



Universidad
de Navarra

**Evaluación de ^{18}F -FDG, ^{11}C -Metionina y ^{11}C - Colina
para la detección de infiltración tumoral en
Mieloma Múltiple: estudio traslacional en modelos
preclínico y clínico en pacientes.**

Tesis presentada por María Isabel Morales Lozano
para aspirar al grado de Doctor en Medicina.

Pamplona, julio de 2020

D^a María José García Velloso, doctora en Medicina y especialista en Medicina Nuclear de la Clínica Universidad de Navarra, en calidad de director, y D^a Patricia Maiso Castellanos, doctora en Biología e investigadora del Servicio de Hematología del Hospital Marqués de Valdecilla de Santander, en calidad de co-director,

CERTIFICAN QUE: el presente trabajo, titulado **“Evaluación de ¹⁸F-FDG, ¹¹C-Metionina y ¹¹C- Colina para la detección de infiltración tumoral en Mieloma Múltiple: estudio traslacional en modelo preclínico y estudio clínico en pacientes.”** presentado por Doña María Isabel Morales Lozano, ha sido realizado bajo su dirección y se encuentra en condiciones de ser presentado como memoria para optar al grado de Doctor en Medicina.

D^a. MARÍA JOSÉ GARCÍA VELLOSO

D^a. PATRICIA MAISO CASTELLANOS

Y así lo hacen constar en Pamplona, a 24 de julio de dos mil veinte.

A mi familia, nucleido estable que no decae con el paso del tiempo.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer la culminación de esta tesis doctoral a todos aquellos que, de una u otra manera, han contribuido a su buen término, sin los cuales esta tesis doctoral no hubiera sido posible.

En primer lugar, quisiera dedicar esta tesis a mi familia, motor de todos mis logros y fuente inagotable de apoyo y paciencia cada vez que algún tropiezo se ha interpuesto en mi camino.

En segundo lugar, quisiera agradecer de forma particular a mi directora de tesis, la Dra. García-Velloso, en primer lugar, por haberme brindado la oportunidad de participar en la beca FIS sobre nuevos radiofármacos para detectar mieloma en modelos preclínico y clínico y, en segundo lugar, por su gran vocación, dedicación y entrega. Sus propuestas y revisiones me han sido de gran utilidad durante este largo camino que culmina hoy aquí, aunque su cercanía y confianza en los momentos difíciles durante la elaboración de esta tesis han resultado, si cabe, aún más valiosos.

Asimismo, quisiera agradecer a mi co-directora, la Dra. Patricia Maiso, su esfuerzo; imagino que no habrá resultado fácil acercar el conocimiento de los modelos preclínicos a una doctoranda de formación clínica si bien, a mi parecer, esta dualidad ha resultado en un enfoque global de la enfermedad desde el punto de vista de la imagen funcional

Gracias a todos aquellos residentes de Medicina Nuclear que me han precedido y sucedido, cuya ayuda y compañía han resultado fundamentales en esta empresa y cuyos consejos y ánimos han sido de gran valor personal y profesional, y como ellos, al Servicio de Hematología y a todos los profesionales que, con su ayuda desinteresada, me han aportado conocimientos y me han ayudado a comprender, mejorar, revisar y corregir este documento, demostrando que, por largo que resulte el camino, siempre es más llevadero cuando te conduce una mano amiga. El verdadero logro de esta tesis es, para mí, haberles conocido y poder contar con ellos cualquiera que sea la distancia que nos separe.

Por último, quisiera dar las gracias a nuestros pacientes, especialmente a los que ya no están, porque sin ellos nada de esto tendría sentido.

ABREVIATURAS

ADC: apparent diffusion coefficient
ADN: ácido desoxirribonucleico
ALB: albúmina
B2M: beta 2 microglobulina
BJ: Bence-Jones
CAR: receptor antigénico quimérico
CM: componente monoclonal
CRAB: Calcemia, Renal failure, Anemia, Bone lesions
DWI: diffusion-weighted magnetic resonance imaging
EF: electroforesis
EM: enfermedad extramedular
EMN: Sociedad Europea de Mieloma
ESMO: Sociedad Europea de Oncología Médica
FISH: hibridación fluorescente in situ
FLC: fracción de cadenas ligeras
G-CSF: factor estimulante de colonias granulocíticas
GE: gradient echo
GMSI: gammapatía monoclonal de significado incierto
Hgb: hemoglobina
IFs: inmunofijación
IFo: inmunofijación en orina
Igs: inmunoglobulinas
IMWG: international myeloma working group
IMPetUs: Italian myeloma for PET use criteria
ISS: International staging system
LCP: leucemia de células plasmáticas
LDH: lactato deshidrogenasa
LF: lesión focal
MAPK: proteinkinasa activada por mitógenos
MIP: maximum intensity projection
MM: mieloma múltiple
MMQ: mieloma múltiple quiescente
MO: médula ósea
mSv: miliSievert
MTV: Metabolic tumor volume

NF- κ B: factor nuclear kappa beta
NGF: next-generation flow
NSG: nod-scid gamma
OPG: osteoprotegerina
PET/TC: tomografía por emisión de positrones
PSF: point spread function
RANK-L: ligando del receptor activador del factor nuclear KB
R-ISS: Revised International staging system
RM: resonancia magnética
Rx: rayos X convencionales
SCD: severe combined immunodeficiency
SE: Spin echo
SG: supervivencia global
SLP: supervivencia libre de progresión
STIR: short tau inversion recovery
TASPE: trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos
TC: tomografía computerizada
TLG: Total lesion glycolysis
TOF: time of flight
TTP: time to progression, tiempo a la progresión
VEGF: factor de crecimiento del endotelio vascular
 ^{18}F -FDG: 2-deoxy-2-[^{18}F] fluoro- D-glucosa
 ^{11}C -MET: [^{11}C] Metionina

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

El Mieloma Múltiple (MM) es la segunda neoplasia hematológica más frecuente y, a pesar de los avances terapéuticos experimentados en la última década, continúa siendo incurable. Se caracteriza por la presencia de lesiones óseas y, en algunos casos, lesiones extramedulares. Si bien el estándar para la evaluación de las lesiones óseas sigue siendo la radiología convencional, en los últimos años se han producido notables avances gracias a nuevas técnicas de imagen como la tomografía por emisión de positrones (PET)/Tomografía computerizada (TC). Para la valoración de esta discrasia plasmática, se han explorado distintos radiofármacos cuyo rendimiento diagnóstico resulta determinante a la hora de definir la lesión tumoral.

OBJETIVOS

Comparar el rendimiento diagnóstico de tres radiofármacos (FDG, MET y COL) en la detección de infiltración tumoral de MM por PET/TC en un modelo murino mediante microPET e investigar la utilidad diagnóstica y el valor pronóstico de FDG y MET PET/TC en pacientes con mieloma.

MATERIAL Y METODOS

En el modelo murino se valoraron distintas líneas celulares de MM a fin de escoger aquellas con un comportamiento similar al observado en pacientes. Posteriormente, se comparó la eficacia diagnóstica de FDG, MET y COL en la detección de lesiones tumorales antes y después del tratamiento con distintos fármacos. En 52 pacientes, se realizó un estudio prospectivo comparativo utilizando FDG y MET, con el fin de establecer el rendimiento diagnóstico de estos radiofármacos. Además, se estudió el valor pronóstico de variables con impacto conocido junto con nuevos biomarcadores de imagen como el volumen tumoral con FDG y MET (TMTV), la carga tumoral metabólicamente activa con FDG (TLG) y con MET (TLMU), no explorados hasta la fecha en el caso de la MET.

RESULTADOS

En el modelo preclínico, la COL mostró menor sensibilidad e intensidad de captación en las lesiones de MM en las líneas celulares RPMI8226 y MM1S. Tanto la FDG como la MET permitieron realizar un seguimiento adecuado de la progresión de la enfermedad tumoral y reflejaron el efecto de los tratamientos frecuentemente empleados en mieloma (bortezomib, lenalidomida, dexametasona), encontrándose un mayor control de la enfermedad con la triple terapia que con bortezomib en monoterapia.

La MET detectó infiltración tumoral en 6 pacientes (11%) con PET FDG negativo, así como también detectó mayor número de lesiones que la FDG en 33/52 pacientes (63%). En el análisis univariante, las variables que se asociaron con la SLP fueron: presencia de más de 3 lesiones focales (HR 2.65, IC 95% 0.84-8.41, $p= 0.097$), >10 lesiones focales (HR 3.01, IC 95% 1.04-8.68, $p= 0.041$), TMTV>210 cm^3 (HR 3.69, IC 95% 1.07-12.66, $p= 0.038$) o enfermedad extramedular (EM) (HR 4.19, IC 95% 1.25-14.08, $p= 0.02$) en el estudio FDG PET/TC, así como valores de TMTV>366 cm^3 (HR 4.58, IC 95% 1.25-16.82, $p= 0.02$), TLMU>1448 g (HR 4, IC 95% 1.09-14.64, $p= 0.04$) y EM (HR 4.19, IC 95% 1.25-14.08, $p= 0.02$) en el estudio MET PET/TC.

CONCLUSIÓN

En base a los resultados obtenidos, se desestima la COL para la investigación de MM en el modelo murino, mientras que tanto la FDG como la MET permiten realizar un seguimiento adecuado de la progresión de la enfermedad tumoral. En pacientes con MM se confirma el valor diagnóstico y pronóstico de la FDG. La MET es un radiofármaco con rendimiento diagnóstico superior a la FDG, aunque tiene la limitación de su menor disponibilidad.

ÍNDICE

FIGURAS	PÁGINA
Figura 1. <i>Curso evolutivo mieloma múltiple</i>	2
Figura 2. <i>Anomalías citogenéticas</i>	3
Figura 3. <i>Microambiente tumoral</i>	3
Figura 4. <i>Esquema terapéutico pacientes no subsidiarios de TASPE</i>	28
Figura 5. <i>Algoritmo terapéutico para pacientes en primera y segunda recaída</i>	30
Figura 6. <i>Diagrama de flujo de tratamientos en el modelo murino</i>	55
Figura 7. <i>Imagen de fluorescencia modelo murino</i>	56
Figura 8. <i>Escala visual Deauville utilizada en el FDG-PET para valorar la captación difusa</i>	65
Figura 9. <i>Comparación % retención en las líneas celulares para la ^{18}F-FDG y ^{11}C-MET. Comparativa ratio ^{11}C-MET/^{18}F-FDG líneas celulares.</i>	74
Figura 10. <i>Imagen MicroPET del modelo subcutáneo MM1S y RPMI8226.</i>	76
Figura 11. <i>Comparativa SUV_{max}, MTV, TLG/TLMU/TLCU líneas celulares</i>	78
Figura 12. <i>Evolución del SUV_{max} entre puntos temporales (línea continua) y entre grupos terapéuticos (línea discontinua)</i>	83
Figura 13. <i>Evolución del MTV durante el tratamiento (línea continua) y entre grupos terapéuticos (línea discontinua)</i>	84
Figura 14. <i>Evolución del TLG/TLMU entre puntos temporales (línea continua) y entre grupos terapéuticos (línea discontinua)</i>	85
Figura 15. <i>Serie de imágenes MicroPET con ^{11}C-MET y ^{18}F-FDG en el modelo murino con tumor subcutáneo (flecha roja)</i>	86
Figura 16. <i>Paciente con MM oligosecretor kappa, estadio III, ISS-2, con hipercaptación difusa en MO en el estudio de ^{11}C-Metionina y lesión focal lítica localizada en la cortical humeral izquierda</i>	89
Figura 17. <i>Paciente con MMQ con hipercaptación difusa en MO en</i>	90

<i>el estudio de ^{11}C-Metionina y lesión focal sin componente lítico en la clavícula izquierda ($\text{SUV}_{\text{max}}= 1.5$).</i>	
Figura 18. <i>Paciente con MMQ con hipercaptación heterogénea de MO en el estudio de ^{11}C-Metionina en el esqueleto axial y apendicular</i>	90
Figura 19. <i>Diagrama de flujo de la población a estudio</i>	91
Figura 20. <i>Paciente de 68 años con MM Bence Jones lambda ISS-2.</i>	93
Figura 21. <i>Diagrama de flujo de los pacientes remitidos para valoración de respuesta</i>	95
Figura 22. <i>Paciente de 64 años con MM IgG kappa ISS-2 que alcanzó MBRP, remitido para valoración de respuesta mediante PET/TC.</i>	100
Figura 23. <i>Correlación SUV_{max} vertebral ^{11}C-MET, ^{18}F-FDG</i>	102
Figura 24. <i>Correlación SUV_{max} iliaco ^{11}C-MET, ^{18}F-FDG</i>	103
Figura 25. <i>Captación hepática en ^{11}C-MET PET basal/respuesta</i>	104
Figura 26. <i>Correlación entre parámetros MET PET y B2M, FLC y componente M</i>	106
Figura 27. <i>Correlación entre parámetros FDG PET y B2M y componente M</i>	107
Figura 28. <i>Paciente de 56 años con MM IgD lambda ISS-1 con superior carga tumoral en ^{11}C-Metionina PET/TC que en el ^{18}F-FDG PET/TC</i>	109

TABLAS	PÁGINA
Tabla 1. <i>Criterios diagnósticos para GMSI, MMQ y MM</i>	10
Tabla 2. <i>Criterios CRAB</i>	11
Tabla 3. <i>Resumen de las características de las técnicas de imagen diagnóstica</i>	20
Tabla 4. <i>Comparativa SG en las escalas de estratificación</i>	24
Tabla 5. <i>Factores de riesgo estándar y escala R-ISS</i>	25
Tabla 6. <i>Criterios estándar de respuesta IMWG (2009)</i>	32
Tabla 7. <i>Criterios de respuesta adicional IMWG (2016)</i>	33
Tabla 8. <i>Técnicas de imagen para la valoración de respuesta</i>	36
Tabla 9. <i>Líneas celulares modelo preclínico</i>	52
Tabla 10. <i>Criterios IMPeTUs adaptados de Nanni y cols</i>	65
Tabla 11. <i>Escala Deauville</i>	65
Tabla 12. <i>Análisis comparativo resultados in vitro</i>	73
Tabla 13. <i>Comparativa ratios de captación ^{11}C-Metionina/^{18}F-FDG entre líneas celulares</i>	74
Tabla 14. <i>Resultados análisis visual de cada trazador para los tumores MM1S y RPMI8226.</i>	76
Tabla 15. <i>Resultados análisis cuantitativo de los trazadores ^{11}C-Metionina y ^{18}F-FDG para los tumores MM1S y RPMI8226.</i>	77
Tabla 16. <i>Valores SUV_{max}, MTV, TLG ^{18}F-FDG del grupo de triple terapia</i>	81
Tabla 17. <i>Valores SUV_{max}, MTV, TLG ^{18}F-FDG del grupo bortezomib</i>	82
Tabla 18. <i>Valores SUV_{max}, MTV, TLG ^{18}F-FDG del grupo control</i>	82
Tabla 19. <i>Características basales de los pacientes</i>	88
Tabla 20. <i>Patrón de captación de ^{18}F-FDG y ^{11}C-MET en el estudio de extensión</i>	92

Tabla 21. *Patrón de captación por lesiones ^{18}F -FDG y ^{11}C -MET en el estudio de extensión* 93

Tabla 22. *Tabla concordancia ^{11}C -MET PET/TC y respuesta clínica* 97

Tabla 23. *Tabla concordancia ^{11}C -MET PET/TC y EMR* 98

Tabla 24. *Análisis del patrón de captación en el estudio de respuesta* 98

Tabla 25. *Análisis univariante del ^{18}F -FDG y ^{11}C -Metionina PET/TC basales en función de las variables pronósticas SLP y SG* 111

I. INTRODUCCIÓN	1
1. CONCEPTOS	1
2. FISIOPATOLOGÍA Y PATOGÉNESIS.....	1
2.1 <i>Anomalías genéticas</i>	3
2.2 <i>Anomalías primarias</i>	4
2.3 <i>Anomalías secundarias</i>	5
2.4 <i>Microambiente tumoral</i>	6
3. EPIDEMIOLOGÍA	7
4. PRESENTACIÓN CLÍNICA	8
4.1 <i>Afectación ósea</i>	8
4.2 <i>Afectación renal</i>	9
4.3 <i>Otros síntomas</i>	10
5. DIAGNÓSTICO	10
5.1 <i>Pruebas de laboratorio</i>	11
5.2 <i>Pruebas de imagen</i>	13
5.2.1 Radiografía convencional.....	14
5.2.2 Tomografía Axial Computerizada.....	14
5.2.3 Resonancia Magnética.....	16
5.2.4 Tomografía por Emisión de Positrones (PET)/TC	18
5.3 GAMMAPATÍA MONOCLONAL DE SIGNIFICADO INCIERTO	21
5.4 MIELOMA MÚLTIPLE QUIESCENTE	22
5.5 ESCALAS DE ESTADIFICACIÓN	24
5.5.1 <i>Durie-Salmon</i>	24
5.5.2 <i>International Staging system</i>	24
5.5.3 <i>Revised International Staging System (R-ISS)</i>	25
6. TRATAMIENTO.....	26
7. ESQUEMAS TERAPÉUTICOS.....	26
7.1 Terapia para pacientes jóvenes (subsidiarios de trasplante)	27
7.2 Tratamiento inicial para pacientes mayores (no subsidiarios de trasplante)	28
7.3 Tratamiento para pacientes en recaída.....	28
8. VALORACIÓN DE RESPUESTA Y SEGUIMIENTO	31
8.1 ¹⁸ F-FDG PET/TC.....	34
8.2 Resonancia Magnética.....	35
9. NUEVOS TRAZADORES PET EN EL MM.....	36
9.1 ¹¹ C/ ¹⁸ F-Colina.....	37
9.2 ¹¹ C-Metionina	38
9.3 ¹¹ C-Acetato.....	39
9.4 ¹⁸ F-Fluorotimidina (¹⁸ F-FLT).....	40
9.5 ⁶⁸ Ga-Pentixafor Chemokine receptor 4 (CXCR4).....	41
II. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	43

1.	JUSTIFICACIÓN.....	45
2.	HIPÓTESIS.....	45
3.	OBJETIVOS.....	45
3.1	<i>Objetivo principal</i>	45
3.2	<i>Objetivos secundarios</i>	45
3.2.1	Modelo preclínico.....	45
3.2.2	Modelo clínico.....	46
III.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	49
1	DISEÑO.....	51
1.1	MODELO PRECLÍNICO.....	51
1.1.1	<i>Diseño del estudio</i>	51
1.1.2	<i>Muestra a estudio</i>	51
1.1.2.1	Cultivos celulares y reactivos.....	51
1.1.2.2	Estudios de incorporación <i>in vitro</i>	52
1.1.2.3	Modelo tumoral en ratón.....	52
1.1.3	<i>Estudio de fluorescencia</i>	56
1.1.4	<i>Estudios MicroPET in vivo</i>	56
1.1.4.1	Análisis imágenes MicroPET.....	57
1.1.5	<i>Citometría de flujo</i>	58
1.2	MODELO CLÍNICO.....	59
1.2.1	<i>Diseño del estudio</i>	59
1.2.2	<i>Población a estudio</i>	59
1.2.2.1	Criterios de inclusión.....	59
1.2.2.2	Criterios de exclusión.....	59
1.2.2.3	Valoración clínica inicial.....	60
1.2.3	<i>Valoración por técnicas de imagen: PET/TC</i>	62
1.2.3.1	Equipo técnico.....	62
1.2.3.1.1	Producción de radiofármacos.....	62
1.2.3.1.2	Estudios PET/TC.....	63
1.2.3.1.3	¹⁸ F-FDG y ¹¹ C-MET ADQUISICIÓN/RECONSTRUCCIÓN.....	63
1.2.4	<i>Análisis imagen PET/TC</i>	64
1.2.4.1	¹⁸ F-FDG PET/TC.....	64
1.2.4.2	¹¹ C-MET PET/TC.....	65
1.2.4.3	Análisis semicuantitativo.....	66
1.3	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	67
IV.	RESULTADOS.....	71
1	CAPTACIÓN DE ¹⁸F-FDG Y ¹¹C-MET EN LÍNEAS CELULARES.....	73
1.1	ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA CAPTACIÓN.....	73

