



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



ESCUELA TÉCNICA  
SUPERIOR INGENIEROS  
INDUSTRIALES VALENCIA

TRABAJO FIN DE MASTER EN INGENIERÍA BIOMEDICA

# DESARROLLO DE UN ESTUDIO CLÍNICO OBSERVACIONAL MULTICÉNTRICO RETROSPECTIVO PARA VALIDAR LA TECNOLOGÍA DE ANÁLISIS DE IMAGEN MÉDICA ONCOHABITATS

AUTORA: FUENSANTA BELLVÍS BATALLER

TUTOR: JUAN MIGUEL GARCÍA GÓMEZ

COTUTOR: ELIES FUSTER I GARCIA

Curso Académico: 2017-18



## **AGRADECIMIENTOS**

*“Coming together is a beginning, keeping together is progress, working together is success”*. Me gustaría empezar con la anterior frase de Henry Ford la cual define a la perfección lo que ha sustentado este estudio clínico. El mundo de la investigación no es individualista, sino todo lo contrario, requiere de grupos multidisciplinarios que trabajen en concordancia ante un propósito común.

La realización del presente trabajo lleva detrás la participación de múltiples perfiles: estadísticos, físicos, matemáticos, informáticos, oncólogos, etc. Por ello me gustaría decirles que parte de este trabajo también les pertenece ya que sin su ayuda hubiera sido imposible llevarlo a la práctica. Su involucración desinteresada es algo que me gustaría recalcar pues es enorgullecido ver cómo se desviven por avanzar un paso más, por pequeño que sea, en la fuerte batalla contra el cáncer.

Me gustaría nombrar a los mejores guías que nadie puede desear, aquellos que han hecho de los obstáculos, aprendizajes; de las paradas, reflexiones y que me han ayudado a avanzar superando mis propios límites. Ha sido y siempre lo será, un verdadero placer haber aprendido de vosotros, sois el ejemplo a seguir, no solo en el ámbito académico o de investigación, sino también en el día a día.

No puedo olvidarme de mis compañeros de vida, los que tanto me apoyan y me recuerdan que no hay metas inalcanzables y que todo el esfuerzo acaba teniendo su recompensa, ya sea a corto o a largo plazo. Soy vuestra sombra y siempre lo seré.

*“A bad tumor biomarker test is as bad as a bad drug”*

Daniel F. Hayes

## **RESUMEN**

El Glioblastoma es uno de los tumores primarios del sistema nervioso central más frecuente en adultos con una supervivencia media de 15 meses. Desde la publicación del tratamiento Stupp estándar en el año 2005, ninguna terapia ha demostrado una mejora significativa en la supervivencia global de los pacientes que lo sufren. Uno de los factores responsables de su alta agresividad y resistencia contra las terapias existentes, es su heterogeneidad intra- e inter-paciente. Esta situación pone de manifiesto la necesidad de crear tecnologías que de forma no invasiva y precisa sean capaces de crear subgrupos de pacientes con una baja heterogeneidad, permitiendo la creación de terapias mucho más dirigidas.

La tecnología de análisis de imagen médica OncoHabitats define unas regiones de interés y marcadores asociados dentro de las zonas de tumor activo y de edema, en función de la información hemodinámica obtenida a partir de las secuencias de perfusión de los estudios de imágenes de resonancia magnética. En las pruebas de concepto realizadas se ha obtenido una correlación significativa entre estos marcadores y la supervivencia global del paciente. Sin embargo, para establecerse como un biomarcador pronóstico se debe de crear un estudio que englobe una mayor cantidad de pacientes y de centros. Por esta razón, se ha desarrollado un estudio multicéntrico e internacional de tipo observacional y retrospectivo, en el cual han participado 7 hospitales pertenecientes a 4 países diferentes, reclutando un total de 305 pacientes. En el presente trabajo se han desarrollado todas las fases del estudio, excepto la obtención de los resultados estadísticos definitivos. Se ha comprobado que los resultados preliminares se mantienen en línea con los hallazgos de los estudios piloto.

La validación de OncoHabitats como biomarcador pronóstico permitirá su uso como herramienta de decisión en el seguimiento de pacientes con Glioblastoma.

**Palabras clave:** Biomarcador de imagen, Pronóstico, Heterogeneidad, Glioblastoma

## **RESUM**

El Glioblastoma és un dels tumors primaris del sistema nerviós central més freqüent en adults amb una supervivència mitja de 15 mesos. Des de la publicació del tractament Stupp estàndard l'any 2005, cap teràpia ha demostrat una millora significativa en la supervivència global dels pacients amb aquest càncer. Un dels factors responsables de la seua alta agressivitat i resistència contra les teràpies existents, és la seua heterogeneïtat intra- i inter-pacient. Esta situació posa de manifest la necessitat de crear tecnologies que de forma no invasiva i precisa siguen capaces de crear subgrups de pacients amb una baixa heterogeneïtat, permetent la creació de teràpies molt més dirigides.

La tecnologia d'anàlisi d'imatge mèdica OncoHabitats defineix unes regions d'interès i marcadors associats dins de les zones de tumor actiu i d'edema, en funció de la informació hemodinàmica obtinguda a partir de les seqüències de perfusió dels estudis d'imatges de ressonància magnètica. En les proves de concepte realitzades s'ha obtingut una correlació significativa entre estos marcadors i la supervivència global del pacient. No obstant això, per a establir-se com un biomarcador pronòstic és necessari crear un estudi que incloga una major quantitat de pacients i de centres. Per esta raó, s'ha desenvolupat un estudi multicèntric i internacional de tipus observacional i retrospectiu, en el que han participat 7 hospitals pertanyents a 4 països diferents, reclutant un total de 305 pacients. Donat que la seua data de finalització és desembre, en el present treball s'han dut a terme totes les fases de l'estudi, excepte l'obtenció dels resultats estadístics definitius. S'ha comprovat que els resultats preliminars es mantenen en línia amb les troballes dels estudis pilot.

La validació d'OncoHabitats com a biomarcador pronòstic permetrà el seu ús com a ferramenta de decisió en el seguiment de pacients amb Glioblastoma.

**Paraules clau:** Biomarcador d'imatge, Pronòstic, Heterogeneïtat, Glioblastoma

## **ABSTRACT**

Glioblastoma is one of the most common primary tumours of the central nervous system in adults with an average survival of 15 months. Since the publication of the standard Stupp treatment in 2005, no therapy has shown a significant improvement in the overall survival of patients suffering from it. One of the factors responsible for its high aggressiveness and resistance against existing therapies is its intra- and inter-patient heterogeneity. This situation highlights the need to create technologies that are non-invasively and precisely capable of creating subgroups of patients with low heterogeneity, allowing the creation of much more targeted therapies.

The OncoHabitats medical image analysis technology defines regions of interest and associated markers within the active tumor and edema zones, based on hemodynamic information obtained from the perfusion sequences of magnetic resonance imaging studies. In the proofs of concept carried out, a significant correlation has been obtained between these markers and the overall survival of the patient. However, in order to establish itself as a prognostic biomarker, it is necessary to create a study that includes a larger number of patients and centres. For this reason, a multicenter, international observational and retrospective study has been developed in which 7 hospitals from 4 different countries participated, recruiting a total of 305 patients. In the present work, all phases of the study have been developed, except the obtaining of the definitive statistical results. It has been proven that the preliminary results are in line with the findings of the pilot studies.

The validation of OncoHabitats as a prognostic biomarker will allow its use as a decision tool in the follow-up of patients with Glioblastoma.

**Keywords:** Imaging Biomarker, Prognostic, Heterogeneity, Glioblastoma

## **LISTA DE ACRÓNIMOS**

|           |  |
|-----------|--|
| AEMPS     | Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios                            |
| ANLM      | Adaptive Non-Local Means   |
| AIF       | Arterial Input Function  |
| BDSLab    | Biomedical Data Science Laboratory   |
| BMZ       | Bevacizumab  |
| BraTS     | Brain Tumor Segmentation   |
| CDx       | Companion Diagnostics  |
| CE        | Comité de Ética  |
| CFR       | Code of Federal Regulation   |
| CI        | Consentimiento Informado   |
| CTT       | Centro de apoyo a la innovación, la investigación y la Transferencia de Tecnología |
| DCA-SVFMM | Directional Class Adaptative Spatially Varying Finite Mixture Model                |
| DCE       | Dynamic Contrast-Enhanced  |
| DICOM     | Digital Imaging and Communication in Medicine                                      |
| DSC       | Dynamic Susceptibility Contrast  |
| DWI       | Diffusion Weighted Imaging   |
| EMA       | European Medicines Agency  |
| FDA       | Food and Drug Administration   |
| FLAIR     | Flair-Attenuated Inversion-Recovery  |
| GBCA      | Gadolinium-Based Contrast Agent  |
| GDPR      | General Data Protection Regulation   |
| HAT       | High-Angiogenic Tumor  |
| HIP       | Hoja de Información al Paciente  |
| HTS       | Hemodynamic Tissue Signature   |
| ICBM      | International Consortium for Brain Mapping   |
| ICH       | International Conference on Harmonisation  |
| IDE       | Investigational Device Exemption   |
| IDH       | Isocitrate Dehydrogenase   |

|       |   |
|-------|---|
| IND   | Investigational New Drug Application                    |
| IPE   | Infiltrated Peripheral Edema                            |
| IRM   | Imagen de Resonancia Magnética                          |
| ITACA | Institute of Information and Communication Technologies |
| KPS   | Karnofsky Performance Status                            |
| LAT   | Low-Angiogenic Tumor                                    |
| MGMT  | O-6-metilguanina-ADN metiltransferasa                   |
| MRSI  | Magnetic Resonance espectroscopy Imaging                |
| MTA   | Material Transfer Agreement                             |
| NIFTI | Neuroimaging Informatics Technology Initiative          |
| NIH   | United States National Library of Medicine              |
| NOS   | Not Otherwise Specified                                 |
| OMS   | Organización Mundial de la Salud                        |
| PMA   | Pre-Market Approval                                     |
| PS    | Producto Sanitario                                      |
| rCBF  | relative Cerebral Blood Flow                            |
| rCBV  | relative Cerebral Blood Volume                          |
| RM    | Resonancia Magnética                                    |
| ROI   | Region Of Interest                                      |
| SIH   | Sistema de Información Hospitalaria                     |
| SNC   | Sistema Nervioso Central                                |
| SNR   | Signal to Noise Ratio                                   |
| SSH   | Secure Shell  |
| STFP  | Secure Transfer File Protocol                           |
| TCGA  | The Cancer Genome Atlas                                 |
| TE    | Tiempo de Eco   |
| TMZ   | Temozolomida  |
| TR    | Tiempo de Repetición                                    |
| UE    | Unión Europea   |
| UPV   | Universitat Politècnica de València                     |

|        |                                      |
|--------|--------------------------------------|
| VASARI | Visually Accessible Rembrandt Images |
| VPE    | Vasogenic Peripheral Edema           |

## **LISTA DE FIGURAS**

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1.</b> Tratamiento Stupp de primera línea en Glioblastoma, donde RT se refiere a Radioterapia, CHTH a Quimioterapia, LB a Biopsia Líquida y PET a Tomografía por Emisión de Positrones (Stupp R. et al., 2005).....   | 7  |
| <b>Figura 2.</b> Esquema de la metodología utilizado por HTS para obtener los 4 hábitats, donde ED <sub>DSC</sub> = edema en DSC, ET <sub>DSC</sub> = tumor activo en DSC, HAT = High-Angiogenic Tumor, LAT = Low-Angiogenic Tumor, IPE = Infiltrated Peripheral Edema, VPE = Vasogenic Peripheral Edema, T1c = T1-weighted contrast enhanced (Juan – Albarracín J. et al., 2018) ..... | 10 |
| <b>Figura 3.</b> Modalidades de imagen requeridas a los sujetos incluidos en el estudio.....  | 18 |
| <b>Figura 4.</b> Organización de los archivos para el correcto funcionamiento del batch, donde el símbolo amarillo representa la carpeta, el azul el lector de notas (ya sea por tratarse de un archivo ‘.txt’ o bien de un archivo que puede leerse en esta aplicación) y el rojo, el icono del formato de imagen NIfTI ...  | 24 |
| <b>Figura 5.</b> Datos requeridos para el análisis HTS en el servidor de OncoHabitats .....   | 25 |
| <b>Figura 6.</b> Listado de los archivos contenidos en la carpeta ‘results.zip’ proporcionada por OncoHabitats .....  | 26 |
| <b>Figura 7.</b> Clasificación del estudio por parte de la AEMPS.....   | 37 |
| <b>Figura 8.</b> T1c, T1, T2, Flair y DSC para el paciente 8 del hospital de Liège, todas ellas registradas al espacio MNI.....   | 40 |
| <b>Figura 9.</b> Segmentación clásica del tumor sobre la imagen T1c para el paciente 8 de Liège, dónde la clase roja representa la necrosis, la azul el tumor activo y la verde el edema.....   | 41 |
| <b>Figura 10.</b> DSC, rCBV y rCBF para el paciente 8 de Liège, dónde los mapas de perfusión se encuentran mostrados con el mapa de colores ‘jet’ y no en escala de grises.....   | 41 |
| <b>Figura 11.</b> Segmentación HTS sobre el rCBF, SNR y R2G para el paciente 8 de Liège.....  | 41 |
| <b>Figura 12.</b> rCBV máximo frente a la supervivencia del paciente de los 119 casos, dónde los puntos naranja se corresponden con los 35 casos excluidos por no presentar el tratamiento Stupp estándar completo .....  | 42 |
| <b>Figura 13.</b> Imágenes del paciente 28 de la Vall d’Hebron. T1c con segmentación clásica superpuesta (a), T2 - T2 con segmentación clásica superpuesta (b superior), Flair - Flair con segmentación clásica superpuesta (b inferior), rCBV y rCBF (d), SNR (e), R2G (f) y rCBF con la segmentación HTS superpuesta (g).....   | 43 |
| <b>Figura 14.</b> Imágenes del paciente 2 de Manises: T1c con la segmentación clásica superpuesta (a) y rCBF con la segmentación HTS superpuesta (g). Las letras coinciden con el procedimiento explicado .....   | 44 |

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 15.</b> rCBV máximo frente a la supervivencia del paciente de los 82 casos incluidos, dónde el azul relleno se corresponde con los casos no censurados (se conoce su fecha de fallecimiento) y el azul no relleno con los censurados .....   | 45 |
| <b>Figura 16.</b> rCBV (izquierda) y rCBF en escala de grises con la segmentación HTS superpuesta (derecha) para el paciente 30 del hospital de Liège .....  | 46 |
| <b>Figura 17.</b> rCBV (izquierda) y rCBF en escala de grises con la segmentación HTS superpuesta (derecha) para el paciente 16 del hospital de Manises .....  | 47 |
| <b>Figura 18.</b> rCBV (izquierda), rCBF en escala de grises con la segmentación HTS superpuesta (centro y derecha, en cortes axiales diferentes) para el paciente 17 del hospital de Manises.....   | 47 |
| <b>Figura 19.</b> rCBV (izquierda) y rCBF en escala de grises con la segmentación HTS superpuesta (derecha) para el paciente 25 del hospital de Alzira .....   | 48 |
| <b>Figura 20.</b> rCBV máximo frente a la supervivencia del paciente de los 81 casos incluidos donde el azul se corresponde con el hospital de Alzira, el amarillo con el de Liège, el rojo con el de Manises, el verde con el de Parma y el negro con el de la Vall d’Hebron .....  | 49 |
| <b>Figura 21.</b> rCBV máximo frente a la supervivencia del paciente de los 81 casos incluidos donde el naranja se corresponde con hombres y el negro con mujeres, el triángulo con una edad de 18 - 45 años, el círculo de 46 - 70 y el cuadrado, de más de 70.....   | 50 |
| <b>Figura 22.</b> Distribución de edad según el género para los 48 hombres y las 33 mujeres .....  | 51 |
| <b>Figura 23.</b> rCBV máximo frente a la supervivencia del paciente de los 81 casos incluidos donde el círculo se corresponde con la realización de una resección completa, el triángulo con una sub-total y el cuadrado desconocida; el color rojo si se ha dado terapia adyuvante, el verde si no se ha dado y el azul cuando es desconocido; y finalmente, el relleno o no en función de si se ha tratado con bevacizumab o no ..... | 52 |
| <b>Figura 24.</b> Curvas de Kaplan - Meier comparando la supervivencia de las poblaciones con resección total y subtotal.....  | 53 |
| <b>Figura 25.</b> Curvas de Kaplan – Meier comparando la supervivencia de la población tratada con quimioterapia adyuvante y la no tratada con este tratamiento .....  | 53 |
| <b>Figura 26.</b> Curvas de Kaplan - Meier comparando la supervivencia de la población tratada con Bevacizumab y la no tratada .....   | 54 |
| <b>Figura 27.</b> rCBV en los gráficos de la parte izquierda y rCBF en los de la derecha. Hábitats HAT, LAT, IPE y VPE ordenados desde la parte superior de la figura hasta la inferior .....  | 55 |
| <b>Figura 28.</b> rCBV en los gráficos de la izquierda y rCBF en los de la derecha. Tumor activo en la parte superior y edema, en la inferior .....  | 56 |
| <b>Figura 29.</b> Análisis Kaplan – Meier para los marcadores HTS en los hábitats HAT y LAT.....   | 59 |

## **LISTA DE TABLAS**

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabla 1.</b> Estudios realizados para alcanzar la validación de OncoHabitats .....   | 4  |
| <b>Tabla 2.</b> Características clave del Glioblastoma IDH - Wildtype y del IDH -Mutante .....  | 6  |
| <b>Tabla 3.</b> Hábitats definidos por el método HTS .....  | 9  |
| <b>Tabla 4.</b> Fases de un ensayo clínico de dispositivo médico y de un fármaco (Emmett J., 2018) .....  | 12 |
| <b>Tabla 5.</b> Fecha de emisión de la aprobación del estudio por parte del CE de cada hospital participante .....  | 36 |
| <b>Tabla 6.</b> Fecha de firma del contrato MTA .....   | 37 |
| <b>Tabla 7.</b> Pacientes subidos por cada uno de los hospitales y pacientes que disponen de las 5 modalidades de imagen en el momento del diagnóstico .....  | 39 |
| <b>Tabla 8.</b> Número de casos incluidos en el estudio y número de casos que han sido correctamente procesados por el servicio HTS de OncoHabitats .....   | 40 |
| <b>Tabla 9.</b> Número de pacientes excluidos del análisis y motivo de exclusión.....   | 48 |
| <b>Tabla 10.</b> Número de pacientes excluidos del análisis y número de pacientes incluidos por hospital..  | 48 |
| <b>Tabla 11.</b> P-valores obtenidos con el test Logrank para las diferentes distribuciones analizadas en el Kaplan – Meier de las variables clínicas de interés; los p-valores significativos se encuentran resaltados en negrita y con * .....              | 54 |
| <b>Tabla 12.</b> Hazard Ratio, Intervalo de Confianza del Hazard Ratio y p-valores obtenidos en la regresión de Cox sobre el valor máximo para los 4 hábitats y el tumor activo. Los p-valores significativos aparecen resaltados en negrita y con un * ..... | 57 |
| <b>Tabla 13.</b> P-valores obtenidos en la regresión de Cox para los hospitales de Alzira, Liège, Manises, Parma y Vall d’Hebron, donde los p-valores significativos están marcados en negrita y con * .....  | 58 |
| <b>Tabla 14.</b> P-valores obtenidos con el test Logrank para las distribuciones de los marcadores HTS .....  | 59 |
| <b>Tabla 15.</b> Duración en horas de cada tarea realizada en el trabajo .....  | 71 |
| <b>Tabla 16.</b> Coste mano de obra para la elaboración del trabajo.....  | 72 |
| <b>Tabla 17.</b> Coste software para la elaboración del trabajo.....  | 73 |
| <b>Tabla 18.</b> Coste hardware para la elaboración del trabajo.....  | 74 |
| <b>Tabla 19.</b> Cálculo del presupuesto de ejecución material.....   | 75 |
| <b>Tabla 20.</b> Cálculo del presupuesto total del trabajo .....  | 76 |

## **TABLA DE CONTENIDOS**

|   |             |
|---|-------------|
| <b>AGRADECIMIENTOS .....</b>                          | <b>III</b>  |
| <b>RESUMEN.....</b>                                   | <b>V</b>    |
| <b>RESUM .....</b>                                    | <b>VI</b>   |
| <b>ABSTRACT .....</b>                                 | <b>VII</b>  |
| <b>LISTA DE ACRÓNIMOS.....</b>                        | <b>VIII</b> |
| <b>LISTA DE FIGURAS .....</b>                         | <b>XI</b>   |
| <b>LISTA DE TABLAS .....</b>                          | <b>XIII</b> |
| <b>DOCUMENTO 1: MEMORIA .....</b>                     | <b>XVII</b> |
| <b>CAPÍTULO 1. OBJETIVOS .....</b>                    | <b>1</b>    |
| <b>1.1. Objetivo general del trabajo.....</b>         | <b>1</b>    |
| <b>1.2. Objetivos específicos.....</b>                | <b>1</b>    |
| <b>CAPÍTULO 2. INTRODUCCIÓN .....</b>                 | <b>2</b>    |
| <b>2.1. Introducción al problema .....</b>            | <b>2</b>    |
| 2.1.1. Motivación.....                                | 2           |
| 2.1.2. Contexto clínico, técnico y regulatorio.....   | 5           |
| 2.1.2.1. Glioblastoma.....                            | 5           |
| 2.1.2.2. OncoHabitats .....                           | 7           |
| 2.1.2.3. Ensayo clínico fundamental .....             | 10          |
| 2.1.3. Justificación .....                            | 13          |
| <b>2.2. Antecedentes .....</b>                        | <b>14</b>   |
| <b>CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA .....</b>                  | <b>17</b>   |
| <b>3.1. Diseño del estudio.....</b>                   | <b>17</b>   |
| <b>3.2. Formalización del estudio .....</b>           | <b>19</b>   |
| <b>3.3. Reclutamiento y gestión de los datos.....</b> | <b>22</b>   |
| <b>3.4. Procesado de los datos.....</b>               | <b>25</b>   |

|  |            |
|--|------------|
| <b>3.5. Análisis</b> .....   | 28         |
| 3.5.1. Obtención de los marcadores HTS y carga de la información clínica ..... | 28         |
| 3.5.2. Definición de los casos a excluir.....                                  | 29         |
| 3.5.3. Análisis exploratorio de los datos .....                                | 32         |
| 3.5.4. Obtención del resultado primario.....                                   | 33         |
| <b>CAPÍTULO 4. RESULTADOS</b> .....  | 35         |
| <b>4.1. Diseño del estudio</b> .....   | 35         |
| <b>4.2. Formalización del estudio</b> .....                                    | 36         |
| <b>4.3. Reclutamiento y gestión de los datos</b> .....                         | 38         |
| <b>4.4. Procesado de los datos</b> .....                                       | 39         |
| <b>4.5. Análisis</b> .....   | 42         |
| 4.5.1. Marcadores HTS.....   | 42         |
| 4.5.2. Casos excluidos .....   | 42         |
| 4.5.3. Análisis exploratorio de los datos .....                                | 49         |
| 4.5.4. Resultado primario.....   | 55         |
| <b>CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN</b> .....   | 60         |
| <b>CAPÍTULO 6. CONCLUSIÓN</b> .....  | 63         |
| <b>CAPÍTULO 7. LÍNEAS FUTURAS</b> .....  | 65         |
| <b>CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA</b> .....  | 66         |
| <b>DOCUMENTO 2: RESUPUESTO</b> .....   | <b>XXI</b> |
| <b>CAPÍTULO 1. OBJETIVOS</b> .....   | 70         |
| <b>CAPÍTULO 2. PRESUPUESTO DESGLOSADO</b> .....                                | 70         |
| <b>2.1. Coste mano de obra</b> .....   | 70         |
| 2.1.1. Duración de cada tarea .....  | 70         |
| 2.1.2. Cálculo del coste de mano de obra .....                                 | 71         |
| <b>2.2. Coste software</b> .....   | 72         |
| <b>2.3. Coste hardware</b> .....   | 74         |

|   |    |
|---|----|
| <b>CAPÍTULO 3. PRESUPUESTO TOTAL DEL PROYECTO</b> ..... | 75 |
| <b>3.1. Presupuesto de ejecución material</b> .....     | 75 |
| <b>3.2. Presupuesto de ejecución por contrata</b> ..... | 75 |
| <b>CAPÍTULO 4. BIBLIOGRAFÍA</b> .....                   | 77 |

# MEMORIA

## DOCUMENTO 1

## **TABLA DE CONTENIDOS DOCUMENTO 1: MEMORIA**

|  |    |
|--|----|
| <b>CAPÍTULO 1. OBJETIVOS</b> .....   | 1  |
| <b>1.1. Objetivo general del trabajo</b> .....                                 | 1  |
| <b>1.2. Objetivos específicos</b> .....  | 1  |
| <b>CAPÍTULO 2. INTRODUCCIÓN</b> .....  | 2  |
| <b>2.1. Introducción al problema</b> .....                                     | 2  |
| 2.1.1. Motivación .....  | 2  |
| 2.1.2. Contexto clínico, técnico y regulatorio .....                           | 5  |
| 2.1.2.1. <i>Glioblastoma</i> .....   | 5  |
| 2.1.2.2. <i>OncoHabitats</i> .....   | 7  |
| 2.1.2.3. <i>Ensayo clínico fundamental</i> .....                               | 10 |
| 2.1.3. Justificación .....   | 13 |
| <b>2.2. Antecedentes</b> .....   | 14 |
| <b>CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA</b> .....   | 17 |
| <b>3.1. Diseño del estudio</b> .....   | 17 |
| <b>3.2. Formalización del estudio</b> .....                                    | 19 |
| <b>3.3. Reclutamiento y gestión de los datos</b> .....                         | 22 |
| <b>3.4. Procesado de los datos</b> .....                                       | 25 |
| <b>3.5. Análisis</b> .....   | 28 |
| 3.5.1. Obtención de los marcadores HTS y carga de la información clínica ..... | 28 |
| 3.5.2. Definición de los casos a excluir.....                                  | 29 |
| 3.5.3. Análisis exploratorio de los datos .....                                | 32 |
| 3.5.4. Obtención del resultado primario.....                                   | 33 |
| <b>CAPÍTULO 4. RESULTADOS</b> .....  | 35 |
| <b>4.1. Diseño del estudio</b> .....   | 35 |
| <b>4.2. Formalización del estudio</b> .....                                    | 36 |
| <b>4.3. Reclutamiento y gestión de los datos</b> .....                         | 38 |
| <b>4.4. Procesado de los datos</b> .....                                       | 39 |

|   |    |
|---|----|
| <b>4.5. Análisis</b> .....                      | 42 |
| 4.5.1. Marcadores HTS .....                     | 42 |
| 4.5.2. Casos excluidos .....                    | 42 |
| 4.5.3. Análisis exploratorio de los datos ..... | 49 |
| 4.5.4. Resultado primario.....                  | 55 |
| <b>CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN</b> .....              | 60 |
| <b>CAPÍTULO 6. CONCLUSIÓN</b> .....             | 63 |
| <b>CAPÍTULO 7. LÍNEAS FUTURAS</b> .....         | 65 |
| <b>CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA</b> .....           | 66 |

## **CAPÍTULO 1. OBJETIVOS**

### **1.1. Objetivo general del trabajo**

En el presente trabajo se ha desarrollado un estudio clínico multicéntrico e internacional de tipo observacional y retrospectivo. Incluye una cohorte de pacientes cuyos datos están incluidos en SIH (Sistemas de Información Hospitalarios) de España, Bélgica, Noruega e Italia. Su finalidad principal consiste en validar la capacidad pronóstica de la tecnología de análisis de imagen médica OncoHabitats. Dicho de otra manera, se pretende analizar si la correlación existente entre los marcadores tumorales de OncoHabitats y la supervivencia global del paciente es significativa.

### **1.2. Objetivos específicos**

Con tal de poder alcanzar el anterior propósito, se han tenido que realizar una serie de sub-objetivos:

- Contribuir al diseño del estudio clínico observacional, retrospectivo, multicéntrico e internacional.
- Coordinar la recolección de los datos clínicos y las imágenes médicas de los pacientes participantes.
- Gestionar los datos de los pacientes reclutados, incluidas sus imágenes médicas.
- Obtener la correlación existente entre los marcadores de la tecnología OncoHabitats y la supervivencia global de los pacientes involucrados en el estudio, definida como resultado primario del estudio.
- Comprobar que el resultado obtenido es compatible con los hallazgos del estudio piloto.
- Mejorar los conocimientos estudiados a lo largo del máster en cuanto al diseño de un estudio en investigación clínica, así como a la gestión de la calidad de los productos sanitarios.

## **CAPÍTULO 2. INTRODUCCIÓN**

### **2.1. Introducción al problema**

#### 2.1.1. Motivación

Las IRMs (Imágenes de Resonancia Magnética) se han convertido en una herramienta esencial para el estudio del cerebro humano, desempeñando un papel fundamental en el análisis de los tumores sólidos. El Glioblastoma es un glioma de rápido crecimiento considerado un arquetipo de tumor sólido maligno. Ninguna terapia ha demostrado una mejora significativa en la supervivencia global de los pacientes que lo sufren desde la publicación del tratamiento Stupp estándar en el año 2005 (Stupp R. et al., 2005). La heterogeneidad presente en el Glioblastoma inter-paciente e intra-paciente es uno de los factores responsables de la alta agresividad de este tumor sólido, así como de su resistencia contra las terapias existentes (Juan – Albarracín J. et al., 2018). Esta heterogeneidad espacial y temporal, se debe a las diversas capacidades biológicas adquiridas en las diferentes regiones del tumor a lo largo del desarrollo de la enfermedad. Esta situación pone de manifiesto la necesidad de identificar tecnologías que sean capaces de crear subgrupos de pacientes con una baja heterogeneidad.

