosti náběru. Na druhou stranu je třeba uvést, že aktivní úklidová reakce gliu vykazuje jak histologické atributy tkáně s vysokou proliferací, tak i akumulací ^{18}F -FLT. Vysoce akumulující reparativní změny po ischemickém iktu nebo ozáření byly již opakovaně dokumentovány.

Vzhledem k tomu, že nádorová tkáň poměrně rychle reaguje na léčbu, která má pozitivní účinně, snížením proliferativní aktivity, je možné ^{18}F -FLT-PET/CT využít i k posouzení časně odpovědi na léčbu nebo na změny po operaci či ozáření. Jak již bylo výše uvedeno, i zde je možné se setkat s falešně pozitivními nálezy (9, 10).

Při porovnání ^{18}F -FLT s ^{18}F -FDG se u ^{18}F -FLT neuplatňuje maskování nálezů pozadí s vysokou akumulací ^{18}F -FDG (11). PET/CT mozku s fluorodeoxyglukózou je na našem pracovišti využíváno pro nemocné s podezřením na sekundární metastatický rozsev do mozku se současným vyhledáváním nádoru nejasné lokalizace nebo u mozkových lymfomů. ^{18}F -FDG je radiofarmakon využívané v diferenciální diagnostice poruch paměti nebo při hledání epileptogenních fokusů, ať již v iktální, nebo v interiktální periodě.

ZÁVĚR

^{18}F -FLT je vysoce spolehlivé radiofarmakum pro zobrazení proliferativní aktivity nádorů mozku gliové řady již prebiopsicky. V rutinní klinické praxi jde o indikaci před cílenou biopsií nebo při posouzení multifokalit nádorového procesu. Pro zkvalitnění hodnocení nálezu je nezbytné mít vysokou míru zkušeností s komplexním hodnocením mozkových nádorů magnetickou rezonancí.

LITERATURA

1. **Langen P, Etzold G, Hintsche R, Kowolik G.** 3'-Deoxy-3'-fluorothymidine, a new selective inhibitor of DNA-synthesis. *Acta Biol Med Ger* 1969; 23(6): 759–766.
2. **Meisel H, Reimer K, von Janta-Lipinski M, Bärwolff D, Matthes E.** Inhibition of hepatitis B virus DNA polymerase by 3'-fluorothymidine triphosphate and other modified nucleoside triphosphate analogs. *J Med Virol* 1990; 30(2): 137–141.
3. **Choi SJ, Kim JS, Kim JH, et al.** [18F]3'-deoxy-3'-fluorothymidine PET for the diagnosis and grading of brain tumors. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2005; 32(6): 653–659.
4. **Jeong SY, Lim SM.** Comparison of 3'-deoxy-3'-[18F]fluorothymidine PET and O-(2-[18F]fluoroethyl)-L-tyrosine PET in patients with newly diagnosed glioma. *Nucl Med Biol* 2012; 39(7): 977–981.
5. **Idema AJ, Hoffmann AL, Boogaarts HD, et al.** 3'-Deoxy-3'-18F-fluorothymidine PET-derived proliferative volume

- predicts overall survival in high-grade glioma patients. *J Nucl Med* 2012; 53(12): 1904–1910.
6. **Shinomiya A, Miyake K, Okada M, et al.** 3'-Deoxy-3'-[(18)F]-fluorothymidine ([[(18)F]-FLT) transport in newly diagnosed glioma: correlation with nucleoside transporter expression, vascularization, and blood-brain barrier permeability. *Brain Tumor Pathol* 2013 [Epub ahead of print] PubMed PMID: 23423309.
 7. **Willaime JM, Turkheimer FE, Kenny LM, Aboagye EO.** Quantification of intra-tumour cell proliferation heterogeneity using imaging descriptors of 18F fluorothymidine-positron emission tomography. *Phys Med Biol* 2013; 58(2): 187–203.
 8. **Axente M, He J, Bass CP, et al.** Tumour microenvironment heterogeneity affects the perceived spatial concordance between the intratumoural patterns of cell proliferation and 18F-fluorothymidine uptake. *Radiother Oncol* 2012; 105(1): 49–56.
 9. **Schiepers C, Dahlbom M, Chen W, et al.** Kinetics of 3'-deoxy-3'-18F-fluorothymidine during treatment monitoring of recurrent high-grade glioma. *J Nucl Med* 2010; 51(5): 720–727.
 10. **Hong IK, Kim JH, Ra YS, Kwon do H, Oh SJ, Kim JS.** Diagnostic usefulness of 3'-deoxy-3'-[18F]fluorothymidine positron emission tomography in recurrent brain tumor. *J Comput Assist Tomogr* 2011; 35(6): 679–684.
 11. **Enslow MS, Zollinger LV, Morton KA, et al.** Comparison of 18F-fluorodeoxyglucose and 18F-fluorothymidine PET in differentiating radiation necrosis from recurrent glioma. *Clin Nucl Med* 2012; 37(9): 854–861.