2	¹¹C-MET, ¹⁸F-FDG Y ¹¹C-COL EN EL ESTUDIO DE EXTENSIÓN TUMORAL EN UN MODELO MURINO	75
2.1	TIEMPO DE CRECIMIENTO TUMORES SUBCUTÁNEOS	75
2.2	ANÁLISIS VISUAL	75
2.3	ANÁLISIS CUANTITATIVO	76
2.4	CORRELACIÓN ENTRE LOS BIOMARCADORES DE IMAGEN Y EL PORCENTAJE DE CÉLULAS TUMORALES DETECTADO POR CITOMETRÍA DE FLUJO	79
3	¹⁸F-FDG Y ¹¹C-METIONINA EN LA VALORACIÓN DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO EN UN MODELO MURINO	80
4	ESTUDIO DE EXTENSIÓN TUMORAL CON ¹⁸F-FDG Y ¹¹C-MET EN PACIENTES CON MIELOMA	87
4.1	CARACTERÍSTICAS BASALES DE LA POBLACIÓN A ESTUDIO	87
4.2	ANÁLISIS POR PACIENTE	88
4.2.1	<i>Análisis por patrón de captación</i>	92
4.3	ANÁLISIS POR LESIONES	92
5	VALORACIÓN DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON ¹⁸F-FDG Y ¹¹C-MET EN PACIENTES CON MIELOMA	94
5.1	CARACTERÍSTICAS BASALES DE LA POBLACIÓN A ESTUDIO	94
5.2	ANÁLISIS POR PACIENTES	94
5.2.1	<i>Análisis del patrón de captación</i>	98
5.3	ANÁLISIS POR LESIONES	99
6	DETECCIÓN DE INFILTRACIÓN TUMORAL DE MÉDULA ÓSEA CON ¹⁸F-FDG Y ¹¹C-MET	101
6.1	PARÁMETROS SEMICUANTITATIVOS PET/TC	101
7	CORRELACIÓN DE ¹⁸F-FDG Y ¹¹C-MET CON PARÁMETROS ANALÍTICOS	105
7.1	CORRELACIÓN CON PARÁMETROS DE LABORATORIO	105
8	VALOR PRONÓSTICO	108
8.1	CARACTERÍSTICAS BASALES DE LA POBLACIÓN	108
8.2	¹⁸ F-FDG PET/TC	108
8.3	¹¹ C-METIONINA PET/TC	109
8.4	ANÁLISIS UNIVARIANTE Y MULTIVARIANTE	110
V.	DISCUSIÓN	113
1	CAPTACIÓN DE ¹⁸F-FDG Y ¹¹C-MET EN LÍNEAS CELULARES	115
2	¹⁸F-FDG, ¹¹C-MET Y ¹¹C-COL EN EL ESTUDIO DE EXTENSIÓN TUMORAL EN UN MODELO MURINO	115

3	¹⁸F-FDG Y ¹¹C-MET EN LA VALORACIÓN DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO EN UN MODELO MURINO.....	117
4	ESTUDIO DE EXTENSIÓN CON ¹⁸F-FDG Y ¹¹C-MET	120
5	VALORACIÓN DE RESPUESTA CON ¹⁸F-FDG Y ¹¹C-MET.....	121
6	INFILTRACIÓN DE MÉDULA ÓSEA	122
7	CORRELACIÓN DE ¹⁸F-FDG Y ¹¹C-MET CON PARÁMETROS ANALÍTICOS.....	123
8	VALOR PRONÓSTICO	124
9	LIMITACIONES.....	125
10	LÍNEAS DE FUTURO	126
VI.	CONCLUSIONES	129
VII.	BIBLIOGRAFÍA	135
VIII.	ADDENDUM	153
IX.	PUBLICACIONES.....	157
	ARTICULO	159
	COMUNICACIONES A CONGRESOS Y PÓSTER	175

I. INTRODUCCIÓN

1. Conceptos

El Mieloma Múltiple (MM) es un desorden proliferativo clonal de células plasmáticas en la médula ósea o, más raramente, de forma extramedular en tejidos. Las células plasmáticas forman parte del sistema inmune y producen anticuerpos que ayudan a combatir las infecciones. Sin embargo, las células plasmáticas clonales producen solamente un tipo de anticuerpos monoclonales llamados paraproteínas o componente monoclonal (CM) que impiden la formación de anticuerpos normales. Las células plasmáticas clonales se acumulan en la médula ósea, desplazando a las células sanguíneas sanas causando insuficiencia medular y destrucción ósea, y produciendo acúmulo excesivo de la paraproteína en sangre y en orina, que conlleva hiperviscosidad, disfunción orgánica, y en estadios avanzados, fallo renal secundario a cadenas ligeras (fracción de cadenas ligeras, FLC; proteína de Bence Jones) (1).

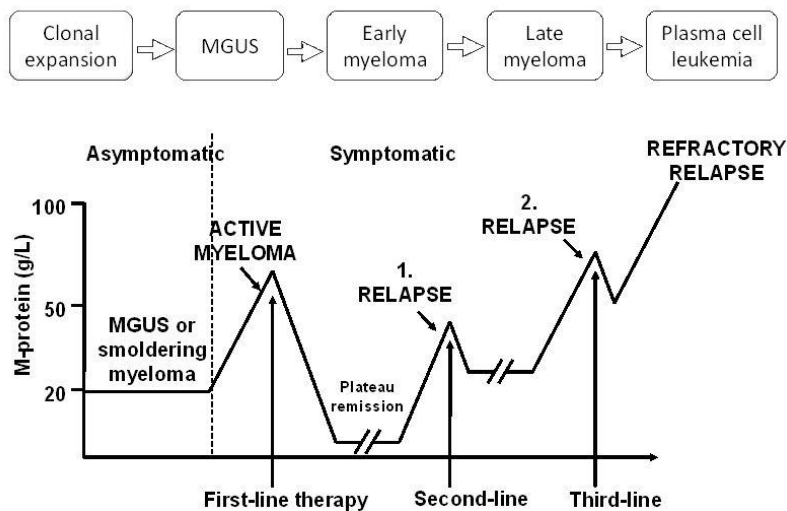
El curso evolutivo de la enfermedad es el típico de una enfermedad crónica incurable, precedida por condiciones premalignas como la gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI) o el mieloma quiescente (MMQ), que serán detalladas más adelante. A pesar de los avances terapéuticos experimentados en la última década, alcanzándose en muchos casos una respuesta completa tras el tratamiento inicial con duplicación de la mediana de supervivencia de 3 a 6 años (2,3), la mayoría de pacientes recaen y mueren a causa de la enfermedad.

2. Fisiopatología y patogénesis

El MM surge de una proliferación asintomática premaligna de las células plasmáticas monoclonales que derivan de las células B de los centros postgerminales (4). Estas células son células diferenciadas, que no experimentan división, sobreviven meses-años en la MO y producen inmunoglobulinas antígeno-específicas que forman parte del sistema de defensa inmune. Si bien la célula propia del MM no ha sido aún identificada, la célula diana que experimenta la transformación neoplásica deriva de la línea celular B, que sufre maduración antigénica en el centro germinal de los ganglios linfáticos, experimentando una serie de modificaciones genéticas y medioambientales que llevan a su transformación maligna. Posteriormente, dicha célula migra a la MO donde se producen interacciones con el estroma y la matriz extracelular. La presencia de los linfocitos B clonales en sangre periférica sugiere que ambos tipos celulares (B y células plasmáticas clonales neoplásicas) podrían tener un origen común (5).

Se cree que el MM evoluciona en la mayoría de los casos de una discrasia de células plasmáticas premaligna, la GMSI, presente en el 3-4% de la población mayor de 50 años, que progresa a MMQ, estadio clínico premaligno intermedio que se diferencia del MM solamente en la ausencia de criterios CRAB y, finalmente, a MM sintomático (6). De forma infrecuente, este último evoluciona a leucemia de células plasmáticas (LCP), condición en la cual las células plasmáticas circulan libres en la sangre periférica. En este sentido, se han descrito unas tasas de progresión a MM de las entidades iniciales (GMSI y MMQ) de un 0.5-1% por año en el caso de la GMSI y de un 10% por año en los primeros 5 años tras el diagnóstico de un MMQ (7). La tasa de progresión desde MMQ a MM sintomático está incrementada en los casos con anomalías genéticas de alto riesgo que serán descritas a continuación. De la misma manera, otros factores como la inmunoparesia, valores elevados de paraproteína o la ausencia de células plasmáticas con inmunofenotipo no patológico también determinan mayor riesgo de progresión desde MMQ a sintomático (8).

Figura 1. Curso evolutivo mieloma múltiple. Fuente: Hajek R. (9)



No obstante, aunque el MM es un desorden primario del linaje B, con frecuencia las células T se encuentran afectas, reduciéndose el número absoluto de células CD4 con normalidad de los niveles de CD8, lo que redundaría en una disminución de la ratio CD4/CD8, siendo esta esencial para mantener la inmunidad antitumoral (10).

En la patogenia de la enfermedad, hay dos fenómenos de especial relevancia: las anomalías citogenéticas y el microambiente tumoral.

Figura 2. Anomalías citogenéticas. Fuente: Palumbo A. (4)

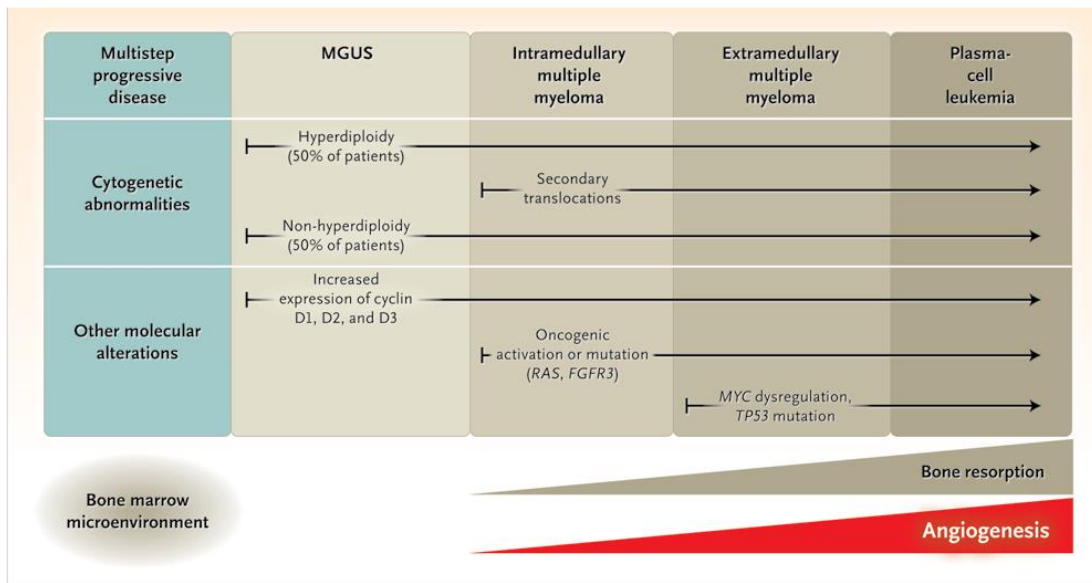
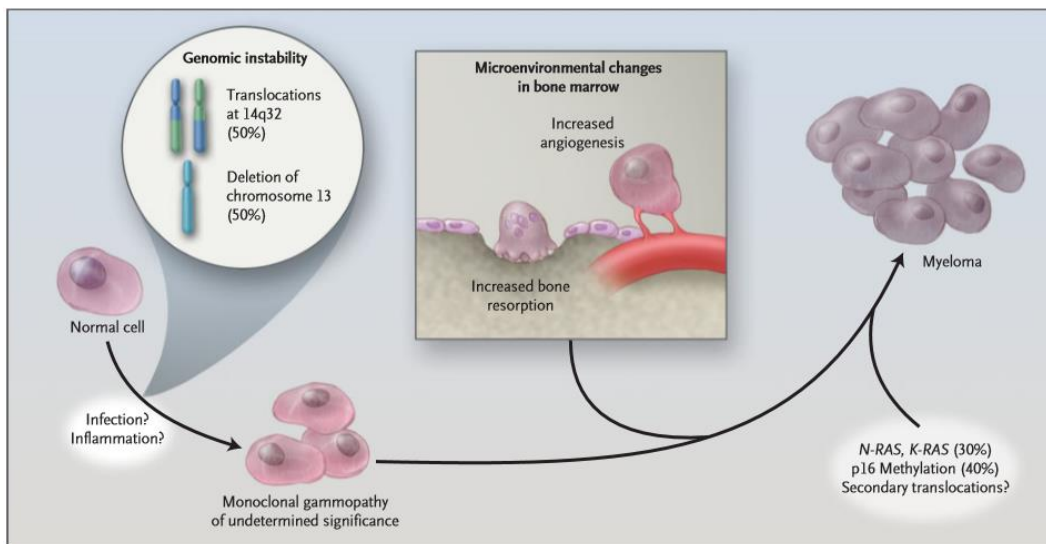


Figura 3. Microambiente tumoral. Fuente: Kyle R. (1)



2.1 Anomalías genéticas

Se considera al MM como enfermedad única, aunque en realidad es una colección de múltiples discrasias plasmáticas con diferencias citogenéticas que alteran la expresión de moléculas de adhesión en las células del mieloma, así como la respuesta a estímulos de crecimiento, afectando a cada aspecto de la enfermedad, desde la evolución a la presentación clínica, respuesta a terapia y pronóstico (11,12). Durante el curso de la enfermedad se producen múltiples anomalías citogenéticas, algunas de ellas desde el momento de transformación de la célula normal a la GMSI, mientras que otras ocurren en estadios más avanzados/refractarios. Las anomalías pueden categorizarse en primarias y

secundarias; las anomalías citogenéticas primarias clasifican a la GMSI en subtipos bien diferenciados, mientras que las anomalías secundarias ocurren en cualquiera de los subtipos de MM e influyen en la evolución de la enfermedad de forma solapada, dado que diferentes anomalías citogenéticas secundarias pueden coexistir en el mismo paciente.

En aproximadamente la mitad de pacientes con mieloma, el evento genético inicial es la hiperdiploidía, caracterizada por trisomías cromosómicas. El restante 50% de pacientes tienen usualmente una translocación de material genético. Técnicas como la Hibridación Fluorescente In Situ (FISH), basada en el estudio en interfase, han mejorado la resolución de los análisis genómicos, permitiendo detectar aberraciones cromosómicas en más del 90% de los pacientes con MM de nuevo diagnóstico.

Aberraciones primarias son aquellas que conciernen a los cromosomas 4p16 (12-15%), 11q13 (15-20%), 16q23 (%), 6p21 (5%) y 20q11 (1%) mientras que aberraciones secundarias son las siguientes: ganancia (1q) (40%), delección (1p) (30%), del (17p) (o TP53, 7%), entre otras.

2.2 Anomalías primarias

Las anomalías primarias, también llamadas precoces, que afectan a las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas mediante translocación o trisomía son comunes al MM y a la GMSI. La forma trisómica se caracteriza por la presencia de una copia adicional de los cromosomas 3, 5, 7, 9, 11, 15 y 17, mientras que la forma translocada incluye las traslocaciones t(11;14), t(4;14), t(6;14), t(14;16) y t(14;20), abordadas a continuación.

En cada una de estas traslocaciones, un oncogen de un cromosoma vecino se transloca a la región IgH del cromosoma 14q32. Concretamente, las translocaciones ocurren con la yuxtaposición de la región del cromosoma 14 (q32,33) con las regiones MAF (t(14;16) (q32,33;23) y MMSET (4p16.3), resultando en una disregulación de dos genes adyacentes, el MMSET, afecto en la totalidad de los casos, y el FGFR3, en el 30% de las ocasiones (13,14). De entre las translocaciones que implican al locus de las inmunoglobulinas, la región de la cadena pesada de la misma (IgH) supone el 50-70% de los casos, mientras que la región de la cadena ligera (IgL) comprende menos del 20% (15).

Como se mencionaba anteriormente, distintas translocaciones forman parte de las anomalías primarias:

- t(14;16) (q32;23): marcador de alto riesgo con una mediana de supervivencia de 2-3 años. Se suele acompañar de anomalías del cromosoma 13 (15).
- t(4;14) (p16;q32): marcador de alto riesgo, aunque los nuevos agentes terapéuticos han supuesto un cambio de consideración a riesgo intermedio. Asociado a isotipos IgA y expresión de cadenas ligeras lambda (15), hay un subgrupo con bajos niveles de B2microglobulina (B2M) y niveles altos de hemoglobina (Hgb), representando este un grupo de mejor pronóstico con mayor supervivencia.
- t(11;14) (q13;q32): Considerado como riesgo estándar, se asocia a mielomas oligosecretores, morfología linfoplasmocítica y expresión de cadenas ligeras lambda. Suponen la mayoría de casos de Mieloma IgM y el 50% de las amiloidosis de cadenas ligeras. Existen dos subtipos: con expresión de CD20, de demostrada remisión completa lenta pero duradera, y el que carece de expresión de CD20, asociado frecuentemente a una remisión completa rápida pero poco duradera.
- t(14;20): traslocación infrecuente que resulta en la expresión de MAFB, factor de transcripción de la familia bZip (16,17). Resultados preliminares demuestran que su presencia se correlaciona con peor pronóstico en mieloma. Sin embargo, paradójicamente, la identificación de dicha traslocación en la GMSI o el MMQ puede asociarse a enfermedad estable de larga duración (18), lo que sugiere que eventos moleculares adicionales son necesarios en aquellos casos que progresan a mieloma, y que estos pueden ser los responsables del pronóstico desfavorable.

2.3 Anomalías secundarias

Asociadas a progresión de la enfermedad, su adquisición es tardía (15) y de carácter complejo, jugando un rol clave en la determinación de la progresión tumoral y la resistencia a fármacos en el MM. Los genes afectados con mayor frecuencia son el MYC (8q24) que experimenta anomalías, NRAS y KRAS, activación, FGFR3 y TP53, mutaciones y CDKN2A y CDKN2C, inactivación por mutaciones. Otros genes involucrados en el MM y no en la GMSI son el MAFB (20q12) y el IRF4 (6p25) (4). La sobreactivación de los factores de transcripción ha sido reportada en pacientes con GMSI pero no en pacientes con MM.

-Monosomía cromosoma 13 o del(13q): marcador de riesgo adverso. Es un evento temprano en la patogenia del MM, presente en hasta el 50% de la GMSI.

-Delecciones en el cromosoma 17p (p53): de aparición tardía, implican un alto riesgo de progresión a MM. En pacientes de nuevo diagnóstico, implica mal pronóstico en la supervivencia global (SG) y supervivencia libre de progresión (SLP), con una mediana de 2-3 años a pesar de tratamiento.