Se han desarrollado diferentes biomarcadores moleculares y de imagen con el objetivo de crear subgrupos de pacientes, cuya probabilidad de éxito ante un fármaco diana difiera significativamente. Estos biomarcadores presentan una serie de limitaciones. Por un lado, los moleculares se basan en biopsias de tejido, lo cual proporciona únicamente información estática, en el momento de la cirugía, además de tratarse de un procedimiento complejo de realizar. Por otro lado, los de imagen presentan una fuerte variabilidad que dificulta la repetibilidad y reproducibilidad del cálculo.

OncoHabitats es una tecnología de análisis de imagen que describe la heterogeneidad del tumor activo y del edema en base a su perfil hemodinámico. OncoHabitats utiliza IRM multiparamétricas, adquiridas en la práctica clínica diaria, para describir la heterogeneidad vascular a través de marcadores obtenidos en los diferentes subcompartimentos que delimita en el tumor activo y en el edema. La caracterización de la heterogeneidad hemodinámica del tumor a través de los marcadores de OncoHabitats, puede proporcionar información muy útil a la hora de definir estrategias de estratificación e inclusión en ensayos clínicos. De hecho, existen publicaciones que evidencian la capacidad de estratificación que posee dicha información hemodinámica en la selección de candidatos para terapias antiangiogénicas, tales como Bevacizumab (BMZ).

OncoHabitats fue testeado en un estudio piloto de 50 pacientes procedentes del Hospital Universitari i Politècnic de la Fe (publicado en la revista [Radiology](#)). Los criterios de inclusión fueron: (a) confirmación de Glioblastoma a través de biopsia, (b) acceso a las IRM pre-operatorias, incluyendo potenciaciones en T1 antes y después del GBCA (Gadolinium-Based Contrast Agent), potenciaciones en T2 y secuencias FLAIR (Flair-Attenuated Inversion-Recovery) y DSC (Dynamic Susceptibility Contrast), y (c) pacientes sometidos al tratamiento Stupp estándar. En esta primera prueba de concepto se verificó que la heterogeneidad vascular en el momento del diagnóstico, descrita por los marcadores de OncoHabitats, presenta una correlación significativa con la supervivencia global de los pacientes, considerando el impacto de factores relevantes conocidos tales como el uso del tratamiento Stupp estándar. Además, se vio que los pacientes con larga o corta supervivencia se pueden diferenciar según el valor máximo del rCBV (relative Cerebral Blood Volume, por sus siglas en inglés) y del rCBF (relative Cerebral Blood Flow) que presentan en los subcompartimentos del tumor activo y del edema (Juan – Albarracín J. et al., 2018).

Se llevó a cabo otro estudio piloto con el objetivo de analizar la capacidad pronóstica de OncoHabitats en cuanto a la supervivencia de los pacientes, no solo en el momento del diagnóstico sino también en el de progresión (o reaparición) del tumor. La cohorte utilizada estaba formada por 42 pacientes del Hospital Universitari i Politècnic de la Fe. Los criterios de inclusión fueron: (a) pacientes con Glioblastoma recurrente entre el 1 de enero de 2009 y el 1 de enero de 2017, (b) acceso a IRM en el momento de progresión, incluyendo potenciaciones en T1 antes y después del GBCA, potenciaciones en T2 y secuencias FLAIR y DSC, y (c) pacientes tratados con BMZ. Los resultados obtenidos en progresión fueron consistentes con los del estudio en el momento del diagnóstico. Ambos, presentan una correlación significativa entre la supervivencia global del paciente y los marcadores de ONCOhabitats.

Recientemente, se ha llevado a cabo un tercer estudio piloto en el que se ha analizado la utilidad de los marcadores proporcionados por OncoHabitats en la estimación de la supervivencia global del paciente con Glioblastoma. Se ha utilizado la cohorte obtenida en la primera prueba de concepto reajustando los criterios de exclusión. Se ha visto que estos marcadores presentan la capacidad de mejorar los modelos de pronóstico multiparamétricos basados en datos clínicos, morfológicos y características demográficas. Además, aportan un valor añadido en la estimación de la supervivencia al definir el rCBV y el rCBF no solo en las regiones de tumor activo y de edema, si no en los diferentes subcompartimentos que son delineados en estos.

Sin embargo, la validación de la tecnología requiere de un estudio de mayor alcance, tal y como es un ensayo clínico fundamental (conocido más comúnmente por su denominación inglesa *pivotal clinical trial*). Este tipo de estudios incluyen una cohorte mayor, de entre 150-300 pacientes, que permita determinar la eficacia de la tecnología. Por esta razón, en febrero de 2018, se ha iniciado un estudio observacional, retrospectivo, multicéntrico e internacional que engloba un número mayor de hospitales y de casos ([NCT03439332](#)), objeto del presente trabajo.

Los principales criterios de inclusión son: (a) pacientes diagnosticados de Glioblastoma entre el 1 de enero de 2012 y el 1 de enero de 2017, confirmado con biopsia, (b) acceso a las IRM en las diferentes etapas: pre-operatoria, post-radioterapia, progresión y seguimiento, incluyendo la potenciación T1 antes y después del GBCA, la potenciación T2 y las secuencias FLAIR y DSC, (c) pacientes sometidos al tratamiento Stupp estándar. El alcance de este estudio es validar los resultados de los estudios pilotos anteriores demostrando una diferencia estadísticamente significativa tanto de la supervivencia global como de la supervivencia libre de progresión de los pacientes con Glioblastoma, de acuerdo a los marcadores de OncoHabitats. Esto permitirá establecer un biomarcador pronóstico capaz de estimar la supervivencia global y supervivencia libre de progresión de los pacientes con Glioblastoma, creando subgrupos de menor heterogeneidad y fomentando la creación de tratamientos personalizados a grupos con características similares.

En la Tabla 1 se muestra un resumen de los estudios realizados para testear OncoHabitats.

| TÍTULO DEL ESTUDIO   | N   | CARACTERÍSTICAS DE DISEÑO  | OBJETIVO PRINCIPAL  | ESTADO Y PUBLICACIÓN   |
|--|-----|--|---|--|
| <b>Glioblastoma: Vascular Habitats Detected at Preoperative Dynamic Susceptibility-weighted Contrast-enhanced Perfusion MR Imaging Predict Survival</b>                | 50  | Pacientes con Glioblastoma que presentan IRM en el momento del diagnóstico y que han sido tratados con el Stupp estándar   | Analizar la significancia de los marcadores de OncoHabitats en la predicción de la supervivencia global de los pacientes con Glioblastoma, en el momento del diagnóstico  | Completado – Enero 2018<br>RSNA - Radiology  |
| <b>Prognostic image markers for recurrent glioblastomas treated with bevacizumab</b>   | 42  | Pacientes con progresión de Glioblastoma, tratados con Bevacizumab   | Analizar la significancia de los marcadores de OncoHabitats en la predicción de la supervivencia global de los pacientes con Glioblastoma, en el momento de la progresión   | Completado – no publicado todavía  |
| <b>Improving the estimation of prognosis for glioblastoma patients by MR based Hemodynamic Tissue Signatures</b>   | 60  | Pacientes con Glioblastoma que presentan IRM en el momento del diagnóstico y que han sido tratados con el Stupp estándar   | Analizar la utilidad de los marcadores de OncoHabitats en comparación con los marcadores clásicos y los modelos de pronóstico basados en información clínica  | Completado – Julio 2018<br>NMR in Biomedicine (aceptado para publicación)  |
| <b>Multicentre validation of Hemodynamic MTS biomarkers from pre-operative and post-radioteraphy MRI in Patients with Glioblastoma: predictors of overall survival</b> | 305 | Pacientes con Glioblastoma que presentan IMRs en el momento del diagnóstico, en post-radioterapia, en progresión y durante seguimiento, tratados con el Stupp estándar | Analizar la significancia de los marcadores de OncoHabitats en la predicción de la supervivencia global y la libre de progresión de los pacientes con Glioblastoma, en el momento del diagnóstico, en post-radioterapia, en progresión y en seguimiento | En Proceso – Fecha finalización prevista diciembre 2018<br>Clinicaltrials.gov ( <a href="https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03439332">NCT03439332</a> )<br><a href="https://orphanet.org">Orphanet</a> |

**Tabla 1.** Estudios realizados para alcanzar la validación de OncoHabitats

## 2.1.2. Contexto clínico, técnico y regulatorio

### 2.1.2.1. Glioblastoma

Para introducir los conceptos clave de la patología, en adelante se presenta una breve explicación de sus características etiológicas, fisiopatológicas, histopatológicas y clínicas.

El Glioblastoma es uno de los tumores cerebrales más frecuentes en adultos, con una incidencia anual de aproximadamente 1/33.330 y una prevalencia estimada de 1/100.000. En adultos, ocurre con mayor frecuencia en los lóbulos frontal y temporal del cerebro. Puede ocurrir a cualquier edad, pero el 70% de los casos se observan en pacientes entre 45 y 70 años. El Glioblastoma puede surgir en el cerebro *de novo*, dando lugar a un tumor primario, o evolucionar a partir de astrocitomas u oligodendrogliomas, gliomas de grado inferior, tratándose de un tumor secundario. Suele tener una rápida progresión, de entre 2 y 3 meses, excepto cuando se desarrolla dentro de un astrocitoma preexistente de bajo grado (glioblastoma secundario). Por lo tanto, presenta un mal pronóstico, especialmente en ausencia de resección quirúrgica total, en pacientes mayores y ante déficits neurológicos severos. De hecho, el Glioblastoma es un cáncer cerebral devastador con una supervivencia media de 15 meses tras el diagnóstico. Esto pone de manifiesto, la necesidad de crear avances científicos y clínicos.

De acuerdo a la clasificación de los tumores del SNC (Sistema Nervioso Central) realizada en 2016 por la OMS (Organización Mundial de la Salud), el Glioblastoma es un glioma difuso de grado IV que se divide en tres subtipos: IDH (Isocitrato Dehidrogenasa) – *Wildtype* (se corresponde con aproximadamente el 90% de los casos, predomina en pacientes mayores de 55 años y suele tratarse del tumor primario también llamado Glioblastoma *de novo*); IDH – mutante (alrededor del 10% de los casos, se presenta preferentemente en pacientes jóvenes y se corresponde estrechamente con los Glioblastomas secundarios, tumores que derivan de un glioma difuso de bajo grado tal y como el astrocitoma); y NOS (Not Otherwise Specified) utilizado cuando la evaluación del IDH no se puede realizar (Louis D. et al., 2016). En la Tabla 2 se muestran las características clave de ambos subtipos: IDH – *wildtype* e IDH – mutante.

|   | <b>GLIOBLASTOMA<br/>IDH - Wildtype</b> | <b>GLIOBLASTOMA<br/>IDH - Mutante</b> |
|---|--|---------------------------------------|
| <b>Sinónimo</b>                               | Glioblastoma primario                  | Glioblastoma secundario               |
| <b>Lesión precursora</b>                      | <i>De novo</i>                         | Astrocitoma difuso                    |
| <b>Proporción de glioblastomas</b>            | ~ 90%                                  | ~ 10%                                 |
| <b>Edad media en el diagnóstico</b>           | ~ 62 años                              | ~ 44 años                             |
| <b>Proporción hombres - mujeres</b>           | 1.42:1                                 | 1.05:1                                |
| <b>Supervivencia global media</b>             |  |                                       |
| <i>Cirugía + radioterapia</i>                 | 9.9 meses                              | 24 meses                              |
| <i>Cirugía + radioterapia + quimioterapia</i> | 15 meses                               | 31 meses                              |
| <b>Localización</b>                           | Supratentorial                         | Preferentemente frontal               |
| <b>Necrosis</b>                               | Extensa                                | Limitada                              |

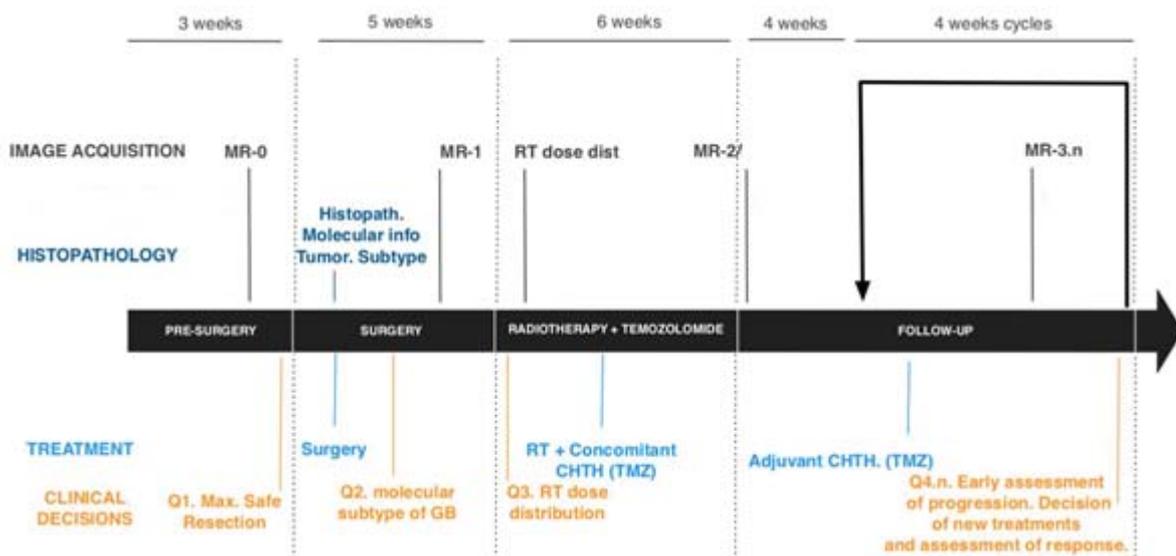
**Tabla 2.** Características clave del Glioblastoma IDH - Wildtype y del IDH - Mutante (Louis D. et al., 2016)

Este tumor sólido presenta un comportamiento altamente infiltrante y profundamente invasivo, con una fuerte proliferación vascular, una gran angiogénesis y una microvasculatura extensa y heterogénea que lo diferencia de los gliomas de bajo grado. Se ha demostrado que estos factores tienen un efecto directo en el pronóstico. Por lo tanto, la evaluación temprana de la arquitectura vascular altamente heterogénea del Glioblastoma podría proporcionar información clave para la mejora en la toma de decisiones terapéuticas.

Los métodos para diagnosticar esta enfermedad son los estudios radiológicos, la tomografía computarizada y la RM (Resonancia Magnética). Estas técnicas analizan principalmente su nivel de invasión, asociado a un aumento heterogéneo del contraste y a la presencia de necrosis. Los síntomas varían dependiendo de la localización del tumor, pero pueden incluir cualquiera de los siguientes: dolores de cabeza persistentes, visión doble o borrosa, vómitos, pérdida del apetito, cambios en el estado de ánimo y la personalidad, cambios en la capacidad de pensar y aprender, aparición de convulsiones y dificultad para hablar (AANS |Glioblastoma Multiforme, 2018).

El tratamiento estándar llamado Stupp en honor a su creador, se desarrolló en el año 2005, y es actualmente el tratamiento de primera línea utilizado en Glioblastoma. Consiste en la realización de una resección tumoral lo más completa posible, seguida de radioterapia fraccionada (60 Gy durante 6 semanas) con tratamiento concomitante y adyuvante del agente citostático Temozolomida (TMZ). La supervivencia media es de 14.6 meses al combinar la radioterapia con la quimioterapia y de 12.1 meses al realizar únicamente radioterapia.

Por tanto, la utilización de la quimioterapia concomitante y adyuvante presenta beneficios significativos. Esto conforma la última mejora significativa reportada hasta el momento en el tratamiento de la enfermedad (Stupp R. et al., 2005). La Figura 1 resume el tratamiento Stupp estándar y muestra, además, el flujo de adquisición de imágenes, así como los análisis moleculares e histopatológicos llevados a cabo a través de biopsias tisulares, ambos dependientes de la etapa del tratamiento. En caso de recaída, o reaparición del tumor, se puede realizar quimioterapia de segunda línea o re-cirugía. De hecho, el tratamiento antiangiogénico con BMZ es una opción ampliamente estudiada ante el Glioblastoma recurrente.



*Figura 1. Tratamiento Stupp de primera línea en Glioblastoma, donde RT se refiere a Radioterapia, CHTH a Quimioterapia, LB a Biopsia Líquida y PET a Tomografía por Emisión de Positrones (Stupp R. et al., 2005)*

### 2.1.2.2. OncoHabitats

OncoHabitats se fundamenta en el método HTS (Hemodynamic Tissue Signature, por sus siglas en inglés), el cual describe un conjunto de hábitats vasculares dentro de la lesión del Glioblastoma, basándose en algoritmos de agrupamiento estructurado multiparámetro de las características que ofrecen las IRM DSC, más comúnmente conocidas como IRM de perfusión. Concretamente, el método HTS describe cuatro hábitats: el HAT (High-Angiogenic Tumor por sus siglas en inglés) que representa el área de tumor activo con mayor perfusión, el LAT (Low-Angiogenic Tumor) que se corresponde con el área de tumor activo con el perfil angiogénico más bajo, el IPE (potentially Infiltrated Peripheral Edema) que describe el área adyacente de tumor no activo con elevados índices de perfusión y el VPE (Vasogenic Peripheral Edema) correspondiente al edema remanente con bajo perfil angiogénico.

Los pasos que realiza el método HTS son resumidos a continuación:

1. Preprocesado de las Imágenes de Resonancia Magnética.

Este paso se realiza tanto en las imágenes morfológicas, que se corresponden con la potenciación T1 antes y después del GBCA, la potenciación T2 y la secuencia FLAIR, como en las funcionales, tal y como la DSC o imagen de perfusión. Incluye los siguientes procesos:

- Filtrado, con tal de reducir al máximo la contribución del ruido en la señal medida sin alterar la señal original.
  - Para las imágenes morfológicas se utiliza el filtro ANLM (Adaptive Non-Local Means, por sus siglas en inglés).
  - Para las imágenes funcionales se aplica un Análisis de Componentes Principales (conocido más comúnmente por su acrónimo inglés, PCA) global.
- Corrección de inhomogeneidad (lenta variación de los patrones de intensidad que se producen en la imagen y que tienden a ocultar detalles anatómicos, bien por un campo magnético no uniforme o por la sensibilidad no uniforme en la antena de recepción). Para ambas modalidades de imagen, se utiliza el filtro N4 de Tustison.
- Registro rígido intra-paciente con el que se determina la transformación geométrica que alinea los puntos del cerebro de una imagen del paciente, con los correspondientes a los de otra imagen de ese mismo paciente.
- Registro afín al espacio MNI para conseguir que las imágenes de todos los pacientes se encuentren alineadas en un espacio común, llamado MNI.
- Extracción del cerebro con tal de eliminar el resto de estructuras, tal y como el cráneo. Para ello se aplica una técnica de *Skull – stripping* que realiza un registro no lineal de la máscara generada por el instituto ICBM (International Consortium for Brain Mapping) con la imagen potenciada en T1 tras la inyección de gadolinio. Esta máscara deformada es aplicada sobre el resto de imágenes morfológicas y sobre las funcionales de ese mismo paciente.
- Escalado de intensidad con tal de acotar los valores posibles de la imagen a un intervalo predefinido.
- Corrección del movimiento en las imágenes funcionales, dado que su tiempo de adquisición es mayor que en las morfológicas y, por tanto, la probabilidad de que el paciente se haya movido también es mayor.

2. Segmentación de las ROIs (Regions Of Interest) de tumor activo y de edema. Se realiza a través de un método supervisado basado en una red neuronal convolucional entrenada con el conjunto de datos del BraTS (Brain Tumor Segmentation, por sus siglas en inglés) de 2017. La segmentación produce tres clases: tumor activo, edema y necrosis, de las cuales las dos primeras son utilizadas para la obtención de los hábitats, dado que la necrosis no presenta actividad vascular. Este procedimiento requiere las siguientes imágenes morfológicas: T1 antes y después del GBCA, T2 y FLAIR, en combinación con los atlas de tejidos sanos.

3. Cuantificación de los mapas paramétricos DSC. Este paso consiste en obtener los mapas rCBV y rCBF utilizando algoritmos estándar. Por un lado, el rCBV se obtiene calculando la integral del área bajo la curva de la gamma-variante ajustada (la cual describe el paso del agente de contraste utilizado). Mientras que el rCBF se calcula seleccionando el máximo de la deconvolución de la AIF (Arterial Input Function, por sus siglas en inglés) con la gamma variante (para cada uno de los vóxeles que componen la IRM). Cabe destacar que la AIF se calcula promediando como máximo 10 gammas variantes, cuyas características satisfacen la definición de una arteria.
4. Obtención de los hábitats HTS (subcompartimentos vasculares detectados en el Glioblastoma, que tal y como se ha comentado alcanzan un total de cuatro: el HAT, el LAT, el IPE y el VPE). En la Tabla 3 se muestra la relación que existe entre estos hábitats y la vascularidad del tejido, así como la región del Glioblastoma a la que se refiere: bien tumor activo o edema.

| HÁBITAT HTS | VASCULARIDAD | TEJIDO DEL GLIOBLASTOMA                                |
|-------------|--------------|--|
| HAT         | La más alta  | Alta angiogénesis en el tumor activo                   |
| LAT         | Alta         | Baja angiogénesis en el tumor activo                   |
| IPE         | Baja         | Edema periférico potencialmente infiltrado en el tumor |
| VPE         | La más baja  | Edema periférico vasogénico                            |

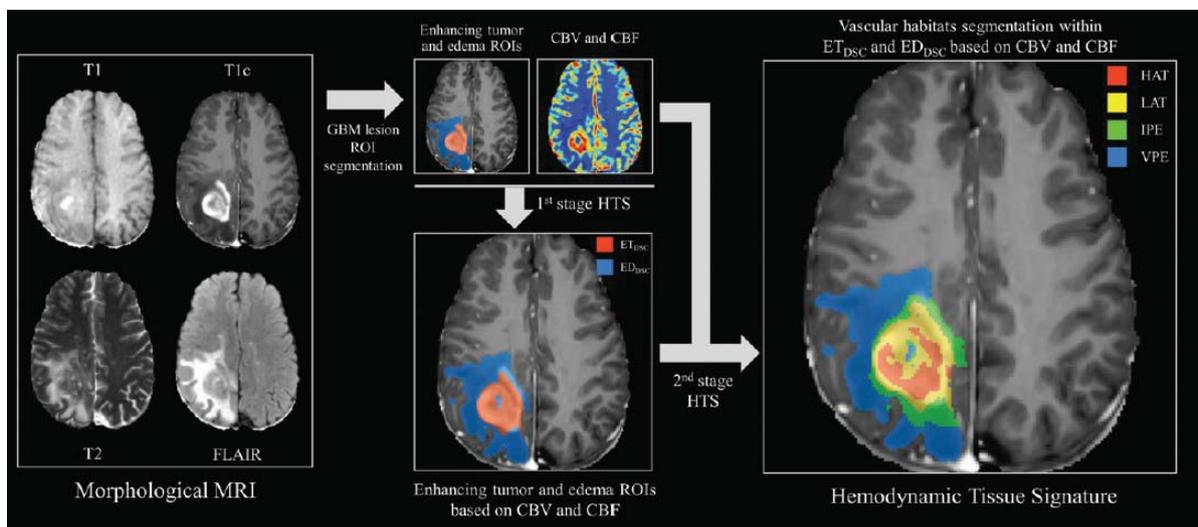
**Tabla 3.** Hábitats definidos por el método HTS

Estos subcompartimentos se obtienen a través del método no supervisado DCA-SVFMM (Directional Class Adaptive Spatially Varying Finite Mixture Model). Este consiste en un algoritmo de *clustering* que combina el modelado de mezclas de Gaussianas con los campos aleatorios continuos de Markov, haciendo uso de la similitud y la redundancia local de las imágenes. Tal y como se observa en la Figura 2, este proceso está formado por dos etapas:

- a) Agrupamiento de dos clases: tumor activo y edema, haciendo uso de la información vascular.
- b) Agrupamiento de dos clases usando únicamente la información del rCBV y del rCBF dentro de las ROIs obtenidas en la etapa a).

El objetivo de la primera etapa consiste en refinar la segmentación del tumor activo y del edema, realizada previamente haciendo uso de las IRM morfológicas (T1, T1c, T2 y Flair), introduciendo la información de la perfusión, es decir, de la secuencia DSC (rCBV y rCBF). Por esta razón, estas dos clases pasan a denominarse tumor activo en DSC y edema en DSC.

La segunda etapa busca delinear o segmentar los dos hábitats hemodinámicos en cada una de las dos regiones anteriores: el HAT y el LAT en el tumor activo, y el IPE y el VPE en el edema (Juan – Albarracín J. et al., 2018).



**Figura 2.** Esquema de la metodología utilizado por HTS para obtener los 4 hábitats, donde  $ED_{DSC}$  = edema en DSC,  $ET_{DSC}$  = tumor activo en DSC, HAT = High-Angiogenic Tumor, LAT = Low-Angiogenic Tumor, IPE = Infiltrated Peripheral Edema, VPE = Vasogenic Peripheral Edema, T1c = T1-weighted contrast enhanced (Juan – Albarracín J. et al., 2018)

Esta tecnología ha sido desarrollada por investigadores del grupo de investigación BDSLab (Biomedical Data Science Laboratory) perteneciente al centro ITACA (Institute of Information and Communication Technologies, por sus siglas en inglés). Presenta un acceso público con fines de investigación, no comerciales, en <https://www.oncohabitats.upv.es>.

### 2.1.2.3. Ensayo clínico fundamental

Las agencias regulatorias, tales como la FDA (Food and Drug Administration) de Estados Unidos o la EMA (European Medicines Agency) de la Unión Europea, indican que poseer evidencias de uno o más estudios clínicos fundamentales sirve generalmente como base para determinar una garantía razonable de seguridad y efectividad del dispositivo médico, capacitándolo para solicitar una aprobación de mercado; ya sea una PMA (Pre-Market Approval) según la FDA, o el marcado CE, según la EMA.

Sin embargo, el alcance de estos ensayos es muy impredecible, siendo su buen diseño un factor directamente relacionado con el nivel de éxito. Por esta razón, la etapa de diseño suele requerir una gran inversión de tiempo y esfuerzo. Consiste, fundamentalmente, en generar un protocolo que detalle los criterios de inclusión y exclusión de los sujetos en el estudio, las variables que se recogerán obligatoria u opcionalmente y los resultados que se pretenden alcanzar, realizando una descripción detallada del análisis estadístico a realizar. A su vez, incluye las bases éticas y legales sobre las que se sustenta el estudio clínico. La generación de este documento es clave para alcanzar resultados exitosos. Pues si se trata de un dispositivo que participa en una etapa tardía del proceso de la enfermedad, los tratamientos previos a los que haya estado sometido el paciente, así como la posología, influenciarán de forma directa en la funcionalidad de la tecnología, y por tanto deberán de recogerse en el protocolo, asegurando una correcta interpretación de los resultados.

Con tal de realizar un diseño adecuado se recomienda seguir una serie de buenas prácticas:

1. Establecer un contexto de uso real. La funcionalidad esperada del dispositivo médico debe de ser alcanzable y factible.
2. Seleccionar la población de pacientes adecuada. En 2012 la FDA indicó que los ensayos clínicos no están diseñados para demostrar la efectividad de un tratamiento o dispositivo en una muestra aleatoria de la población general. Contrariamente, recomiendan seleccionar pacientes cuyas condiciones no cambien con frecuencia, que tengan probabilidades similares de adherencia al tratamiento, que presenten una tasa de progresión de la enfermedad parecida y que tengan alguna probabilidad de respuesta al tratamiento. Además, es muy importante que representen la demografía del grupo de pacientes real que utilizará el dispositivo comercializado.
3. Asegurar la adherencia del paciente. El estudio expuesto en el presente trabajo es de tipo retrospectivo, por lo que incluye pacientes fallecidos, de los cuales se utilizan sus IRM en las diferentes etapas de la enfermedad: en el momento del diagnóstico, tras la primera resección quirúrgica, tras la radioterapia, en progresión, en caso de que exista, y en seguimiento. Por lo que este punto, se estaría respetando intrínsecamente, dada la definición del estudio.
4. Definir unos plazos alcanzables. Los ensayos clínicos deben completarse en el plazo especificado. Una etapa que puede retrasar en gran medida el ensayo es el reclutamiento de sujetos, por lo que habrá que valorar de cuánto tiempo se trata y definir una fecha acorde a este análisis. (Peatman B., 2015).

Otro aspecto clave en la realización de este tipo de estudios es la detección de las diferencias regulatorias existentes en comparación con un ensayo clínico de un fármaco. Cualquier fármaco requiere de la realización de un ensayo clínico para alcanzar el mercado. Sin embargo, los dispositivos médicos dependiendo de su clasificación la exigen o no. La Unión Europea, así como Estados Unidos, presentan una clasificación de los PS (Productos Sanitarios) en tres grupos: clase I, II y III, ordenados de menor a mayor riesgo. Aquellos dispositivos de clase I no requerirán de la realización de un ensayo, los de tipo II podrían necesitarla y los de tipo III están obligados.