-Alteraciones del cromosoma 1q21: presentes en más del 40% de los pacientes con MMQ y MM, su existencia sugiere un papel en la progresión de la enfermedad. Algunos estudios sugieren que se asocia a riesgo de progresión de MMQ y a pronóstico desfavorable en MM.

-Otras: disregulaciones epigenéticas tales como la alteración en la expresión del microARN y la metilación de genes (19).

El International Myeloma Working Group (IMWG) recomienda el uso de la técnica FISH en células plasmáticas purificadas para definir el riesgo citogenético (8,20). De acuerdo a este consenso, únicamente las traslocaciones t(4;14), t(14;16), y la delección del (17p) son consideradas de forma unívoca como anomalías citogenéticas de alto riesgo. Por otra parte, las anomalías del cromosoma 1 tales como gan(1q), del(1p), y las aberraciones 1q21 están asociadas con un pronóstico adverso.

Las aberraciones cromosómicas descritas anteriormente no son fijas durante la evolución de la enfermedad, sino que la heterogeneidad intra-clonal secundaria a subclones genómicamente variables dentro del mismo paciente cambia durante el curso de la enfermedad en función de la terapia recibida, dando lugar a la selección del clon que mejor se adapta y a la eliminación del clon peor adaptado (21). Este comportamiento ha sido descrito en otros tumores sólidos y puede ser un factor importante a la hora de valorar la resistencia a ciertas terapias y la progresión de la enfermedad.

2.4 Microambiente tumoral

Las anomalías genéticas alteran la expresión de las moléculas de adhesión en las células de MM, así como la respuesta a los estímulos de crecimiento en el microambiente. La interacción entre las células de MM y las células de la médula ósea o las proteínas de la matriz extracelular, mediadas por los receptores de superficie celular (integrinas, cadherinas, selectinas), incrementa el crecimiento tumoral, la supervivencia, migración y resistencia a fármacos. La adhesión de las

células de MM a las células estromales y hematopoyéticas induce la secreción de citoquinas y factores de crecimiento, incluyendo la IL-6, el factor de crecimiento vascular del endotelio (VEGF), el factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1), todos ellos miembros de la superfamilia de los factores de necrosis tumoral, y regulados por procesos autocrinos y paracrinos (22).

La adhesión de las células de MM a las proteínas de matriz extracelular (colágeno, fibronectina, laminina, vitronectina) mediante las moléculas de adhesión (molécula de adhesión vascular tipo 1, VCAM1, integrina alfa 4, VLA-4) sobreactiva a las proteínas reguladoras del ciclo celular como la IL-6 y el VEGF, lo que estimula las células plasmáticas y la angiogénesis (23).

La actividad de los inhibidores del proteasoma y los fármacos inmunomoduladores frecuentemente empleados en el tratamiento de la enfermedad se basa en la disrupción de vías de señalización múltiple que condicionan el crecimiento, proliferación y la supervivencia de las células de mieloma. Los inhibidores del proteasoma estimulan múltiples vías de apoptosis, entre ellas la respuesta al estrés del sistema retículo-endotelial o la inhibición del factor nuclear KB (NF-KB), disminuyendo la angiogénesis y la adhesión celular en el microambiente (24). Por su parte, los inmunomoduladores estimulan la apoptosis e inhiben la angiogénesis y la adhesión, mientras estimulan la respuesta inmune a las células de mieloma mediante las células T y las células Natural Killer (25).

3. Epidemiología

El MM supone un 1% en las estadísticas generales del cáncer y un 13% en las series de neoplasias hematológicas. En España, la incidencia acumulada de MM es de aproximadamente 5 personas por 100000 personas/año (26,27). La incidencia aumenta con la edad, dados los cambios epigenéticos y genéticos durante el desarrollo de la enfermedad, de manera que casi la mitad de los casos con MM se diagnostican en pacientes de edades superiores a 75 años.

La edad media de presentación de los pacientes con MM es de 69 años; el 37% de los pacientes son menores de 65 años, el 26% tienen edades comprendidas entre los 65 y los 74 años, y el 37% tienen más de 75 años. Sin embargo, una pequeña proporción de casos (inferior al 10%) son diagnosticados en pacientes de edad inferior a 50 años (28,29).

En cuanto al sexo, el MM es más frecuente en hombres que en mujeres. Concretamente, en Reino Unido el 58% de los casos corresponden a varones

mientras que el 42% restante corresponde a mujeres (30). En lo relativo a su presentación racial, existen disparidades interraciales en el MM y sus condiciones premalignas, siendo la incidencia marcadamente inferior en los asiáticos en comparación con los blancos no hispanos, mientras que los hispanos poseen unas tasas de incidencia ligeramente superiores a las del resto de raza blanca (6.7 por cada 100000 vs. 6.2 por cada 100000). Por su parte, la raza negra posee un mayor número de casos respecto a la blanca (2.0:1.0), no sólo de MM sino también de GMSI. Las causas de la disparidad racial son complejas, si bien factores que parecen contribuir al mayor riesgo son los factores socioeconómicos, genéticos o de exposición (por ejemplo, la obesidad) (31).

4. Presentación clínica

De presentación clínica variable, un 11% de los pacientes con MM debutan inicialmente de forma asintomática, detectándose la enfermedad tras realizar análisis rutinarios para la valoración de otros procesos no relacionados con el mieloma. En pacientes con historia previa de GMSI, la progresión se caracteriza por la elevación en el componente monoclonal sérico o urinario y la plasmocitosis medular, con la subsiguiente transformación a MM. En el restante 80-90% sintomático, los síntomas derivados de la afectación orgánica referidos según frecuencia y severidad son la afectación ósea (dolor óseo), fallo renal, infección, fallo mieloide, hipercalcemia, síntomas derivados de la anemia, complicaciones neurológicas, síndrome de hiperviscosidad, y la amiloidosis.

4.1 Afectación ósea

Los síntomas aparecen a medida que las células tumorales del MM sustituyen a las células normales en la médula ósea, siendo la afectación ósea la principal causa de morbilidad en pacientes. El dolor óseo, presente en el 75% de los pacientes, resulta más frecuente en la espalda y su causa puede estar relacionada con un efecto directo del tumor (por afectación ósea o infiltración/compresión del tejido nervioso) o asociada al tratamiento antineoplásico (postcirugía, postquimioterapia, postradioterapia) o bien no tener relación directa con el tumor ni con su tratamiento (osteoporosis, osteopatía hipertrófica, etc). Además, aproximadamente un 60% de los pacientes con MM desarrollará una fractura durante el curso de la enfermedad, que se localizará frecuentemente en huesos ricos en médula ósea como son la columna vertebral, costillas, pelvis, calota y huesos largos.

La base fisiopatológica de la enfermedad ósea es el desacoplamiento del proceso de remodelación ósea. La interacción entre las células de mieloma y el microambiente óseo lleva a la activación de los osteoclastos y a la supresión de los osteoblastos, resultando en la pérdida ósea (32). Estudios en ratones transgénicos muestran una actividad osteoclástica incrementada causada por la alteración del balance entre la producción del ligando del Receptor Activador del factor Nuclear KB (RANK-L) y la osteoprotegerina (OPG). El RANK es un receptor transmembrana que pertenece a la superfamilia de receptores TNF, predominante expresados en los precursores de los osteoclastos y los osteoclastos maduros. Su ligando, RANK-L promueve la maduración y diferenciación, proliferación, activación de los osteoclastos e inhibe la apoptosis de los osteoclastos maduros.

La marcada actividad de los osteoclastos se debe a un desbalance en la ratio entre el RANK y la OPG que resulta del exceso de producción del ligando RANKL con escasa producción de OPG. En los niveles de RANK-L y OPG influyen una gran cantidad de citoquinas, entre las que se encuentran la IL-1B, IL-6, TNF-A y TGF-B. Además, se ha descrito que las células plasmáticas neoplásicas son capaces de inhibir un factor de transcripción clave para los osteoblastos, causando una reducción en la diferenciación precursor/osteoblasto maduro.

4.2 Afectación renal

La afectación renal es la segunda manifestación clínica más común y la complicación más severa del MM. Se presenta al diagnóstico en aproximadamente un 20% de los pacientes mientras que otro 20-30% de los pacientes desarrollan insuficiencia renal durante el curso de la enfermedad (33). Los síntomas derivados de la insuficiencia renal por la enfermedad incluyen la debilidad y edemas en extremidades inferiores. La patogénesis del fallo renal en el MM es multifactorial. Primeramente, este se debe a la excreción urinaria de las cadenas ligeras monoclonales (proteinuria de Bence Jones) que causa daño a los túbulos y/o el glomérulo por tres mecanismos diferentes:

- a) Precipitación intra-tubular
- b) Daño directo del epitelio tubular por las cadenas ligeras monoclonales y enzimas lisosomales
- c) Depósito de cadenas ligeras monoclonales a lo largo de la membrana basal del glomérulo y túbulos

Otros factores implicados directamente en el daño renal incluyen la hipercalcemia, deshidratación, uso de drogas nefrotóxicas, infecciones e hiperuricemia. La presencia de daño renal, especialmente si es agudo, aumenta el riesgo de mortalidad precoz en los 60 días tras el diagnóstico.

4.3 Otros síntomas

Otros síntomas presentes en MM incluyen las infecciones bacterianas recurrentes (13%) cuya causa es multifactorial, siendo el principal factor contribuyente la supresión de la inmunidad por medio de la alteración monocito/macrofágica y de los linfocitos T, con un catabolismo de inmunoglobulinas aumentado y supresión de linfopoyesis B. Suele tratarse de infecciones bacterianas de repetición, frecuentemente pulmonares, principalmente neumonía neumocócica o bien urinarias por gramnegativos.

Otras manifestaciones incluyen síntomas derivados de la anemia, síndrome hipercalcémico con debilidad, somnolencia, confusión y estreñimiento grave, manifestaciones neurológicas o polineuropatía sensorio-motora secundaria a la compresión medular o de raíces nerviosas.

5. Diagnóstico

Los criterios diagnósticos para MM sintomático actualmente empleados son los propuestos por el IMWG e incluyen la infiltración de células plasmáticas en MO \geq 10% o una biopsia demostrando plasmocitoma y/o evidencia de daño orgánico por el MM (criterios CRAB, acrónimo de Calcium, Renal failure, Anemia, Bone lesions) (8). En pacientes con MM no secretor, el diagnóstico se basa en la presencia de un 30% de células plasmáticas monoclonales en médula ósea (4) o la existencia de un plasmocitoma confirmado en biopsia.

Tabla 1. Criterios diagnósticos para GMSI, MMQ y MM

Enfermedad	Componente monoclonal g/l	% Células plasmáticas clonales	Criterios adicionales
GMSI	<30	<10	No otros procesos linfoproliferativos B
MMQ	>30	10-60	No daño orgánico
MM	>30	>10	Afectación orgánica*

*Afectación orgánica: Criterios CRAB. Ver tabla a continuación.

Tabla 2. **Criterios CRAB** (34)

Hipercalcemia	Ca sérico ≥ 0.25 mmol/L (≥ 1 mg/dl) del límite superior de la normalidad o ≥ 2.75 mmol/l (< 11 mg/dl)
Insuficiencia renal	Aclaramiento de creatinina < 40 ml/min o creatinina sérica ≥ 177 micromol/l (≥ 2 mg/dl)
Anemia	Descenso de Hb > 20 g/l por debajo del límite inferior de la normalidad o Hb < 100 g/l
Lesiones óseas	Una o más lesiones osteolíticas por Rayos X convencionales (Rx), Tomografía Computerizada (TC) o Tomografía por emisión de positrones (PET/TC)

Los criterios diagnósticos publicados en 2014 (8) identifican además como eventos definitorios de mieloma en ausencia de CRAB uno o más de los siguientes biomarcadores de malignidad, también conocidos como criterios SLiM:

1. elevada plasmocitosis medular clonal ($\geq 60\%$), demostrada por restricción kappa/lambda en la citometría de flujo
2. ratio de FLC elevada (afectas/no afectas ≥ 100)
3. presencia de más de una lesión focal identificable (de al menos 5 mm) en la Resonancia Magnética (RM).

Los test recomendados para el diagnóstico de MM incluyen los siguientes:

5.1 Pruebas de laboratorio

- Hemograma y examen de frotis de sangre periférica. Dado que los pacientes con MM suelen presentar anemia (73%), leucopenia y/o trombocitopenia, está indicado su estudio. La anemia suele ser de carácter normocrómico normocítico y se debe a la infiltración de médula ósea por MM o a la existencia de disfunción renal. Además, si bien resulta infrecuente, puede evidenciarse un exceso de células plasmáticas circulantes que, cuando es superior a $2000/\text{mm}^3$, identifica LCP, variante leucémica del MM.
- Bioquímica sérica. Parámetros relacionados con la función renal (urea, creatinina), calcio y fósforo séricos. Además, puesto que resultan relevantes desde el punto de vista pronóstico está indicado el estudio de B2M, Lactato deshidrogenasa (LDH) y albúmina (ALB).

- Estudio de proteínas en suero
 - o Electroforesis de proteínas en suero (EF) que mide la cantidad de anticuerpos en sangre y cuantifica el CM.
 - o Inmunofijación (IFs), que identifica el tipo exacto de anticuerpo monoclonal anormal (IgG, IgA, etc) y junto a la EF clasifica el MM en: secretor de Ig (77%), Bence Jones (20%) y no secretor (3%); MM secretor de Ig aquel que se caracteriza por la producción de Ig clonal, siendo la IgG el tipo más frecuente; Proteinuria de Bence Jones aquella que se caracteriza por la producción de cadenas ligeras monoclonales desacopladas de las cadenas pesadas, excretadas en la orina resultando en la proteinuria monoclonal Bence Jones. El perfil electroforético en este caso puede mostrar hipogammaglobulinemia.
 - o Cuantificación de las Inmunoglobulinas (Igs)
 - o Análisis de cadenas ligeras libres en suero (FLC), FLC-kappa y FLC-lambda y la ratio FLC-K/FLC-L. Este test permite identificar y medir la concentración de cadenas kappa y lambda libres, ambos marcadores de clonalidad y con valor pronóstico. Se han reportado ratios anormales en casi todos los casos de Bence Jones MM en el 90% de pacientes con MM Ig secretor y en un 70% de pacientes con MM no secretor. En pacientes con mieloma que no cumplen criterios CRAB, este análisis resulta imprescindible para descartar otros biomarcadores de malignidad (SLiM).
- Estudio de proteínas en orina de 24 horas
 - o Electroforesis de proteínas en orina y cuantificación de Bence Jones (BJ)
 - o Inmunofijación en orina (IFo)
- Estudio de médula ósea en biopsia o aspiración, necesario para documentar el porcentaje de células plasmáticas que es >10% de las células mononucleares totales en MMQ y MM y que puede llegar a un desplazamiento total del parénquima mieloide normal.
 - o Citometría de flujo
 - o Inmunohistoquímica

- Citogenética
- FISH en MO. Desde su introducción, el análisis FISH ha revolucionado los análisis genéticos, permitiendo una determinación más precisa de la presencia y frecuencia de las anomalías genéticas que las técnicas de análisis citogenético convencionales. En particular, esta técnica resulta hoy en día indispensable dada la elevada fracción de CP con escasa proliferación celular, existencia de múltiples infiltrados medulares y cambios en el cariotipo que caracterizan al mieloma a diferencia de otras neoplasias hematológicas. En 2012, la Sociedad Europea de Mieloma (EMN) publicó recomendaciones técnicas específicas para la realización de FISH en mieloma (35) con el fin de definir enfoques estándar para protocolos específicos y establecer una base de datos europea común.

5.2 Pruebas de imagen

La afectación ósea del MM, presente en aproximadamente el 80% de pacientes resulta un marcador de daño orgánico que afecta a la calidad de vida y representa una causa mayor de morbilidad y mortalidad. Por este motivo, las técnicas de imagen juegan un importante papel en el manejo del MM (36,37) ya que permiten la detección de lesiones óseas líticas que representan un marcador de daño orgánico que establece el diagnóstico y dicta el inicio inmediato de tratamiento (1), identifican lesiones extramedulares (EM) consideradas hallazgo de mal pronóstico, a la vez que permiten diferenciar entre plasmocitoma solitario y MM y predicen el riesgo de progresión precoz de MMQ a enfermedad activa.

A pesar de que la radiografía convencional ha sido tradicionalmente considerada la técnica de imagen estándar, su baja sensibilidad en la detección de lesiones osteolíticas a la par que su incapacidad de evaluar la respuesta a terapia ha llevado al uso de técnicas más sofisticadas como la TC, la RM o la PET/TC. A pesar de la considerable heterogeneidad en la práctica clínica en cuanto al empleo de una u otra técnica de imagen en el manejo del paciente, sociedades internacionales como la EMN, el IMWG y la Sociedad Europea de Oncología Médica (ESMO) han proporcionado unas recomendaciones que consideran al TC de baja dosis como la modalidad de elección en la valoración inicial de la enfermedad ósea por mieloma. La radiografía convencional, por el contrario, solamente debería emplearse si no existe ninguna otra técnica disponible. En caso de no evidenciar signos de

destrucción ósea en el TC, debería realizarse una RM preferiblemente de cuerpo completo para descartar la existencia de más de una lesión focal. Por su parte, el PET/TC debería realizarse si existe una alta sospecha de EM, en aquellos casos con MM oligo/no secretor con ratio normal de FLC o en ensayos clínicos donde la valoración de la enfermedad mínima residual (EMR) esté sistematizada. En caso de sospecha de recaída, dado que se requieren herramientas que indiquen el crecimiento del tumor y/o daño orgánico, el TC de cuerpo completo sería la técnica de primera elección. En caso de progresión bioquímica o en pacientes con muy baja carga tumoral, la RM o el PET resultarían preferibles. A continuación, se describirá el papel de cada técnica de imagen por separado.

5.2.1 Radiografía convencional

A pesar de que la radiografía convencional o serie ósea metastásica ha sido la técnica de imagen estándar durante años, limitaciones como la pérdida de masa ósea de al menos un 30% para detectar lesiones líticas (38), tiempos de estudio prolongado e imposibilidad de diferenciar fracturas vertebrales secundarias a osteoporosis de aquellas debidas a afectación subyacente por MM, entre otras, han motivado el uso de modalidades de imagen más avanzadas. Por otra parte, la detección de lesiones líticas, particularmente en el esqueleto axial, puede resultar un reto dada la superposición de estructuras, infraestimándose la enfermedad ósea en un 25-40% de los casos de acuerdo a dos ensayos retrospectivos (39,40). Por el contrario, la superposición de asas intestinales pueden producir resultados falsos positivos (41).

En esta técnica, las proyecciones estándar deberían incluir (42):

- Proyección posteroanterior de tórax
- Proyecciones anteroposterior y laterales del esqueleto, húmeros y fémures
- Proyecciones laterales de cráneo
- Proyección anteroposterior de pelvis

5.2.2 Tomografía Axial Computerizada

La TC de cuerpo entero se ha incorporado como técnica gold standard para la evaluación de lesiones osteolíticas en el esqueleto, mostrando alta precisión sin necesidad de emplear agentes de contraste y con una radiación menor a la de la TC estándar (41,43). Los hallazgos observados con la citada técnica incluyen la

osteolisis con o sin afectación de partes blandas, osteopenia difusa, fracturas, y más raramente, osteoesclerosis.

De acuerdo a la literatura científica existente, la infiltración difusa de MO se define de acuerdo a los criterios propuestos por Staebler como la existencia de lesiones de < de 5 mm sin osteoporosis, mientras que el patrón focal se define como la presencia de, al menos, una lesión de más de 5 mm o lesiones focales o líticas en el esqueleto (por ejemplo, la columna vertebral y el sacro) o extraaxial (en cualquier parte del esqueleto diferente de la mencionada) (44).

En múltiples estudios ha sido demostrada su superioridad diagnóstica, presentando sensibilidad y detectabilidad superiores a la serie ósea metastásica (40,41,43) en la detección de las lesiones osteolíticas, en particular a nivel vertebral y en pelvis, que resulta en una mayor precisión diagnóstica y en cambios en el manejo terapéutico en el 18.2%-61% de los casos. Además, esta técnica proporciona importante información relativa al desarrollo potencial de fracturas, sirve de guía para la radioterapia y cirugía y es capaz de detectar manifestaciones nodulares o difusas de la infiltración por mieloma en los huesos largos de los adultos, estos hallazgos con aparente significación pronóstica (45) y correlación con la respuesta al tratamiento.

Sin embargo, debe ser tenido en cuenta que, para una mejor valoración de la carga tumoral, debe incluirse en el estudio el cuerpo completo, recomendándose por tanto el empleo de un TC de baja dosis. El protocolo propuesto para la técnica se basa en realizar un TC multi-detector de baja dosis de cuerpo completo, con dosis tan bajas como 3.2-4.8 miliSievert (mSv), siendo esta radiación ligeramente superior a la descrita para la serie ósea (1.2-2.4 mSv) (46).

A pesar de su gran valor como herramienta diagnóstica, es necesario resaltar ciertas limitaciones. Al diagnóstico, existe una escasa concordancia interobservador a la hora de diferenciar entre patrones focales y difusos, existiendo desacuerdos a la hora de considerar cómo definir el patrón de infiltración difuso por imagen (44). Por otra parte, en el caso de la enfermedad extraósea, esta puede pasar desapercibida salvo que se realice una exhaustiva revisión de las imágenes en ventana de partes blandas o cerebro. Por último, durante el seguimiento no resulta una técnica adecuada para discriminar entre enfermedad activa y tratada, por lo que no se recomienda en la valoración de respuesta (47).

A pesar de todo lo anterior, trabajos recientes (44) basados en análisis radiómicos pueden ayudar a radiólogos y clínicos en la identificación de lesiones líticas, con

resultados preliminares en pacientes con MM pre-trasplante que muestran que la radiómica mejora la precisión diagnóstica, permitiendo diferenciar patrones focales de difusos, los primeros con peor pronóstico con menor tiempo a la progresión (TTP).

5.2.3 Resonancia Magnética

Considerada la técnica con mayor sensibilidad en la detección de infiltración de médula ósea por células de mieloma, la RM no asocia exposición a la radiación. Esta técnica ha sido establecida como referente para la evaluación de la enfermedad ósea (48), dado que posee alta sensibilidad para la detección precoz de la infiltración medular en comparación con la serie ósea y la TC de cuerpo completo que solamente detectan los efectos del MM una vez ha sucedido la osteolisis. Sus imágenes pueden utilizarse para determinar la localización exacta, tamaño y efectos locales compresivos de las lesiones focales mielomatosas y sus posibles fracturas asociadas.

Su funcionamiento se basa en examinar la composición del tejido relativa al contenido de agua y grasa, proporcionando distinta información acerca de la médula ósea y sus patrones de infiltración (normal, afectación focal, infiltración difusa homogénea, infiltración difusa con lesiones focales adicionales y patrón variegado sal y pimienta), que han demostrado correlación con la biopsia medular (49,50).

Las lesiones focales en RM se correlacionan con factores pronósticos conocidos, en particular, con la citogenética y los resultados clínicos (50,51), demostrando ser el factor de peor pronóstico para la progresión (52), seguido por la existencia de un patrón difuso, de significado menos claro. Por el contrario, patrones como el micronodular o el "sal y pimienta" se asocian a un mejor pronóstico que el patrón focal o difuso.

Los numerosos tipos de secuencias disponibles afectan en gran medida el valor diagnóstico de la imagen. Hay múltiples secuencias propuestas para la identificación de enfermedad medular focal o difusa, entre otras Spin-echo (SE) o de "sangre negra", eco de gradiente (GE), STIR o de supresión grasa y secuencias SE con contraste (con y sin supresión grasa). Los estudios con supresión grasa pueden suplementarse con otros que demuestren una mejor definición de las lesiones focales o difusas.

Las secuencias de difusión (Diffusion Weighted Imaging, DWI) suponen un protocolo adicional funcional que mide el movimiento de las moléculas de agua en el tejido, poniendo de relieve la presencia de alta celularidad (movimiento limitado) por contraposición a la baja celularidad o alta microcirculación (movimientos incrementados), sin resultar necesario el uso de contrastes. Esta secuencia se ha situado como una técnica particularmente sensible para detectar enfermedad focal e infiltración medular dado el excelente contraste entre la médula normal y la médula enferma, superior a la de secuencias short inversion time inversion recovery (STIR) convencionales (53). Además, el DWI permite diferenciar entre enfermedad activa y tratada en casos en recaída, con sensibilidad y especificidad de un 90% y 93% (54), respectivamente. A pesar de que las secuencias DWI están emergiendo como herramientas sensibles para la imagen de la médula ósea, persiste el debate a propósito de su especificidad (55). Por otra parte, el coeficiente quantitative apparent diffusion coefficient (ADC) resulta una herramienta adicional para el diagnóstico de la infiltración difusa en la RM (55), si bien no se encuentra aún estandarizado y no se emplea de forma rutinaria.

Múltiples estudios han demostrado que la RM, tanto axial como de cuerpo completo, es más sensible que la serie ósea para la detección de la enfermedad ósea en MM, permitiendo una mayor precisión diagnóstica (49,52). Unas excepciones suponen las lesiones localizadas en calota, probablemente debido al escaso volumen medular en el cráneo. Estudios comparativos entre la RM y la PET/TC han demostrado que las dos técnicas son igualmente efectivas en caso de lesiones focales (56), mientras que otros estudios como el publicado por Moreau y cols. en 2017 en pacientes con MM tras tres ciclos de quimioterapia y previamente a la terapia de mantenimiento mostraron tasas de detección superiores con la RM que con el ^{18}F -FDG PET/TC (95% para la RM y 91% para el ^{18}F -FDG PET/TC), si bien estas diferencias no resultaron significativas (56). En cuanto a estudios comparativos con respecto a la TC de cuerpo completo, se halló una excelente concordancia en términos de detección de lesiones, patrón y afectación de médula ósea (57).

Sin embargo, esta técnica posee asimismo limitaciones que incluyen su coste, capacidad limitada, tiempo de exploración y retos a la hora de interpretar las imágenes por la falta de definición del hueso cortical, lo que redundaría en la falta de detección de lisis ósea.

5.2.4 Tomografía por Emisión de Positrones (PET)/TC

El PET/TC con el trazador 2-deoxy-2-[18-F] fluoro- D-glucosa (¹⁸F-FDG) es una técnica no invasiva que permite identificar la destrucción ósea focal con/sin presencia de lesiones líticas, valorar la carga tumoral y la actividad de la enfermedad en distintas áreas de médula ósea y hueso cortical y esponjoso, proporcionando un estudio de cuerpo completo con valores de sensibilidad global del 90% y especificidad del 70-100% según diferentes estudios (58,59).

Resulta una excelente herramienta para valorar la actividad metabólica tumoral y monitorizar la respuesta al tratamiento debido a su habilidad para distinguir entre enfermedad activa e inactiva. La TC de baja dosis, típicamente realizada junto con el ¹⁸F-FDG PET, puede considerarse ampliamente comparable a la TC de cuerpo completo, constituyendo una herramienta precisa para localizar las lesiones óseas y extramedulares (36). La combinación de la imagen funcional PET y las imágenes morfológicas TC hacen de esta técnica la más eficaz para detectar EM.

Las anomalías detectadas por el PET/TC a nivel osteo-medular son (60):

1. Enfermedad difusa: definida como la captación difusa homogénea del esqueleto axial y apendicular de intensidad superior a la hepática, o captación heterogénea independientemente de su intensidad de captación.
2. Lesiones focales: definidas como áreas de captación focal del trazador de mayor intensidad en comparación con la captación de fondo de la médula ósea, con/sin componente lítico, presentes en al menos dos cortes consecutivos, excluyendo todos aquellos procesos que corresponden a patología benigna osteoarticular.
3. Enfermedad combinada (focal y difusa): Presencia de lesiones focales y enfermedad difusa en un mismo paciente.
4. Lesiones paramedulares: invasión del tejido blando adyacente como consecuencia de la extensión de la afectación ósea. Su valor pronóstico resulta aún incierto.
5. Lesiones extramedulares (<10%): infiltración de células plasmáticas delimitada que afecta tejidos extraóseos. Se ha demostrado su asociación con peor pronóstico.

Con el fin de estandarizar la interpretación de los hallazgos descritos anteriormente, el grupo multidisciplinar de Bolonia propuso los llamados criterios IMPeTUs (Italian myeloma for PET use criteria) (61), que describen la captación difusa en médula ósea, el número de lesiones focales (con/sin osteolisis), y la existencia de EM mediante una escala visual de 5 puntos (escala de Deauville) definida para linfoma en 2009 (62). Estudios comparativos con respecto a la Rx convencional muestran su mayor sensibilidad, con un mayor número de lesiones en el 40-60% de los casos, aunque peor rendimiento diagnóstico en caso de lesiones pequeñas que sí eran detectadas por la radiografía convencional (63,64). En cuanto a su rendimiento diagnóstico frente a la RM, la sensibilidad del PET/TC ha demostrado ser equiparable a esta en la detección de lesiones óseas (56,65,66). Por el contrario, estudios comparativos respecto a RM en infiltración difusa de médula ósea muestran una mayor detectabilidad de esta última, hallándose lesiones focales adicionales detectadas por PET sin correlato en RM (58,63,65–67). La combinación de ambas técnicas (PET/TC y RM) proporciona una detectabilidad del 92% para las localizaciones medulares/extramedulares de la enfermedad.

Sin embargo, además de baja detectabilidad en lesiones de pequeño tamaño, la técnica posee otras limitaciones, como pobre rendimiento de la infiltración difusa de MO (67), y una tasa de falsos negativos de un 11% en pacientes con enfermedad sin avidéz por ^{18}F -FDG (68). En estos pacientes se han hallado niveles de baja expresión de la enzima hexoquinasa 2, que cataliza el primer paso de la glicólisis (68), no encontrándose asociación entre los resultados del PET y el grado de infiltración medular o tasa de proliferación.

En cuanto al valor pronóstico, tanto el PET/TC como la RM han demostrado proporcionar información pronóstica basada en la presencia y número de lesiones focales y la infiltración difusa de MO. En análisis de pacientes con MM de nuevo diagnóstico en el contexto de protocolos de terapia total, la presencia de más de 7 lesiones focales en la RM espinal y más de 3 lesiones focales y enfermedad extramedular en el PET/TC demostró tener significación pronóstica adversa (69). En esta publicación, el único hallazgo asociado con la SG y la SLP en el análisis multivariante fue el número de lesiones focales superior a 3 al diagnóstico en el ^{18}F -FDG PET, no así el número de lesiones focales en la RM inicial en la que solo se encontró asociación con la SLP. Posteriormente, Zamagni y cols. (70) confirmaron el valor pronóstico del número de lesiones focales en el ^{18}F -FDG PET/TC inicial. En este estudio, la presencia de > 3 lesiones focales y $\text{SUV}_{\text{max}} > 4.2$, junto a la presencia de EM confería un peor pronóstico, con una menor SLP a los 4 años. Sin

embargo, solamente la presencia de $SUV_{max} > 4.2$ y la EM se asociaron a una peor SG. Posteriormente, en 2017 Moreau y cols. (56) confirmaron el valor pronóstico de la EM al diagnóstico, con una peor SG ($p= 0.004$) y SLP ($p < 0.001$).

Adicionalmente, otros biomarcadores PET como el volumen metabólico tumoral (Metabolic Tumor Volume, MTV) y la glicólisis tumoral total (Total Lesion Glycolysis, TLG) han demostrado su valor pronóstico independiente del porcentaje de células plasmáticas tumorales en la MO y los niveles de Hb. Los puntos de corte obtenidos por curva ROC resultaron de 42.2 cm^3 para el SLP y de 77.6 cm^3 para la SG en el artículo de Fonti y cols. (71), y de 210 cm^3 y 620 g en el trabajo publicado por McDonald y cols. en 2017 (72). En este último, los citados valores, junto a los perfiles de expresión génica (GEP70), identificaban un grupo de alto riesgo y separaban aquellos pacientes con ISS II en dos subgrupos en función de si su evolución era similar a la mostrada por los pacientes con ISS I o III.

La siguiente tabla resume las ventajas de las tres técnicas de imagen principales para el diagnóstico. Como resumen, el uso de la ^{18}F -FDG PET/TC está indicado en el estudio basal para la detección de EM y en pacientes con MM no oligosecretor con ratio normal de cadenas ligeras séricas. La TC de cuerpo completo es la primera técnica recomendada. Si ésta no identifica lesiones líticas, está indicada la RM.

Tabla 3. Resumen de las características de las técnicas de imagen diagnóstica

	TC de cuerpo completo	PET/TC	RMN
Ventajas	Tiempo rápido de adquisición (< 15 min) Económico Disponible	Tiempo (incluyendo la inyección del trazador) de 60 min Más cara Menor disponibilidad	Tiempo variable (30-60 min) Más cara
Exposición a radiación	Dosis relativamente baja (<5mSv)	Dosis superior (6-10 mSv)	No radiación
Daño óseo	Lesiones óseas líticas	Lesiones óseas focales, lesiones líticas, enfermedad paramedular, EM	Mayor sensibilidad para detección precoz difusa
Impacto pronóstico	No claro	Valor pronóstico del número de lesiones focales y los valores de SUV_{max} y EM	Significación pronóstica de las lesiones focales y el patrón difuso

Uso	Estándar de referencia para la biopsia guiada por TC, cirugía, planificación de radioterapia, evaluación de estabilidad de las fracturas	Técnica estándar para la valoración de respuesta y para definir enfermedad mínima residual por imagen	Estándar de referencia para la detección de la infiltración de médula ósea difusa, compresión medular, diagnóstico diferencial fracturas patológicas
------------	--	---	--

5.3 Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto

La GMSI se define por la presencia de menos de un 10% de proteína monoclonal en suero u orina, o ambos. Con una incidencia estimada de un 3,2% en individuos de más de 50 años y de un 5,3% en individuos de más de 70 años (73), recientes estudios procedentes del seguimiento durante 34 años de la cohorte de Minnesota (74) muestran que la presencia de dos factores de riesgo como son: ratio anormal de cadenas ligeras en suero y niveles elevados de proteína sérica monoclonal (componente M) (≥ 1.5 g/dl), se asocia a un mayor riesgo de progresión a MM activo (un 30% a los 20 años) frente a un 20% de aquellos con un solo factor de riesgo y un 7% de aquellos pacientes sin factores de riesgo. Un factor de riesgo adicional que predice la progresión de la enfermedad es la inmunoparesia, definida como la depresión recíproca de las Ig del tipo no IgG.

En las recomendaciones del IMWG publicadas en 2019 (37), únicamente se recomiendan técnicas de imagen de cuerpo completo en pacientes con GMSI de alto riesgo. Dado que el síntoma más relevante a excluir en pacientes con GMSI es la destrucción ósea, la TC de cuerpo entero es el método de imagen recomendado en esta situación. Por otra parte, numerosos estudios han valorado la RM de cuerpo completo al diagnóstico de la GMSI. Un estudio basado en el análisis de los hallazgos de la RM con secuencias convencionales demostró la existencia de lesiones focales hasta en el 23.4% de los pacientes. La presencia y número de lesiones focales así como el valor del componente M eran factores predictores independientes de progresión a enfermedad sistémica que requiere tratamiento (75). Sin embargo, no se realizó confirmación histológica de las lesiones focales identificadas por lo que existe una alta probabilidad de que estos hallazgos correspondan a falsos positivos.

Además de las publicaciones reseñadas, estudios dinámicos de RMN y sus parámetros derivados (amplitud A, tasa de cambio constante k_{ep}) que reflejan la angiogénesis/microcirculación (volumen sanguíneo y permeabilidad de las paredes vasculares, respectivamente) han sido asimismo valorados en un estudio con 69 pacientes con GMSI, 79 con MMQ y 33 controles sanos, únicamente presentando asociación pronóstica en el grupo de MMQ, no así en el de GMSI (76).

Desafortunadamente, hasta la fecha, no hay datos publicados acerca de los hallazgos del PET/TC en pacientes con GMSI ni existen estudios prospectivos que valoren la utilidad de la TC o el PET/TC en la GMSI. No obstante, si se objetivan cambios sospechosos de corresponder a lesiones osteolíticas en el estudio TC de cuerpo completo, se debe realizar un PET/TC a fin de descartar MM activo u otra enfermedad tumoral.

En conclusión, el IMWG (37) recomienda realizar TC de cuerpo completo en casos de GMSI tipo IgM de alto riesgo. Si el TC de cuerpo completo no está disponible, la serie ósea convencional o la RM de cuerpo completo son alternativas adecuadas. Además, en casos con hallazgos equívocos en el TC de cuerpo completo (o en la serie ósea), se recomienda la realización de una RM de cuerpo completo. Si el TC de cuerpo completo es positivo, se debería realizar un PET/TC, mientras que si el resultado es negativo se descarta el seguimiento por imagen salvo signos de progresión biológica/clínica que hagan pensar en la existencia de MM sintomático.

5.4 Mieloma Múltiple Quiescente

El MMQ se define por la presencia de proteína monoclonal en suero u orina o ambos, sin síntomas CRAB. Resulta una entidad heterogénea, que incluye casos con muy lenta progresión y casos de rápida progresión (< 2 años) a MM sintomático (MMQ de alto riesgo). Consecuentemente, la definición de MM sintomático fue revisada en 2014 por el IMWG, integrando nuevos factores pronósticos adversos llamados eventos definitorios de mieloma, diferentes a los criterios CRAB (8). Basándose en estudios de la Clínica Mayo (77,78), niveles de células plasmáticas clonales $\geq 60\%$, ratios de cadenas ligeras ≥ 100 , valores de proteína monoclonal ≥ 40 g/l o porcentajes de células plasmáticas en MO $\geq 20\%$ se incluyeron como eventos definitorios de alto riesgo de progresión a mieloma, prediciendo estos una tasa de progresión a MM en dos años de al menos un 80%.

Las técnicas de imagen son cruciales en el MM quiescente puesto que las masas tumorales y la infiltración de médula ósea son menores en esta fase precoz de la enfermedad. De acuerdo a los nuevos criterios diagnósticos de la IMWG, un TC de cuerpo completo debería ser la técnica de primera elección puesto que la identificación de las lesiones líticas sean o no sintomáticas supone un cambio diagnóstico a MM (8). Por el contrario, el estudio de serie ósea metastásica solamente debería ser tenido en cuenta si las técnicas más sensibles no se encuentran disponibles.

Basado en el consenso de la IMWG (37), si el TC de cuerpo completo no muestra signos de destrucción ósea, debería realizarse una RM, bien de cuerpo completo o bien axial, para buscar lesiones focales. Aquellos pacientes con más de una lesión focal inequívoca en la RM deberían considerarse como pacientes con MM activo e iniciar tratamiento. Dicho planteamiento se basó en dos estudios que demostraron que los pacientes con MMQ y >1 lesión focal en la RM tenían una mediana de TTP a enfermedad sintomática de 13-15 meses y una probabilidad de progresión a los 2 años de aproximadamente un 70-80% (79,80). Además, la detección de múltiples lesiones focales en la RM confería un alto riesgo de progresión y de desarrollo de lesiones óseas líticas (81).