El Real Decreto 1591 – 2009 de Productos Sanitarios, que traspone la directiva europea 93/42/CEE, define los criterios de clasificación, en el Anexo IX, en la sección III. Aunque no existe una regla específica para un software informático, el objetivo final de OncoHabitats es definir una regla de estratificación de pacientes que permita crear dos grupos: respondedores y no-respondedores, es decir, a quiénes se tratará con el fármaco diana y a quiénes no. Por esta razón, es considerado un dispositivo médico de alto riesgo, y por tanto de clase III, siendo estrictamente necesaria la generación de un estudio clínico que garantice su contexto de uso.

En la Tabla 4 se comparan las fases de un ensayo clínico de un dispositivo médico, con las de un ensayo clínico de un fármaco. Tal y como se observa, el número de pacientes necesarios varía drásticamente entre ambos grupos, siendo muy superior en los ensayos clínicos de fármacos. Una posible causa de esta diferencia radica en el hecho de que la prueba de un dispositivo médico no suele poder hacerse en sujetos sanos, por ejemplo, la de un nuevo implante quirúrgico, se ciñe al grupo experimental, es decir, al grupo que padece la enfermedad. En este sentido, el número de sujetos disponibles decrece. Además, si se trata de una enfermedad rara, como es el Glioblastoma, con una prevalencia e incidencia bajas, estos valores son aún inferiores (Emmett J., 2018).

| ESTUDIO CLÍNICO DE UN DISPOSITIVO MÉDICO  | ESTUDIO CLÍNICO DE UN FÁRMACO  |
|---|--|
| <p><b>Piloto:</b></p> <p>Estudio pequeño (10-30 sujetos con la enfermedad) para determinar la seguridad y rendimiento preliminares</p>  | <p><b>Fase 1:</b></p> <p>Estudio pequeño (20-100 sujetos sanos voluntarios o bien con la enfermedad) para determinar la seguridad preliminar y la dosis más adecuada</p> |
| <p><b>Fundamental:</b></p> <p>Estudio grande (150-300 sujetos con la enfermedad) para determinar la eficacia y los efectos adversos</p> | <p><b>Fase 2:</b></p> <p>Estudio grande (varios cientos de sujetos con la enfermedad) para determinar la eficacia y los efectos adversos</p>                             |
| <p><b>Post-aprobación:</b></p> <p>Estudio longitudinal posterior con tal de recolectar datos a largo plazo</p>                          | <p><b>Fase 3:</b></p> <p>Estudio muy grande (varios miles de sujetos con la enfermedad) para determinar la eficacia y monitorizar los efectos adversos</p>               |
|   | <p><b>Fase 4:</b></p> <p>Estudio post-mercado para recolectar datos a largo plazo</p>  |

*Tabla 4. Fases de un ensayo clínico de dispositivo médico y de un fármaco (Emmett J., 2018)*

Finalmente, en base al marco americano, un dispositivo médico no requiere de la aplicación de una IND (Investigational New Drug Application, por sus siglas en inglés), correspondiente al CFR (Code of Federal Regulation, por sus siglas en inglés), título 21, parte 312, sino de una IDE (Investigational Device Exemption, por sus siglas en inglés), correspondiente al CFR título 21, parte 812. De forma breve, una IND es una solicitud de autorización a la FDA para poder administrar un fármaco en investigación o un producto biológico a humanos.

Por otro lado, una IDE permite que el dispositivo en investigación se utilice en un estudio clínico de humanos con el fin de recopilar datos de seguridad y eficacia. Además, disponer de una autorización para IDE permite que el dispositivo en investigación pueda usarse en un ensayo clínico sin necesidad de disponer de una PMA o de una Notificación Previa a la Comercialización 510(k), o bien del Sistema de Calidad (excepción en CFR, título 21, parte 820.30) (FDA U.S. Food & Drug Administration | Investigational New Drug (IND) Application, 2018) (FDA U.S. Food & Drug Administration | How to study and market your device, 2018).

Dada la entrada en vigor del nuevo Código sobre la Privacidad y Protección de datos se considera relevante citar su aplicabilidad al estudio de interés. La GDPR (General Data Protection Regulation, por sus siglas en inglés), conocida en español, como la RGPD, consiste en un conjunto de normas de protección de datos para todas las entidades que operan en la Unión Europea con independencia de dónde tengan su sede. Se trata del nuevo Reglamento (Unión Europea) 2016/679 General de Protección de Datos que regula el tratamiento que realizan personas, empresas u organizaciones de los datos personales (Comisión Europea | ¿Qué rige el Reglamento general de protección de datos (RGPD)?, 2018). Una de las actualizaciones más importantes de la legislación de la RGPD se ha realizado en el apartado de protección de datos personales en la HIP / CI (Hoja de Información al Paciente / Consentimiento Informado). Sin embargo, nuestro estudio está exento de CI por ser de tipo observacional, no experimental y usar información de pacientes ya fallecidos.

### 2.1.3. Justificación

A pesar de varios años de investigación y cientos de informes sobre biomarcadores tumorales, el número de biomarcadores que ha alcanzado la práctica clínica es verdaderamente bajo. Se han citado una variedad de problemas para explicar estas bajas cifras, tales como diseños deficientes del estudio, falta de estandarización y reproducibilidad, análisis estadísticos inapropiados basados, a menudo, en tamaños muestrales demasiado pequeños como para llegar a conclusiones significativas, entre otros (McShane L. M. et al., 2005).

El estudio multicéntrico, objeto del presente trabajo, busca generar el suficiente nivel de evidencia como para permitir un avance en la validación clínica de OncoHabitats como biomarcador pronóstico de Glioblastoma. Un requisito indispensable para la comercialización de esta tecnología, consiste en su certificación como PS clase III. Como paso inicial para poder conseguir esta certificación, se ha planteado la obtención de un *Qualification of Novel Methodology* por parte de la EMA. Este documento requiere de la elaboración previa de un ensayo clínico fundamental, donde el estudio multicéntrico de interés realiza un papel fundamental. Cabe destacar que a través del procedimiento de *Qualification of Novel Methodologies* se puede obtener el *Qualification Opinion* o el *Qualification Advice*. El primero de ellos, es generado por la agencia regulatoria para asesorar en el diseño de un estudio clínico que permita validar un biomarcador.

Mientras que el segundo, va más allá, y certifica que la tecnología de interés satisface el contexto de uso predefinido y cumple con las características descritas. El propósito de OncoHabitats consiste en la obtención de este segundo certificado para establecerse como un biomarcador pronóstico avalado por la EMA, que pueda ofrecer en un futuro un soporte a la decisión en el tratamiento del Glioblastoma.

Como ya se ha indicado, OncoHabitats ha sido desarrollado en el marco de la UPV. La ambición y potencial de esta tecnología han propiciado la creación de una spin-off llamada *TextureCDx* el pasado mes de mayo. El alcance del estudio multicéntrico (que también emana de la universidad) es decisivo para la transferencia de la tecnología a la empresa recién creada.

En definitiva, la realización de este estudio permite avanzar en el proceso de validación de un biomarcador de imagen pronóstico capaz de ayudar en la gestión del tratamiento de Glioblastoma, el cual, a día de hoy no presenta ninguna terapia lo suficientemente efectiva como para aumentar la supervivencia de los pacientes en más de un año.

## **2.2. Antecedentes**

Debido a que es poco probable que el tratamiento estándar resulte en una remisión prolongada de los tumores de Glioblastoma, se están investigando nuevos tratamientos considerados terapias de segunda línea. Aunque muchos ensayos en fase II de estos nuevos quimioterapéuticos o fármacos dirigidos han mostrado una potencial eficacia, no logran mejorar la supervivencia global o libre de progresión de los pacientes, en los ensayos clínicos en fase III. Estas limitaciones se deben, principalmente, al hecho de dedicar muy poco tiempo al diseño de estos ensayos, el cual debería de incluir el enriquecimiento de la población objetivo para aumentar las probabilidades de éxito. Esto pone de manifiesto el papel fundamental de la selección de pacientes no sólo en las terapias dirigidas sino también en la investigación traslacional en general.

En los últimos años se han desarrollado diferentes tecnologías para estratificar a los pacientes que sufren Glioblastoma de acuerdo a su perfil molecular, como un primer paso hacia el desarrollo de tratamientos personalizados que se basen en los cambios genéticos únicos de cada subtipo. Hasta ahora, ninguna de las numerosas alteraciones genéticas y epigenéticas capaces de dividir estos pacientes en subgrupos, tiene implicaciones en las decisiones de tratamiento. Esto subraya la necesidad desesperada de desarrollar métodos de estratificación más precisos y efectivos. La metilación del promotor de la MGMT (O-6-metilguanina-ADN metiltransferasa) es el predictor más potente del resultado o beneficio de la radioterapia combinada con la quimioterapia. Aunque se ha comprobado que los pacientes con metilación del promotor de la MGMT tienen un mayor beneficio, todos los pacientes, con o sin metilación del promotor, siguen siendo tratados con el tratamiento estándar debido a la falta de pruebas clínicas basadas en la evidencia (Zhang K. et al., 2013).

También se están desarrollando e investigando nuevas secuencias de RM que permitan cuantificar las características específicas de los tejidos tumorales. Por un lado, la MRSI (Magnetic Resonance spectroscopy Imaging, por sus siglas en inglés) tiene un enorme potencial para proporcionar información específica sobre el éxito del tratamiento a través del estudio de los metabolitos. Se están esperando ambiciosamente los resultados de los ensayos que investigan la planificación de la radioterapia a través del análisis de la MRSI. Por otro lado, los enfoques más prometedores radican en la secuencia de RM de perfusión mejorada con contraste, llamada DCE, la cual revela cambios microvasculares en el tejido tumoral que, según se informa, están relacionados con el grado tumoral y el resultado clínico. La aplicación actual de la perfusión DCE es la discriminación no invasiva entre gliomas de bajo y alto grado, donde el grado tumoral es un factor clave que influye en la elección del tratamiento (Von Neubeck C. et al., 2015).

Por otro lado, debido a que la heterogeneidad vascular del Glioblastoma ha sido considerada como uno de los factores responsables de su alta agresividad y de su resistencia a terapias efectivas, se han realizado diferentes estudios para analizarla. En 2008 se realizó un estudio con 189 sujetos en el que se concluyó que la secuencia de perfusión DSC podía predecir el tiempo medio de progresión en pacientes con gliomas de alto y bajo grado, de forma que pacientes con un rCBV máximo en la zona de tumor activo superior a 1.75 presentaban un tiempo de progresión significativamente más corto (Law M. et al., 2008). En 2010 en un estudio piloto de 16 pacientes, se obtuvo también una correlación entre regiones de alta perfusión delineadas en el rCBV y la supervivencia libre de progresión, pero tampoco encontraron una correlación significativa con la supervivencia global de los pacientes (Sawhani R. N. et al., 2010). De igual forma, otros estudios han analizado si el rCBV máximo obtenido de la perfusión, es un biomarcador pronóstico útil de la supervivencia de los pacientes con Glioblastoma. Sin embargo, todos ellos se centran en la región de tumor activo, no consideran otros índices de perfusión como rCBF máximo, que también puede añadir información importante, y realizan una delineación manual de las ROIs, lo que disminuye la reproducibilidad y provoca que no se capte completamente la información tumoral.

Otros autores estudiaron el edema periférico del Glioblastoma. Tres grupos de investigación diferentes analizaron la región peritumoral del Glioblastoma para explicar la heterogeneidad y la posible infiltración tumoral en el edema periférico. Los primeros usaron ROIs para entrenar una máquina de vectores de soporte, la cual fue usada para generar mapas de heterogeneidad (Akbari H. et al., 2014). El segundo grupo analizó la asociación entre las características VASARI (Visually Accessible Rembrandt Images, por sus siglas en inglés) y los datos moleculares, con la supervivencia global y la libre de progresión (Jain R. et al., 2014). Cabe destacar que las características VASARI se refieren a la terminología utilizada para describir las características de RM de los gliomas humanos elaborada sobre el proyecto *Rembrandt* (Cancer Imaging Archive | VASARI Research Project, 2018).

Finalmente, los terceros investigadores hicieron uso de las IRM morfológicas y de las secuencias de difusión y perfusión para analizar la región del edema, con un algoritmo de segmentación no supervisado (Artzi M. et al., 2014). Sus resultados se correlacionan con los hallazgos del estudio preliminar de OncoHabitats en el subcompartimento de edema periférico infiltrado, correspondiente al IPE, pues también concluyeron que la heterogeneidad vascular en el edema periférico se correlaciona con la supervivencia global del paciente. Sin embargo, en estos tres estudios las ROI para describir la heterogeneidad tumoral se delinearon manualmente y se realizaron pruebas estadísticas sin corrección de comparaciones múltiples, lo que disminuye el poder estadístico de las conclusiones.

### **CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA**

Atendiendo a la necesidad especificada en el capítulo 2 se ha llevado a cabo la creación y el desarrollo de un ensayo clínico, el cual permite un avance en la validación pronóstica de la tecnología OncoHabitats. Los pasos que se han realizado se resumen en el presente capítulo.

#### **3.1. Diseño del estudio**

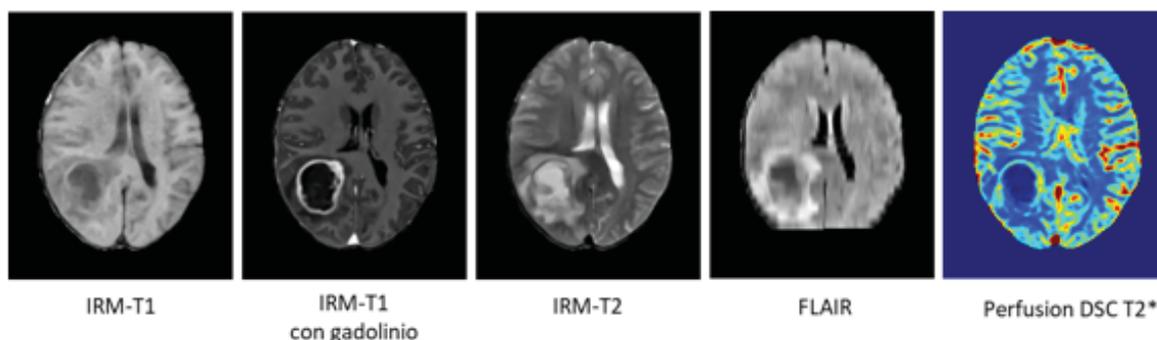
El primer paso ha consistido en la creación de un protocolo el cual describe toda la información relacionada con el diseño y la metodología ensayo clínico. Su creación requiere de la participación de un equipo multidisciplinario en el que han intervenido tanto especialistas médicos, como estadísticos e informáticos. Aunque este documento no ha sido elaborado por el autor del presente trabajo, es necesario explicarlo dado que define las bases sobre las que se sustenta el estudio. Su estructura general está formada por la definición de los objetivos, tanto generales como específicos, y de la hipótesis que ha propiciado el interés del estudio, su diseño (que incluye la descripción del tipo de ensayo, así como el intervalo de tiempo al que debe de pertenecer el diagnóstico de los sujetos incluidos), los criterios de selección, las variables que serán recogidas y de qué fuente procederán, los resultados que se quieren obtener, el análisis estadístico a realizar y los principios éticos que cumple el estudio.

La definición de los criterios de selección incluye tanto los de inclusión como los de exclusión. Es un paso verdaderamente importante pues una de las problemáticas más fuertes en los ensayos clínicos es la incorrecta interpretación de los resultados por no considerar la influencia de los factores de confusión. De forma que se estaría creando una asociación entre un factor, por ejemplo, la vascularidad del tejido tumoral, y un resultado primario, la supervivencia del paciente, que no es real y que se debe a la asociación de este resultado con un factor de confusión que no se ha analizado. Con la creación de estos criterios se permite que el grupo de sujetos sea mucho más homogéneo y que la variabilidad, debida a factores demográficos o clínicos (que suelen ser factores de confusión *per se*), esté más controlada.

Las variables a recoger en el estudio se clasifican en dos grupos dependiendo de si son obligatorias u opcionales. Para facilitar su recogida se ha creado un Excel formado por ventanas emergentes en las que se van rellenando los campos de interés; aunque el autor del presente trabajo no ha sido el encargado de elaborarlo. Las variables de recogida obligatorias incluyen la siguiente información: datos socio-demográficos, clínicos, información sobre la cirugía realizada, datos del tratamiento Stupp (tanto de la quimioterapia como de la radioterapia), los hallazgos de imagen encontrados, observaciones del paciente, si padece diabetes, hipertensión o dislipidemia y finalmente las siguientes IRMs:

- Imágenes morfológicas:
  - Potenciación T1 pre-GBCA (T1)
  - Potenciación T1 post-GBCA (T1c)
  - Potenciación T2
  - Flair
- Imágenes de perfusión:
  - Perfusión DSC potenciada en T2\*

En la Figura 3 se muestra un corte axial de cada una de las secuencias anteriores. Es muy importante que los sujetos que se incluyan en el estudio dispongan de estas 5 modalidades de imagen ya que todas ellas son necesarias para la realización del análisis HTS.



*Figura 3. Modalidades de imagen requeridas a los sujetos incluidos en el estudio*

Por otro lado, el grupo de las variables opcionales está formado por el perfil molecular y por las IRM siguientes: perfusión DCE y DWI.

Los resultados a analizar, una vez obtenidos los marcadores de cada uno de los hábitats, se dividen en tres grupos: primarios, secundarios y exploratorios. El primario consiste en obtener la correlación existente entre la supervivencia global del paciente (en días) y los marcadores HTS, donde la supervivencia es obtenida como la diferencia entre la fecha de la IRM pre-operatoria y la fecha de fallecimiento del paciente. El resultado secundario es equivalente al anterior, pero en lugar de analizar la supervivencia global, se centra en la supervivencia libre de progresión del paciente, que es estimada como la diferencia entre la fecha de la IRM pre-operatoria y la fecha de progresión del paciente (en caso de que exista). Finalmente, se busca explorar la correlación que existe entre los marcadores obtenidos en los hábitats y las IRM en diferentes instantes temporales, es decir, realizar un estudio longitudinal.

El estudio ha sido desarrollado de acuerdo a la Declaración de Helsinki sobre los principios éticos de la investigación clínica con humanos y sigue la guía de buenas prácticas del ICH (International Conference on Harmonisation, por sus siglas en inglés). Tal y como se ha comentado, se trata de un estudio observacional (en el que no se actúa sobre el paciente, si no que se observan ciertos comportamientos), retrospectivo (estudia datos pasados), multicéntrico (engloba información de diferentes hospitales) e internacional (dichos hospitales pertenecen a diferentes países). Además, los pacientes que serán incluidos deben de estar fallecidos y su diagnóstico de Glioblastoma debe de haberse realizado entre el 1 de enero de 2012 y el 1 de enero de 2017. Los datos y las imágenes recogidas son tratadas de acuerdo a la Ley Orgánica 15/99 de Protección de Datos de Carácter Personal y en base a la GDPR.

### **3.2. Formalización del estudio**

El segundo paso realizado, consiste en la formalización del ensayo clínico, la cual se puede dividir en cuatro bloques.

El primero de ellos, se basa en la necesidad de aprobación del estudio por parte de un CE (Comité de Ética) para cada uno de los países participantes. Para el inicio del estudio no se requiere la autorización previa de ninguna autoridad competente (tal y como la AEMPS, Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios) pero sí es necesario presentarlo a un CE acreditado en el país y obtener su dictamen favorable. Por esta razón, el protocolo del estudio fue inicialmente aprobado por el CE del Hospital Universitari i Politècnic de la Fe y por el de la Universitat Politècnica de València. Si bien es cierto, posteriormente se debe de tener la aprobación del estudio de al menos un CE para cada uno de los países involucrados.

El segundo bloque, consiste en la clasificación del estudio por parte de la AEMPS. De acuerdo con la Orden SAS/3470/2009, de 16 de diciembre, por la que se publican las directrices sobre estudios posautorización de tipo observacional para medicamentos de uso humano, la AEMPS realizará una clasificación de aquellos estudios clínicos o epidemiológicos no aleatorizados, realizados con seres humanos o con registros médicos, y que recoja información sobre medicamentos. Debido a que en las variables del protocolo se pide información sobre el tratamiento de los pacientes, es obligatorio solicitar esta clasificación. Las diferentes posibilidades de clasificación que ofrece la AEMPS son: EPA-LA (estudio posautorización de tipo observacional donde el medicamento es el factor de exposición investigado), EPA-AS (estudio posautorización de tipo observacional de seguimiento prospectivo promovido por una Administración Sanitaria o financiado con fondos públicos), EPA-SP (estudio posautorización de tipo observacional de seguimiento prospectivo no incluido en las categorías anteriores), EPA-OD (otros estudios posautorización) y NO-EPA (estudio observacional no posautorización, el medicamento no es factor de exposición fundamental investigado).

El tercero, consiste en la generación de un documento llamado MTA (Material Transfer Agreement). Se trata de un acuerdo de transferencia de material que debe de ser aceptado y firmado por cada uno de los hospitales participantes y por la Universitat Politècnica de València. Con la ayuda del CTT (Centro de apoyo a la innovación, la investigación y la Transferencia de Tecnología) de la UPV, se ha creado dicho documento el cual engloba una serie de cláusulas que son explicadas brevemente a continuación:

- Términos prácticos de transferencia del material, en los que se indica que el centro sanitario transfiere dicho material de una forma totalmente gratuita y anonimizada. La UPV se compromete a usar el material dentro de la infraestructura de la universidad, concretamente en el instituto ITACA.
- Confidencialidad, el material solamente puede utilizarse por la UPV para el uso que se ha aprobado con el centro sanitario. Además, este material debe de ser destruido en un período de 7 días, tras la finalización del estudio y la solicitud del hospital correspondiente.
- Propiedad intelectual, el centro sanitario posee todos los derechos sobre el material, mientras que el software y la infraestructura computacional son propiedad exclusiva de la universidad.
- Publicación, todos los resultados que se deriven del estudio pertenecen a la UPV, aunque deberán de indicar la colaboración con cada uno de los centros incluyendo un máximo de 2 autores por hospital.
- Responsabilidad, el centro sanitario debe de recoger el material de forma competente y profesional y la universidad, debe de encargarse de almacenar y tratar los datos asegurando que no serán perdidos, dañados o robados.
- Normativa general, este acuerdo es el único contrato válido y cualquier cambio que se realice sobre este, por una de las dos partes, debe de ser notificado por escrito y aprobado por la parte contraria.
- Duración, el acuerdo se hace vigente desde la fecha de firma hasta la duración del estudio. Se acepta que las tareas de investigación duren hasta 2 años más de la fecha de firma, aunque la destrucción de los datos de la cláusula de confidencialidad es independiente a estas tareas y debe de aplicarse.
- Ley aplicable y jurisdicción, indica el gobierno que controla el estudio y que se encargaría de solucionar un conflicto, en caso de que existiese.
- Comunicados, describe las direcciones postales y de correo sobre las que se emiten todas las comunicaciones.
- Firmas, requiere de la firma del promotor del estudio, del director del centro sanitario y del encargado del departamento del que proceden las IRM.

En el caso en que la ley aplicable proceda de otro gobierno, distinto al español, es necesaria la firma de un documento extra, llamado compromiso de financiación en el caso de litigio de actividad no sujeta a tribunales de Valencia. En este, el promotor del estudio, declara que es conocedor de que la entidad participante no acepta someterse a los tribunales de Valencia si no que se somete a otra jurisdicción, y que en caso de que el contrato acabe en litigio y conlleve costes de asistencia jurídica, estos recaerán sobre la clave específica del proyecto que sustenta el estudio.

El cuarto y último bloque se basa en la transparencia del estudio, requerida en los principios de la Declaración de Helsinki. Esta busca que toda la información relacionada con el ensayo sea pública y accesible por cualquiera. Para ello, se ha pensado en solicitar la publicación del estudio a ClinicalTrials.gov que es una base de datos de estudios clínicos financiados tanto pública como privadamente, a lo largo de todo el mundo, proporcionada por el NIH (United States National Library of Medicine). Actualmente, cuenta con 280.804 estudios pertenecientes a 204 países diferentes. Por lo que se ha visto como una fuente potente que además de garantizar la transparencia del estudio, le da valor. Para publicar el estudio en esta plataforma, es necesario rellenar un documento que se divide en los siguientes puntos:

1. Identificación del estudio, incluye el número de identificación único del protocolo (que es proporcionado por Clinicaltrials.gov), un título breve y el oficial, un acrónimo que identifique el estudio y finalmente la definición del tipo de estudio.
2. Situación del estudio, si aún no se ha iniciado el período de reclusión de pacientes, si se encuentra reclutándolos, si estos serán seleccionados de una población en particular, si los pacientes están recibiendo todavía un tratamiento, si el estudio ya está completado, si ha sido suspendido, etc. También incluye la fecha de inicio del estudio, es decir, la fecha estimada en la que el estudio clínico está abierto para reclutar pacientes, así como la fecha en la que se espera completarlo y haber obtenido los resultados especificados en el protocolo.
3. Patrocinador y colaboradores, se indica la entidad que ha iniciado el estudio, el investigador principal, así como los diferentes colaboradores.
4. Descripción del estudio, incluye un breve resumen de hasta 5.000 caracteres, y una descripción detallada de hasta 32.000.
5. Condiciones y palabras clave, se indica la enfermedad primaria o la condición que se está evaluando y una serie de palabras clave que describen el protocolo.
6. Diseño del estudio, realiza una distinción según si es experimental u observacional. Para el caso observacional, se solicita información acerca de los centros involucrados, si los datos son obtenidos a nivel retrospectivo, prospectivo u otros, así como si se recogen muestras biológicas.
7. Resultados, tanto los primarios como los secundarios u otros. Para cada uno de ellos, se requiere el título, una breve descripción (de hasta 999 caracteres) y la franja en la que se analizan.
8. Elegibilidad, incluye la información descrita en los criterios de inclusión y exclusión definidos en el protocolo del estudio.
9. Contactos, localización e información de los investigadores.
10. Referencias de las publicaciones que se han realizado, así como si existe alguna página web de acceso libre.
11. Subida de documentos, tanto del protocolo del estudio, como del plan de análisis estadístico y/o del consentimiento informado.

### **3.3. Reclutamiento y gestión de los datos**

Una vez oficializada la colaboración con los centros participantes estos ya pueden proceder a la compartición de las variables, definidas en el protocolo del estudio, de una forma totalmente anonimizada. Por lo que cada centro decide el método de anonimización de las imágenes a utilizar y asocia un código único y aleatorizado a cada uno de los pacientes que haga imposible su identificación. Con tal de poder compartir esta información ya anonimizada, el tercer paso ha consistido en la creación de un Servidor Seguro que presenta las siguientes características:

- Utiliza el cliente WinSCP el cual se basa en el protocolo seguro de transmisión de ficheros STFP (Secure Transfer File Protocol), que emplea SSH (Secure Shell).
- El investigador principal de cada uno de los centros sanitarios usa un usuario y contraseña de acceso únicos, que solamente conocen el investigador principal de dicho centro y el promotor del estudio (quién se ha encargado de crearlos y difundirlos).
- El período de reclutamiento ha finalizado el 1 de julio; el 31 de agosto, una vez comprobado que toda la información subida está completa, se ha cerrado el acceso externo al servidor, de forma que ningún usuario fuera de la UPV (Universitat Politècnica de València) puede entrar. En este momento, el firewall propio de la universidad ha sido el encargado de asegurar el correcto aislamiento del servidor.
- Una vez finalizado el estudio y tras la solicitud de cada centro, el promotor se encargará de destruir el material en un período máximo de 7 días.

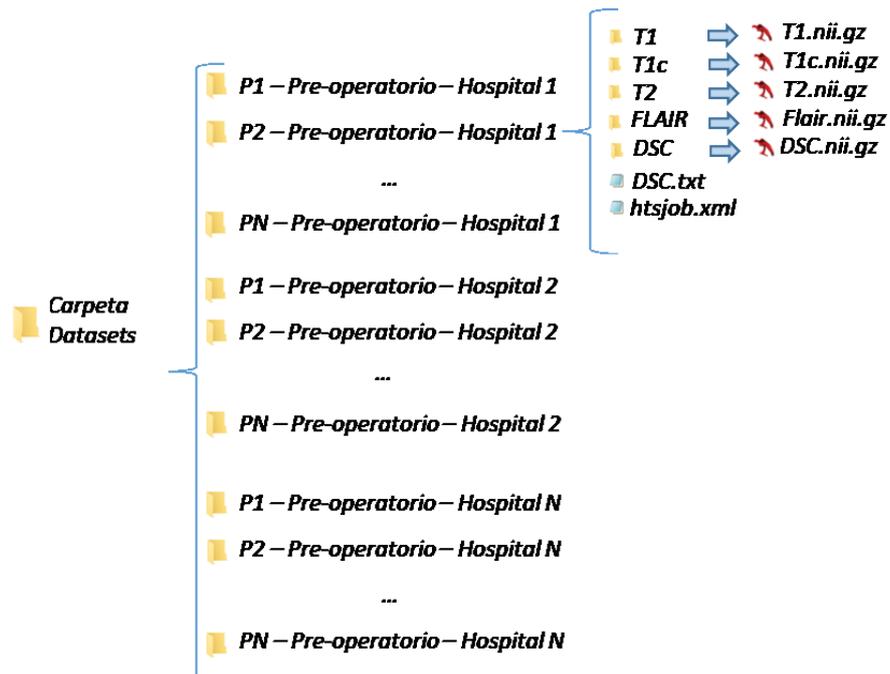
Cada hospital al acceder al Servidor Seguro, con el usuario y contraseña proporcionados por el promotor del estudio, se encuentra una carpeta que solamente contiene el Excel para la subida de las variables. Este permite adjuntar las IRM creándose una carpeta única para cada paciente a nivel local, la cual contiene 3 sub-carpetas (pre-operatorio, post-operatorio y seguimiento) dentro de las cuales hay 5 sub-carpetas más (T1, T1c, T2, Flair y DSC) que ya contienen las imágenes. Tanto estas carpetas creadas automáticamente como el Excel completado, han sido subidos por los hospitales a la carpeta correspondiente del Servidor, antes de la fecha establecida; el 1 de julio.

De forma periódica, se ha realizado un seguimiento de las IRM que los diferentes centros han ido subiendo al Servidor, pues los protocolos de imagen de cada uno de ellos difieren significativamente. La plataforma de OncoHabitats se ha tenido que reajustar para considerar las peculiaridades de cada centro, como ha sido el proceso de anonimización del Hospital de Oslo que difería del resto y provocaba que la herramienta no detectara adecuadamente la zona cerebral. Todos los hospitales han subido las imágenes en el formato DICOM (Digital Imaging and Communication in Medicine). En cuarto lugar, se ha realizado el siguiente proceso sobre las imágenes:

1. Descompresión de las imágenes DICOM usando el software *gdcconv* con el parámetro '-w' el cual indica descompresión de la imagen (Sourceforge | Tool to convert DICOM to DICOM, 2018).

2. Transformación del formato de imagen DICOM a NIfTI (Neuroimaging Informatics Technology Initiative), haciendo uso del software *dcm2nii* con los parámetros '-z' puesto a sí, y '-b' y '-p' puestos a no. El parámetro '-z' puesto a sí indica que la imagen NIfTI creada esté comprimida. El '-b' puesto a no, indica al software que no genere un archivo con el mismo nombre que la imagen NIfTI en formato JSON, proporcionando información adicional sobre el escáner. El '-p' puesto a no, provoca que no se pueda seleccionar entre los dos factores de escala de Philips (NITRC | *dcm2nii*: MainPage, 2018).
3. Clasificación de las IRM. Cada uno de los hospitales participantes presenta un protocolo de imagen diferente, lo cual provoca que el nombre de la imagen NIfTI una vez transformada del formato DICOM, difiera significativamente entre hospitales. Además, imágenes de un mismo hospital presentan nombres diferentes al incluir parámetros de adquisición distintos. Esto dificulta el proceso de automatización que clasifica una imagen NIfTI en su correspondiente modalidad de imagen, la cual podrá ser: T1, T1c, T2, FLAIR o DSC. Por este motivo, se ha tenido que crear un código específico para cada hospital incluyendo sus variaciones internas. Para ello, se ha usado el lenguaje de programación Matlab R2015a.
4. Preparación del conjunto de datos. Los tres procesos anteriores han sido aplicados a todas las IRM, es decir, a las imágenes adquiridas en el pre-operatorio, en el post-operatorio y en el seguimiento.

Tal y como se explicará en la sección 3.4. el lanzamiento de los casos al Servidor se realiza mediante un archivo *batch*. Este debe de encontrarse los datos de una forma específica para ejecutar el análisis HTS adecuadamente. Además, necesita disponer de un fichero '.xml' el cual incluye un identificador para el paciente, su edad y género, así como el TE (Tiempo de Eco) y el TR (Tiempo de Repetición) de la perfusión DSC. Estos dos últimos parámetros también están almacenados en el fichero 'DSC.txt'. En la Figura 4 se muestra un árbol de la organización esperada, donde la 'Carpeta Datasets' será la lanzada al *batch*.



**Figura 4.** Organización de los archivos para el correcto funcionamiento del batch, donde el símbolo amarillo representa la carpeta, el azul el lector de notas (ya sea por tratarse de un archivo '.txt' o bien de un archivo que puede leerse en esta aplicación) y el rojo, el icono del formato de imagen NIfTI

### 3.4. Procesado de los datos

Una vez preparado el conjunto de datos para los pacientes de los hospitales participantes, el quinto paso a realizar ha consistido en el lanzamiento de dichos casos al servidor de OncoHabitats. Dado que el objetivo del presente trabajo consiste en analizar el resultado primario, es decir, la correlación entre la supervivencia global y los marcadores HTS obtenidos en las IRM pre-operatorias, el procesamiento de los datos solamente se realiza para el grupo de imágenes del pre-operatorio. Si se accede la página web de OncoHabitats, y concretamente al servicio HTS, aparece un panel como el de la Figura 5 para insertar cada una de las modalidades de imagen, el TE y el TR de la perfusión DSC e información clínica del paciente (un identificador, su edad y su género).

The screenshot shows the OncoHabitats web interface. At the top, the logo 'ONCOhabitats' is on the left, and navigation links 'Services', 'Solution', 'Technology', 'Team', 'Account', 'Terms of use', and 'Private' are on the right. Below the header, the section 'MR IMAGING' is displayed. A message reads: 'Please, use browse method or drag the images that you want to analyze in each of the following boxes.' There are five dark grey boxes, each with a 'BROWSE' button and a 'help' link. The first four boxes are for 'T1 MRI', 'T1C MRI', 'T1 MRI', and 'FLAIR MRI' respectively. The fifth box is for 'DSC PERFUSION MRI'. Below these boxes, there are two input fields: 'DSC TE:' with the value '22,30' and unit 'ms', and 'DSC TR:' with the value '1450,50' and unit 'ms'. Underneath is the 'CLINICAL INFORMATION' section, which includes radio buttons for 'Patient gender:' (Male, Female, Unknown), an input field for 'Patient age:' with the value '60', and an input field for 'Patient identification:'. At the bottom of this section is a red button labeled 'RUN HTS ANALYSIS'.

Figura 5. Datos requeridos para el análisis HTS en el servidor de OncoHabitats

Con tal de evitar el proceso manual de insertar cada una de las imágenes y la información clínica y de perfusión para cada uno de los pacientes, el desarrollador de OncoHabitats ha implementado un código en Java que permite que el envío de los distintos casos se realice en modo *batch*, es decir, de forma automatizada sin necesidad de intervención del usuario. Se podría decir que la ejecución en *batch* realiza el mismo proceso que el que se haría una vez se clicara sobre el botón 'RUN HTS ANALYSIS', mostrado en la Figura 5. El servidor, una vez procesa un caso, envía un correo al usuario que lo ha lanzado con un informe en formato '.pdf' y una carpeta con los resultados en formato '.zip'. Con tal de no descargar ambos archivos de uno en uno, dicho *batch* posee un parámetro de descarga que guarda en la carpeta correspondiente de cada paciente 'Pi –Pre-operatorio – Hospital i' estos dos archivos automáticamente. Tras descomprimir la carpeta de resultados ('results.zip'), proporcionada por OncoHabitats para cada uno de los pacientes, se observa que está formado por 24 elementos y una carpeta, tal y como se muestra en la Figura 6.

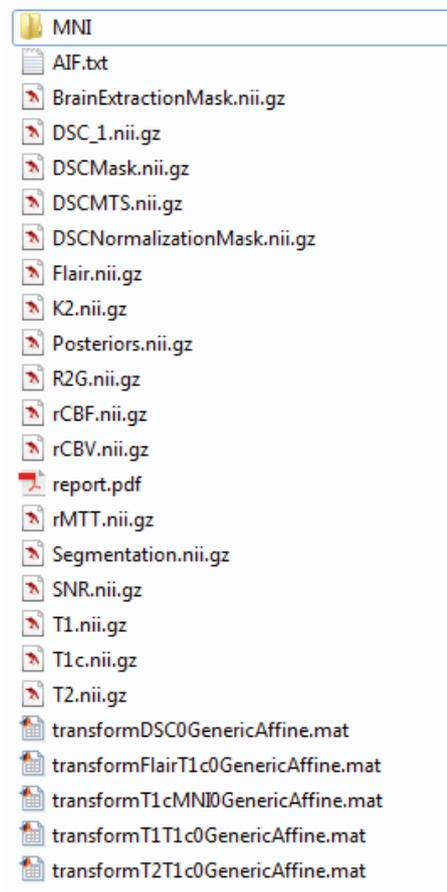


Figura 6. Listado de los archivos contenidos en la carpeta 'results.zip' proporcionada por OncoHabitats

A continuación, se explica brevemente el contenido de aquellos ficheros de la anterior carpeta que han sido utilizados para comprobar si el análisis HTS ha funcionado adecuadamente o no:

- T1c.nii.gz, IRM potenciada en T1 tras la inyección de gadolinio ya registrada al espacio MNI.
- T1.nii.gz, IRM potenciada en T1, registrada al espacio MNI tras la concatenación de la transformación de la T1  $\rightarrow$  T1c  $\rightarrow$  MNI.
- T2.nii.gz, IRM potenciada en T2, registrada al espacio MNI siguiendo el mismo proceso que la T1 (T2  $\rightarrow$  T1c  $\rightarrow$  MNI).
- Flair.nii.gz: secuencia Flair también registrada al espacio MNI siguiendo el mismo proceso que para la T1 y la T2 (Flair  $\rightarrow$  T1c  $\rightarrow$  MNI).
- Segmentation.nii.gz, incluye la segmentación clásica del tumor formada por tres clases: necrosis, tumor activo y edema.
- DSC\_1.nii.gz, primer dinámico de la secuencia de perfusión DSC registrada al espacio MNI registrándose previamente a la T2 (por compartir características de imagen) y concatenando por tanto las siguientes transformaciones: DSC  $\rightarrow$  T2  $\rightarrow$  T1c  $\rightarrow$  MNI.
- rCBV.nii.gz y rCBF.nii.gz son los mapas de perfusión obtenidos de la DSC.
- DSCMTS.nii.gz, es el resultado de la segmentación de los 4 hábitats, además de una clase más que se corresponde con aquellos píxeles que presentan un SNR (Signal to Noise Ratio) muy bajo y que no son incluidos en la segmentación.
- SNR.nii.gz: indica la relación señal a ruido de las curvas gamma de la perfusión. Valores oscuros implican valores cercanos a 0 y, por tanto, que la cantidad de señal es prácticamente la misma que la de ruido.
- R2G.nii.gz: indica el valor del ajuste a la gamma variante el cual permite la eliminación del reflujo del agente de contraste, entre otros factores. Valores más brillantes implican valores cercanos a la unidad y por tanto, mejores ajustes de la curva.

En sexto lugar, se ha creado otro Excel dónde las filas se corresponden con los sujetos de los diferentes hospitales que podrán lanzarse al servidor por disponer de todas las modalidades, y las columnas, con las siguientes variables consideradas de interés para el posterior análisis:

- ID, código numérico utilizado por el hospital para identificar de forma anonimizada cada uno de los pacientes.
- HOSPITAL, puede tomar los siguientes valores: 'Alzira', 'Liege', 'Manises', 'Parma' y 'Vhebron'.
- AGE, valor numérico que podrá tomar valores entre 19 y 100 (incluidos).
- GENDER, 'F' o 'M' dependiendo de si se trata de una mujer o de un hombre, respectivamente.
- EXITUS, valor binario que valdrá 'Y' cuando se conozca la fecha de fallecimiento de paciente. Aunque es cierto que todos los pacientes que han sido incluidos en el estudio están fallecidos, en ocasiones se desconoce su fecha de fallecimiento por no estar registrada en el SIH. Por esta razón, ha sido necesario crear esta columna, que en esos casos valdrá 'N'. A su vez, se ha creado una variable llamada CENSURED, que es la negación de EXITUS, es decir, los pacientes que valen EXITUS 'N' son los que están censurados, CENSURED a 'Y'.
- RMO\_DATE, hace referencia a la fecha en la que se adquirió la primera IRM, es decir, al momento en que el paciente fue diagnosticado de Glioblastoma grado IV.
- EXITUS\_DATE, representa la fecha de fallecimiento del paciente registrada en el SIH.

- FREEZE\_DATE, se corresponde con la fecha del 1 de julio. Será utilizada para el cálculo de la supervivencia en aquellos pacientes censurados (CENSURED, 'Y'). Se ha utilizado este valor por ser la data máxima en que se acepta la subida de información de los pacientes al servidor.
- SURVIVAL, se calcula a través de una condición en la cual se indica que si el valor de la fecha de fallecimiento está vacío se calcule la diferencia entre la fecha de congelación y la fecha de la RMO, pero si no está vacío, se calcule la diferencia entre la fecha de fallecimiento y la fecha de la RMO. De esta forma, se obtiene la supervivencia global del paciente en días.
- MGMT, puede tomar tres valores, 'Positive', 'Negative' o 'Unknown'. Donde el primero representa que el promotor MGMT se encuentra metilado, el segundo que no está metilado y el tercero, que para ese paciente se desconoce la presencia de metilación en el promotor.
- RESECTION, 'Biopsy', 'Total', 'Sub-total' o 'Unknown'. Indica el tipo de resección quirúrgica aplicada sobre el paciente.
- RT\_QT, 'Complete', 'Only QT', 'Only RT', 'Incomplete' o 'Unknown'. Esta variable indica si el tratamiento concomitante se ha realizado de forma completa, si solo se ha dado quimioterapia, o solo radioterapia o bien, si alguna de las dos terapias ha quedado inacabada.
- ADJUVANT\_TMZ, 'Y' o 'N'. Representa la existencia de tratamiento adyuvante, es decir, si al paciente después de la terapia concomitante se le ha dado un segundo bloque de ciclos de temozolomida indefinidos, que finalizan cuando aparece recidiva del tumor, el paciente decide abandonar o bien existe evidencia de ineficacia.
- BVZ, 'Y' o 'N'. Algunos pacientes después de la quimioterapia adyuvante, son sometidos a un tratamiento de segunda línea con un fármaco antiangiogénico tal y como el Bevacizumab.
- PROGRESSION, 'Y' o 'N'. Hace referencia a la existencia de recidiva o reaparición del tumor.
- EXCLUDED, 'Y' o 'N'. El valor que toma esta variable es explicado en la sección 3.5.2.

### **3.5. Análisis**

Este apartado queda dividido en las diferentes tareas que se han llevado a cabo. Para realizar el análisis es necesario disponer del archivo Excel con la información clínica y demográfica de los pacientes de los diferentes hospitales, así como de las imágenes procesadas por OncoHabitats.

#### **3.5.1. Obtención de los marcadores HTS y carga de la información clínica**

Para generar los marcadores HTS a partir de las imágenes procesadas por el servidor OncoHabitats, se ejecuta una función implementada en el software Matlab R2015a. Esta función recorre las distintas imágenes y máscaras resultantes y obtiene los marcadores de perfusión que representan a cada uno de los hábitats.

Como resultado se genera una matriz de 4 dimensiones en la que la primera dimensión representa los diferentes pacientes, la segunda el número de hábitats obtenidos (que asciende a 6, por incluir a parte del HAT, LAT, IPE y VPE; el tumor activo y el edema), la tercera indica la cuantificación de la perfusión, es decir, si se trata del rCBV o del rCBF, y la cuarta, la métrica utilizada, es decir, el máximo del mapa cuantificado. Seguidamente, se citan los pasos que realiza esta función utilizando los resultados que ofrece OncoHabitats, donde la extensión '.nii' hace referencia al formato de imagen NIfTI, y '.gz' al anterior formato, pero comprimido.

1. Carga de la segmentación clásica (Segmentation.nii.gz), de la segmentación de los hábitats (DSCMTS.nii.gz) y de los mapas de perfusión (rCBV.nii.gz y rCBF.nii.gz).
2. Para el rCBV:
  - 2.1. Obtención de los valores de perfusión en el tumor activo concatenando el valor del rCBV en los hábitats HAT y LAT.
  - 2.2. Obtención de los valores de perfusión en el edema, concatenando el valor del rCBV en los hábitats IPE y VPE.
  - 2.3. Obtención máximo (percentil 90) de los valores de perfusión almacenados para cada hábitat, para el tumor activo y para el edema.
3. Repetición del paso 2, para el rCBF.

También se ha creado otra función con el software Matlab que lee y carga las variables del Excel y que transforma el valor 'Y' de las variables lógicas a '1', y el valor 'N' a '0'.

### 3.5.2. Definición de los casos a excluir

Desde hace más de una década se están estudiando los factores que afectan el pronóstico de los pacientes que sufren Glioblastoma. Los más citados se muestran a continuación:

- Resección tumoral: aquellos pacientes sometidos a una resección quirúrgica completa o total presentan un mejor pronóstico que los que sufren una cirugía sub-total. Siendo el más desfavorable el que presentan los pacientes sometidos a biopsia (Nikolov V. et al., 2018).
- Localización tumoral: los pacientes con tumores en el lóbulo frontal presentan tiempos de supervivencia más largos que los que lo tienen en los lóbulos temporal o parietal.
- Edad del paciente: los pacientes menores de 40 años presentan un mejor pronóstico.
- Estado del paciente a través del KPS (Karnofsky Performance Status): valores altos implican valores de supervivencia más elevados.

De hecho, en un estudio realizado con 645 pacientes diagnosticados de Glioblastoma, los mejores ratios de supervivencia se obtuvieron en pacientes que satisfacían al menos tres de las siguientes características: < 40 años de edad, alto KPS, tumores localizados en el lóbulo frontal y resección total, con un valor mediano de 17 meses (Simpson J. R. et al., 1993).

La anterior información, junto con la metodología seguida en el estudio piloto, han propiciado la creación de unos criterios de exclusión, independientes a los definidos en el protocolo del estudio, pues estos son aplicados sobre los pacientes ya reclutados. Se dividen fundamentalmente en dos grupos:

1. Información del tratamiento: los pacientes a los que se les ha realizado una biopsia en lugar de una resección quirúrgica, así como los que únicamente han soportado radioterapia o quimioterapia, o incluso ninguna de estas dos terapias, son excluidos. Pues el mero hecho de no haber estado tratados por el Stupp estándar provoca que su supervivencia sea menor, independientemente del proceso angiogénico que presenten en las regiones de tumor activo y de edema.
2. Calidad de las IRMs: en ocasiones, las imágenes presentan artefactos debidos al movimiento del paciente que impiden su correcto procesamiento; pues presentan un SNR muy bajo. Los sujetos cuyas IRM son de tan baja calidad, deben ser descartados, ya que los hábitats obtenidos tienen una pésima calidad, y pueden distorsionar los resultados del análisis.

Esta es la razón por la que al Excel que incluye la información clínica de todos los pacientes correctamente procesados por OncoHabitats, se le ha añadido una columna más de valor lógico llamada EXCLUDED, que vale 'Y' para los casos excluidos, que son aquellos que cumplan el primer y/o el segundo requisito, es decir, los que no han estado sometidos al Stupp estándar, y/o presentan IRM de muy baja calidad. Cabe destacar que algunos sujetos pueden estar incompletos y por tanto, se desconoce la información asociada al tratamiento estándar (si han sufrido una resección, si les han tratado tanto con radioterapia, como con quimioterapia, etc.). Estos son incluidos para el análisis de los resultados, aunque son marcados para seguimiento.

Para estudiar la presencia de *outliers* se ha realizado una representación de los datos en forma de diagrama de dispersión, situando en el eje x el valor del marcador y en el y la supervivencia. En base a esta metodología, aquellos casos que pasen a considerarse *outliers* sufrirán una actualización en la variable EXCLUDED del Excel, pasando de valer 'N' a 'Y'. Una vez obtenido el diagrama de dispersión, se considera como posible *outlier* aquel valor que se sale de la tendencia esperada, la cual está relacionada con el hecho de que valores bajos de perfusión (es decir, bajos niveles de angiogénesis) están relacionados con altos niveles de supervivencia. A continuación, para asegurarse de que se trata de un verdadero *outlier* se realiza el siguiente procedimiento:

1. Se obtiene su valor de supervivencia en el eje y para identificar el paciente de interés.
2. A través del Excel se obtiene su identificador y el hospital al que pertenece.
3. Se analizan los resultados obtenidos con tal de comprobar si el análisis HTS ha fallado en alguno de sus pasos al utilizar imágenes de muy baja calidad. Para ello, se utiliza el software de imagen ITKSnap y se realiza el siguiente proceso:
  - a. Se abre la T1c, ya registrada al espacio MNI, y sobre ella la Segmentation.nii.gz (dónde la clase roja se corresponde con necrosis, la clase verde con edema, y la azul con tumor activo). Se comprueba si la segmentación del núcleo del tumor, es decir, de la necrosis y del tumor activo, es adecuada.

- b. Se abren las secuencias Flair y T2, ambas registradas al espacio MNI, y sobre ellas la Segmentation.nii.gz. Se comprueba si el edema está bien segmentado, pues en estas modalidades de imagen se ve muy diferenciado, y en la T2, si la necrosis está bien delineada, pues aparece muy brillante, incluso más que el edema.
  - c. Se abre la DSC\_1, el primer dinámico de la perfusión, y se observa si el registro está bien hecho. Para ello, se marca un punto de una estructura cerebral (como podría ser el ventrículo) en la T1c y se comprueba si coincide con el punto que se marca automáticamente en la DSC\_1.
  - d. Se abren el rCBV y el rCBF ajustando el mapa de colores con el que se visualizan y saturando la imagen, es decir, se pone un mapa de colores dónde rojo indica alta perfusión y azul baja, y se ajusta el contraste. Se comprueba si el anillo tumoral presenta una alta perfusión. Si esta no se observa podría deberse a una baja calidad de la imagen de perfusión que provoque que la extracción del mapa sea de baja calidad, o bien que el tumor presente un foco de hemorragia (el cual en la DSC\_1 se ve muy oscuro).
  - e. Se abre el SNR. En condiciones normales, el SNR para la curva gamma del edema es muy bajo, porque comprime los vasos y dificulta el paso del agente de contraste, que es finalmente la representación de esta función gamma. A su vez, la necrosis también presenta un SNR bajo porque en esta región existe mucha agua, pero no hay prácticamente sangre, se trata de una zona necrótica. Sin embargo, la presencia de SNRs bajos en otras zonas tumorales, indica la existencia de una baja calidad en la imagen de perfusión, la cual dificulta el cálculo de los hábitats HTS. El umbral de SNR que utiliza el análisis HTS es de 3, es decir, los píxeles de la imagen con un SNR inferior a 3 no son utilizados para el cálculo de los hábitats y dan lugar a una quinta clase en el fichero DSCMTS.nii.gz. Por tanto, se comprueba si el SNR para la zona del tumor es alto o bajo.
  - f. Se abre el R2G y de igual forma al SNR, se comprueba si alcanza valores altos en la zona del tumor y por tanto, si se ha realizado un correcto ajuste.
  - g. Se abren los hábitats DSCMTS sobre la rCBF visualizada en escala de grises. Las clases son: rojo, HAT; verde, LAT; azul, IPE; amarillo, VPE; y azul celeste (píxel no cuantificable por presentar un SNR inferior a 3).  
Se comprueba si el HAT coincide con la zona de mayor perfusión del rCBV y del rCBF y si la presencia de clase azul celeste es prácticamente inexistente.
4. Si la calidad de las imágenes es adecuada, se analizan sus variables clínicas para ver si se trata de un paciente con un Glioblastoma secundario (es decir, que deriva de un astrocitoma de bajo grado preexistente) o bien si ha sido tratado con alguna terapia de segunda línea de uso poco frecuente.

### 3.5.3. Análisis exploratorio de los datos

Previamente al cálculo del resultado primario se realiza un análisis exploratorio de los datos que permitirá estudiar en profundidad los casos que han sido subidos al Servidor. Su realización puede poner de manifiesto relaciones entre diferentes variables que, aunque no son el punto de mira del estudio multicéntrico, pueden aportar información muy valiosa e útil. Cabe destacar que este análisis se realizará solamente con los casos que presentan el tratamiento Stupp estándar completo e imágenes de buena calidad, es decir, que no son considerados casos excluidos u *outliers*.

Concretamente, en el estudio piloto se evaluó como marcador el valor máximo (90 percentil) de los valores de perfusión normalizados (i.e. rCBV y rCBF) dentro de cada uno de los hábitats obtenidos (i.e. HAT, LAT, IPE, VPE) mostrando una correlación significativa con la supervivencia de los pacientes, pero no se evaluaron otras métricas como la media y la mediana. Además, el mapa rCBV máximo para el hábitat HAT fue el que presentó una correlación más significativa con la supervivencia de los pacientes. Por ello, los diagramas de dispersión que son citados en este apartado presentan en el eje x el valor máximo del rCBV para el HAT.

En primer lugar, se realiza una representación de los datos en forma de diagrama de dispersión, de igual forma que en la búsqueda de *outliers*, pero se incluye una tercera variable: el hospital al que pertenecen. Pues, los diagramas de dispersión pueden representar más de 2 variables haciendo uso de una escala de colores o de diferentes formas para los casos representados. Con este análisis se pretende observar si existen diferencias entre centros, en el sentido, de que los datos de un hospital se distribuyen diferente al resto o bien, los datos se distribuyen homogéneamente, independientemente del centro del que proceden, etcétera. Esta representación es también muy útil para comprobar si los casos que no siguen la tendencia exponencial esperada (alta perfusión, baja supervivencia) pertenecen a un único hospital y, por tanto, deben de ser estudiados (pues diferencias en el protocolo de adquisición de imagen podrían provocar que los marcadores obtenidos no sean comparables entre sí).

En segundo lugar, al diagrama de dispersión que representa la supervivencia respecto el marcador, se le añaden dos variables más: el género y la edad. Con esta representación se busca corroborar si el conjunto de datos que conforma el estudio multicéntrico presenta las diferencias de prevalencia de Glioblastoma de acuerdo al género y al grupo etario que han sido reportadas. En el informe estadístico CBTRUS del 2010 al 2014 se obtuvo que el Glioblastoma es 1.58 veces más común en hombres que en mujeres, en términos de incidencia (Ostrom Q. T. et al., 2017). En la plataforma de Orphanet se indica que el Glioblastoma tiende a ocurrir en adultos de entre 45 y 70 años de edad, siendo 5 veces más prevalente en las personas de más de 65 años en comparación con los que tienen entre 20 y 64 (Orphanet | Glioblastoma, 2018).

Atendiendo a la información clínica de los sujetos que conforman la cohorte del estudio, en tercer lugar, se ha considerado también de especial interés representar el diagrama de dispersión junto con otras tres variables. La primera de ellas se corresponde con el tipo de cirugía realizada, es decir, si se ha podido hacer una resección completa o sub-total del tumor. La segunda variable, está asociada con la presencia de quimioterapia adyuvante, es decir, analiza si al paciente además de la quimioterapia concomitante, se le ha dado una segunda sesión de quimioterapia. La tercera y última, está referida al tratamiento de segunda línea, el cual se corresponde con la terapia antiangiogénica con Bevacizumab. Lo esperable, tal y como se muestra en la literatura, es que los pacientes que han sufrido resección total presenten una supervivencia mayor, y por tanto, se encuentren en la zona superior del gráfico, y lo mismo para los que han estado sometidos a tratamiento adyuvante y a tratamiento de segunda línea. A continuación, se ha realizado un análisis de supervivencia a través del estimador de Kaplan–Meier con tal de analizar la relación de las tres variables anteriores con la supervivencia global del paciente. Se ha hecho uso del test logrank para estudiar la significancia de la correlación entre ambas variables. Con todo esto, se pretende estudiar si estas variables presentan una correlación intrínseca con la supervivencia global del paciente, aportando información útil para la gestión del Glioblastoma.

#### 3.5.4. Obtención del resultado primario

El presente trabajo se ha centrado en estudiar el *outcome* primario que se corresponde con analizar si los marcadores HTS obtenidos de las IRMs pre-operatorias, presentan una correlación significativa con la supervivencia global del paciente. La definición de este primer resultado deriva del hallazgo obtenido en el estudio piloto publicado en Radiology (Juan – Albarracín J. et al., 2018), el cual define que existe una correlación significativa entre los marcadores HTS y la supervivencia global de los pacientes procedentes de un único centro, en el momento del diagnóstico. El propósito primario del multicéntrico consiste en comprobar si esta correlación se mantiene al incluir sujetos procedentes de diferentes centros sanitarios, con protocolos de adquisición y equipos de RM diferentes. Es decir, se busca comprobar si la correlación entre los marcadores HTS y la supervivencia global del paciente está libre del sesgo procedente de la variabilidad innata inter-centros, dado que en el estudio piloto únicamente se comprobó que estaba libre de la variabilidad intra-centro.

Para visualizar el grado de correlación existente entre la supervivencia global del paciente y los diferentes marcadores (máximo del rCBV y del rCBF en los 4 hábitats), también se ha hecho uso de la representación de los datos en forma de diagrama de dispersión. Seguidamente, se ha realizado un modelado de riesgos proporcionales de Cox, también conocido como regresión de Cox, con tal de investigar la significancia de la correlación entre cada marcador y la supervivencia. Concretamente, se ha evaluado el p-valor y los ratios de riesgo proporcionales, más conocidos por su nombre en inglés *hazard ratios*, con un intervalo de confianza del 95%. Este ratio indica el incremento de probabilidad de que se produzca el suceso muerte cuando el valor de la variable pronóstica aumenta en una unidad.