Por el contrario, los pacientes con una sola lesión focal o > 1 lesión pequeña (<5mm) o aquellos con una lesión focal equívoca deberían ser considerados para realizar un TC adicional o un ¹⁸F-FDG PET/TC, si este se encuentra disponible, debiendo repetirse la RM en 3-6 meses. En estos pacientes, el incremento en tamaño o número de lesiones focales dicta el comienzo del tratamiento, suponiendo un importante factor predictor de la transformación a enfermedad activa.

Además, en el MMQ las técnicas de imagen son asimismo de utilidad para identificar casos con riesgo elevado de progresión a MM activo que resultan candidatos a ensayos clínicos, considerando elevado riesgo cuando se observan anomalías difusas en la RM o captación focal en la ¹⁸F-FDG PET/TC, sin destrucción osteolítica asociada (82).

En una serie de 122 pacientes con MMQ, Siontis y cols (39) mostró que la probabilidad de progresión a MM a los 2 años sin tratamiento tras un ¹⁸F-FDG PET positivo/TC negativo era de un 75% respecto a los casos ¹⁸F-FDG negativos (30%) (21 meses vs. 60 meses). De entre los casos ¹⁸F-FDG PET positivos, la probabilidad de progresión era superior en aquellos casos en que las lesiones se acompañaban de imagen lítica en la TC (87% vs. 61%) respecto a aquellos sin correlato lítico. Estos resultados han sido asimismo descritos por Zamagni y cols (82), con una tasa de progresión a MM sintomático de un 58% para los pacientes ¹⁸F-FDG PET positivos frente a un 33% de los casos ¹⁸F-FDG PET negativos.

En conclusión, Hillengass y cols (37) recomiendan la TC de cuerpo completo como primera técnica de imagen para identificar lesiones osteolíticas. Si esta resulta negativa, se recomienda el uso de la RM de cuerpo entero o espinal si la primera no está disponible. El ¹⁸F-FDG PET/TC puede emplearse en lugar de la RM de cuerpo completo si la RM no es factible, es dudosa o existen otras contraindicaciones, así

como para detectar casos con elevado riesgo de progresión a mieloma activo. En caso de no hallar signos de progresión en los primeros años de la evolución, la frecuencia de las pruebas de imagen podría reducirse, dado que el riesgo de progresión de MM quiescente a MM decrece con el tiempo.

5.5 Escalas de estadificación

5.5.1 Durie-Salmon

La escala Durie-Salmon se introdujo en el año 1975 en un esfuerzo de caracterizar la enfermedad a pesar de su heterogeneidad con el fin de estandarizar las estrategias terapéuticas. Durante 30 años se ha estado empleando de forma global con buenos resultados, si bien el hecho de que el número y extensión de las lesiones óseas sean valoradas mediante estudios de Rx ósea motivó el desarrollo de una nueva escala, denominada Durie/Salmon PLUS, basada en técnicas de imagen más sensibles como la TC, RM y ^{18}F -FDG PET/TC. Sin embargo, ambas escalas se encuentran hoy en desuso ya que se han visto desplazadas por la escala ISS (International Staging System). La siguiente tabla establece una comparación entre escalas de estadificación:

Tabla 4. Comparativa SG en las escalas de estratificación. Fuente: Durie, B (83)

		Durie/Salmon ----- SG (meses)	Durie/Salmon plus ----- SG (meses)	ISS ----- SG (meses)
Estadio I	A	69	72 I	62
	B	22	20	
Estadio II	A	58	61 II	44
	B	34	28	
Estadio III	A	45	40 III	29
	B	24	19	

5.5.2 International Staging system

A causa de las limitaciones de la clasificación anterior causadas por la dependencia interobservador en la valoración de las lesiones óseas líticas, en 2005 se propuso una nueva clasificación basada en los niveles de B2M y ALB. El primer parámetro (B2M) refleja la elevada masa tumoral y la reducida función renal mientras que los bajos niveles de albúmina sérica están causados por citoquinas inflamatorias como la IL-6 secretadas por el microambiente tumoral. La escala ISS, en comparación

con la Durie-Salmon, resulta más fácil de calcular, proporciona una distribución más equitativa de pacientes entre los tres estadios de la enfermedad y ha sido validada en numerosos estudios. Como se decía anteriormente, esta escala identifica tres grupos de pacientes con diferentes valores pronósticos: en caso del ISS estadio I, la SG descrita resultó ser de 62 meses, 44 meses para el estadio II y 29 meses en el estadio III (84). A pesar de que dicha clasificación posee múltiples ventajas, puesto que resulta más reproducible y permite la comparación entre ensayos clínicos, posee asimismo limitaciones, como su falta de utilidad en condiciones premalignas como la GMSI, MMQ u otros desórdenes plasmáticos.

5.5.3 Revised International Staging System (R-ISS)

Ante las limitaciones antes mencionadas y la aparición de nuevas técnicas citogenéticas y perfiles de expresión génica, de demostrado impacto pronóstico independientemente del estadio clínico, el IMWG creó una nueva clasificación (Revised-International Staging System, R-ISS) (12) simple, confiable y práctica que tiene en cuenta las herramientas pronósticas más comunes (ISS, citogenética y niveles séricos de LDH), permitiendo la identificación clara de tres patrones de supervivencia según unas reglas simplificadas que se muestran a continuación:

Tabla 5. Factores de riesgo estándar y escala R-ISS. Fuente: Palumbo, 2015 (12)

Factor pronóstico	Criterio
ISS	
I	B2M < 3.5 mg/L, ALB ≥ 3.5 g/dL
II	No ISS I o III
III	B2M ≥ 5.5 mg/L
FISH	
Alto riesgo	Presencia de del(17p) y/o t(4;14) y/o t(14;16)
Riesgo estándar	No alto riesgo
LDH	
Normal	LDH < límite superior normalidad
Elevada	LDH > límite superior normalidad
Nuevo modelo	

Factor pronóstico	Criterio
R-ISS	
I	ISS I, riesgo citogenético estándar y LDH normal
II	No R-ISS I o III
III	ISS III y citogenética alto riesgo/ LDH elevada

Por tanto, se definió la enfermedad de alto riesgo con mal pronóstico como la presencia de una de las siguientes alteraciones de cada categoría:

- 1) Hipodiploidía, t(4;14) o delección 17p13
- 2) Elevadas cifras de B2M sérica o LDH
- 3) ISS estadio III

Por el contrario, la enfermedad de riesgo estándar se definió como:

- 1) Presencia de hiperdiploidía o t(11;14)
- 2) Cifras normales de B2M sérica o LDH
- 3) ISS estadio I

6. Tratamiento

En pacientes con mieloma indolente (MMQ), no se recomienda el tratamiento inmediato, si bien en casos de alto riesgo se recomienda su inclusión en ensayos clínicos. Existen en la actualidad dos ensayos prospectivos (QUIREDEX y ECOG) que han demostrado mejor supervivencia en la terapia precoz del MM durante la fase quiescente (85,86). En el caso del MM, debería iniciarse tratamiento en todos los pacientes con MM de acuerdo al consenso del IMWG de 2014.

7. Esquemas terapéuticos

Los pacientes que requieren tratamiento son inicialmente divididos en dos categorías: aquellos que pueden recibir trasplante autólogo (TASPE) y aquellos que no tolerarían ese procedimiento intensivo. Factores a considerar incluyen las comorbilidades médicas y otros factores como la edad (< 65 años o < 70 años en buena condición clínica) (87), si bien edades superiores a 75 años no suponen en sí mismas una contraindicación para el TASPE.

7.1 Terapia para pacientes jóvenes (subsidiarios de trasplante)

El tratamiento del MM en estos pacientes se puede dividir en 3 fases, fase de inducción, trasplante autólogo y terapia de mantenimiento (88). El objetivo de la terapia de inducción es reducir la carga tumoral antes de consolidar la respuesta con el trasplante.

La terapia de inducción consiste normalmente en una combinación de tres fármacos, generalmente basada en un inhibidor del proteasoma como el bortezomib, siendo la combinación con inmunomoduladores (talidomida) y corticoides (dexametasona) (VTD) (47) o la combinación con ciclofosfamida y dexametasona (VCD) las más empleadas en Europa. Sin embargo, el triplete bortezomib, lenalidomida y dexametasona (VRD) resulta preferible si bien se encuentra pendiente de aprobación en muchos países europeos. Cada ciclo dura 4 semanas, suele administrarse de forma ambulatoria y, en la mayoría de casos, se administra un total de 4-6 ciclos.

Seguidamente a la terapia de inducción, el siguiente paso es el TASPE, que mejora la tasa de respuestas completas y prolonga los tiempos de remisión en MM en un promedio de 12 a 18 meses (88). Este consiste primeramente en la administración de altas dosis de quimioterápicos (melfalán) que destruyen las células malignas. Sin embargo, también es destruida la función normal de la MO, lo que deja al paciente pancitopénico y en riesgo de infecciones oportunistas. Por ello, previamente a la administración de quimioterápicos se recolectan células progenitoras del paciente, que se infunden después, permitiendo la reconstitución temprana de la función medular. Para la obtención de células progenitoras, resulta de elección la vía periférica frente a la médula ósea (87).

Los excelentes resultados obtenidos con el TASPE y su limitada toxicidad han motivado que diferentes instituciones experimenten con el uso de dos procedimientos secuenciales de TASPE (TASPE en tándem) con intensificación de quimioterapia que resultan en un control más prolongado de la enfermedad en pacientes con anomalías citogenéticas de alto riesgo (89). Tras el trasplante, las guías ESMO actuales concluyen que no existe suficiente evidencia a favor de la terapia de consolidación (90). Por el contrario, la terapia de mantenimiento se está convirtiendo en parte de la práctica clínica estándar, con la lenalidomida o bortezomib como regímenes de elección.

7.2 Tratamiento inicial para pacientes mayores (no subsidiarios de trasplante)

Los pacientes que no sean subsidiarios de trasplante se tratan inicialmente con una combinación de dos o tres fármacos de diferentes clases, siendo los esteroides uno de los componentes. Las dosis empleadas y su intensidad son, a menudo, inferiores a las que deberían usarse en pacientes en mejor situación clínica, a pesar de que las combinaciones empleadas son similares (47). El régimen terapéutico más ampliamente empleado es el que incluye como agentes terapéuticos al bortezomib, melfalán y prednisona (VMP) o lenalidomida/dexametasona seguido por VRD y el VCD.

Figura 4. Esquema terapéutico pacientes no subsidiarios de TASPE. Fuente: National Institute for Health and Care Excellence, 2016 (47)

Basada en talidomida	Basada en bortezomib	Basada en lenalidomida
<p>CTD: Ciclofosfamida, Talidomida, Dexametasona</p> <p>MPT: Melfalán, Prednisolona, Talidomida (EMA*)</p>	<p>VMP: Velcade, Melfalán, Prednisolona (EMA)</p> <p>VCD:, Velcade, Ciclofosfamida, Dexametasona</p>	<p>Rd: Lenalidomida, Dexametasona (EMA)</p>

*EMA: European Medicine Agency

7.3 Tratamiento para pacientes en recaída

A pesar de que la mayoría de pacientes responden bien a la terapia inicial, el tratamiento generalmente no es curativo y la mayoría de pacientes recaen en algún momento. Los tiempos de remisión promedio son de, aproximadamente, 4-5 años tras el trasplante cuando el fármaco de mantenimiento empleado es la lenalidomida, 2-3 años tras el trasplante si no se emplea tratamiento de mantenimiento y 1-2 años si los pacientes no son trasplantados, aunque existe una gran variabilidad en esas cifras. Si bien no existen definiciones formales para considerar la recaída como precoz/tardía, en la práctica aquellas recaídas que ocurren dentro del primer año de la última línea terapéutica se consideran precoces mientras que aquellas que ocurren >1 año después se consideran tardías (90).

Hasta el 2015, la EMA aprobó para la primera recaída la lenalidomida en combinación con dexametasona y el bortezomib, solo o en combinación con

doxorrubicina pegilada. Sin embargo, en la recaída la combinación más usual era bortezomib-dexametasona.

En 2015-2016, nuevos tripletes de tratamientos fueron aprobados: Panobinostat-bortezomib-dexametasona en pacientes con al menos dos regímenes previos basados en bortezomib e inmunomoduladores y carfilzomib-lenalidomida-dexametasona, carfilzomib-dexametasona o elotuzumab-lenalidomida-dexametasona, en pacientes con al menos un tratamiento previo. En estadios muy avanzados de la enfermedad, la pomalidomida (inmunomodulador), junto con bajas dosis de dexametasona o el Daratumumab (anticuerpo monoclonal) con bortezomib/lenalidomida y dexametasona podrían estar indicados. Además, puede realizarse un segundo trasplante autólogo si se considera que el paciente ha recibido un beneficio significativo con el primero, considerando como tal un mínimo de 18–24 meses de remisión (91).

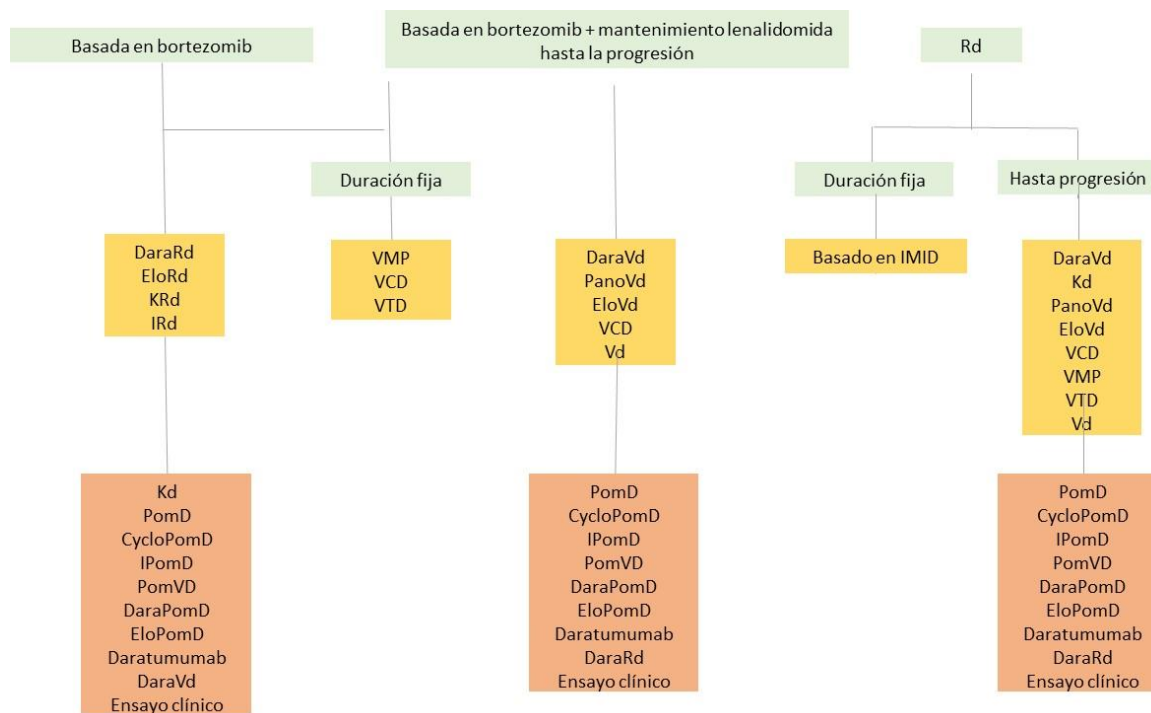


Figura 5. Algoritmo terapéutico para pacientes en primera y segunda recaída. Fuente: Mateos y cols. (90).

8. Valoración de respuesta y seguimiento

La valoración de respuesta, establecida primeramente en 2006 por el IMWG en base a la cuantificación del componente M, las FLC séricas o células plasmáticas en MO, ha sido modificada en dos ocasiones, en 2011 y por última vez en 2016, en que el IMWG definió nuevos criterios de respuesta e incluyó técnicas complementarias a la detección de enfermedad mínima residual (92), algunas de ellas de imagen. La evidencia actual sitúa al ^{18}F -FDG PET/TC como técnica de imagen estándar para la evaluación de respuesta terapéutica ya que define la respuesta de forma más precisa y precoz que otras técnicas de imagen como la RM. Los nuevos criterios revisados de la IMWG (92) que incluyen el PET/TC con ^{18}F -FDG en combinación con una técnica biológica para la detección de enfermedad mínima residual han permitido mejorar la definición de respuesta completa, con nuevas subcategorías de respuesta como la negatividad de la EMR por imagen, definida esta como desaparición de los focos hallados basalmente o descenso de actividad hasta niveles inferiores a la actividad mediastínica o de tejidos blandos circundantes.

Tabla 6. Criterios estándar de respuesta IMWG (2009)

Respuesta completa estricta (RCE)	Remisión Completa y además: <ul style="list-style-type: none"> • Ratio FLC normal y • Ausencia de células clonales en médula ósea por inmunohistoquímica
Respuesta completa (RC)	Se requieren estas 3 condiciones: <ul style="list-style-type: none"> • Ausencia de CM en suero y orina, comprobada por IF. • Menos de 5% de células plasmáticas en médula ósea. • Desaparición de plasmocitomas de partes blandas (si existen al dx). Si enfermedad sólo medible por FLCs: ratio FLC normal.
Muy buena respuesta parcial (MBRP)	<ul style="list-style-type: none"> • CM sérica o urinaria detectable por IF, pero no en electroforesis <p style="text-align: center;">o</p> <ul style="list-style-type: none"> • Reducción mayor ó igual del 90% en el CM sérico <p style="text-align: center;">y</p> <ul style="list-style-type: none"> • CM urinaria < 100mg/24h. • En pacientes cuya enfermedad sólo sea medible por FLC: disminución $\geq 90\%$ en la diferencia entre los niveles de FLC alterada vs no alterada con ratio persistentemente anormal.
Respuesta parcial (RP)	<ul style="list-style-type: none"> • Reducción $\geq 50\%$-<90% del CM sérico. <p style="text-align: center;">y</p> <ul style="list-style-type: none"> • Reducción $\geq 90\%$ del CM urinario o <200 mg/24h. • En pacientes cuya enfermedad sólo sea medible por FLC: disminución $\geq 50\%$ en la diferencia entre los niveles de FLC alterada vs no alterada con ratio persistentemente anormal. • Disminución del tamaño de plasmocitomas de partes blandas $\geq 50\%$ (si aplicable). Si el CM en suero y/o orina y las FLC no son medibles, se requerirá una disminución $\geq 50\%$ de las células plasmáticas, suponiendo que el porcentaje basal de CP es $\geq 30\%$.
Respuesta mínima (RM)	<ul style="list-style-type: none"> • Reducción $\geq 25\%$ pero $\leq 49\%$ del CM en suero y reducción del CM en orina de 24 horas entre el 50%-89%. • Disminución del tamaño de plasmocitomas de partes blandas entre el 25-49% (si aplicable).
Enfermedad estable (EE)	No se cumplen criterios de RC, MBRP, RP, RM ó enfermedad progresiva (EP).