Por ejemplo, un *hazard ratio* de 1.22 para la variable pronóstica  $rCBV_{max}$  en el HAT indica un aumento de un 22% de probabilidad de que se produzca el suceso muerte si aumenta el rCBV máximo del HAT en una unidad. Es importante considerar que el aumento en una unidad en una variable pronóstica tiene un impacto diferente dependiendo del hábitat en el que se produzca (por ejemplo rCBV en HAT o rCBV en VPE), puesto que las características vasculares/fisiológicas son diferentes. Por ejemplo, aumentar una unidad en el rCBV máximo del edema implica unas consecuencias más graves que aumentar una unidad en el rCBV máximo del tumor activo.

Finalmente, también se ha realizado un análisis de supervivencia a través del estimador Kaplan – Meier para todos los marcadores junto con el contraste de hipótesis logrank. Con este análisis se pretende evaluar si existe una diferencia significativa entre ambas poblaciones. Por ejemplo, si se está evaluando el estimador para el máximo del rCBV en el HAT, se está estudiando si la diferencia entre las dos poblaciones, es decir, entre la que presenta un rCBV máximo alto (valor por encima de la media) y la que posee un rCBV máximo bajo (valor por debajo de la media), es o no significativa. Lo ideal sería que la diferencia fuese significativa, pues esto estaría indicando que el marcador es capaz de separar dos poblaciones según la supervivencia y, por tanto, se estaría hablando de un posible marcador pronóstico, que ante la entrada de un nuevo paciente podría, en función del valor de su marcador hemodinámico, indicar a qué población pertenece y por tanto, definir su pronóstico. Tal y como se obtuvo en el estudio piloto, lo esperable es que, al menos, el rCBV y el rCBF máximos para el HAT presenten, tras realizar el logrank, un p-valor significativo.

## **CAPÍTULO 4. RESULTADOS**

En este capítulo se definen los resultados alcanzados en cada una de las secciones del capítulo 3.

### **4.1. Diseño del estudio**

El estudio clínico observacional, retrospectivo, multicéntrico e internacional ha sido iniciado en febrero de 2018 y tiene una duración de 10 meses; hasta diciembre de 2018. La fecha máxima para el reclutamiento de pacientes ha sido el 1 de julio de 2018.

Atendiendo a los criterios de selección definidos en el protocolo, los pacientes que han sido incluidos en el estudio son aquellos diagnosticados de Glioblastoma clasificado como grado IV según la OMS, con una edad superior a 18 años, con un KPS superior al 70% (lo que implica que el paciente es capaz de cuidarse por sí solo) y que disponen de las modalidades de RM citadas en la sección 3.1. en los diferentes períodos de tiempo; en el momento del diagnóstico (en el pre-operatorio), después de la cirugía (en el post-operatorio) y en seguimiento (dónde se incluirán las IRM adquiridas si el paciente ha sufrido una progresión de la enfermedad).

A través de colaboraciones previas al estudio y realizando una búsqueda exhaustiva de los centros sanitarios con interés por investigar en Glioblastoma, se ha conseguido el correo electrónico de los responsables y se les ha enviado una invitación en la que se explica de forma breve las bases del estudio y el propósito que se pretende alcanzar. Algunos hospitales, pese a mostrar un gran interés en colaborar en el estudio, no han podido hacerlo porque en su protocolo de imagen, no adquirirían alguna de las cinco modalidades requeridas. Este es el ejemplo del Taipei Medical University Hospital (perteneciente a Taiwán) o bien, del St George's Hospital (perteneciente a Londres). Finalmente, el número de centros participantes ha sido siete, los cuales pertenecen a cuatro países diferentes: España, Bélgica, Parma y Noruega. Estos hospitales son:

- Hospital Universitario de la Ribera
- Hospital de Manises
- Hospital Clínic de Barcelona
- Hospital Vall d'Hebron
- Centre Hospitalier Universitaire de Liège
- Oslo University Hospital
- Servizio Sanitario Regionale Emilia – Romagna, Azienda Ospedaliero – Universitaria di Parma

#### **4.2. Formalización del estudio**

Los cuatro primeros hospitales del anterior listado, pertenecen a España, y aunque con la firma de un CE habría sido suficiente, tanto el Clínic de Barcelona, como Manises y la Vall d’Hebrón han emitido una aprobación del CE su hospital, al ser un requisito indispensable a nivel interno para poder oficializar la colaboración con la universidad. La excepción ha sido el Hospital Universitario de la Ribera el cual, con disponer de la aprobación del estudio por parte de cualquier CE español, ha tenido suficiente. Cabe destacar que, aunque el CE del Hospital de Manises es el mismo que el del Hospital Universitari i Politècnic de la Fe, el cual aprobó inicialmente el protocolo del estudio, ha sido necesario emitir un nuevo documento, porque la primera aprobación se realizó en el 2016 y era necesario disponer de una más actualizada. Los tres últimos hospitales pertenecientes a Bélgica, Noruega y Parma, respectivamente, han tenido que solicitar obligatoriamente la aprobación del estudio por sus CEs. En la Tabla 5, se indica la fecha en la que se ha creado cada una de estas aprobaciones. En el presente trabajo, se ha realizado el seguimiento y el control necesarios para obtener las aprobaciones emitidas en el 2018.

| <b>HOSPITAL PARTICIPANTE</b>                        | <b>FECHA EMISIÓN APROBACIÓN POR CE</b> |
|---|--|
| <b>Hospital Universitario de la Ribera</b>          | -                                      |
| <b>Hospital de Manises</b>                          | 09/05/2018                             |
| <b>Hospital Clínic de Barcelona</b>                 | 28/07/2017                             |
| <b>Hospital Vall d’Hebron</b>                       | 22/12/2017                             |
| <b>Centre Hospitalier Universitaire de Liège</b>    | 09/01/2018                             |
| <b>Oslo University Hospital</b>                     | 27/04/2018                             |
| <b>Azienda Ospedaliero – Universitaria di Parma</b> | 24/04/2018                             |

*Tabla 5. Fecha de emisión de la aprobación del estudio por parte del CE de cada hospital participante*

El 20 de febrero se ha creado la solicitud para la clasificación del estudio clínico por parte de la AEMPS, quienes 2 días después han emitido su resolución, indicando que el estudio clínico es de tipo NO-EPA. Pues, el medicamento no es el factor de exposición, pero se recoge información relacionada con el tratamiento al que ha estado sometido el paciente. En la Figura 7 se muestra dicha clasificación.



ASUNTO: RESOLUCIÓN DEL PROCEDIMIENTO DE CLASIFICACIÓN DE ESTUDIO CLÍNICO O EPIDEMIOLÓGICO  
 DESTINATARIO: D<sup>a</sup> FUENSANTA BELLVÍS BATALLER

Vista la solicitud-propuesta formulada con fecha 20 de febrero de 2018, por D<sup>a</sup> FUENSANTA BELLVÍS BATALLER, para la clasificación del estudio titulado "Multicentre validation of Hemodynamic MTS biomarkers from preoperative and postradioteraphy MRI in Patients with Glioblastoma: predictors of overall survival", y cuyo promotor es D. JUAN M GARCÍA GÓMEZ, se emite resolución.

El Departamento de Medicamentos de Uso Humano de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS), de conformidad con los preceptos aplicables, <sup>(1)</sup> RESUELVE clasificar el estudio citado anteriormente como "Estudio Observacional No Posautorización" (abreviado como No-EPA).

Figura 7. Clasificación del estudio por parte de la AEMPS

En cuanto a la firma del MTA, sí ha sido necesaria para los 7 hospitales participantes. Por esta razón, se ha creado un documento adaptado a cada uno de ellos, firmado antes del 1 de julio, que es la fecha máxima en la que se acepta información de los sujetos participantes. En la Tabla 6, se muestra la fecha en la que se ha firmado dicho documento por ambas partes, la universidad y el centro sanitario. El contrato tanto con el hospital de Liège como con el de Oslo no está sometido a los tribunales de Valencia, si no a los belgas y a los noruegos, respectivamente. Por esta razón ha sido necesaria la firma por parte del promotor del estudio, de 2 compromisos de financiación en caso de litigio. Además, el tipo de contrato que se ha firmado con el hospital de Manises difiere del resto, aunque incluye la misma información descrita en las cláusulas del MTA. Esto se debe a que su CE tiene un único modelo de transferencia de material válido para los estudios no posautorización de tipo observacional.

| HOSPITAL PARTICIPANTE                        | FECHA FIRMA MTA |
|--|-----------------|
| Hospital Universitario de la Ribera          | 23/02/2018      |
| Hospital de Manises                          | 04/06/2018      |
| Hospital Clínic de Barcelona                 | 06/03/2018      |
| Hospital Vall d'Hebron                       | 09/03/2018      |
| Centre Hospitalier Universitaire de Liège    | 12/02/2018      |
| Oslo University Hospital                     | 28/06/2018      |
| Azienda Ospedaliero – Universitaria di Parma | 04/05/2018      |

Tabla 6. Fecha de firma del contrato MTA

También el 20 de febrero, el estudio multicéntrico ha sido publicado en ClinicalTrials.gov. Previamente, se ha insertado toda la información requerida por la plataforma. El identificador único del estudio es el NCT03439332 y toda la información relacionada se encuentra en el siguiente link: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03439332>. Dado que los hospitales participantes se han ido sumando después de esta fecha, se ha ido actualizando la información publicada, siendo el 7 de setiembre el último día que se ha realizado un cambio. Gracias a esta publicación, el portal sobre enfermedades raras y medicamentos huérfanos que constituye un consorcio de 40 países en todo el mundo, Orphanet, ha mostrado interés en el estudio y se ha puesto en contacto con la coordinadora para publicarlo. Esta, tras revisar y completar la información que los encargados de [Orphanet](#) habían elaborado ha permitido su publicación en este otro portal, vigente desde el pasado mayo.

#### **4.3. Reclutamiento y gestión de los datos**

Los casos pertenecientes al hospital de Oslo y al Clínic de Barcelona han sido tratados de forma diferente a los del resto de hospitales. Por un lado, a los casos de Oslo se les ha aplicado los pasos 1, 2, 3 y 4; descompresión de las imágenes y conversión a formato NIfTI, clasificación y preparación, respectivamente. Sin embargo, al lanzarse a OncoHabitats se ha visto que existe un problema en la identificación del tejido cerebral, debido al método de anonimización utilizado por este hospital. De forma que, OncoHabitats está siendo actualizado por el desarrollador de la tecnología, que dará respuesta a inicios de octubre. Por otro lado, los casos del Clínic de Barcelona no han sido subidos adecuadamente al Servidor, pues los instantes temporales no han sido separados, y debido al método de anonimización, no se puede recuperar la fecha de las imágenes y, por tanto, no se puede distinguir a qué momento temporal pertenecen. Aunque el investigador del hospital lo está analizando en la fecha de redacción de este estudio, no dará respuesta hasta finales de setiembre. Por estas razones, los casos de ambos hospitales no son incluidos en los análisis exploratorio y del resultado primario expuestos en el presente trabajo. Si bien es cierto, para la fecha esperada de finalización del estudio, estos problemas ya se habrán corregido y sí serán incluidos todos los sujetos.

El hospital de Parma, en comparación con el resto, presenta la peculiaridad de que no adquiere IRM potenciadas en T2. En contrapartida, siempre adquiere DWI. Dado que esta secuencia de difusión contiene una componente con las mismas características de imagen que la potenciación T2, el desarrollador de la tecnología de OncoHabitats ha creado una función capaz de extraer dicha componente de la imagen de difusión, para que sea utilizada como una IRM – T2. Gracias a este método, el hospital de Parma ha podido ser colaborador del estudio. Además, en algunos casos de Liège se presentaba la misma problemática, la cual ha sido también correctamente solucionada.

Tras el 1 de julio, fecha máxima de aceptación de información de los pacientes, se ha realizado un análisis exhaustivo del número de sujetos subidos por cada hospital al Servidor, así como del número de pacientes de los que se dispone de las 5 modalidades de imagen requeridas en el protocolo. La Tabla 7 muestra dicha información.

| HOSPITAL PARTICIPANTE                        | PACIENTES SUBIDOS | PACIENTES INCLUIDOS EN EL ESTUDIO | PACIENTES CON LAS 5 MODALIDADES DE IMAGEN |
|--|-------------------|-----------------------------------|---|
| Hospital Universitario de la Ribera          | 27                | 27                                | 10  |
| Hospital de Manises                          | 16                | 16                                | 15  |
| Hospital Vall d’Hebron                       | 47                | 47                                | 37  |
| Centre Hospitalier Universitaire de Liège    | 60                | 60                                | 17  |
| Azienda Ospedaliero – Universitaria di Parma | 51                | 51                                | 49  |
| Hospital Clínic de Barcelona                 | 54                | 0                                 | -   |
| Oslo University Hospital                     | 50                | 0                                 | -   |
|  | <b>305</b>        | <b>201</b>                        | <b>128</b>                                |

*Tabla 7. Pacientes subidos por cada uno de los hospitales y pacientes que disponen de las 5 modalidades de imagen en el momento del diagnóstico*

Si se analizan los valores de la Tabla 7 se observa que el número total de pacientes es de 305. De los cuales 104 son excluidos al pertenecer al Clínic de Barcelona y a Oslo, y presentar la problemática anteriormente citada. De los 201 casos restantes, únicamente 128 pueden ser incluidos en el estudio al disponer de las 5 modalidades de imagen requeridas para el análisis HTS. De forma que el 36.32% de los casos (considerando como cohorte total el valor de 201) han sido descartados de la muestra que será lanzada al Servidor.

#### **4.4. Procesado de los datos**

Los 128 casos mostrados en la Tabla 7 han sido organizados siguiendo la estructura de la Figura 4. De esta forma, la ‘Carpeta datasets’ ha sido procesada automáticamente a través del *batch* para obtener los hábitats y los marcadores para cada uno de los tumores presentes en estos pacientes.

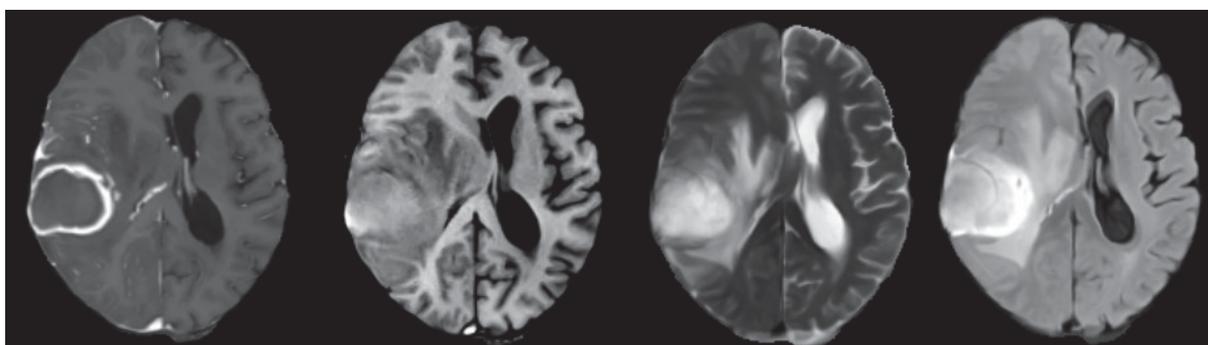
Previamente al estudio de la carpeta 'results.zip' es necesario comprobar si ha habido algún caso de los 128 lanzados que ha fallado. En la Tabla 8 se muestra el número de casos por hospital que no ha finalizado el análisis HTS en el servidor de OncoHabitats. Suele deberse, principalmente, a un exceso del tiempo máximo predefinido, probablemente debido a una complicación en el paso de registro, bien rígido o afín.

| HOSPITAL PARTICIPANTE                        | PACIENTES CON LAS 5 MODALIDADES DE IMAGEN | PACIENTES PROCESADOS POR ONCOHABITATS |
|--|---|---------------------------------------|
| Hospital Universitario de la Ribera          | 10  | 10                                    |
| Hospital de Manises                          | 15  | 14                                    |
| Hospital Vall d'Hebron                       | 37  | 35                                    |
| Centre Hospitalier Universitaire de Liège    | 17  | 16                                    |
| Azienda Ospedaliero – Universitaria di Parma | 49  | 44                                    |
|  | <b>128</b>                                | <b>119</b>                            |

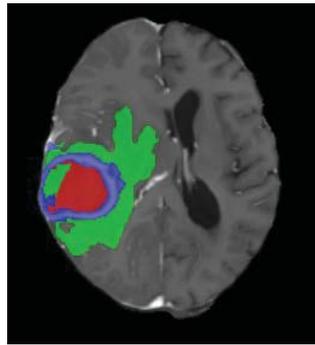
*Tabla 8. Número de casos incluidos en el estudio y número de casos que han sido correctamente procesados por el servicio HTS de OncoHabitats*

En la Tabla 8, se observa que, de un total de 128 casos lanzados, el número final de casos que van a ser analizados es de 119. Por tanto, del total de casos incluidos en el estudio, 201, el resultado primario se calculará sobre el 59.20%, quedando inutilizados el 40.80% (de este porcentaje, el 4.48% se debe a un fallo en el servidor y el 36.32% a la inexistencia de alguna de las modalidades de imagen).

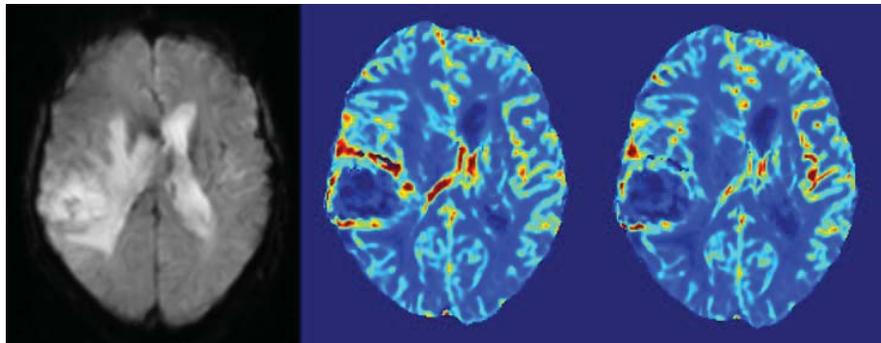
En las Figuras 8, 9, 10 y 11 se muestran capturas de pantallas para un corte axial de cada una de las imágenes que son generadas tras el análisis HTS almacenadas en la carpeta 'results.zip', para un sujeto aleatorio: el paciente 8 del hospital de Liège.



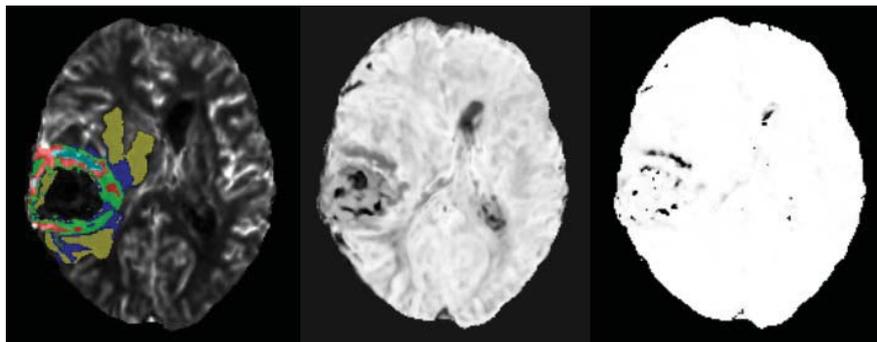
*Figura 8. T1c, T1, T2, Flair y DSC para el paciente 8 del hospital de Liège, todas ellas registradas al espacio MNI*



**Figura 9.** Segmentación clásica del tumor sobre la imagen T1c para el paciente 8 de Liège, donde la clase roja representa la necrosis, la azul el tumor activo y la verde el edema



**Figura 10.** DSC, rCBV y rCBF para el paciente 8 de Liège, donde los mapas de perfusión se encuentran mostrados con el mapa de colores 'jet' y no en escala de grises



**Figura 11.** Segmentación HTS sobre el rCBF, SNR y R2G para el paciente 8 de Liège

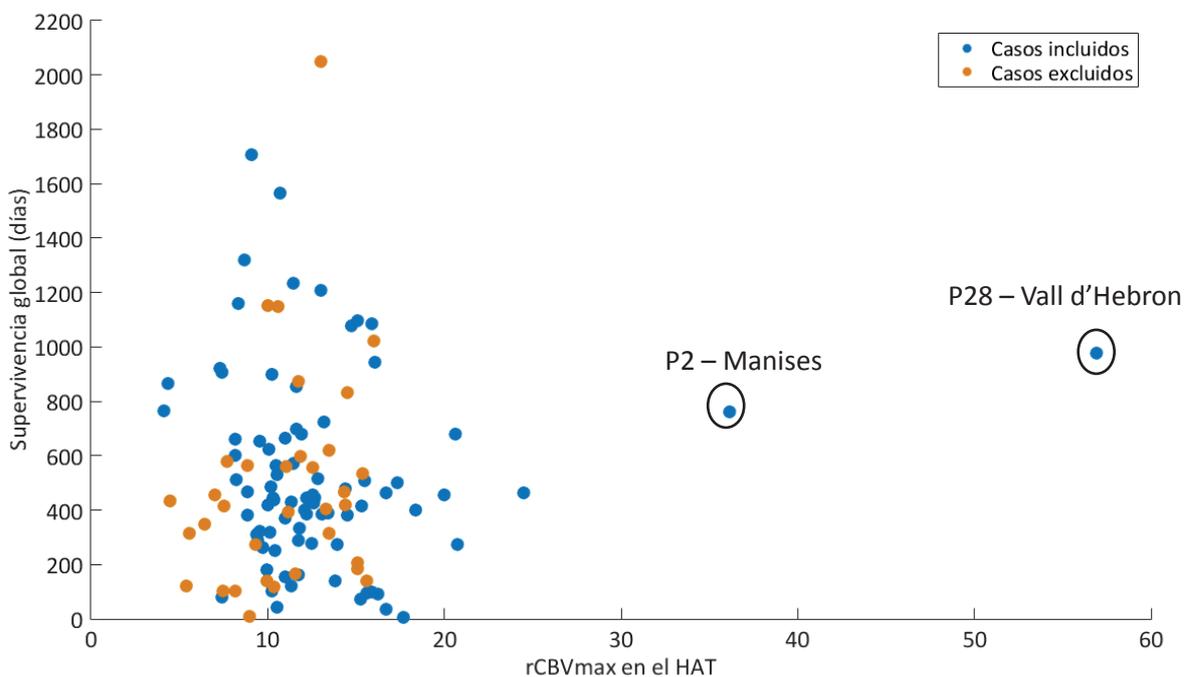
## 4.5. Análisis

### 4.5.1. Marcadores HTS

Una vez procesadas las imágenes proporcionadas por el servidor OncoHabitats se obtiene una matriz de datos relativa a los marcadores HTS. Esta tiene un tamaño de  $119 \times 6 \times 2 \times 1$ . Pues el número de pacientes que han funcionado adecuadamente tras lanzarse a OncoHabitats es de 119 (tal y como muestra la Tabla 8), existen 4 hábitats más el tumor activo y el edema, se ha calculado el rCBV y el rCBF a partir de la imagen de perfusión y sobre estos mapas, se ha obtenido su valor máximo.

### 4.5.2. Casos excluidos

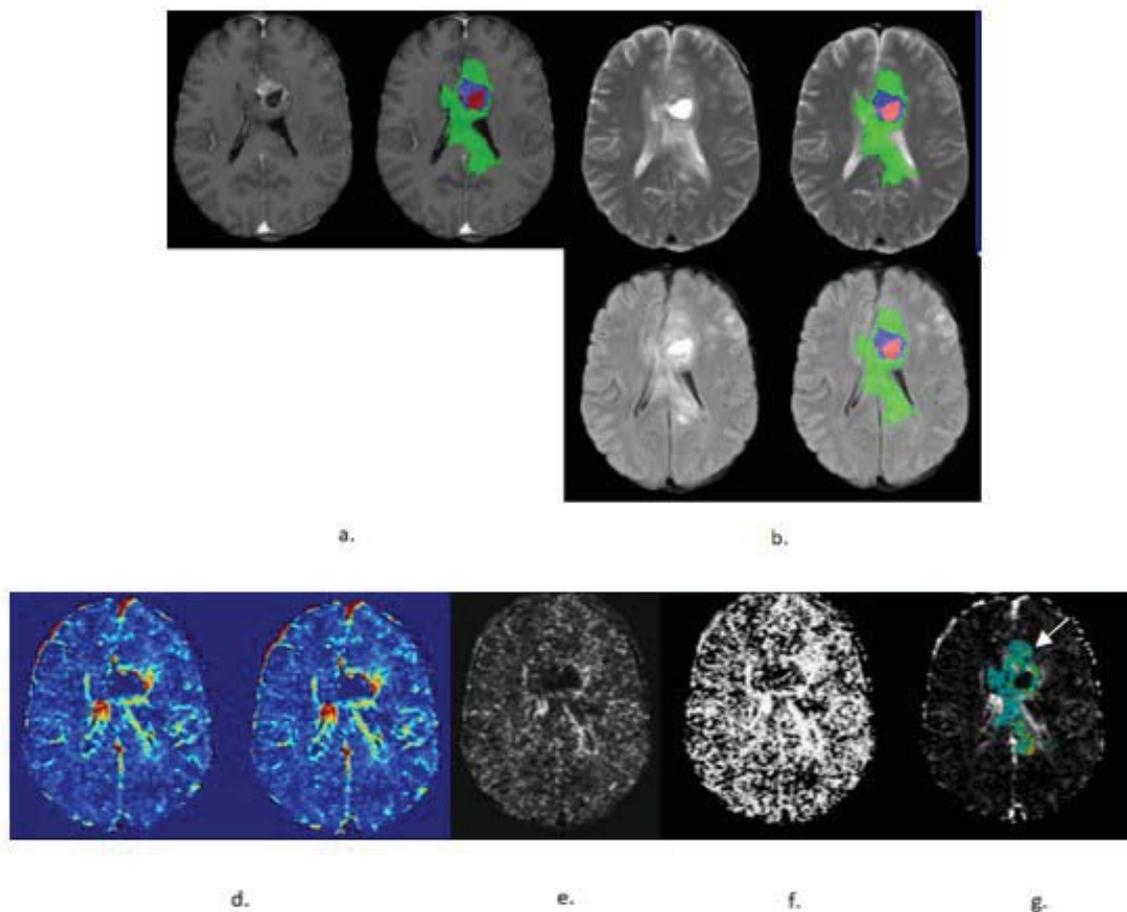
Atendiendo al primer criterio de exclusión definido en la sección 3.5.2., de los 119 sujetos, 35 han sido excluidos por no satisfacer el tratamiento Stupp estándar. En la Figura 12 se muestra el diagrama de dispersión de todos los casos haciendo uso del valor máximo del rCBV obtenido en el hábitat HAT. Los puntos naranjas se corresponden con los 35 casos excluidos al presentar el tratamiento Stupp estándar incompleto.



**Figura 12.** rCBV máximo frente a la supervivencia del paciente de los 119 casos, dónde los puntos naranja se corresponden con los 35 casos excluidos por no presentar el tratamiento Stupp estándar completo

En la Figura 12, se observa que los casos excluidos, pintados en naranja, se encuentran mayoritariamente en la zona de baja supervivencia al presentar el tratamiento Stupp estándar incompleto en alguna de sus fases.

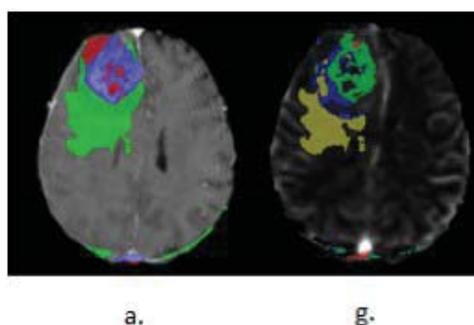
Dentro del grupo de casos incluidos en el análisis, se observa la presencia de dos posibles *outliers*, marcados y numerados en la anterior Figura 12. Con tal de comprobar si se trata de verdaderos *outliers* se aplica el procedimiento de detección explicado en la sección 3.5.2. En primer lugar, se obtienen los valores de supervivencia: 761 y 978. En segundo lugar, a través del Excel de información clínica, se observa que se trata del paciente 2 de Manises y del 28 de la Vall d'Hebron, respectivamente. En tercer lugar, se analizan las imágenes procesadas por OncoHabitats con tal de comprobar si el análisis HTS ha fallado por tratar con imágenes de baja calidad. En la Figura 13 se están representando todas las imágenes del paciente 28 de la Vall d'Hebron siguiendo el orden especificado en el procedimiento.



**Figura 13.** Imágenes del paciente 28 de la Vall d'Hebron. T1c con segmentación clásica superpuesta (a), T2 - T2 con segmentación clásica superpuesta (b superior), Flair - Flair con segmentación clásica superpuesta (b inferior), rCBV y rCBF (d), SNR (e), R2G (f) y rCBF con la segmentación HTS superpuesta (g)

Tal y como se observa en la Figura 13, la segmentación de la necrosis, del tumor activo y del edema superpuesta sobre la imagen potenciada en T1 tras la inyección de GBCA, coincide con la estructura de interés. Lo mismo ocurre cuando esta segmentación se superpone sobre la imagen potenciada en T2 y sobre la secuencia Flair. En la imagen d. se observa, como es de esperar, que el anillo tumoral presenta una alta angiogénesis, representada en rojo tanto en el rCBV como en el rCBF. Sin embargo, en las imágenes e. y f. se observa que el SNR presenta valores muy bajos en algunos puntos (representados en negro) y lo mismo, para el ajuste a la gamma variante. Esto provoca que en la imagen g. aparezca una gran cantidad de clase celeste (señalada en la Figura) la cual no se corresponde con ningún hábitat, sino con aquellos píxeles que presentan un SNR por debajo de 3 y, por tanto, no pueden ser clasificados en su correspondiente sub-compartimento. Esto indica que las imágenes de RM presentan una baja calidad no pudiendo definir los marcadores HTS y que, por tanto, este caso debe de ser descartado del análisis.

En cuanto al otro posible *outlier*, el paciente 2 de Manises, en la Figura 14 se muestra el análisis de las imágenes. Únicamente se representan las imágenes T1c con segmentación clásica superpuesta y rCBF con la segmentación HTS superpuesta, por ser las más representativas del problema que presenta este resultado.



**Figura 14.** Imágenes del paciente 2 de Manises: T1c con la segmentación clásica superpuesta (a) y rCBF con la segmentación HTS superpuesta (g). Las letras coinciden con el procedimiento explicado

En la Figura 14 se observa que la segmentación clásica superpuesta sobre la imagen potenciada en T1 tras la inyección de GBCA no es correcta, pues se ha considerado parte del cráneo como tejido tumoral. Esto se debe a una mala extracción del cerebro. Dado que los hábitats HTS se obtienen basándose en esta segmentación clásica, se está describiendo parte de los hábitats en la zona del cráneo y, por tanto, los valores de perfusión obtenidos no son correctos. De igual forma que el anterior paciente, este caso es también excluido.

En este momento el número de casos excluidos es de 37, 35 por no presentar el tratamiento Stupp estándar completo y 2, por presentar imágenes de RM de baja calidad que provocan que los marcadores obtenidos no sean correctos.

Por otro lado, se ha observado que de los 82 casos incluidos (119 – 37), 21 no presentan la fecha de muerte. Esto puede deberse fundamentalmente a dos razones. La primera de ellas, que los pacientes hayan sido atendidos por un servicio de urgencias externo, o bien, por la unidad de atención hospitalaria a domicilio, de forma que dicha fecha no ha sido almacenada en el SIH. La segunda razón, un fallo en el reclutamiento de pacientes por el propio centro sanitario, de forma que hayan incluido un paciente que no estaba realmente fallecido. Para estos 21 sujetos, la fecha de fallecimiento considerada es el 1 de julio, variable FREEZE\_DATE en el Excel creado. Estos pacientes han sido considerados como censurados (EXITUS 'N', CENSURED = negación(EXITUS), CENSURED 'Y') y han sido tratados con especial atención en el análisis de los resultados. En la Figura 15 se muestran los 82 casos incluidos diferenciados según el valor de la variable CENSURED, es decir, se muestran los casos de los que verdaderamente se conoce la fecha de fallecimiento, y por el otro, los que presentan en sustitución a esta data, la fecha de congelación.

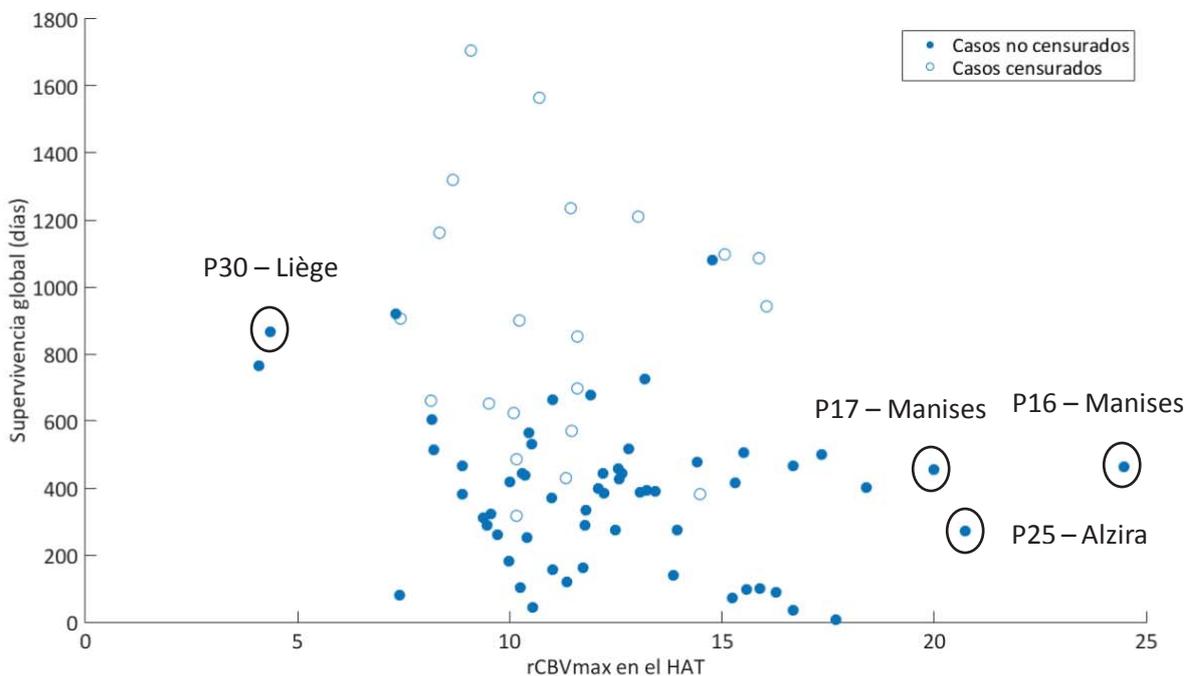
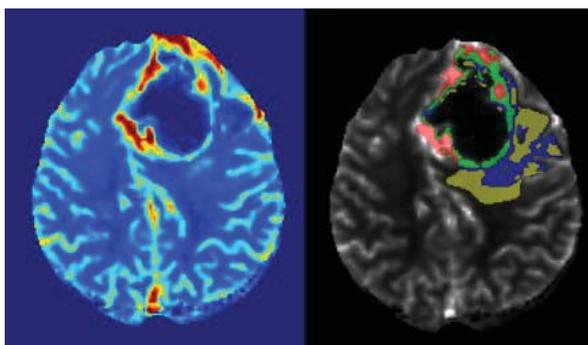


Figura 15. rCBV máximo frente a la supervivencia del paciente de los 82 casos incluidos, dónde el azul relleno se corresponde con los casos no censurados (se conoce su fecha de fallecimiento) y el azul no relleno con los censurados

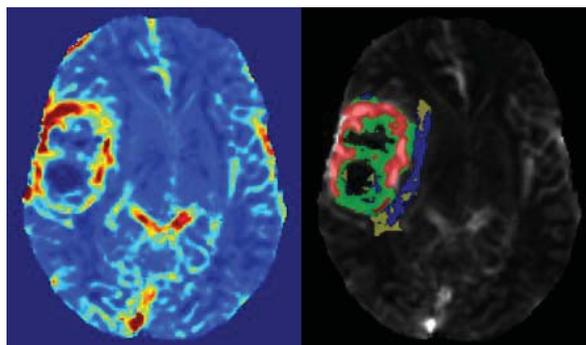
Tal y como se observa en la Figura 15, los valores censurados se encuentran dentro de la tendencia esperada (bajos valores de perfusión, es decir, bajo rCBV máximo en el HAT, altos valores de supervivencia). Por tanto, estos casos son incluidos en el análisis del resultado primario del estudio, aunque son marcados para su seguimiento.

Atendiendo a los hallazgos del estudio preliminar, el valor del rCBV máximo para el HAT suele oscilar entre 4 y 20 y valores bajos de perfusión se corresponden con valores altos de supervivencia y viceversa. Atendiendo a las anteriores afirmaciones, se han marcado una serie de pacientes en la Figura 15. Por un lado, se observa que el paciente 30 correspondiente al hospital de Liège, sigue la tendencia esperada, presenta un valor bajo de perfusión y, por tanto, una alta supervivencia. En la Figura 16 se muestra la delineación de sus hábitats en la zona de tumor activo y edema. Se observa que valores altos de perfusión, de color rojo en el rCBV, se corresponden con el hábitat HAT, también de color rojo en la segmentación HTS, seguido del LAT, el IPE y el VPE, verde, azul y amarillo, respectivamente, y en orden descendente de angiogénesis.



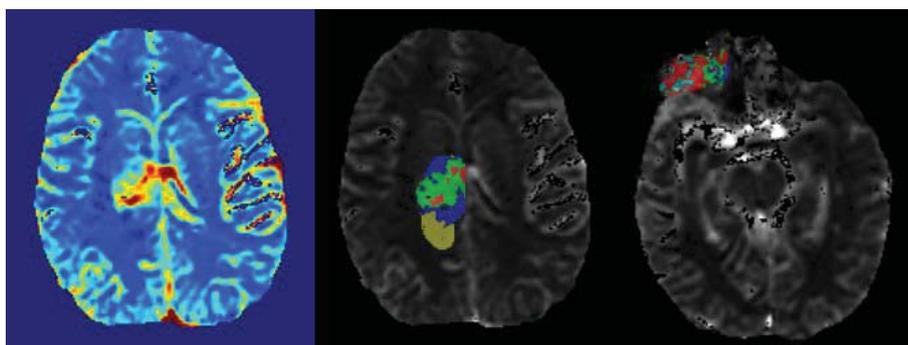
**Figura 16.** rCBV (izquierda) y rCBV en escala de grises con la segmentación HTS superpuesta (derecha) para el paciente 30 del hospital de Liège

Sin embargo, los pacientes 16 y 17 de Manises y el 25 de Alzira llaman la atención por presentar valores de perfusión superiores a 20, y no poseer unos niveles de supervivencia muy bajos, inferiores a 200 días. Por este motivo, siguiendo el mismo procedimiento que en la detección de *outliers*, se han revisado minuciosamente los resultados ofrecidos por OncoHabitats. En la Figura 17 se muestran los hábitats del paciente 16 de Manises, los cuales son coherentes con los valores de perfusión registrados en el rCBV. Con tal de buscar una explicación, se analiza su información clínica: se trata de un varón de 47 años, que ha sufrido recidiva y que ha sido tratado con el tratamiento antiangiogénico bevacizumab. En principio no presenta ninguna característica extraña de forma que se mantiene en la cohorte de análisis del resultado primario.



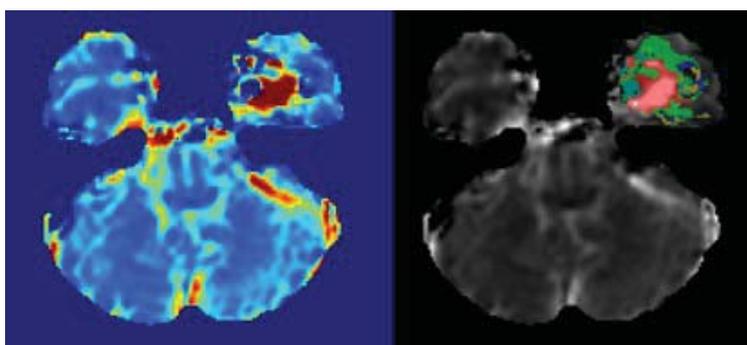
**Figura 17.** rCBV (izquierda) y rCBF en escala de grises con la segmentación HTS superpuesta (derecha) para el paciente 16 del hospital de Manises

El paciente 17 de este mismo hospital, tal y como se observa en la Figura 18, presenta también unos hábitats bien delineados y coherentes con la información de la perfusión. Sin embargo, si se avanza unos cortes más, se observa que estructuras sanas están siendo consideradas como área tumoral y, por tanto, se están delineando los hábitats de forma errónea, registrando valores de perfusión incorrectos. Por este motivo, este paciente es excluido de la cohorte final del estudio.



**Figura 18.** rCBV (izquierda), rCBF en escala de grises con la segmentación HTS superpuesta (centro y derecha, en cortes axiales diferentes) para el paciente 17 del hospital de Manises

Finalmente, en cuanto al paciente 25 del hospital de Alzira, se observa en la Figura 19 que la segmentación de los hábitats también se corresponde con el nivel de angiogénesis de la región tumoral y no presenta ninguna característica clínica sospechosa. De forma que no se excluye de la cohorte de análisis.



**Figura 19.** rCBV (izquierda) y rCBF en escala de grises con la segmentación HTS superpuesta (derecha) para el paciente 25 del hospital de Alzira

De forma que el número final de pacientes excluidos asciende a 38. En la Tabla 9 se muestra un resumen de las razones por las que se han excluido.

| MOTIVO DE EXCLUSIÓN                        | NÚMERO DE PACIENTES EXCLUIDOS |
|--|-------------------------------|
| Tratamiento Stupp estándar incompleto      | 35                            |
| <i>Outliers</i> → IRM de baja calidad      | 2                             |
| Incorrecta delineación de los hábitats HTS | 1                             |
|  | <b>38</b>                     |

**Tabla 9.** Número de pacientes excluidos del análisis y motivo de exclusión

Finalmente, se analiza el total de casos que son excluidos para cada uno de los 5 hospitales incluidos en el presente trabajo. En la Tabla 10 se muestra esta cifra, junto con el número de pacientes que finalmente son incluidos por hospital.

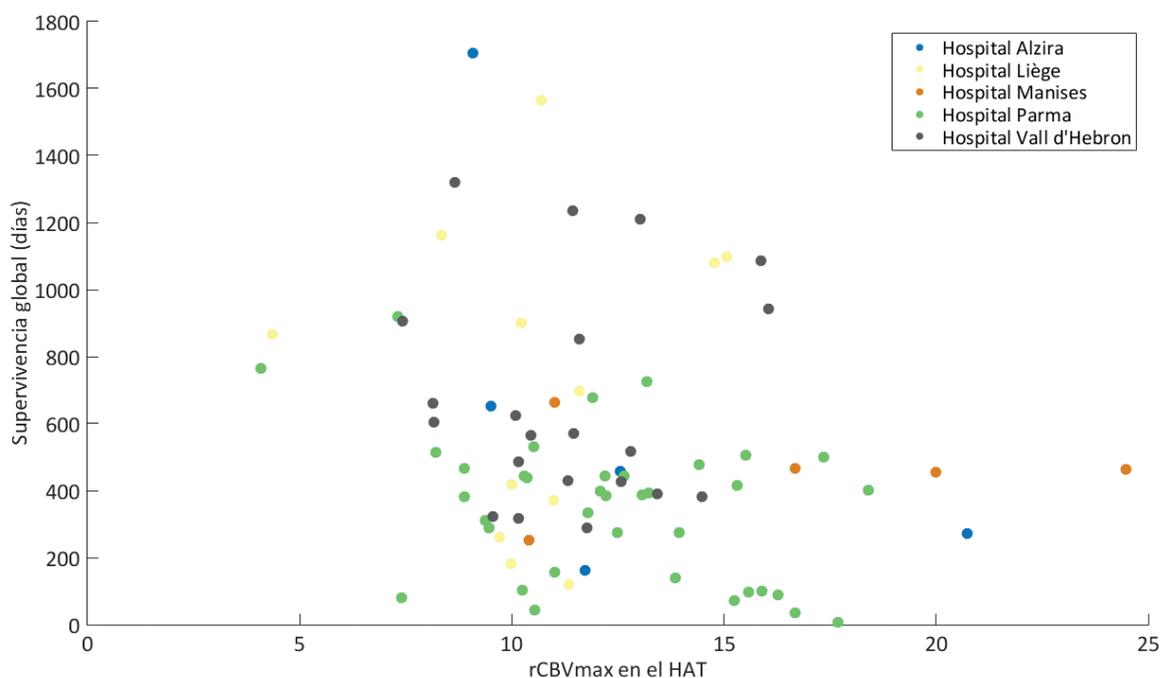
| HOSPITAL PARTICIPANTE                        | PACIENTES EXCLUIDOS | PACIENTES INCLUIDOS |
|--|---------------------|---------------------|
| Hospital Universitario de la Ribera          | 5                   | 5                   |
| Hospital de Manises                          | 9                   | 5                   |
| Hospital Vall d'Hebron                       | 13                  | 22                  |
| Centre Hospitalier Universitaire de Liège    | 4                   | 12                  |
| Azienda Ospedaliero – Universitaria di Parma | 7                   | 37                  |
|  | <b>38</b>           | <b>81</b>           |

**Tabla 10.** Número de pacientes excluidos del análisis y número de pacientes incluidos por hospital

#### 4.5.3. Análisis exploratorio de los datos

A continuación, se realiza el análisis exploratorio de los 81 (119 – 38) casos que conforman la cohorte que será utilizada para analizar el resultado primario. Tal y como se ha comentado en la metodología, los diagramas de dispersión que son representados en este apartado presentan en el eje x el marcador rCBV máximo para el HAT, por ser el que presentó en el estudio piloto una correlación más significativa con la supervivencia de los pacientes.

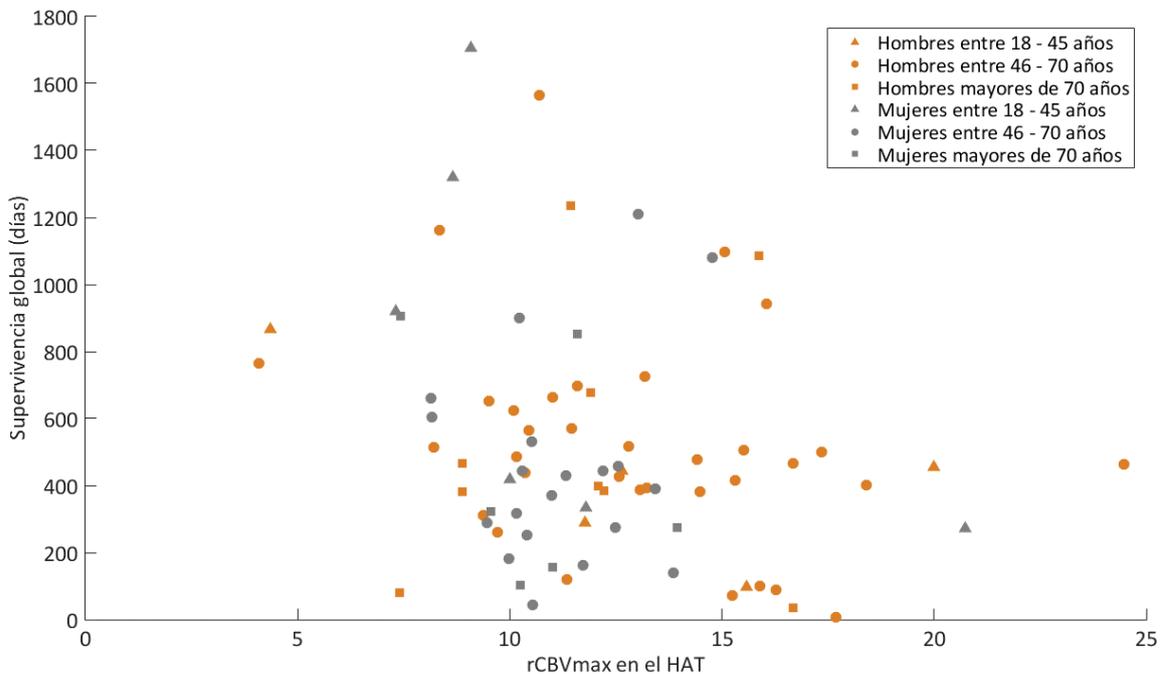
En primer lugar, en la Figura 20 se muestra el diagrama de dispersión de la supervivencia frente al marcador de interés en función del hospital al que pertenecen los casos.



**Figura 20.** rCBV máximo frente a la supervivencia del paciente de los 81 casos incluidos donde el azul se corresponde con el hospital de Alzira, el amarillo con el de Liège, el rojo con el de Manises, el verde con el de Parma y el negro con el de la Vall d'Hebron

Como se observa en la Figura 20, los hospitales de Parma y la Vall d'Hebron siguen la tendencia exponencial esperada, es decir, bajos niveles de perfusión presentan altos valores de supervivencia. Sin embargo, el hospital de Manises y Alzira, no presentan suficiente número de muestras como para poder analizar su distribución. Finalmente, el hospital de Liège presenta una distribución bastante vertical no asemejándose a la tendencia esperada.

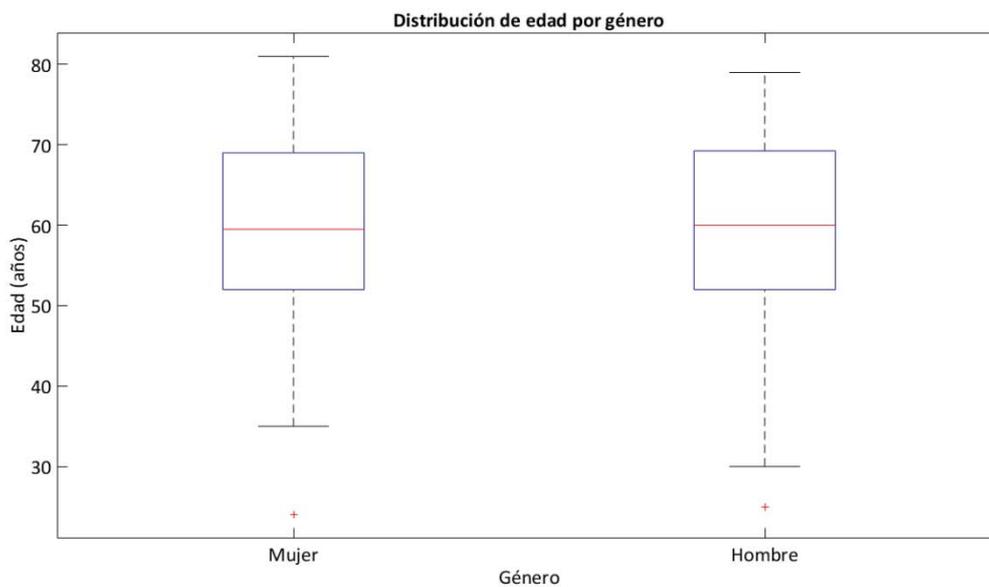
En segundo lugar, se realiza la anterior representación, pero en función del género y la edad. En la Figura 21 se muestran los 81 casos en función de si son hombres o mujeres y de si presentan una edad comprendida entre 18 y 45 años, 46 y 70 o bien más de 70.



**Figura 21.** rCBV máximo frente a la supervivencia del paciente de los 81 casos incluidos donde el naranja se corresponde con hombres y el negro con mujeres, el triángulo con una edad de 18 - 45 años, el círculo de 46 - 70 y el cuadrado, de más de 70

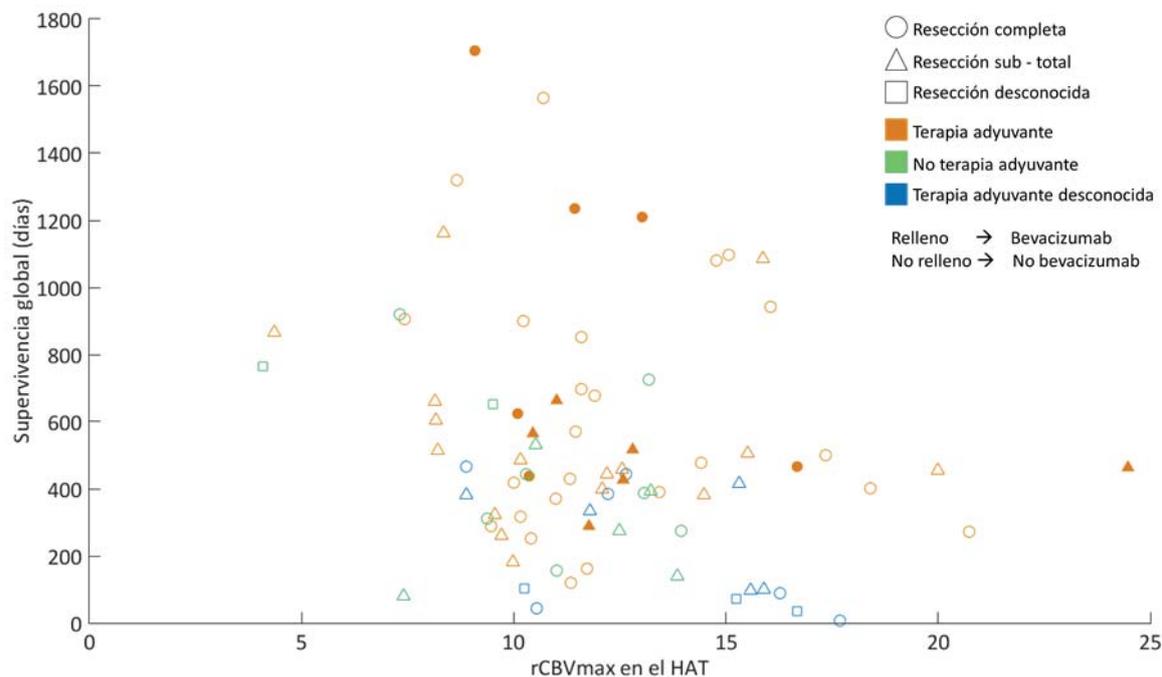
Como se observa en la Figura 21, el número de hombres es mayor que el de mujeres, concretamente hay 48 hombres y 33 mujeres. A su vez, se aprecia que la edad más prevalente es la comprendida entre 46 – 70 años (forma circular).

En la Figura 22 se muestra la distribución de edad en función del género. Tanto en hombres como en mujeres, el percentil inferior se sitúa a los 52 años, y el percentil superior, a los 69. De forma que el rango intercuartil está contenido en el intervalo de edad definido como el más prevalente para sufrir Glioblastoma.



**Figura 22.** Distribución de edad según el género para los 48 hombres y las 33 mujeres

En tercer lugar, se ha representado el anterior diagrama en función de tres variables clínicas: el tipo de resección realizada, si al paciente se la ha dado temozolomida adyuvante o no y si ha estado tratado con el tratamiento antiangiogénico bevacizumab o con ningún tratamiento de segunda línea. Esta representación se observa en la Figura 23.



**Figura 23.** rCBV máximo frente a la supervivencia del paciente de los 81 casos incluidos donde el círculo se corresponde con la realización de una resección completa, el triángulo con una sub-total y el cuadrado desconocida; el color rojo si se ha dado terapia adyuvante, el verde si no se ha dado y el azul cuando es desconocido; y finalmente, el relleno o no en función de si se ha tratado con bevacizumab o no

En la Figura 23, se observa cómo los pacientes que presentan mayores niveles de supervivencia (por encima de 1000 días) han sido tratados con tratamiento adyuvante (color naranja en el gráfico). En cuanto al tipo de resección realizada, lo esperable sería que los pacientes con resección completa (círculos) se situasen en la parte superior del gráfico, pues al tratarse de una eliminación mayor del tumor, el pronóstico del paciente debería de ser mayor. Seguidamente, irían los pacientes con resección sub-total (triángulos). Sin embargo, se observa que ambas formas se distribuyen heterogénea por el gráfico, sin seguir la distribución esperada. Finalmente, el número de pacientes sometidos a tratamiento antiangiogénico con Bevacizumab es muy bajo, no pudiendo extraerse conclusiones robustas.

Seguidamente, se ha realizado un análisis de supervivencia a través del estimador de Kaplan–Meier, representado en las Figura 24, 25 y 26.

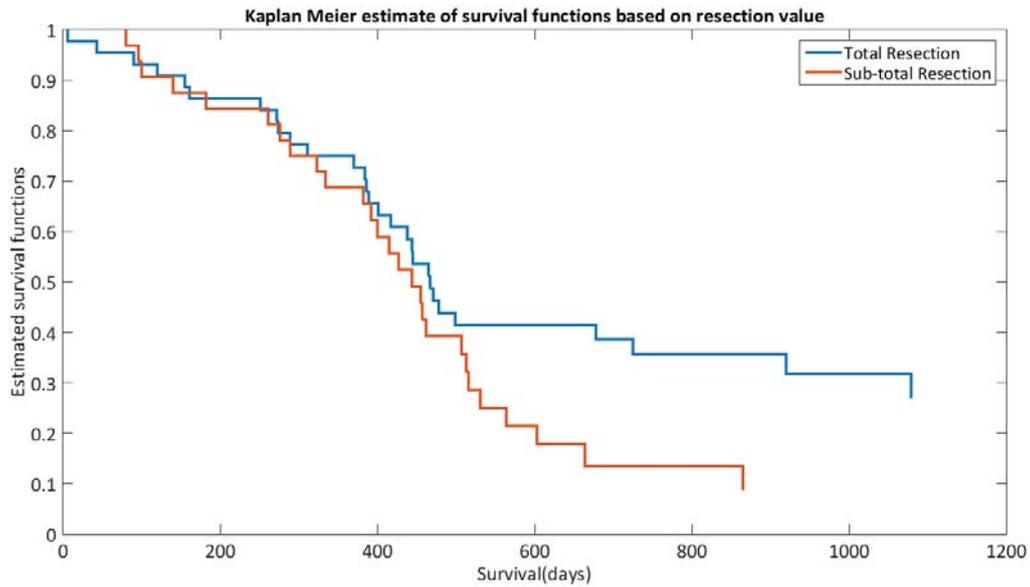


Figura 24. Curvas de Kaplan - Meier comparando la supervivencia de las poblaciones con resección total y subtotal

En la Figura 24 se observa que las dos poblaciones que están siendo analizadas en la curva Kaplan – Meier, la que ha sido sometida a una resección total y la sometida a subtotal, no presentan una diferencia notable, pues ambas curvas se encuentran entrelazadas presentando una separación entre ambas muy pequeña.