OBSERVACIONES

- 1) Todas las categorías de respuesta requieren dos evaluaciones consecutivas, realizadas en cualquier momento antes de la instauración de cualquier nueva terapia.
- 2) Las categorías RC y MBRP requieren estudios séricos y urinarios independientemente de si al diagnóstico había enfermedad sérica, urinaria o ninguna.
- 3) Todas las categorías requieren además que no haya evidencia de nuevas lesiones óseas ó progresión de las antiguas si se realizan estudios de imagen, aunque no es obligado realizar estos estudios para evaluar la respuesta.
- 4) No es necesario repetir biopsia medular para confirmación. La presencia ó ausencia de células clonales se basa en la ratio κ/λ . Una ratio κ/λ anormal requiere un mínimo de 100 células plasmáticas para el análisis. Una ratio anormal que reflejaría la presencia de un clon anormal es $\kappa/\lambda >4:1$ ó $< 1:2$. La enfermedad medible se define por al menos una de estas tres medidas: – Componente M sérico ≥ 1 g/dL. – Componente M urinario ≥ 200 mg/24h. – FLC: Concentración FLC afectada ≥ 10 mg/dl, suponiendo que la ratio FLC es anormal.

Tabla 7. Criterios de respuesta adicional IMWG (2016)

EMR negativa por inmunofenotipo	Ausencia de CPMO clonales fenotípicamente aberrantes usando criterios EuroFlow o método equivalente validado para la detección de una EMR con una sensibilidad mínima de $10 \text{ E-}5$
EMR negativa molecular	Ausencia de CPMO clonales por NGS. La definición de clonalidad requiere 2 lecturas de secuenciación idénticas utilizando una plataforma LymphoSIGHT o método equivalente validado para la detección de una MRD con una sensibilidad mínima de $10 \text{ E-}5$
Prueba de imagen y EMR-negativas	EMR-negativa (por NGS y/o Flow) + desaparición de cualquier área de captación PET/TAC respecto al diagnóstico o descenso de la captación SUV respecto al mediastino o al tejido de partes blandas adyacente.
EMR-negativa mantenida	Prueba de imagen y EMR-negativas confirmados con al menos un año de diferencia. Las reevaluaciones consecutivas deben especificar la duración de la negatividad (p.ej. EMR negativa a los 5 años)

CPMO: Células plasmáticas de médula ósea, NGS: Next-generation sequencing

La Rx ósea carece de utilidad cuando se evalúa la respuesta a la terapia debido a la baja sensibilidad de la técnica ante la limitada reosificación, así como en masas de partes blandas. En esta situación, las técnicas funcionales a diferencia de las

morfológicas resultan ser las técnicas de elección (36) y serán abordadas a continuación:

8.1 ¹⁸F-FDG PET/TC

El PET/TC con ¹⁸F-FDG tiene numerosas ventajas respecto a la RM en la valoración de respuesta al tratamiento, post-TASPE y determinación de la enfermedad mínima residual (69,70,93).

Recientemente se ha demostrado que el pronóstico de los pacientes que experimentan normalización de la captación en el PET durante o al final de la terapia es comparable a la de aquellos pacientes sin metabolismo basal incrementado, lo que refleja el efecto del tratamiento hasta lograr la completa supresión del metabolismo glicídico tumoral (94).

También se ha demostrado que la respuesta metabólica completa en el ¹⁸F-FDG PET durante la evaluación intermedia o interim, previamente o tras el TASPE se asocia a una mayor supervivencia. Bartel y cols. (69) demostraron que la normalización de la captación de las lesiones focales por PET tras quimioterapia de inducción, previamente al trasplante, se relaciona con mejor SLP y SG y que la presencia de lesiones focales ávidas en el ¹⁸F-FDG PET/TC se correlaciona con otras variables pronósticas (B2M, PCR, LDH, GEP). Otro estudio (93) demostró que la persistencia de > 3 lesiones focales a la semana de la quimioterapia post-inducción tiene valor pronóstico, con una menor SLP y SG. Zamagni y cols. (70) demostraron en un análisis multivariante que la presencia de EM, $SUV_{max} > 4.2$ basalmente y la persistencia de captación en ¹⁸F-FDG PET/TC tras el TASPE ($SUV_{max} > 4.2$) son variables independientes asociadas con la SLP.

El estudio prospectivo Imajem confirmó asimismo el valor del ¹⁸F-FDG PET en la evaluación terapéutica (56). Aunque la normalización de la RM tras 3 ciclos de Lenalidomida (R), Bortezomib (V) y Dexametasona (D) previamente al tratamiento de mantenimiento no se encontraba relacionada con una mejor SLP o SG, estos parámetros pronósticos eran mejores en aquellos pacientes con PET negativo respecto a aquellos casos PET positivos. Tras estas publicaciones, múltiples estudios han demostrado un valor pronóstico para la persistencia de lesiones positivas en PET después de completar la terapia.

Sin embargo, es aún necesaria la estandarización en los criterios de respuesta del ¹⁸F-FDG PET al tratamiento. El grupo Imajem considera la normalización del PET como la ausencia de lesiones focales o EM con captación superior a la hepática

(56), a diferencia de los estudios de Bartel y Zamagni (69,70), en los que la normalización del ^{18}F -FDG PET era equivalente a la ausencia completa de actividad residual en las lesiones. El estudio CASSIOPET, fruto del ensayo clínico CASSIOPEIA que evalúa el valor pronóstico del PET/TC al diagnóstico y la respuesta completa metabólica por PET tras consolidación con Daratumumab-VTD vs. VTD, tiene como objetivo secundario determinar el mejor punto de corte en el ^{18}F -FDG PET (actividad vascular de mediastino vs. hepática) para definir la respuesta metabólica completa, así como establecer la concordancia entre la respuesta metabólica completa y la negatividad de la EMR en la MO (medida mediante citometría de flujo o NGS) para confirmar el rol complementario de la imagen funcional con las herramientas biológicas actuales para la detección de la EMR dentro y fuera de la MO.

Como conclusión, el ^{18}F -FDG PET/TC es la técnica de imagen de referencia para evaluar la respuesta al tratamiento puesto que sus hallazgos son más precoces que los observados por la RM. La negativización pre-TASPE es un factor pronóstico favorable y la positividad post-TASPE, especialmente en aquellos pacientes en RC biológica, es un factor de mal pronóstico.

8.2 Resonancia Magnética

Como ya se ha expuesto previamente, existen múltiples estudios que evalúan la RM al diagnóstico, sin embargo, existe escasa evidencia acerca de su aportación en la valoración de respuesta y seguimiento de los pacientes con mieloma. La RM de la médula ósea puede demostrar un amplio espectro de cambios inducidos por el tratamiento, algunos de los cuales se correlacionan con la respuesta a terapia. En la era de la quimioterapia convencional, Moulopulos (95) demostró en 1994 que los patrones de respuesta completa se caracterizan por la resolución total de la anomalía previa o la persistencia de anomalías sin realce o con realce periférico, mientras que la conversión de un patrón difuso a un patrón variegado o focal junto con un descenso en la extensión de la anomalía medular con persistencia de realce sugieren respuesta parcial. Además, algunos estudios encuentran correlación entre los hallazgos de la RM convencional tras terapia y la evolución clínica, revelando que la RM posttratamiento predice la duración de respuesta y supervivencia (52,96). No obstante, se debe ser cauteloso en la interpretación de anomalías medulares en la RM post-tratamiento, dado que las lesiones residuales pueden corresponder a lesiones aún activas o, por el contrario, a enfermedad no viable con tejido cicatricial.

Limitaciones de la RM convencional son la incapacidad para discriminar entre cambios reactivos de la MO (como edema o hematoma) de lesiones residuales con enfermedad activa, así como su incapacidad para mostrar cambios precoces tras el tratamiento. Por todo ello, en la actualidad los últimos consensos del IMWG no recomiendan realizar de forma sistemática la RM durante el seguimiento sin una indicación clínica precisa (48). No obstante, las técnicas de RM funcional, como el estudio dinámico con contraste y secuencias DWI, han demostrado resultados prometedores, demostrando correlación con la valoración de respuesta convencional, y detección de cambios tras el tratamiento de forma más precoz que las secuencias convencionales de RM (97,98). Sin embargo, se necesitan más estudios para optimizar las medidas y métodos de análisis, validando los resultados en cohortes de mayor tamaño.

La siguiente tabla resume las ventajas de las dos técnicas de imagen principales para la valoración de respuesta.

Tabla 8. *Técnicas de imagen para la valoración de respuesta.*

	PET/TC	RM funcional
Estudios disponibles	Resultados reproducidos en estudios independientes de gran tamaño muestral	Resultados reproducidos en pequeñas series independientes de pacientes Algunos análisis retrospectivos en poblaciones heterogéneas
Valor pronóstico	<ol style="list-style-type: none"> 1. Predice riesgo de progresión precoz si existen lesiones focales residuales 2. Redefine el valor pronóstico de los pacientes en RC 3. Define la categoría de respuesta completa con EMR negativa por imagen 4. Complementaria a las técnicas basadas en la celularidad o molecularidad de la médula ósea 5. Contribuye a definir la categoría de respuesta EMR mantenida, asociada a mejor pronóstico 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Mayor fiabilidad en la valoración de la infiltración difusa de médula ósea 2. Demuestra cambios precoces durante el tratamiento, escasa evidencia publicada

EMR enfermedad mínima residual, RC respuesta completa

9. Nuevos trazadores PET en el MM

En el grupo de técnicas de imagen molecular, el PET/TC con ¹⁸F-FDG es el más ampliamente empleado para la evaluación y monitorización de respuesta a terapia debido a ventajas prácticas, entre las cuales las más importantes son su fácil

disponibilidad, posibilidad de detectar la enfermedad extramedular y su valor pronóstico. Sin embargo, el ^{18}F -FDG PET/TC tiene algunas limitaciones. En particular, los resultados falsos negativos pueden estar relacionados con la hiperglicemia en pacientes diabéticos o por la administración reciente de esteroides, frecuente en los esquemas de tratamiento de pacientes con MM, llevando a la supresión metabólica transitoria. Además, se ha reportado que, en una tasa variable de pacientes de un 10 a un 15%, las discrasias de células plasmáticas pueden no presentar avidéz por la ^{18}F -FDG por falta de la enzima hexokinasa, responsable del atrapamiento celular de la ^{18}F -FDG (68). En esos pacientes, el ^{18}F -FDG PET/TC no es una técnica apropiada para evaluar la respuesta metabólica a la terapia.

Por tanto, se han investigado de forma preliminar en modelos animales, o en series limitadas de pacientes con mieloma múltiple, nuevos trazadores PET más sensibles y específicos dirigidos a diferentes vías metabólicas o receptores expresados por las células plasmáticas que actúan como biomarcadores de imagen molecular. Los más frecuentemente empleados son la ^{11}C -Metionina y la ^{11}C - ^{18}F -Colina, si bien otros serán asimismo comentados a continuación.

9.1 $^{11}\text{C}/^{18}\text{F}$ -Colina

La Colina es un componente de la fosfatidilcolina y, como tal, funciona como sustrato para la biosíntesis de la membrana celular. La avidéz por la Colina radiomarcada está incrementada en las células en proliferación debido a que la misma está involucrada en el metabolismo de membrana y crecimiento celular. El PET-Colina se ha empleado de forma tradicional en el diagnóstico del cáncer prostático (99). El primer artículo acerca de la detección de lesiones en un paciente con MM fue el hallazgo incidental de un plasmocitoma solitario (100) en un paciente remitido para reestadificación de un cáncer de próstata. Basándose en estos hallazgos, un estudio comparativo entre el PET/TC con ^{18}F -FDG y la ^{11}C -Colina fue realizado por el grupo de Bolonia en un grupo heterogéneo de 10 pacientes con MM (4 de ellos habiendo completado la terapia inicial, 2 durante el seguimiento y 4 en recaída) (101). En 2/10 pacientes con sospecha de recaída, tanto la ^{11}C -Colina como el ^{18}F -FDG PET/TC fueron positivos e identificaron el mismo número de lesiones en la misma localización. En 4/10 pacientes, ambas técnicas fueron positivas, si bien la ^{11}C -Colina identificó un número superior no significativo de lesiones que la ^{18}F -FDG. Finalmente, 4 pacientes resultaron negativos en ambos radiofármacos, siendo este hallazgo consistente con la clínica, laboratorio y pruebas

de imagen que indicaban una RC. Casi diez años después, otro estudio realizado en París (102) en una serie mayor (21 pacientes con sospecha de progresión o recaída) demostró un mayor número de lesiones de la ^{18}F -Colina PET/TC respecto a la ^{18}F -FDG PET/TC, siendo estas diferencias significativas. La mayoría de lesiones no detectadas por la ^{18}F -FDG PET/TC se localizaban en el esqueleto axial, incluyendo la calota.

En resumen, el PET con Colina parece tener una mayor detectabilidad de las lesiones focales que el PET/TC con ^{18}F -FDG. Sin embargo, no se han realizado hasta la fecha estudios comparativos en pacientes no tratados ni se dispone de datos pronósticos. Además, este radiofármaco posee limitaciones en términos de biodistribución hepática y en médula ósea ya que la elevada captación en médula ósea y parénquima hepático podría enmascarar lesiones en estos órganos, este aspecto de especial importancia en pacientes con un patrón de infiltración difuso de la MO. Una limitación adicional en el caso de la ^{11}C -Colina es la necesidad de un ciclotrón en el propio hospital dado el corto semiperiodo de desintegración del radioisótopo (20 min).

9.2 ^{11}C -Metionina

La ^{11}C -Metionina (^{11}C -MET) es un radiofármaco aminoacídico empleado en el diagnóstico de los tumores del sistema nervioso central (SNC). La metionina es un aminoácido esencial y la incorporación de su forma radiomarcada refleja la actividad del transportador de aminoácidos independiente de sodio tipo L (LAT) al introducir este aminoácido hacia el interior celular. Este transportador se conduce por gradiente de concentración y se encuentra influenciado por el metabolismo intracelular de los aminoácidos, por lo que aumenta su actividad durante el proceso de proliferación. El fundamento fisiopatológico de aplicar la ^{11}C -MET en el MM se basa en el conocimiento de que los aminoácidos radiomarcados muestran una rápida captación e incorporación metabólica en las inmunoglobulinas de nueva síntesis (103).

A pesar de la limitada literatura existente, el PET/TC con ^{11}C -MET parece tener mejores resultados que el PET/TC con ^{18}F -FDG en el MM. Dankerl y cols. (103) fue el primero en aplicar este radiofármaco PET en la imagen de MM en un grupo de 19 pacientes con enfermedad activa. Fueron detectados signos de enfermedad multifocal diseminada en la MO de todos los pacientes excepto dos, hallazgo que sugería diseminación hematopoyética amplia. Los dos casos negativos mostraron únicamente EM y MM medular unifocal. Posteriormente, en 2013 se realizó el

primer estudio comparativo (Nakamoto y cols.), en pacientes con MM y plasmocitoma (104), en el que fueron comparados el ^{18}F -FDG con respecto a la ^{11}C -MET. En el análisis por paciente, dos pacientes fueron diagnosticados exclusivamente mediante la ^{11}C -MET PET/TC, mientras en los restantes 18 se obtuvieron resultados similares, si bien con más lesiones detectadas por la ^{11}C -MET PET/TC. En este estudio, la sensibilidad, especificidad, precisión de la ^{11}C -MET PET/TC para la reestadificación fue de un 89%, 100% y 93%, respectivamente, mientras que en el caso del ^{18}F -FDG PET/TC fue de 78%, 100% y 86%, respectivamente. Dos años después, Okasaki y cols. (105) estudiaron 64 pacientes con MM o GMSI (21 tratados previamente, 43 reestadificados tras tratamiento) que se realizaron PET/TC con los trazadores ^{11}C -4'-tiotimidina (^{11}C -4DST), ^{11}C -MET, y ^{18}F -FDG. En primer lugar, el número de lesiones equívocas observadas en la ^{18}F -FDG fue superior a las halladas por ^{11}C -MET o ^{11}C -4DST pre y postterapia. En segundo lugar, ^{11}C -MET y ^{11}C -4DST fueron superiores a la ^{18}F -FDG detectando lesiones en calota debido a su baja captación fisiológica en el cerebro. El grupo de Würzburg ha reseñado asimismo la superioridad de la ^{11}C -MET sobre el ^{18}F -FDG en la estadificación y reestadificación de las lesiones intra y extramedulares de MM (106), confirmando estos resultados en un estudio de doble centro en colaboración con la Clínica Universidad de Navarra (CUN) con 78 pacientes (4 plasmocitomas solitarios, 5 MMQ, 69 MM sintomático) (107). Recientemente, el mismo grupo ha realizado un estudio comparativo entre la ^{11}C -MET y la ^{11}C -COL para la imagen metabólica del MM en 19 pacientes con MM (n= 18) o historia de plasmocitoma (n=1), demostrando ventajas de la ^{11}C -MET sobre la ^{11}C -COL en términos de sensibilidad, detectando un mayor número de lesiones intramedulares en el 40% de pacientes, con mejor ratio lesión/fondo (108).

Las limitaciones de este radiofármaco incluyen su distribución fisiológica en el parénquima hepático y la MO, reduciendo potencialmente la tasa de detección de lesiones. Además, el uso del isótopo ^{11}C no resulta extensible a todos los centros hospitalarios, dadas sus características físicas mencionadas en apartados anteriores.

9.3 ^{11}C -Acetato

El ^{11}C -acetato penetra en las células y es metabolizado en acetil-CoA por la enzima acetil-CoA sintetasa, sobreexpresada en ciertos tipos de células tumorales. El uso del ^{11}C -acetato en el MM se justifica por la elevada síntesis lipídica en células

plasmáticas anormalmente proliferativas como se ha reportado en estudios con líneas celulares de mieloma.

Similarmente a lo que sucede con la Colina radiomarcada, el primer artículo publicado acerca del papel del ^{11}C -acetato en mieloma resultó ser un hallazgo incidental. Hay dos estudios comparativos del ^{11}C -acetato con ^{18}F -FDG; el primero, con un grupo heterogéneo de 35 pacientes sin tratamiento (26 de ellos con MM sintomático, 5 con MMQ y 4 con GMSI), reportó una sensibilidad significativamente superior del ^{11}C -acetato (84.6% vs. 57.7%) mientras que la especificidad fue del 100% y 93.1%, respectivamente (109). En los pacientes con MMQ y la GMSI, el ^{11}C -acetato PET/TC resultó negativo mientras que en la ^{18}F -FDG PET/TC, 2 casos de GMSI resultaron falsamente positivos. Posteriormente, Lin y cols. encontraron resultados similares en 15 pacientes con MM no tratado, identificando una mayor detectabilidad en la enfermedad combinada (focal y difusa) (110). Además, en un subgrupo de 13 pacientes con estudio PET/TC post-terapia de inducción, se evidenciaron diferencias significativas en la reducción del SUV_{max} entre pacientes con MBRP y RP en el estudio de ^{11}C -acetato, no así en el ^{18}F -FDG PET/TC.

9.4 ^{18}F -Fluorotimidina (^{18}F -FLT)

El FLT es captado por las células y fosforilado por la timidin kinasa 1, regulada durante la fase S del ciclo celular, produciendo la ^{18}F -FLT monofosfato (^{18}F -FLT-MP), que puede ser fosforilada secuencialmente a la forma ^{18}F -FLT difosfato (^{18}F -FLT-DP) y ^{18}F -FLT trifosfato (^{18}F -FLT-TP). Estos productos fosforilados son atrapados metabólicamente de forma intracelular sin ser incorporados en el ADN. La retención del trazador en el interior celular se encuentra a menudo correlacionada de forma positiva con la proliferación celular (111). Sin embargo, su aplicación en el MM resulta limitada. Agool y cols. estudiaron un grupo de 18 pacientes con distintos desórdenes hematológicos, entre los que se encontraban pacientes con MM. Los autores encontraron que las áreas con correlato osteolítico demostraban una baja captación de ^{18}F -FLT (112). En un estudio piloto acerca del uso combinado del ^{18}F -FDG y el ^{18}F -FLT PET/TC en 8 pacientes con mieloma (MMQ y sintomático), el número de lesiones sugestivas de mieloma era significativamente superior para la ^{18}F -FDG PET/TC que para la ^{18}F -FLT.