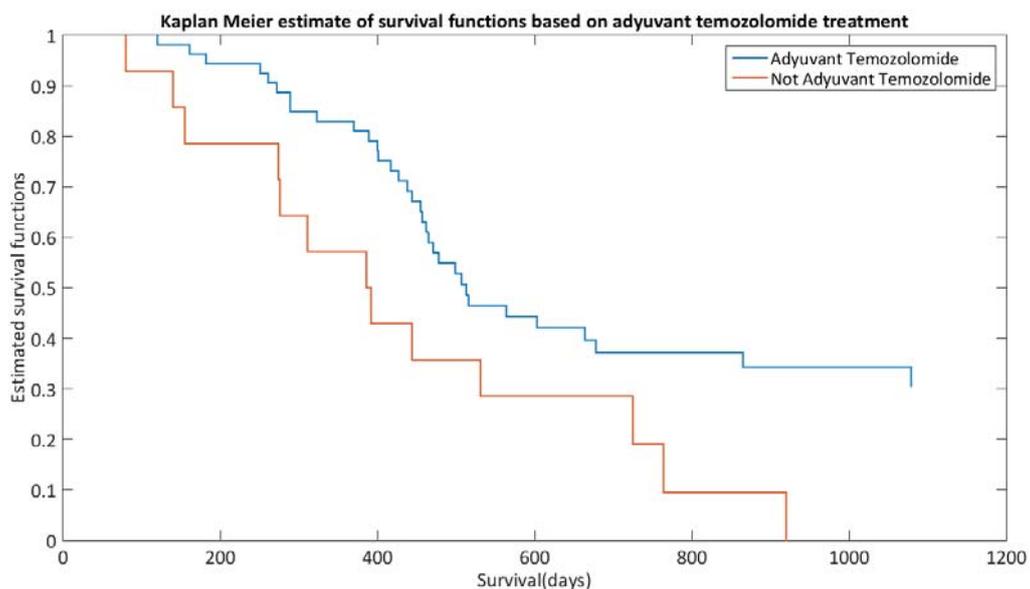


Figura 25. Curvas de Kaplan – Meier comparando la supervivencia de la población tratada con quimioterapia adyuvante y la no tratada con este tratamiento

En la Figura 25, se observa que las dos poblaciones de interés, la tratada con quimioterapia adyuvante y la no tratada, presentan una diferencia notable. Lo que significa que el hecho de dar al paciente tratamiento adyuvante o no, provoca una diferencia en la supervivencia del paciente, y por tanto, en la determinación de su pronóstico.

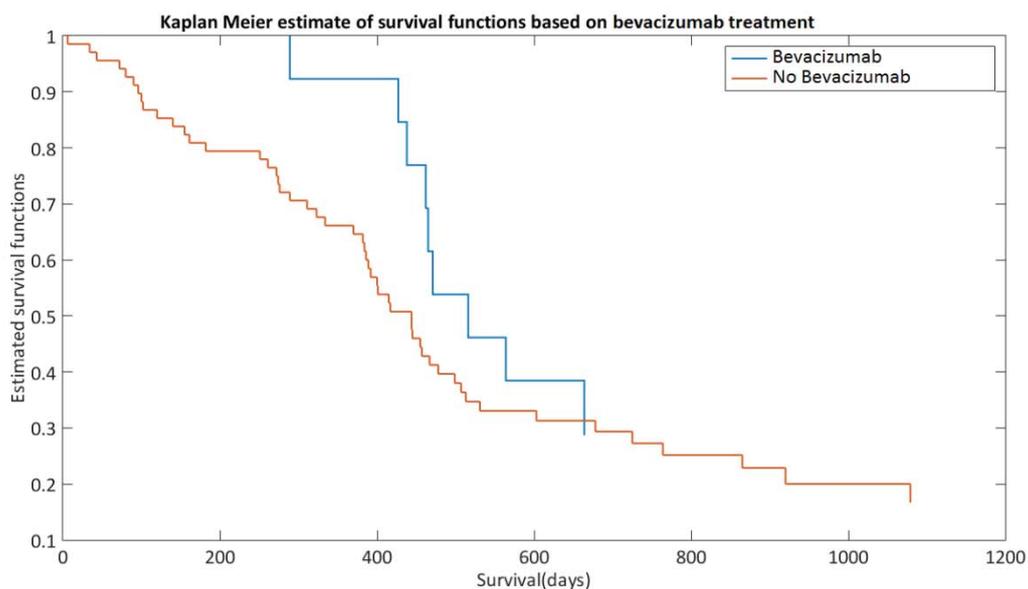


Figura 26. Curvas de Kaplan - Meier comparando la supervivencia de la población tratada con Bevacizumab y la no tratada

En la Figura 26 se observa una diferencia notable entre las dos poblaciones, la que ha sido tratada con Bevacizumab y la no tratada con este tratamiento de segunda línea. Sin embargo, el número de pacientes tratados con este antiangiogénico es muy inferior al de pacientes no tratados, no pudiéndose comparar las 2 poblaciones generadas.

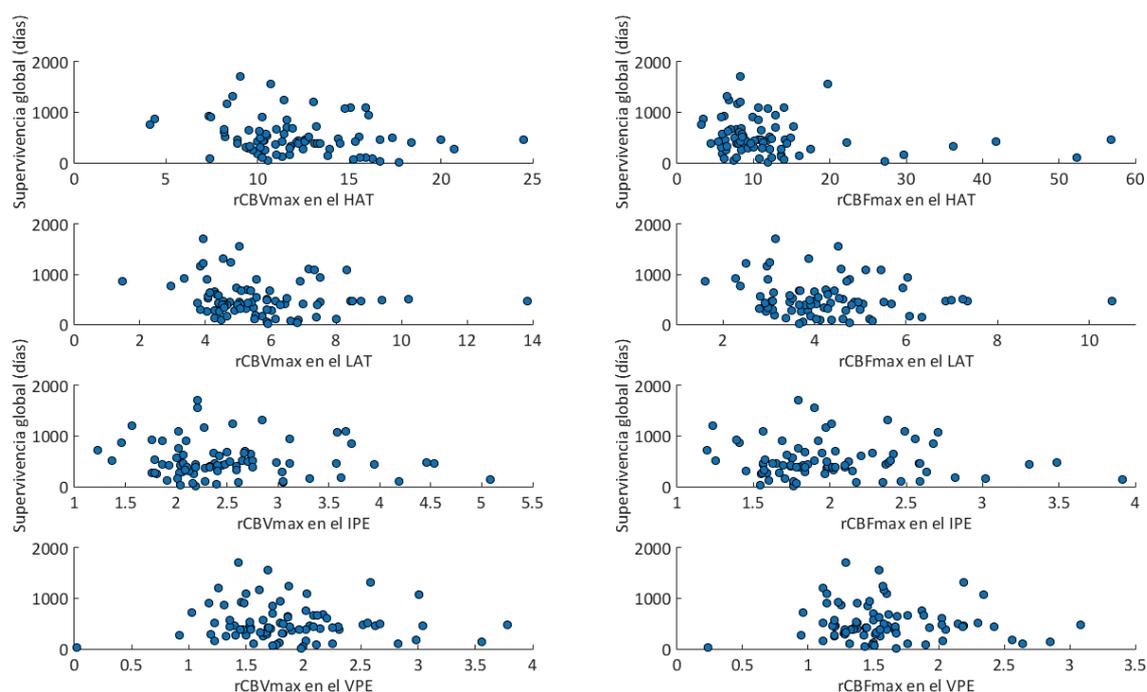
En la Tabla 11 se muestra el p-valor obtenido con el test logrank en cada una de las distribuciones, siendo la correspondiente al tratamiento adyuvante la única significativa.

| VARIABLE CLÍNICA DE INTERÉS        | p-valor (Test Logrank) |
|------------------------------------|------------------------|
| Resección                          | 0.1267                 |
| Tratamiento adyuvante              | <b>0.0266*</b>         |
| Tratamiento 2ª línea - Bevacizumab | 0.2736                 |

Tabla 11. P-valores obtenidos con el test Logrank para las diferentes distribuciones analizadas en el Kaplan – Meier de las variables clínicas de interés; los p-valores significativos se encuentran resaltados en negra y con \*

#### 4.5.4. Resultado primario

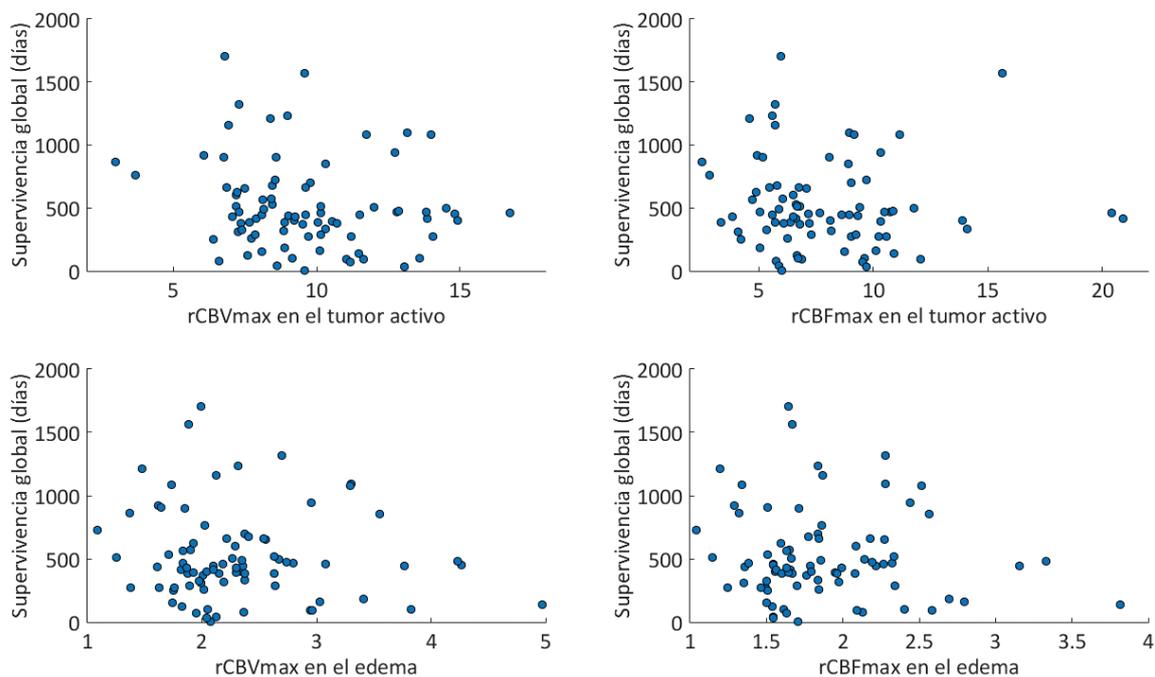
Una vez realizado el análisis de calidad de los datos, así como un estudio exploratorio de los mismos, se procede al cálculo del resultado primario del estudio clínico de interés. En primer lugar, se representa el diagrama de dispersión variando el marcador del eje x, el cual podrá referirse al rCBV o al rCBF, para los 4 hábitats de interés, así como para el tumor activo y el edema. En la Figura 27, los marcadores utilizados son el valor máximo de ambos mapas de perfusión para los 4 hábitats: HAT, LAT, IPE y VPE.



**Figura 27.** rCBV en los gráficos de la parte izquierda y rCBF en los de la derecha. Hábitats HAT, LAT, IPE y VPE ordenados desde la parte superior de la figura hasta la inferior

En la Figura 27 se observa que el rCBV máximo para el HAT es la representación que presenta una tendencia más similar a la esperada, bajos niveles de perfusión, altos valores de supervivencia. Seguida de la representación del rCBF máximo del LAT. El resto de representaciones presentan los valores más dispersos alejándose de dicha tendencia.

En la Figura 28 se muestra el diagrama de dispersión utilizando como marcadores el rCBV y el rCBF máximos para el tumor activo y el edema.



**Figura 28.** rCBV en los gráficos de la izquierda y rCBF en los de la derecha. Tumor activo en la parte superior y edema, en la inferior

Tal y como se observa en la Figura 28, las representaciones de los marcadores HTS para el tumor activo y el edema se asemejan a una nube de puntos no presentando la tendencia esperada, pues pacientes con bajos niveles de perfusión, presentan bajos niveles de supervivencia, cuando deberían de ser altos.

En segundo lugar, se ha realizado una regresión de Cox para investigar la significancia de la correlación existente entre cada marcador y la supervivencia, para los 4 hábitats, el tumor activo y el edema. La Tabla 12 muestra los *Hazard Ratio*, junto con el intervalo de confianza al 95% y el p-valor.

|                    | HAZARD RATIO | 95% INTERVALO CONFIANZA | P-VALUE        |
|--------------------|--------------|-------------------------|----------------|
| <b>rCBV máximo</b> |              |                         |                |
| ▪ HAT              | 1.0699       | [1.0003 - 1.1444 ]      | <b>0.0490*</b> |
| ▪ LAT              | 1.0602       | [0.9387 - 1.1974]       | 0.3462         |
| ▪ IPE              | 1.1065       | [0.7788 - 1.5720]       | 0.5723         |
| ▪ VPE              | 1.1696       | [0.7368 - 1.8568]       | 0.5063         |
| ▪ Tumor activo     | 1.0667       | [0.9756 - 1.1664]       | 0.1565         |
| ▪ Edema            | 1.1163       | [0.7745 - 1.6088]       | 0.5553         |
| <b>rCBF máximo</b> |              |                         |                |
| ▪ HAT              | 1.0269       | [1.0040 - 1.0504 ]      | <b>0.0212*</b> |
| ▪ LAT              | 1.0817       | [0.9186 - 1.2738]       | 0.3461         |
| ▪ IPE              | 1.1004       | [0.6479 - 1.8690]       | 0.7233         |
| ▪ VPE              | 1.2320       | [0.6795 - 2.2337]       | 0.4919         |
| ▪ Tumor activo     | 1.0369       | [0.9670 - 1.1120]       | 0.3089         |
| ▪ Edema            | 1.1143       | [0.6500 - 1.9105]       | 0.6939         |

**Tabla 12.** Hazard Ratio, Intervalo de Confianza del Hazard Ratio y p-valores obtenidos en la regresión de Cox sobre el valor máximo para los 4 hábitats y el tumor activo. Los p-valores significativos aparecen resaltados en negrita y con un \*

En la Tabla 12 se observa que tanto el rCBV máximo, como el rCBF máximo, para el hábitat HAT, presentan una correlación con la supervivencia global del paciente, estadísticamente significativa. Además, se han obtenido unos *Hazard Ratios* superiores a 1 para todos los marcadores, lo que implica que ante un p-valor significativo, el aumento en una unidad de la variable pronóstica conllevará un incremento de la probabilidad de que se produzca el suceso muerte.

A su vez también se ha representado el p-valor para cada uno de los 5 hospitales incluidos en el estudio, con tal de analizar si son significativos. Esto se muestra en la Tabla 13.

|                    | ALZIRA | LIÈGE  | MANISES | PARMA          | VALL D'HEBRON |
|--------------------|--------|--------|---------|----------------|---------------|
| <b>rCBV máximo</b> |        |        |         |                |               |
| ▪ HAT              | 0.2173 | 0.5633 | 0.5504  | <b>0.0241*</b> | 0.9786        |
| ▪ LAT              | 0.2731 | 0.4534 | 0.9522  | 0.1499         | 0.4007        |
| ▪ IPE              | 0.6914 | 0.6353 | 0.5692  | 0.1133         | 0.7348        |
| ▪ VPE              | 0.6663 | 0.3953 | 0.7629  | 0.8771         | 0.5763        |
| ▪ Tumor activo     | 0.1503 | 0.3396 | 0.8669  | <b>0.0501*</b> | 0.6916        |
| ▪ Edema            | 0.7172 | 0.7829 | 0.5298  | 0.1686         | 0.7654        |
| <b>rCBF máximo</b> |        |        |         |                |               |
| ▪ HAT              | 0.1699 | 0.2189 | 0.7867  | <b>0.0354*</b> | 0.7753        |
| ▪ LAT              | 0.2236 | 0.2546 | 0.5242  | 0.4254         | 0.2395        |
| ▪ IPE              | 0.6311 | 0.8047 | 0.4833  | 0.1913         | 0.4221        |
| ▪ VPE              | 0.4086 | 0.2915 | 0.1860  | 0.9103         | 0.3799        |
| ▪ Tumor activo     | 0.2868 | 0.1066 | 0.9959  | 0.2342         | 0.7471        |
| ▪ Edema            | 0.6324 | 0.9882 | 0.4166  | 0.2816         | 0.4555        |

*Tabla 13. P-valores obtenidos en la regresión de Cox para los hospitales de Alzira, Liège, Manises, Parma y Vall d'Hebron, donde los p-valores significativos están marcados en negrita y con \**

En la Tabla 13 se observa que la correlación significativa del marcador rCBV y del rCBF máximo para el hábitat HAT aparece únicamente en el hospital de Parma. Además, en este mismo hospital, aparece una correlación casi significativa entre el rCBV máximo para el tumor activo y la supervivencia global del paciente.

En tercer lugar, se ha realizado un análisis de supervivencia también con el estimador Kaplan – Meier y se ha aplicado el contraste de hipótesis Logrank. En la Figura 29 se muestra el análisis de supervivencia para los hábitats HAT y LAT, donde el criterio que separa las dos poblaciones es el valor del mapa de perfusión, según si es alto o bajo. Se considera que el rCBV máximo es alto cuando está por encima del valor medio, y bajo, cuando está por debajo; y lo mismo para el rCBF máximo. En la Tabla 14 se representan los p-valores obtenidos con el test Logrank. No se muestra el análisis de los hábitats IPE y VPE ya que tal y como se observa en la Tabla 14 presentan unos p-valores muy altos y, por tanto, no existe diferencia entre las dos poblaciones.

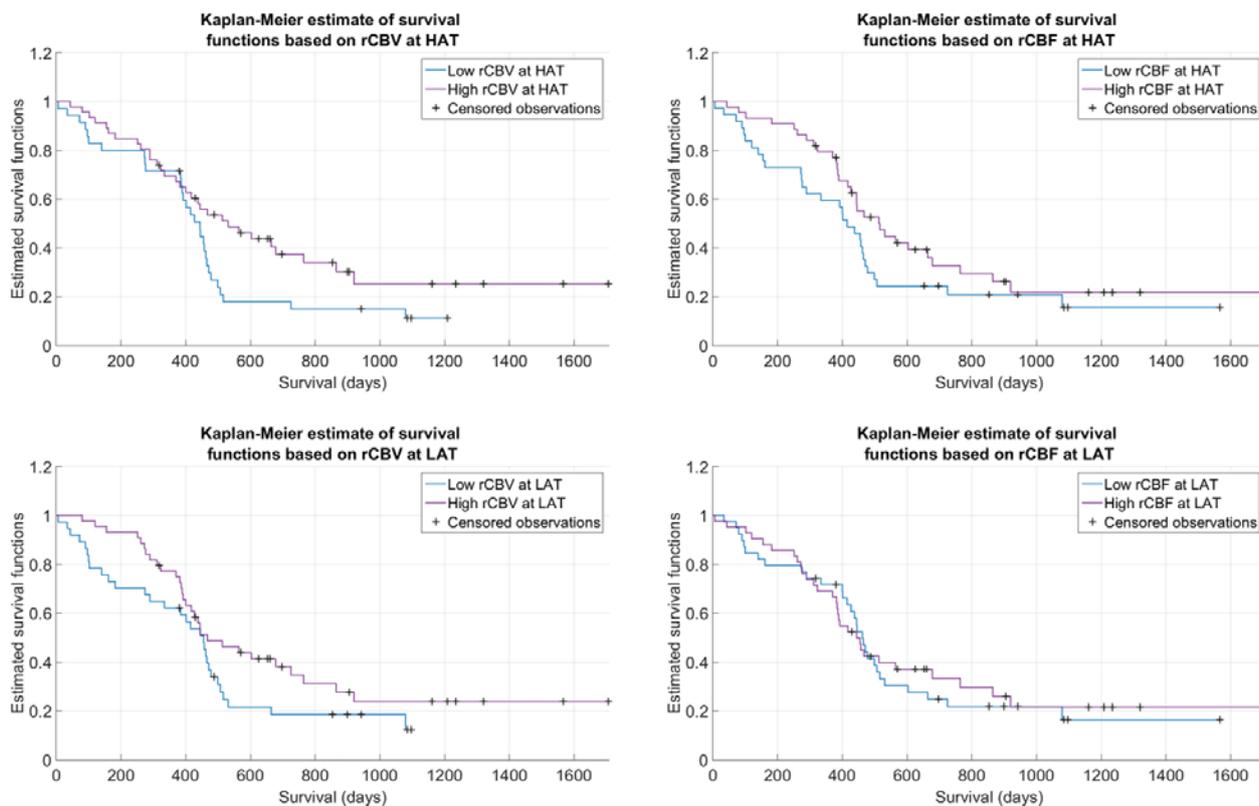


Figura 29. Análisis Kaplan – Meier para los marcadores HTS en los hábitats HAT y LAT

| MARCADOR HTS       | p-valor<br>(Test Logrank) |
|--------------------|---------------------------|
| <b>rCBV máximo</b> |                           |
| ▪ HAT              | 0.0773                    |
| ▪ LAT              | 0.1392                    |
| ▪ IPE              | 0.9978                    |
| ▪ VPE              | 0.9553                    |
| <b>rCBF máximo</b> |                           |
| ▪ HAT              | 0.1663                    |
| ▪ LAT              | 0.8475                    |
| ▪ IPE              | 0.3723                    |
| ▪ VPE              | 0.9761                    |

Tabla 14. P-valores obtenidos con el test Logrank para las distribuciones de los marcadores HTS

En la Figura 29 se observa que la mayor separación entre las poblaciones la presenta el rCBF máximo en el HAT. En la Tabla 14 se observa que el p-valor más cerca de ser significativo lo presenta el rCBV máximo en el HAT (0.0773).

## **CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN**

A lo largo del presente trabajo se han mostrado las diferentes fases que conlleva la realización de un estudio clínico multicéntrico e internacional. En cada una de estas, se realizan tareas muy diversas pero conectadas entre sí.

Pese que el Glioblastoma es una enfermedad rara con una baja prevalencia e incidencia, el número de casos incluidos en el estudio es bastante alto, 305 pacientes. De los cuales 201 son incluidos en el presente trabajo, pues los pertenecientes al hospital Clínic de Barcelona y al de Oslo presentan una problemática que será solventada para octubre, no pudiéndose incluir. Además, el número de hospitales que finalmente han participado es bastante ambicioso. El hecho de que pertenezcan a 4 países diferentes: España, Bélgica, Noruega e Italia, permite que los resultados alcanzados en el estudio sean mucho más robustos al analizar la variabilidad inter-centros a nivel internacional. Sin embargo, el requisito de que todos los hospitales presenten las 5 modalidades de imagen necesarias para realizar el análisis HTS (T1, T1c, T2, Flair y DSC) ha provocado que otros hospitales, también muy interesados en colaborar en el estudio, no hayan podido hacerlo. Por esta misma razón, del total de casos subidos por el conjunto de los 5 hospitales (201 pacientes) el 36.32% ha quedado inutilizado, tratándose de una alta cifra. Asimismo, no todos los casos han funcionado adecuadamente en la plataforma, pues un 4.48% han fallado y, por tanto, no se han procesado adecuadamente las imágenes de esos pacientes no pudiéndose obtener los marcadores HTS. En definitiva, del total de casos subidos, únicamente se ha podido utilizar el 59.20%, prácticamente la mitad de los datos han tenido que ser descartados (Tablas 7 y 8).

El hecho de que los pacientes estén sometidos al tratamiento Stupp estándar completo, es muy relevante porque variaciones en este provocan diferencias significativas en la supervivencia de los pacientes. Por lo que, incluir casos que no presenten el Stupp completo provocaría que las conclusiones obtenidas en cuanto a la correlación existente entre la supervivencia global del paciente y los marcadores HTS, estuviesen muy influenciadas por otros factores externos. La exclusión de los casos ha sido fundamentalmente debida a este criterio, pero también se han descartado 2 pacientes por presentar IRM de baja calidad y 1, por no presentar una segmentación de los hábitats HTS adecuada (Tabla 9). El hospital que más casos excluidos presenta es la Vall d'Hebron, seguido por Manises, Parma, Alzira y Liège (Tabla 10). La Vall d'Hebron es el segundo hospital que más casos subidos presenta, siendo Parma el primero de ellos. La razón de este orden podría deberse a cómo de conservador sea el centro sanitario, en el sentido de aceptar variaciones del tratamiento Stupp estándar. El problema subyacente ha sido que los hospitales, tras aplicar los criterios de exclusión, han pasado a tener un número de casos muy bajo, lo que dificulta la obtención de resultados significativos a nivel de centro, pues por ejemplo Manises y Alzira se han quedado con un total de 5 casos.

Pese al reducido número de casos que finalmente son incluidos en el estudio, en la Figura 20 se observa que siguen la tendencia esperada (bajos niveles de perfusión, alta supervivencia). Al analizar todos los casos, independientemente del hospital al que pertenecen, se ha observado que satisfacen la prevalencia por género y grupo etario que ha sido publicada en el informe CBTRUS y en la plataforma Orphanet. Pues el número de varones con Glioblastoma es superior al de mujeres, siendo de 48 y 33, respectivamente, y el rango intercuartil de la distribución de edad se sitúa entre 52 y 69 años, el cual está contenido en el intervalo considerado como el más prevalente para sufrir Glioblastoma, entre 46 y 70 años (Figuras 21 y 22).

Un hecho que llama verdaderamente la atención es la representación de la Figura 23, pues se esperaba que los pacientes que habían sufrido una resección completa, frente los que la habían sufrido sub-total, iban a presentar unos niveles de supervivencia mayores. Sin embargo, los datos aparecen dispersos por todo el gráfico sin seguir la distribución esperada. Si bien es cierto, los pacientes con mayores valores de supervivencia han estado sometidos a tratamiento adyuvante. Todo esto es corroborado al realizar el test Logrank del análisis de supervivencia de estas variables clínicas donde el p-valor únicamente es significativo para el tratamiento adyuvante, pero no para las otras dos variables (Tabla 11). El hecho de que la resección no haya sido significativa podría deberse a la subjetividad que subyace el considerar la resección como completa o sub-total, pues podría ocurrir que lo que para un médico es una cirugía total, para otro sea sub-total. Sin embargo, se ha analizado la significancia de esta correlación (supervivencia – resección) a nivel de centro y tampoco se ha obtenido un valor significativo.

En cuanto al análisis del resultado primario del estudio clínico, y en base a la representación en forma de diagrama de dispersión realizada para los diferentes marcadores HTS y la supervivencia global del paciente, se observa que el rCBV máximo para el HAT es el que presenta una tendencia más similar a la esperada (Figura 27). Esto coincide con lo publicado en el estudio piloto (Juan – Albarracín J. et al., 2018), donde este marcador en este hábitat presentó la correlación más significativa con la supervivencia. El rCBF máximo del LAT también presenta una forma similar a la esperada. Mientras que en el resto de representaciones los casos se encuentran más dispersos no siendo tan sencillo visualizar una tendencia entre los datos. Lo mismo ocurre, para el tumor activo y el edema donde los casos forman una nube de puntos (Figura 28).

Tras la realización de la regresión de Cox se observan unos p-valores significativos para el rCBV y el rCBF máximos en el hábitat HAT, lo cual también concuerda con los hallazgos obtenidos en los estudios pilotos realizados. Aunque en estos estudios previos, el LAT y el IPE también mostraron p-valores significativos, en el estudio multicéntrico no lo son (Tabla 12). Probablemente, el sesgo inter-centros haya provocado esta falta de significancia, pues los diferentes hospitales incluidos en el estudio, aplican protocolos de adquisición de imagen muy dispares y utilizan equipos de RM diferentes.

En cuanto a los *Hazard Ratios*, en el estudio piloto se obtuvieron los valores tanto para el rCBV como para el rCBF máximo, ordenados de mayor a menor, para el IPE, LAT, VPE y HAT. Mientras que para el estudio multicéntrico, ha sido, para el rCBV máximo, VPE, IPE, HAT y LAT, y para el rCBF máximo, VPE, IPE, LAT y HAT. El *Hazard Ratio* más grande obtenido en el estudio piloto fue para el rCBF máximo del IPE, y para el multicéntrico, el rCBF máximo del VPE. Si se analizan los p-valores obtenidos en la regresión de Cox por hospital, se observa que únicamente son significativos para el centro de Parma, en el rCBV y el rCBF máximo en el HAT y en el rCBV máximo en el tumor activo. Probablemente, que únicamente sean significativos para este hospital esté relacionado con el número de casos por centro, pues es el hospital de Parma el que presenta un mayor número de pacientes, concretamente 37.

Finalmente, en el análisis de supervivencia realizado se observa, visualmente, que la mayor separación entre las poblaciones la presenta el rCBF máximo en el HAT (Figura 29). Sin embargo, al observar los p-valores, el más cerca de ser significativo lo presenta el rCBV máximo en el HAT (0.0773, Tabla 14). De igual forma, las peculiaridades intrínsecas a cada centro podrían estar enmascarando los resultados, al estar comparando marcadores HTS que han sido obtenidos de imágenes con características distintas, no pudiendo ser comparables entre sí.

Por lo que el resultado primario preliminar analizado en el presente trabajo concuerda con los hallazgos obtenidos en los estudios piloto realizados anteriormente con la tecnología médica OncoHabitats. Esto permite estar más cerca de la definición de esta tecnología como marcador pronóstico robusto y fiable. Pues alcanzar unos resultados significativos en una cohorte procedente de diferentes partes del mundo es un factor clave para alcanzar la designación de biomarcador.

## **CAPÍTULO 6. CONCLUSIÓN**

Demostrar que un dispositivo médico nuevo es seguro y eficaz en humanos es una tarea extremadamente difícil. Los estudios clínicos están llenos de riesgos y hay muchas variables que deben de tomarse en consideración para alcanzar el éxito. Todo empieza en el diseño del ensayo, donde los errores pueden resultar en un impedimento en el avance del proceso de aprobación del nuevo dispositivo. Dicho proceso no está normalizado, de forma que las agencias reguladoras suelen establecer requisitos específicos para cada caso. En ocasiones, involucrar alguna entidad con experiencia en el lanzamiento de este tipo de productos al mercado puede ser una forma de reducir el riesgo y permitir que el producto llegue a comercializarse. Sin embargo, el coste de esta subcontratación es desmesurado, no siendo económicamente viable para una spin-off, tal y como es *TextureCDx*. Por esta razón, y dado que el autor del presente trabajo pertenece a dicha spin-off y posee conocimientos en el sector, su función ha consistido en el desarrollo y coordinación del estudio multicéntrico que se ha expuesto.

El primer contacto con los hospitales fue muy positivo ya que mostraron un gran interés por el ensayo clínico. Probablemente lo que les promovió a participar fue la solvencia de los resultados previos y la ambición del estudio. Sin embargo, dada la carga de trabajo que presentan los profesionales sanitarios, la recolección de las IRM y de la información clínica de los pacientes diagnosticados de Glioblastoma fue un proceso arduo. De hecho, el autor del trabajo tuvo que desplazarse a alguno de los hospitales siendo él mismo quién se encargó del recolectar la información del SIH y del PACS. Por lo que el haber conseguido que el 1 de julio, fecha máxima para el reclutamiento de pacientes, toda la información clínica y las imágenes de los hospitales estuviesen subidos en el Servidor, ha sido un verdadero logro y ha requerido de la inversión de una gran cantidad de tiempo y de esfuerzo.

Tras disponer de toda la información en el Servidor Seguro, se ha visto que existen grandes diferencias entre los centros, sobre todo cuando pertenecen a diferentes países. Esto ha requerido la creación de funciones específicas para cada hospital, así como de diferentes remodelaciones de la tecnología médica OncoHabitats. Esta problemática ha retrasado en gran medida la obtención de los primeros resultados. Por este motivo, los resultados obtenidos en el presente trabajo son muy preliminares y deben de pulirse. Aun así, se ha visto que el resultado primario preliminar coincide con los hallazgos obtenidos en los estudios pilotos realizados previamente en los que se demostró que existe una correlación significativa entre los marcadores HTS y la supervivencia global del paciente. Esto permite aumentar la robustez de la tecnología en la medida de que no solo funciona correctamente para casos procedentes de un único centro, sino también de varios centros provenientes de diferentes países.

En definitiva, existe una gran necesidad de estudiar cuáles son las diferencias en los protocolos de adquisición y en los equipos de RM entre los diferentes centros sanitarios, para comprobar si estas han afectado al cálculo de los hábitats y de sus marcadores. Cada una de las modalidades de imagen aporta un tipo de información diferente, pero necesaria para la delineación de estos subcompartimentos. Grandes diferencias entre imágenes de una misma modalidad podrían estar dando lugar a resultados muy dispares, cuando se trata de la misma información.

Como se ha comentado la fecha de finalización del estudio es diciembre de 2018, por lo que los meses restantes se estudiará toda esta información de contexto, la cual puede estar enmascarando los resultados. De forma que los resultados obtenidos en el presente trabajo son preliminares y pueden variar en la publicación futura del estudio multicéntrico. De igual forma, el resultado secundario y el análisis longitudinal, expuestos en el protocolo del estudio, serán realizados también durante este período.

Si bien es cierto, aún queda un largo camino por recorrer con tal de mejorar la gestión del tratamiento del Glioblastoma. Pero la creación de herramientas, tal y como es OncoHabitats, es un paso fundamental para estudiar el proceso de estratificación de la población que sufre este tumor y conseguir que la medicina personalizada y de precisión deje de ser algo ficticio y pase a ser algo práctico y usable. Sin embargo, la valorización de este tipo de tecnologías requiere de un fuerte esfuerzo y de la participación de varios equipos multidisciplinares. La realización de estudios clínicos es un procedimiento indispensable y el comienzo de algo que, probablemente, algún día pueda ayudar a los pacientes que desgraciadamente sufren cáncer, y más concretamente, Glioblastoma.

## **CAPÍTULO 7. LÍNEAS FUTURAS**

El estudio multicéntrico finaliza en diciembre de 2018, por lo que durante los dos meses restantes se estudiarán los factores asociados a la variabilidad inter-centros que pueden estar enmascarando el verdadero resultado primario y se calculará el resultado secundario. A su vez se analizará también la asociación entre el pronóstico del paciente y otras variables consideradas de interés, tal y como es el perfil molecular. Más adelante, se realizará una publicación que englobará todos los centros participantes y los hallazgos obtenidos.

Por lo que respecta a la validación completa de la tecnología médica OncoHabitats, la obtención de resultados positivos en el estudio multicéntrico de interés permitirá la validación de la capacidad pronóstica de OncoHabitats, es decir, de su capacidad para estimar el pronóstico de los pacientes en base a la información hemodinámica almacenada en el tumor. En ese momento, se solicitará el *Qualification Opinion* como marcador pronóstico, el cual servirá como punto de partida para solicitar la clasificación de OncoHabitats como Producto Sanitario clase III.

A continuación, se analizará otro contexto de uso de la tecnología; su capacidad predictiva o de estratificación, en el sentido de crear grupos de pacientes con diferentes probabilidades de éxito ante un fármaco diana. Para ello, se realizará un estudio clínico retrospectivo aleatorizado. Este utilizará datos provenientes de un ensayo clínico de una farmacéutica en fase 2 – 3, para así disponer de dos grupos de sujetos: los tratados con el fármaco experimental, y los tratados con el Stupp estándar o bien con otro ya aceptado. Esto permitirá validar la capacidad de OncoHabitats para predecir la respuesta de los pacientes ante un fármaco.

Con estas evidencias predictivas se permitirá la creación de un ensayo clínico prospectivo aleatorizado fase 3, el cual dará lugar a la validación del biomarcador OncoHabitats como un Companion Diagnostic (CDx), es decir, como un acompañante del diagnóstico de la enfermedad, que participará en el proceso de decisión del tratamiento más óptimo para ese paciente en particular.

De forma que el estudio multicéntrico es un paso fundamental e imprescindible para alcanzar la comercialización del producto. Se trata de un proceso en cadena, dónde cada eslabón depende del anterior, siendo de vital importancia cumplir los objetivos propuestos en cada una de las fases para poder saltar a la siguiente.

## **CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA**

AANS | Glioblastoma Multiforme, 2018. Accedido por última vez: 02/04/2018. Disponible en: <https://www.aans.org/Patients/Neurosurgical-Conditions-and-Treatments/Glioblastoma-Multiforme>

Akbari H., Macyszyn L., Da X., Wolf R. L., Bilello M., Verma R., O'Rourke D. M., Davatzikos C., 2014. Pattern analysis of Dynamic Susceptibility Contrast – enhanced MR Imaging demonstrates peritumoral tissue heterogeneity | Radiology RSNA. Disponible en: <https://pubs.rsna.org/doi/pdf/10.1148/radiol.14132458>

Artzi M., Bokstein F., Blumenthal D. T., Aizenstein O., Liberman G., Corn B. W., Ben Bashat D., 2014. Differentiation between vasogenic-edema versus tumor-infiltrative area in patients with glioblastoma during bevacizumab therapy: a longitudinal MRI study | Elsevier. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24809637>

Cancer Imaging Archive | VASARI Research Project, 2018. Accedido por última vez: 05/05/2018. Disponible en: <https://wiki.cancerimagingarchive.net/display/Public/VASARI+Research+Project>

Comisión Europea | ¿Qué rige el Reglamento general de protección de datos (RGPD)?, 2018. Accedido por última vez: 18/07/2018. Disponible en: [https://ec.europa.eu/info/law/law-topic/data-protection/reform/what-does-general-data-protection-regulation-gdpr-govern\\_es](https://ec.europa.eu/info/law/law-topic/data-protection/reform/what-does-general-data-protection-regulation-gdpr-govern_es)

Emmett J., (2018). Considerations for the design and execution of medical device trials | Premier Research. Disponible en: <https://premier-research.com/perspectivesmedical-devices-vs-drug-trials/>

FDA U.S. Food & Drug Administration | How to study and market your device, 2018. Accedido por última vez: 15/06/2018. Disponible en: <https://www.fda.gov/medicaldevices/deviceregulationandguidance/howtomarketyourdevice/>

FDA U.S. Food & Drug Administration | Investigational New Drug (IND) Application, 2018. Accedido por última vez: 08/06/2018. Disponible en: <https://www.fda.gov/drugs/developmentapprovalprocess/howdrugsaredevelopedandapproved/approvalapplications/investigationalnewdrugindapplication/default.htm>

Jain R., Poisson L. M., Gutman D., Scarpace L., Hwang S. N., Holder C. A., Wintermark M., Rao A., Colen R. R., Kirby J., Freymann J., Jaffe C. C., Mikkelsen T., Flanders A., 2014. Outcome prediction in patients with glioblastoma by using imaging, clinical, and genomic biomarkers: focus on the nonenhancing component of the tumor | Radiology RSNA. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24646147>

Juan – Albarracín J., Fuster – Garcia E., Pérez – Girbés A., Aparici – Robles F., Alberich – Bayarri A., Revert – Ventura A., Martí – Bonmatí L., García – Gómez J. M., (2018). Glioblastoma: Vascular Habitats Detected at Preoperative Dynamic Susceptibility-weighted Contrast-enhanced Perfusion MR Imaging Predict Survival | Radiology RSNA. Disponible en: <https://pubs.rsna.org/doi/abs/10.1148/radiol.2017170845>

Law M., Young R. J., Babb J. S., Peccerelli N., Chheang S., Gruber M. L., Miller D. C., Golfinos J. G., Zagzag D., Johnson G., (2008). Gliomas: predicting time to progression or survival with cerebral blood volume measurements at dynamic susceptibility-weighted contrast-enhanced perfusion MR imaging | Radiology RSNA. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18349315>

Louis D. N., Perry A., Reifenberger G., von Deimling A., Figarella – Branger D., Cavenee W. K., Ohgaki H., Wiestler O. D., Kleihues P., Ellison D. W., (2016). The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary | Springer. Disponible en: <https://braintumor.org/wp-content/assets/WHO-Central-Nervous-System-Tumor-Classification.pdf>

McShane L. M., Altman D. G., Sauerbrei W., Taube S. E., Gion M., Clark G. M., (2005). REporting recommendations for tumour MARKer prognostic studies (REMARK) | British Journal of Cancer. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2361579/>

Nikolov V., Stojanovic M., Kostic A., Radisavljevic M., Simonovic N., Jelenkovic B., Berilazic L., 2018. Factors affecting the survival of patients with Glioblastoma multiforme | JBUON. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29552779>

NITRC | dcm2nii: MainPage, 2018. Accedido por última vez: 21/07/2018. Disponible en: <https://www.nitrc.org/plugins/mwiki/index.php/dcm2nii:MainPage>

Orphanet | Glioblastoma, 2018. Accedido por última vez: 20/05/2018. Disponible en: [http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC\\_Exp.php?Expert=360](http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Expert=360)

Ostrom Q. T., Gittleman H., Liao P., Vecchione – Koval T., Wolinsky Y., Kruchko C., Barnholtz – Sloan J., 2017. CBTRUS Statistical Report: primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2010 – 2014 | Neuro – Oncology. Disponible en: [https://academic.oup.com/neuro-oncology/article/19/suppl\\_5/v1/4596648](https://academic.oup.com/neuro-oncology/article/19/suppl_5/v1/4596648)

Peatman B., (2015). Trial and error: pivotal trial design is key to medical-device success | Engineers Journal Ireland. Disponible en: <http://www.engineersjournal.ie/2015/04/07/medical-device-trials-design/>

Sawlani R. N., Raizer J., Horowitz S. W., Shin, W., Grimm S. A., Chandler J. P., Robert L., Getch C., Carroll T. J., (2010). Glioblastoma: A Method for Predicting Response to Antiangiogenic Chemotherapy by Using MR Perfusion Imaging—Pilot Study | Radiology. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2858811/>

Simpson J. R., Horton J., Scott C., Curran W. J., Rubin P., Fischbach J., Isaacson S., Rotman M., Asbell S. O., Nelson J. S., 1993. Influence of location and extent of surgical resection on survival of patients with glioblastoma multiforme: results of three consecutive Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) clinical trials | Elsevier. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8387988>

Sourceforge | Tool to convert DICOM to DICOM, 2018. Accedido por última vez: 21/07/2018. Disponible en: <http://gdcm.sourceforge.net/html/gdcmconv.html>

Stupp R., Mason W. P., van den Bent M. J., Weller M., Fisher B., Taphoorn M. J., Belanger K., Brandes A. A., Marosi C., Bogdahn U., Curschmann J., Janzer R. C., Ludwin S. K., Gorlia T., Allgeier A., Lacombe D., Cairncross J. G., Eisenhauer E., Mirimanoff R. O., (2005). Radiotherapy plus Concomitant and Adjuvant Temozolomide for Glioblastoma | NEJM. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15758009>

Von Neubeck C., Seidlitz A., Kitzler H. H., Beuthien – Baumann B., Krause M., (2015). Glioblastoma multiforme: emerging treatments and stratification markers beyond new drugs | The British Institute of Radiology. Disponible en: <https://www.birpublications.org/doi/ref/10.1259/bjr.20150354>

Zhang K., Wang X. Q., Zhou B., Zhang L., (2013). The prognostic value of MGMT promoter methylation in Glioblastoma multiforme: a meta-analysis | Springer. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23397067>



# **PRESUPUESTO**

## **DOCUMENTO 2**

**TABLA DE CONTENIDOS DOCUMENTO 2: PRESUPUESTO**

|   |           |
|---|-----------|
| <b>CAPÍTULO 1. OBJETIVOS .....</b>                      | <b>70</b> |
| <b>CAPÍTULO 2. PRESUPUESTO DESGLOSADO .....</b>         | <b>70</b> |
| <b>2.1. Coste mano de obra .....</b>                    | <b>70</b> |
| 2.1.1. Duración de cada tarea .....                     | 70        |
| 2.1.2. Cálculo del coste de mano de obra .....          | 71        |
| <b>2.2. Coste software .....</b>                        | <b>72</b> |
| <b>2.3. Coste hardware .....</b>                        | <b>74</b> |
| <b>CAPÍTULO 3. PRESUPUESTO TOTAL DEL PROYECTO.....</b>  | <b>75</b> |
| <b>3.1. Presupuesto de ejecución material .....</b>     | <b>75</b> |
| <b>3.2. Presupuesto de ejecución por contrata .....</b> | <b>75</b> |
| <b>CAPÍTULO 4. BIBLIOGRAFÍA .....</b>                   | <b>77</b> |

## **CAPÍTULO 1. OBJETIVOS**

El objetivo fundamental de este documento es valorar económicamente el trabajo realizado. Permite además, recalcular el coste del proyecto en caso de que cambie algún factor. Se ha tenido en cuenta el coste de mano de obra, de *software* y de *hardware* dada la índole de este trabajo.

## **CAPÍTULO 2. PRESUPUESTO DESGLOSADO**

### **2.1. Coste mano de obra**

El presupuesto del presente trabajo es fundamentalmente atribuido al gasto de personal, dado que la realización de un estudio clínico, de tipo observacional y retrospectivo, requiere de la dedicación completa de una persona que desempeñe el papel de desarrollador y coordinador. Por un lado, debe de asegurarse que se dispone de toda la información necesaria para que el estudio clínico esté en regla. Pues un fallo en alguna de esta documentación, podría provocar que los resultados que se alcancen no puedan ser publicados por haberse obtenido sobre una base legal y ética incompleta. Por otro lado, esta persona también debe de procesar toda la información compartida y obtener los resultados definidos en el protocolo. Además, de realizar un fuerte seguimiento y soporte en los centros participantes quienes, por la gran carga de trabajo, no pueden dedicar todo el tiempo que les gustaría al estudio en el que participan.

#### **2.1.1. Duración de cada tarea**

En la Tabla 15 se muestra el tiempo invertido en los diferentes paquetes de trabajo. Estos han sido creados combinando la información de los capítulos 3 y 4 y se exponen según el orden cronológico en el que se han llevado a cabo. Cabe destacar que algunas tareas presentan una duración de 0h, porque no han sido realizados por el autor del presente trabajo. El número total de horas correspondientes a la realización del TFM es de 500 horas (20 créditos \* 25 horas/crédito).

| NOMBRE DEL PAQUETE                                     | DURACIÓN (HORAS) |
|--|------------------|
| <b>PAQUETE 1: DISEÑO DEL ESTUDIO</b>                   | <b>0</b>         |
| A) CREACIÓN PROTOCOLO                                  | 0                |
| B) CREACIÓN EXCEL DE RECODIGA DE INFORMACIÓN           | 0                |
| <b>PAQUETE 2: FORMALIZACIÓN DEL ESTUDIO</b>            | <b>159</b>       |
| A) APROBACIÓN INICIAL DEL ESTUDIO POR UN CE            | 0                |
| B) APROBACIÓN DEL ESTUDIO POR EL CE DE CADA PAÍS       | 32               |
| C) CLASIFICACIÓN DEL ESTUDIO POR LA AEMPS              | 48               |
| D) CREACIÓN DEL MTA Y FIRMA                            | 28               |
| E) PUBLICACIÓN DEL ESTUDIO EN CLINICALTRIALS.GOV       | 51               |
| <b>PAQUETE 3: RECLUTAMIENTO Y GESTIÓN DE LOS DATOS</b> | <b>234</b>       |
| A) CREACIÓN DEL SERVIDOR SEGURO                        | 0                |
| B) SEGUIMIENTO DE LAS IRM SUBIDAS AL SERVIDOR          | 29               |
| C) REAJUSTE DE LA PLATAFORMA ONCOHABITATS              | 0                |
| D) PROCESADO DE LAS IMÁGENES DE RM                     | 205              |
| <b>PAQUETE 4: PROCESADO DE LOS DATOS</b>               | <b>18</b>        |
| A) CREACIÓN DEL BATCH PARA EL LANZAMIENTO              | 0                |
| B) LANZAMIENTO DE LOS CASOS                            | 3                |
| C) CREACIÓN DE UN EXCEL COMÚN                          | 15               |
| <b>PAQUETE 5: ANÁLISIS</b>                             | <b>89</b>        |
| A) OBTENCIÓN MARCADORES HTS Y CARGA DE INFORMACIÓN     | 18               |
| B) ESTUDIO DE LOS CASOS A EXCLUIR                      | 35               |
| C) OBTENCIÓN DEL RESULTADO PRIMARIO                    | 36               |

*Tabla 15. Duración en horas de cada tarea realizada en el trabajo*

### 2.1.2. Cálculo del coste de mano de obra

Para realizar las anteriores tareas ha sido necesario disponer de una persona con el máster en Ingeniería Biomédica por presentar conocimientos en el desarrollo de estudios clínicos y en la gestión de la calidad de un producto sanitario. Además, en este máster se abarca tanto el campo de la ingeniería como el de la medicina, permitiendo el desarrollo de diferentes algoritmos y el entendimiento de la información clínica y anatómica subyacente al tumor. Se ha encargado de realizar las tareas de la Tabla 15 que presentan un valor diferente de 0.

En la Tabla 16 aparece desglosado el coste de mano de obra, donde el coste unitario hace referencia al coste de facturación de la empresa.

| COSTE MANO DE OBRA  |                  |                         |                     |
|---------------------|------------------|-------------------------|---------------------|
| PERFIL              | DURACIÓN (HORAS) | COSTE UNITARIO (€/HORA) | COSTE IMPUTABLE (€) |
| Ingeniero Biomédico | 500              | 55                      | 27,500              |
| TOTAL (€)           |                  |                         | 27,500.00           |

Tabla 16. Coste mano de obra para la elaboración del trabajo

Por lo que el coste total de personal necesario en el trabajo, asciende a una cantidad de **veintisiete mil quinientos euros (27,500.00€)**.

## 2.2. Coste software

En la elaboración de este trabajo se ha utilizado una computadora con el sistema operativo Microsoft Windows 10 Pro. Aunque su licencia presenta una duración indefinida, se ha considerado la duración de esta equivalente al tiempo de vida útil de un ordenador de sobremesa (aproximadamente 6 años).

Para la creación del código se ha utilizado el lenguaje de programación Matlab en su versión R2015a. La Universitat Politècnica de València tiene licenciado este software y todas las *toolboxes* que incluye, pero para realizar la valoración económica real del software de este trabajo únicamente se han incluido las que han sido utilizadas. A continuación, se muestra la funcionalidad de estas para corroborar su utilización en el trabajo:

- *Image Processing Toolbox* proporciona un conjunto completo de algoritmos estándar de referencia y apps de flujo de trabajo para el procesamiento, análisis y visualización de imágenes, así como para el desarrollo de nuevos algoritmos. Permite llevar a cabo segmentaciones, mejorar la calidad (reducción de ruido, normalización geométrica y de intensidad) y procesar imágenes 3D. Muchas de las funciones de esta *toolbox* soportan la generación de código C/C++.
- *Computer Vision System Toolbox* proporciona algoritmos, funciones y aplicaciones para diseñar y simular sistemas de procesamiento de imágenes y vídeo. Permite realizar la detección y extracción de características entre muchas otras. También soporta la generación de código C (“MathWorks - Fabricantes de MATLAB y Simulink - MATLAB & Simulink”, 2017).

Por otro lado, las aplicaciones ITKsnap versión 2.4.0, utilizada para la visualización de las imágenes tridimensionales, *gdcconv*, para la descompresión de las imágenes en formato DICOM, o *dcm2niix*, para la conversión del formato DICOM a NiftI, son de acceso gratuito.

Finalmente, todos los documentos creados, así como el seguimiento y contacto con los centros sanitarios, se ha realizado con el paquete Microsoft Office 365 personal. También se ha utilizado el software gratuito Adobe Acrobat Reader DC.

En la Tabla 17 se cuantifica el coste imputable de estos softwares en función del tiempo en que han sido utilizados.

| <b>COSTE SOFTWARE</b>                 |   |                        |  |                               |                                      |
|---------------------------------------|---|------------------------|--|-------------------------------|--------------------------------------|
| <b>PROGRAMA</b>                       | <b>COSTE DE LA LICENCIA SIN IVA (€)</b> | <b>Nº DE LICENCIAS</b> | <b>DURACIÓN DE LA LICENCIA (MESES)</b> | <b>PERIODO DE USO (MESES)</b> | <b>COSTE IMPUTABLE SIN IVA * (€)</b> |
| Microsoft Windows 10 Pro              | 230.58                                  | 1                      | 72                                     | 7                             | 22.42                                |
| MATLAB R2015a                         | 2,000.00                                | 1                      | 12                                     | 3                             | 500.00                               |
| <i>Image Processing Toolbox</i>       | 1,000.00                                | 1                      | 12                                     | 3                             | 250.00                               |
| <i>Computer Vision System Toolbox</i> | 1,250.00                                | 1                      | 12                                     | 3                             | 312.50                               |
| ITKsnap 2.4.0                         | 0.00                                    | 1                      | -                                      | 6                             | 0.00                                 |
| gdcmconv                              | 0.00                                    | 1                      | -                                      | 1                             | 0.00                                 |
| dcm2niix                              | 0.00                                    | 1                      | -                                      | 2                             | 0.00                                 |
| Microsoft Office 365 Personal         | 57.02                                   | 1                      | 12                                     | 7                             | 33.26                                |
| Adobe Acrobat Reader DC               | 0.00                                    | 1                      | -                                      | 7                             | 0.00                                 |
| <b>TOTAL</b>                          |   |                        |  |                               | <b>1,118.18</b>                      |

*Tabla 17. Coste software para la elaboración del trabajo*

\* Para el cálculo del coste imputable sin iva ( $C$ ) es necesario aplicar la siguiente fórmula de cálculo de la amortización:

$$C = \frac{t * c}{T} \quad (1)$$

Donde  $t$  es el tiempo de uso,  $c$  el coste de adquisición y  $T$  el tiempo de vida útil. En la anterior tabla, la  $t$  es el 'período de uso', la  $c$  el 'coste de la licencia sin IVA' y la  $T$  la 'duración de la licencia'.

El coste total de software necesario en el trabajo asciende a una cantidad de **mil ciento dieciocho mil con dieciocho euros (1,118.18€)**.

### 2.3. Coste hardware

Para el desarrollo del trabajo se ha utilizado un único servidor con las características que se muestran en la Tabla 18. Cabe destacar que en el 'coste del equipo sin IVA' está incluido el precio del monitor utilizado, así como del teclado y el ratón.

| COSTE HARDWARE                     |                              |          |                   |                        |                               |
|------------------------------------|------------------------------|----------|-------------------|------------------------|-------------------------------|
| DESCRIPCIÓN                        | COSTE DEL EQUIPO SIN IVA (€) | UNIDADES | VIDA ÚTIL (MESES) | PERIODO DE USO (MESES) | COSTE IMPUTABLE SIN IVA * (€) |
| Core i7, 8 Gb RAM y 2TB disco duro | 908.26                       | 1        | 72                | 7                      | 88.30                         |
| <b>TOTAL (€)</b>                   |                              |          |                   |                        | <b>88.30</b>                  |

*Tabla 18.* Coste hardware para la elaboración del trabajo

\* Se aplica la ecuación 1 pero en este apartado la  $c$  se refiere al 'coste del equipo sin IVA' y la  $T$  a la 'vida útil'.

El coste total de hardware necesario en el trabajo asciende a una cantidad de **ochenta y ocho con treinta euros (88.30€)**.

### **CAPÍTULO 3. PRESUPUESTO TOTAL DEL PROYECTO**

#### **3.1. Presupuesto de ejecución material**

El presupuesto de ejecución material se calcula sumando los presupuestos parciales que describen cada unidad de obra y su cantidad. En la Tabla 19 se muestran dichos presupuestos parciales así como la suma total, correspondiente al presupuesto de ejecución material.

| <b>PRESUPUESTOS PARCIALES</b>                |                                    |
|--|------------------------------------|
| <b>UNIDAD DE OBRA</b>                        | <b>COSTE IMPUTABLE SIN IVA (€)</b> |
| Mano de obra                                 | 27,500.00                          |
| Software                                     | 1,118.18                           |
| Hardware                                     | 88.30                              |
| <b>PRESUPUESTO DE EJECUCIÓN MATERIAL (€)</b> | <b>28.706,48</b>                   |

*Tabla 19. Cálculo del presupuesto de ejecución material*

El presupuesto de ejecución material asciende a **veintiocho mil setecientos seis con cuarenta y ocho euros (28.706,48€)**.

#### **3.2. Presupuesto de ejecución por contrata**

El presupuesto de ejecución por contrata se calcula sumando al anterior presupuesto de ejecución material, los gastos generales y el beneficio industrial. Los gastos generales se calculan como el 16% del presupuesto de ejecución material y el beneficio industrial como el 6% del presupuesto de ejecución material. Los gastos generales se refieren a los gastos necesarios para llevar a cabo la actividad de la empresa pero que no están directamente relacionados con el producto o servicio que esta ofrece, es decir, que no aumentan el beneficio de la empresa. Y el beneficio industrial, se corresponde con lo que se gana verdaderamente al hacer el proyecto.

Para calcular el presupuesto total del proyecto se aplica el IVA al 21% al presupuesto de ejecución por contrata calculado (Pastor, J., 2017).

En la Tabla 20 se muestra el cálculo del presupuesto de ejecución por contrata así como del presupuesto total del trabajo.

*Desarrollo de un estudio clínico observacional multicéntrico retrospectivo para validar la tecnología de análisis de imagen médica OncoHabitats*

---

| DESCRIPCIÓN                              | COSTE (€)        |
|--|------------------|
| Presupuesto de ejecución material        | 28.706,48        |
| Gastos generales                         | 4.593,04         |
| Beneficio industrial                     | 1.722,39         |
| Presupuesto de ejecución por contrata    | 35.021,91        |
| IVA                                      | 42.376,51        |
| <b>PRESUPUESTO TOTAL DEL TRABAJO (€)</b> | <b>42.376,51</b> |

*Tabla 20. Cálculo del presupuesto total del trabajo*

En definitiva, el presupuesto total del trabajo asciende a **cuarenta y dos mil trescientos setenta y seis con cincuenta y un euros (42.376,51€)**.

#### **CAPÍTULO 4. BIBLIOGRAFÍA**

MathWorks - Fabricantes de MATLAB y Simulink - MATLAB & Simulink. (2017). Es.mathworks.com. Visitado el 24 de junio de 2017, en [https://es.mathworks.com/products.html?s\\_tid=gn\\_ps](https://es.mathworks.com/products.html?s_tid=gn_ps)

Pastor, J. (2017). Apuntes de la asignatura 'Proyectos y fabricación'. Presentación, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales (ETSII).