Como limitaciones del trazador, se incluye el hecho de que la captación en MO es elevada, dificultando la detección de lesiones en MO (113). Como conclusión, el ^{18}F -FLT no parece poseer utilidad como único radiofármaco a emplear en el MM.

9.5 ⁶⁸Ga-Pentixafor Chemokine receptor 4 (CXCR4)

El CXCR4 es un receptor pleiotrópico tipo quimioquina acoplado a la proteína G que se expresa en las células hematopoyéticas y células progenitoras en el nicho medular, implicado en el proceso de migración celular, así como en el proceso de migración de las células progenitoras hematopoyéticas a la médula ósea, angiogénesis y proliferación celular. El CXCR4 permite la migración de las células progenitoras a los órganos y tejidos hasta su ubicación final, donde media procesos de control de infección e inmunidad. Al unirse a su ligando CXCL12 (factor 1 derivado de la célula estromal, SDF-1), esta unión resulta en la activación de numerosas vías que resultan en la expresión génica y la translación proteica.

En el MM, de forma similar a la célula plasmática normal, las células de mieloma usan el CXCR4 para la migración a la médula ósea y la homeostasis (114), asociándose su expresión a progresión de la enfermedad y mal pronóstico (115) mientras que el CXCL12 se asocia a fenómenos de osteolisis y angiogénesis.

Los conjugados CXCR4/CXCL12 ha sido radiomarcados con isótopos emisores de positrones, como el ⁶⁸Ga produciendo el ⁶⁸Ga-pentixafor, cuya expresión se encuentra ampliamente demostrada en múltiples desórdenes hematológicos que incluyen leucemia, linfoma o mieloma múltiple. Además, otra ventaja del mencionado trazador es su uso potencial como herramienta terapéutica (teranóstica) en combinación con los isótopos ¹⁷⁷Lu o ⁹⁰Y, indicado en pacientes en progresión con lesiones con expresión de CXCR4 confirmadas por un PET/TC con ⁶⁸Ga-pentixafor. Resultados preliminares de esta terapia en tres pacientes pretratados fueron positivos, encontrándose escasos niveles de toxicidad, con buena tolerancia y altas tasas de respuesta (116). En cuanto al ⁶⁸Ga-Pentixafor, en comparación con el ¹⁸F-FDG se observó ligera superioridad del primero con 10/14 pacientes con alguna manifestación en el PET/TC con ⁶⁸Ga-Pentixafor, frente a 9/14 en la ¹⁸F-FDG PET (117). Recientemente, otro estudio ha confirmado la mayor detectabilidad del ⁶⁸Ga-Pentixafor, realizándose además un análisis cuantitativo que demostró que los valores de captación de MO se correlacionaban positivamente con daño orgánico y biomarcadores de laboratorio, entre ellos la B2M, cadenas ligeras en suero y orina (118). Por tanto, este radiofármaco resulta prometedor para pacientes con MM de nuevo diagnóstico, en especial dado su doble enfoque diagnóstico-terapéutico.

II. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1. Justificación

La ^{18}F -FDG PET/TC es una técnica de imagen aceptada por el Grupo de Trabajo Internacional de Mieloma en la estadificación y en la valoración de respuesta de pacientes con mieloma. La ventaja de su carácter dual, que permite identificar la actividad tumoral y la destrucción ósea, se contrarresta con la falta de especificidad y con la existencia de resultados falsos negativos en un 10-15% de los pacientes con mieloma debido a la ausencia de la enzima hexoquinasa, responsable del atrapamiento celular de la ^{18}F -FDG en algunos tumores. De este planteamiento surge la motivación de investigar nuevos radiotrazadores PET, entre los cuales se encuentran la ^{11}C -Metionina, radiotrazador aminoacídico rápidamente incorporado en las inmunoglobulinas de nueva síntesis en mieloma, y la ^{11}C -Colina, con resultados preliminares en la literatura que demuestran una mejor sensibilidad y especificidad que la ^{18}F -FDG, si bien los estudios publicados son escasos y el tamaño muestral pequeño. Estos argumentos, junto con la ausencia de estudios sobre su impacto pronóstico han motivado el presente proyecto de investigación.

2. Hipótesis

La ^{11}C -Metionina y la ^{11}C -Colina son radiotrazadores con mejor rendimiento diagnóstico en el estudio de extensión de mieloma y en la valoración de respuesta.

3. Objetivos

3.1 Objetivo principal

Comparar el rendimiento diagnóstico de tres radiofármacos ^{18}F -FDG, ^{11}C -MET y ^{11}C -COL en la detección de infiltración tumoral de MM por PET/TC, realizando estudios tanto en modelo animal (microPET) como en pacientes (PET/TC).

3.2 Objetivos secundarios

3.2.1 Modelo preclínico

1. Comparar la captación de los trazadores ^{18}F -FDG y ^{11}C -Metionina explorando distintas líneas celulares con el fin de seleccionar aquella que

presente un comportamiento *in vitro* análogo al observado *in vivo* en pacientes (superior retención con ^{11}C -Metionina).

2. Comparar en un modelo murino de MM con enfermedad subcutánea la sensibilidad y especificidad de los tres radiofármacos: ^{18}F -FDG, ^{11}C -MET y ^{11}C -COL. Contrastar los valores SUV_{max} , MTV y TLG en la detección de los tumores subcutáneos.

3. Determinar en el modelo murino la eficacia diagnóstica de ^{18}F -FDG y ^{11}C -MET en la valoración de respuesta al tratamiento con terapia convencional aislada (bortezomib), y en combinación (bortezomib, lenalidomida, dexametasona).

3.2.2 Modelo clínico

4. Realizar un estudio prospectivo en una cohorte de 52 pacientes con MM remitidos para estudio de extensión con PET/TC previo al inicio del tratamiento (incluyendo MM quiescente, nuevo diagnóstico o recaídas), comparando ^{18}F -FDG y ^{11}C -MET para establecer el rendimiento diagnóstico de estos dos radiofármacos para la detección de lesiones mielomatosas.

5. Estudiar la correlación de la captación de las lesiones con ^{18}F -FDG y ^{11}C -MET con la respuesta al tratamiento. Adicionalmente, se buscaron correlaciones entre los resultados del PET/TC con ambos trazadores y la respuesta clínica e inmunofenotípica expresada como enfermedad mínima residual y medida mediante Next-generation flow (NGF) con el protocolo EuroFlow basado en dos combinaciones de 8 colores, analizando las implicaciones pronósticas de las discrepancias.

6. Analizar para ambos radiofármacos la correlación de la captación en médula ósea mediante parámetros semicuantitativos derivados del PET con el porcentaje de infiltración de médula ósea por células plasmáticas en la biopsia ósea.

7. Analizar la correlación de los parámetros semicuantitativos de los estudios PET/TC con ^{11}C -Metionina y ^{18}F -FDG con parámetros clínicos y analíticos como la ratio de cadenas ligeras o el componente M.

8. Por último, evaluar el valor pronóstico de los parámetros visuales y semicuantitativos obtenidos en los estudios basales con ^{18}F -FDG y ^{11}C -MET PET/TC.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

1 DISEÑO

El trabajo desarrollado para esta tesis doctoral forma parte de un proyecto concedido en 2016 por el Fondo de Investigación en Salud (FIS) del Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), incluido en el Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica y de Innovación (PI16/00225).

1.1 Modelo preclínico

1.1.1 Diseño del estudio

Los experimentos preclínicos fueron llevados a cabo de forma prospectiva en un modelo de ratón mielomatoso humano cuyas características se describen a continuación. Previamente, se realizó un ensayo *in vitro* para seleccionar las líneas celulares de MM a emplear en este modelo.

1.1.2 Muestra a estudio

1.1.2.1 Cultivos celulares y reactivos

Se utilizaron las siguientes líneas celulares de MM para los experimentos *in vitro*: MM1S, H929, KMS11 y RPMI8226. Para los experimentos *in vivo* se usaron las siguientes: MM1S-GFP (línea modificada con inserción de la proteína verde fluorescente y de luciferina), MM1S-Tomato (línea modificada con inserción de la proteína Tomato) y RPMI8226. Todas ellas fueron cultivadas en atmósfera húmeda en presencia de 5% de CO₂ y 95% de aire a 37°C, en medio RPMI (RPMI 1640-Gibco) con 2 mM de L-glutamina, suplementado con 10% de suero bovino fetal (FBS), L-Glutamina 200mM (Gibco) en 0,85% de NaCl y antibióticos (penicilina y estreptomycin 10.000 U/ml, Lonza). Las características de cada línea celular se resumen en la Tabla 9.

Tabla 9. Líneas celulares modelo preclínico

Línea celular	MM1S	H929	KMS11	RPMI8226
Referencias	(119),(120)	(121)	(122),(123)	(124),(119)
Especie	humana	humana	humana	humana
Diagnóstico	MM	MM	MM	MM
Ig	IgA λ	IgA k	IgG k	IgG (del) λ
Miscelánea	Sens. a dexametasona	Positividad PCA-1, CD38		Expresión de c-Kit (CD117)

1.1.2.2 Estudios de incorporación *in vitro*

Todos los cultivos celulares se recogieron antes de alcanzar el estado de confluencia a una concentración de 1×10^6 células por muestra en 500 μ L de tampón fosfato salino (PBS). A cada muestra se le añadió ^{18}F -FDG o ^{11}C -MET a una concentración de 4.4 ± 1 y 5.9 ± 0.2 MBq, respectivamente, para incubarse posteriormente durante 50 minutos (^{18}F -FDG) o 20 minutos (^{11}C -MET) a 37° C y en agitación en un bloque termostático. Transcurrido este tiempo, las células se centrifugaron (1000 g, 2 minutos) tras lo cual se retiró el sobrenadante con el radiofármaco no incorporado. A continuación, el precipitado con las células se lavó dos veces añadiendo 500 μ L de PBS, centrifugando y retirando sobrenadante de nuevo. Finalmente, el precipitado se llevó a un contador gamma (Hidex Automatic Gamma Counter) para detectar la cantidad de radiofármaco incorporado por las células. Los datos se corrigieron por decaimiento y se expresaron en % de actividad incorporada por muestra. Además, se calculó una ratio de incorporación mediante el cociente % incorporación ^{11}C -MET / % incorporación ^{18}F -FDG. Todos los experimentos se llevaron a cabo en tres días independientes, realizando triplicados cada día.

1.1.2.3 Modelo tumoral en ratón

Todos los procedimientos con animales se llevaron a cabo de acuerdo con las guías de la Comunidad Europea (Directiva 2016/63/UE) y el Gobierno de España (Real Decreto 53/2013) para la protección de los animales utilizados en

experimentación y fueron aprobados por el Comité de Experimentación Animal de la Universidad de Navarra (protocolo 123-15E2).

Se utilizaron 44 ratones CB17/Icr-Pkdc-scid/Crl (Charles River) de 4 - 5 semanas de edad con un peso de 20 ± 5 g que se estabularon de manera social en jaulas ventiladas dentro de una instalación con temperatura a 22 °C y un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas. Los animales tuvieron acceso libre a agua y comida durante todo el experimento excepto el día previo a los estudios con ^{18}F -FDG.

Para la creación del modelo murino de mieloma, los ratones se inyectaron de manera subcutánea en el flanco derecho con 5×10^6 células MM1S-Tomato o 2×10^6 células RPMI. La línea celular MM1S-Tomato corresponde a la línea MM1S que posee expresión de proteína fluorescente y se seleccionó por ser una de las líneas habituales en los estudios de MM (125). La línea RPMI fue seleccionada en base a su comportamiento en los estudios *in vitro*.

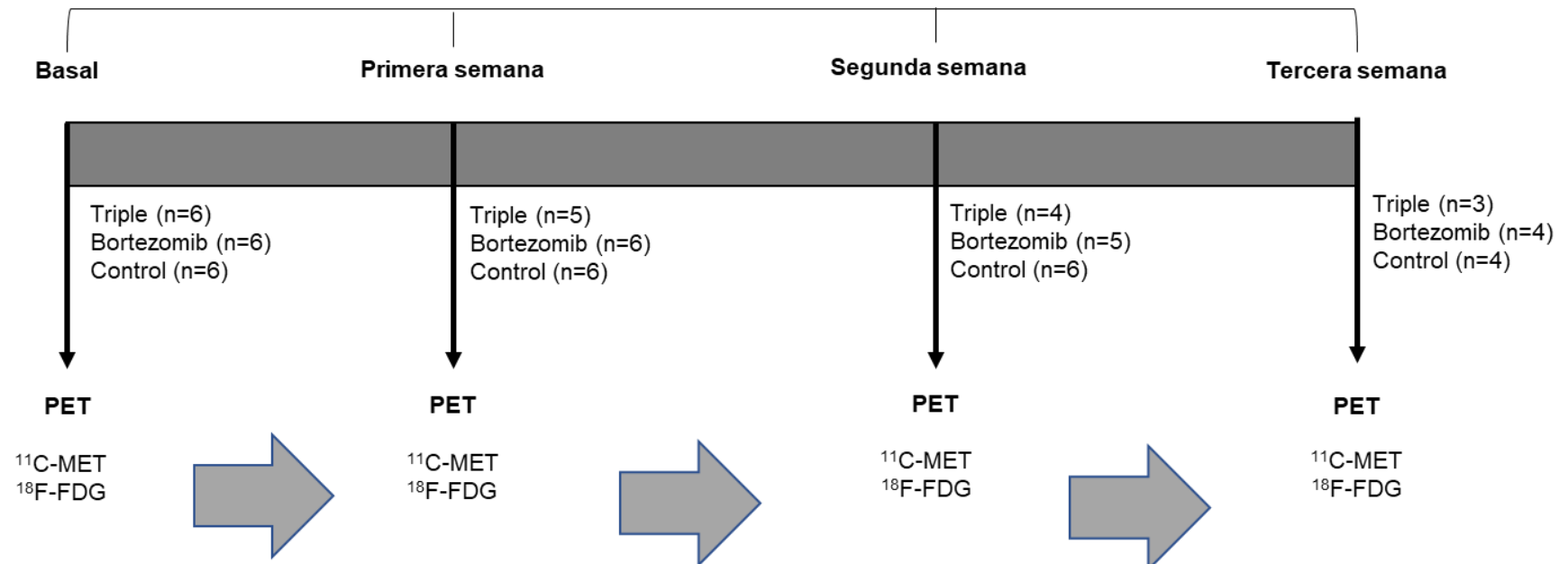
Se realizaron dos tipos de estudios en este modelo animal. En una primera fase (n=26) se realizaron estudios microPET multitrazador con ^{18}F -FDG, ^{11}C -MET y ^{11}C -COL para analizar el perfil metabólico de los tumores utilizando ambas líneas celulares. Tras la inyección de las células, los estudios microPET se realizaron tras la selección de los animales por fluorescencia (ver apartado 1.1.3) y cuando los tumores fueron evidentes a nivel macroscópico.

En una segunda fase (n=18) se estudió la capacidad de los estudios multitrazador para evaluar el efecto de tratamientos farmacológicos. En esta parte del estudio sólo se utilizaron los radiofármacos ^{18}F -FDG y ^{11}C -MET, debido al pobre rendimiento diagnóstico de la ^{11}C -COL observado en los estudios previos. Para ello se utilizó la línea celular MM1S-GFP. Tras la inyección subcutánea de las células (3×10^6 células/ratón) se realizó un estudio microPET basal a los 18 días con ^{18}F -FDG y ^{11}C -MET. Al día siguiente los animales se randomizaron en tres grupos para iniciar su tratamiento, que se administró de manera intravenosa (n=6 animales por grupo) con una pauta de tratamiento de una vez por semana. Uno de los grupos se trató con Bortezomib (0,1 mg/kg), otro con una combinación de Bortezomib (0,1 mg/kg), Dexametasona (1 mg/kg) y Lenalidomida (15 mg/kg), que se preparaban en 2% de Dimetilsulfóxido (DMSO) + 30% de Polietilenglicol (PEG) y agua destilada (H₂O_d), mientras que el tercer grupo se inyectó con PBS como control sin tratamiento. Los estudios microPET de seguimiento se realizaron 1, 2 y 3 semanas tras el inicio del tratamiento. Sobre la superficie del ratón, se midieron los tumores

subcutáneos generados mediante un calibre, tomando el largo y ancho del tumor y aplicando la fórmula: Volumen tumoral = $\frac{1}{2}$ (longitud x ancho²) (126), de forma basal y a las 1, 2 y 3 semanas coincidiendo con el PET con doble trazador.

Todos los animales utilizados en ambas fases fueron sacrificados mediante dislocación cervical al día siguiente de su último estudio de imagen. Los tumores se diseccionaron y recogieron en PBS para su análisis por citometría de flujo.

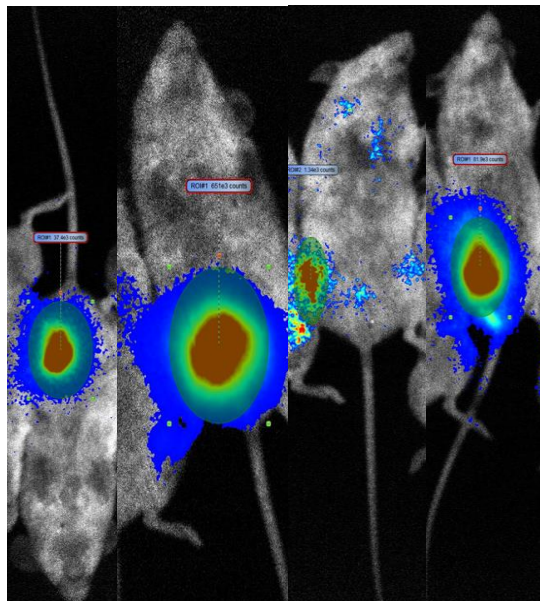
Figura 6. Diagrama de flujo de tratamientos en el modelo murino



1.1.3 Estudio de fluorescencia

Los estudios de fluorescencia se realizaron para verificar el establecimiento de los tumores y establecer los tiempos en que se realizarían estudios de imagen microPET. Para ello, los animales fueron inmovilizados con anestesia intraperitoneal (mezcla de ketamina/xylazina) y cinco minutos más tarde se colocaron en la cámara de un equipo de detección de fluorescencia *in vivo* (PhotonIMAGER Optima System, Biospace Labs). Se adquirió una imagen de los animales, seguida de una de detección de la fluorescencia. Se definió una región de interés de todo el animal y la cuantificación de la emisión de luz fue realizada en fotones/s. El tiempo de exposición varió de 1 segundo a 5 minutos dependiendo de la intensidad de la fluorescencia.

Figura 7. Imagen de fluorescencia modelo murino.



1.1.4 Estudios MicroPET *in vivo*

Los estudios microPET de cada animal se realizaron en dos días consecutivos. El día previo a los estudios con ^{18}F -FDG los animales se dejaron en ayunas y con acceso libre a agua. Para la adquisición de las imágenes, los animales se inmovilizaron en un cepo para inyectarles el radiofármaco vía intravenosa por una de las venas de la cola en un volumen final entre 100 - 200 μL (^{18}F -FDG 22.3 ± 4.5 MBq, ^{11}C -MET 32.9 ± 14.1 MBq, ^{11}C -COL 30.2 ± 11.6 MBq). Tras un periodo de incorporación de 50 minutos para la ^{18}F -FDG y 20 minutos para la ^{11}C -MET o ^{11}C -

COL, los animales fueron anestesiados con anestesia inhalatoria con isoflurano al 2% en O₂ y colocados en posición prono sobre la camilla del tomógrafo. Las imágenes fueron adquiridas en un tomógrafo microPET Mosaic (Philips, Cleveland, OH, USA) con una resolución de 2mm y un campo de visión axial y transaxial de 11,9 cm y 12,8 cm respectivamente. La adquisición de las imágenes se llevó a cabo durante 15 minutos para la ¹⁸F-FDG y 20 minutos para la ¹¹C-MET y ¹¹C-COL con los animales bajo anestesia inhalatoria continua. Las imágenes fueron reconstruidas utilizando un algoritmo 3D con 2 iteraciones en una matriz de 128 x 128 con un tamaño de vóxel de 1 mm, corrigiendo los eventos dispersos y aleatorios, el tiempo muerto y el *decay*.

1.1.4.1 Análisis imágenes MicroPET

Para el análisis de las imágenes microPET, todos los estudios fueron exportados y analizados utilizando el programa especializado PMOD v3.2 (PMOD Technologies Ltd., Adliswil, Switzerland). Las imágenes se expresaron en unidades SUV, utilizando la fórmula $SUV = [\text{concentración de actividad en el pixel (Bq/cm}^3\text{)}/\text{dosis inyectada(Bq)}] \times \text{peso (g)}$. Primeramente, se realizó un análisis cualitativo de las imágenes, asignando los siguientes parámetros: Captación de ¹¹C-MET, ¹⁸F-FDG, ¹¹C-COL en el tumor subcutáneo, con las siguientes categorías: 0=ausente, 1=débil, 2=intensa, 3=muy intensa.

Tras el análisis cualitativo, se realizó un análisis semicuantitativo mediante delimitación de volúmenes de interés (VOI). Sobre un VOI esférico que contenía todo el tumor, se realizó una umbralización conteniendo aquellos vóxel con un valor \geq al 40% del valor máximo de captación. A continuación, se calcularon tres parámetros: 1) SUV máximo (SUV_{max}), que fue el promedio de los 5 vóxeles con mayor valor de captación, 2) volumen metabólico tumoral (metabolic tumor volume, MTV) que se define por el volumen en cm³ dibujado tras la umbralización, y 3) carga tumoral metabólicamente activa (total lesion glycolysis, TLG), parámetro adimensional producto del MTV y el SUV promedio dentro del VOI umbralizado. Para la ¹¹C-Metionina y ¹¹C-Colina el parámetro equivalente al TLG fue el TLMU (total lesion methionine uptake), descrito por Kobayashi y cols. en el estudio de los gliomas cerebrales (127) y TLCU (total lesion choline uptake), empleado en en el cáncer prostático (128).

1.1.5 Citometría de flujo

Tras el sacrificio de los animales, el tejido tumoral fue disgregado y filtrado mediante un tamiz celular (50 μ m cell strainer, BD Falcon, BD Bioscience). El análisis por citometría se llevó a cabo en un citómetro FACSCanto II (Biosciencias), utilizando el programa FlowJo para el análisis y presentación de los datos.

En el caso de los tumores, se disgregaron, filtraron y pasaron por el citómetro directamente, comparándolos con las células MM1S-Tomato inyectadas en el ratón para localizarlas e identificarlas. De este modo se pudo identificar que las células visualizadas eran las inyectadas y no las propias del ratón.

Una vez seleccionadas e identificadas, se calculó mediante ventanas citométricas el % de células tumorales en el tumor o en la médula ósea.

1.2 Modelo clínico

1.2.1 Diseño del estudio

El presente trabajo es de diseño prospectivo y ha sido llevado a cabo en el Departamento de Hematología y en el Servicio de Medicina Nuclear de la CUN. El protocolo y la documentación necesaria para el estudio fueron aprobados por el Comité de Ética de este centro (addendum 1).

1.2.2 Población a estudio

Entre agosto de 2015 y mayo de 2019 se incluyeron un total de 52 pacientes, 44 de ellos con Mieloma Múltiple (MM) sintomático y 8 con MM quiescente, remitidos para estudio PET/TC con doble radiotrazador (^{11}C -MET y ^{18}F -FDG), de los cuales el 50% (n=26) correspondía a estadificaciones iniciales, mientras que el resto eran pacientes en progresión clínica o analítica remitidos para estudio de extensión previo a inicio de nueva línea de tratamiento.

En un subgrupo de 21 pacientes se valoró la respuesta al tratamiento mediante un segundo estudio PET/TC con doble radiotrazador (^{11}C -MET y ^{18}F -FDG).

1.2.2.1 Criterios de inclusión

Los criterios que debían cumplir los pacientes para su inclusión fueron:

- 1- Confirmación de MM quiescente o sintomático de reciente diagnóstico o en recaída
- 2- Mayoría de edad y capacidad de consentir.

1.2.2.2 Criterios de exclusión

Se consideraron los siguientes criterios de exclusión:

- 1- Incapacidad para permanecer en decúbito durante la adquisición de las imágenes PET/TC
- 2- Diagnóstico de otras discrasias plasmáticas distintas de las previamente mencionadas en los criterios de inclusión

- 3- Presencia de cualquier condición médica que, a juicio del especialista en Hematología, impidiera la correcta realización y/o interpretación de los resultados tales como diabetes mal controlada.

1.2.2.3 Valoración clínica inicial

Todos los pacientes disponían de una valoración inicial realizada por el hematólogo consistente en una anamnesis dirigida, exploración física y exploraciones complementarias. De la anamnesis, los datos recogidos fueron los siguientes:

1. Líneas de tratamiento previas al PET/TC en los pacientes con recaídas
2. Tipo de tratamientos administrados. Divididos según los siguientes grupos:
 - a. Inhibidores del proteasoma
 - b. Inmunomoduladores
 - c. Anticuerpos monoclonales
 - d. Trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TASPE)

En cuanto a las exploraciones complementarias, se recogieron los siguientes datos:

1. Analítica de sangre y orina
 - a. B2M
 - b. ALB
 - c. LDH
 - d. Hgb
 - e. Hematocrito
 - f. FLC afectas
 - g. FLC no afectas
 - h. Ratio FLC (FLCR)
 - i. Componente M (suero)
 - j. Componente monoclonal (orina)
2. Pruebas de laboratorio (médula ósea):

- a. Medulograma
 - i. Porcentaje de células plasmáticas malignas
- b. Citometría de flujo screening gammapatía monoclonal
- c. Citometría de flujo enfermedad mínima residual (EMR)
 - i. EMR total
 - ii. Células plasmáticas citometría
 - iii. Porcentaje de células plasmáticas malignas
- d. Citogenética
 - i. Del 17p (TP53)
 - ii. t (4;14)
 - iii. t (14;16)

3. Resonancia magnética

Tras la evaluación clínica, se registró cada paciente de acuerdo a la escala ISS y R-ISS en función de los valores de ALB, B2M, LDH y citogenética.

1.2.2.4 Valoración clínica de respuesta

En el subgrupo de pacientes remitidos para valoración de respuesta, además de recoger los datos relativos a líneas y tipo de tratamiento, se registraron los siguientes datos relativos a las exploraciones complementarias:

- 1. Analítica de sangre y orina
 - a. B2M
 - b. LDH
 - c. Hgb
 - d. Hematocrito
 - e. FLC afectas
 - f. FLC no afectas
 - g. FLCR
 - h. Componente M (suero)
 - i. Componente monoclonal (orina)

2. Pruebas de laboratorio (médula ósea):
 - a. Medulograma
 - i. Porcentaje de células plasmáticas tumorales
 - b. Citometría EMR
 - i. EMR total
 - ii. Células plasmáticas citometría
 - iii. Porcentaje de células plasmáticas tumorales

La valoración de respuesta se realizó de acuerdo con los criterios estándar del IMWG (20). Además, aquellos casos considerados en respuesta completa se categorizaron adicionalmente según los criterios de la IMWG para la EMR (92).

1.2.3 Valoración por técnicas de imagen: PET/TC

1.2.3.1 Equipo técnico

1.2.3.1.1 PRODUCCIÓN DE RADIOFÁRMACOS

Los radiofármacos fueron producidos siguiendo normas de correcta fabricación (NCF) por el Laboratorio PET GMP de la CUN.

Los radionúclidos emisores de positrones (fluor-18 y carbono-11) se obtuvieron en un Ciclotrón 18/18 de IBA y la radiosíntesis para obtener el radiofármaco se llevó a cabo de manera remota y automatizada, en módulo Synthera + (IBA) para la obtención de [¹⁸F]FDG, y en módulos modulares de Eckert&Ziegler, en el caso de la L-[metil-¹¹C]metionina y la [metil-¹¹C] colina, todos ellos dentro de celdas plomadas con aire filtrado clase B.

Los controles de calidad se llevaron a cabo en el área de control de calidad del laboratorio PET GMP, empleando equipos de radio-HPLC (Agilent Technologies 1500 Series) y radio-TLC (Bioscan), para el análisis de la pureza radioquímica; CG (7683B Agilent Technologies) para la determinación de disolventes residuales y Endosafe PTS (Charles River) para la detección de endotoxinas.

El Servicio de Microbiología de la CUN llevó a cabo el análisis de la esterilidad, para todos los radiofármacos obtenidos.

1.2.3.1.2 ESTUDIOS PET/TC

Los estudios PET/TC con ^{11}C -Metionina y ^{18}F -FDG se realizaron en un equipo PET/TC (Siemens Biograph mCT 64, Siemens, Knoxville, USA) que combina un TC de 64 coronas y un tomógrafo PET de 4 anillos de cristal de ortosilicato de lutecio (LSO) que cubren un campo de vision axial de 21.8 cm. La imagen fue adquirida en modo 3D con una matriz de 200X200. Para reconstruir la imagen, se aplicó el algoritmo TrueX + TOF (ultraHD-PET), que incluye dos técnicas avanzadas: Time of flight o tiempo de vuelo (TOF) y Point Spread Function o función de dispersión del punto (PSF). La técnica de reconstrucción de imágenes PET empleada fue iterativa con 3 iteraciones y 21 subconjuntos.

El tomógrafo TC empleado fue un Somatom Definition AS, con espesor de corte de las imágenes de 5 mm, tiempo de rotación de 0,5 segundos, valor de tension de 120 kV, corriente de tubo de 80 mA e índice pitch de 1, con dirección craneo-caudal. La resolución espacial de la imagen reconstruida resultó de 0,24 mm.

1.2.3.1.3 ^{18}F -FDG Y ^{11}C -MET ADQUISICIÓN/RECONSTRUCCIÓN

El estudio se realizó tras la administración por vía intravenosa de 3-5 MBq/kg de ^{18}F -FDG y 6-10 MBq/kg de ^{11}C -MET, tras al menos cuatro horas de ayunas y dieta baja en proteínas los dos días previos, comprobando previamente a la administración de ^{18}F -FDG los niveles de glucemia, llevando a cabo la administración de la ^{18}F -FDG cuando estos eran inferiores a 120 mg/dl. Previamente se realizó el TC a baja dosis sin contraste con un protocolo Care Dose 4D de 80 mAs, 120 kV que incluía de cabeza a pies. La adquisición de las imágenes se inició a los 60 minutos post-inyección de ^{18}F -FDG y a los 20 minutos de ^{11}C -MET, realizando un estudio de cuerpo completo desde calota hasta pies en modo 3D, con un total de 14-16 bed y una duración de 2-3 minutos/bed de calota a muslos y 1 min/bed en miembros inferiores. El tiempo de adquisición estimado para toda la exploración fue de aproximadamente 30 min. Posteriormente, se llevó a cabo la reconstrucción iterativa de las imágenes de PET con corrección de atenuación mediante un *software* dedicado (HD. PET, Siemens Esoft, Erlangen, Germany) en los tres planos del espacio y en modo cine en tres dimensiones (Maximum Intensity Projection, MIP), junto a las imágenes de TC y la fusión de PET/TC. Los estudios fueron interpretados en la unidad PET/TC de análisis de imágenes con el software Syngovia (Siemens).

Los estudios PET/TC con ^{11}C -MET y ^{18}F -FDG se realizaron con un intervalo inferior

a 5 días a fin de hacer sus resultados comparables. En los pacientes explorados en el mismo día, se inició primero el estudio de ^{11}C -MET y posteriormente, se llevó a cabo el estudio de ^{18}F -FDG PET/TC, tras 4 horas de decaimiento radiactivo equivalentes a 12 períodos de semidesintegración del carbono-11 ($T_{1/2}$: 20 minutos) para evitar la interferencia de dicho trazador en la imagen con ^{18}F -FDG,

En caso de los pacientes remitidos para valoración de respuesta con estudio PET, el procedimiento empleado fue el mismo que al diagnóstico.

1.2.4 Análisis imagen PET/TC

1.2.4.1 ^{18}F -FDG PET/TC

Los estudios PET/TC fueron analizados visual y semicuantitativamente. Para el análisis visual de la ^{18}F -FDG PET/TC, se emplearon los criterios propuestos por Moreau (56), considerando lesión focal toda área en médula ósea de captación incrementada en ^{18}F -FDG en comparación con la actividad de la médula ósea adyacente, con o sin correlato lítico en el TC; lesión paramedular, aquella lesión lítica con invasión de partes blandas adyacentes; infiltración difusa de médula ósea aquella captación heterogénea u homogénea en el eje axial con posible extensión al esqueleto apendicular, con intensidad de captación superior a la hepática; lesión extramedular, aquella lesión tumoral de tejido no óseo o ganglionar con grado variable de captación de ^{18}F -FDG que no se encuentra inmediatamente adyacente a la localización ósea.

En los estudios de ^{18}F -FDG, a fin de estandarizar la interpretación se emplearon los criterios propuestos por el grupo italiano (Italian myeloma criteria for PET Use, IMPeTUs) (61). Dichos criterios consisten en una escala de interpretación visual (escala de 5 puntos Deauville) para la descripción del número de lesiones focales (con o sin lisis), enfermedad extramedular, y afectación difusa de médula ósea. En la tabla 10 se encuentran los criterios IMPeTUs propuestos por Nanni y Zamagni (EJNMMI 2016). A continuación, se detalla el score visual Deauville.

Tabla 10. Criterios IMPeTUs adaptados de Nanni y cols. (61)

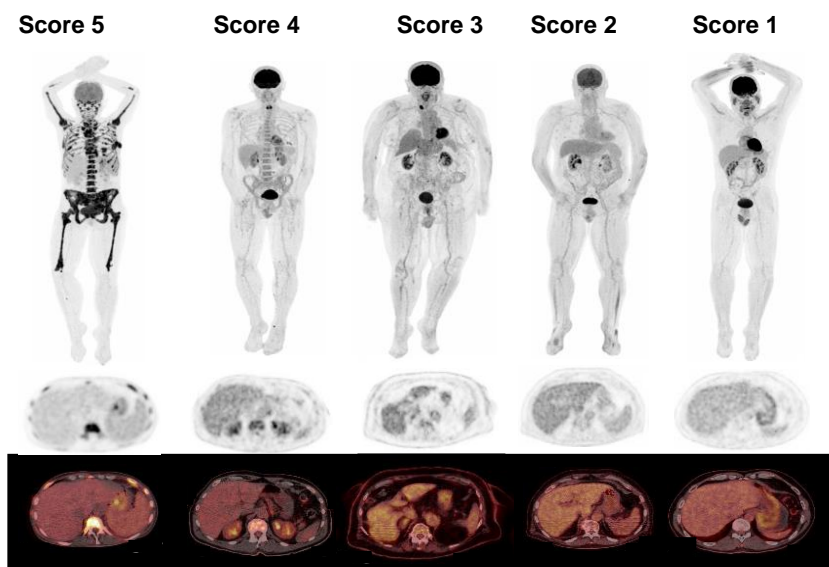
Infiltración	Localización	N. de lesiones (X)	Escala
Difusa	Médula ósea ^a		Deauville
Focal (F)		X = 1 (no lesiones) X = 2 (1 a 3 lesiones) X = 3 (4 a 10 lesiones) X = 4 (> 10 lesiones)	Deauville
Extramedular (EM)	Al menos en una localización		Deauville

a. Hipermetabolismo en extremidades y costillas

Tabla 11. Escala Deauville

Score 1	No uptake
Score 2	Uptake \leq mediastinum
Score 3	Uptake > mediastinum but \leq liver
Score 4	Moderate uptake > liver
Score 5	Marked uptake > liver

Figura 8. Escala visual Deauville utilizada en el FDG-PET para valorar la captación difusa.



1.2.4.2 ¹¹C-MET PET/TC

En el estudio de ¹¹C-MET, siguiendo los criterios publicados por Dankerl y cols. (103), se consideró criterio para el diagnóstico de infiltración de MO por MM la existencia de áreas de incremento de captación focal en la MO, infiltración difusa aquel incremento de captación en la MO hematopoyética con/sin expansión de la MO a las partes distales de los huesos largos (expansión periférica de MO) o EM

aquellas áreas de captación focal incrementada en una masa de tejido de partes blandas extramedular. Dada la ausencia de criterios de estandarización para su interpretación, se recogieron las mismas variables mencionadas anteriormente para la ^{18}F -FDG a fin de hacer ambos estudios comparables. Dado que la captación de ^{11}C -Metionina en MO es fisiológicamente superior a la observada con ^{18}F -FDG, se realizaron ratios tumor/fondo (TBR) con respecto a la captación hepática con el fin de establecer una escala o punto de corte para identificar la captación medular patológica. Se decidió emplear la captación hepática como referencia dado que esta es estable para cada paciente a lo largo del tiempo y ha sido tradicionalmente considerado como órgano de referencia en otras escalas cualitativas como la escala Deauville para la ^{18}F -FDG PET/TC.

Se evaluó la captación de MO en MM con una cohorte de 19 pacientes con hiperparatiroidismo primario con el fin de explorar el patrón de captación normal en MO. Para ello, se incluyeron pacientes sin criterios de discrasia plasmática remitidos para localización de adenoma con estudio PET/TC con ^{11}C -Metionina y se comparó la captación de ^{11}C -MET en MO en estos pacientes con la observada en pacientes con MMQ, MM en estadificación basal y MM en recaída.

1.2.4.3 Análisis semicuantitativo

Por otra parte, se llevó a cabo un análisis semicuantitativo, realizando un VOI para cada lesión y calculando posteriormente el valor estándar de captación máximo (SUV_{max}) y pico (SUV_{peak}). En la médula ósea se realizaron VOIs en columna lumbar, pala iliaca derecha en su porción más posterior y en la localización de mayor actividad. Por consenso se decidió escoger la segunda vértebra lumbar siempre y cuando ésta no presentara lesiones focales o procesos inflamatorios/infecciosos activos. Además de las regiones anteriormente citadas, se realizaron VOIs en áreas de distribución fisiológica del trazador en mediastino (lumen de la aorta descendente torácica evitando áreas de calcificación en la pared vascular) e hígado (lóbulo hepático derecho) a fin de establecer el grado de captación siguiendo los criterios del grupo italiano.

En el PET con ^{11}C -MET, dado que la captación de médula ósea resulta de forma fisiológica superior a la observada en la ^{18}F -FDG, se realizaron ratios tumor/fondo de la captación de médula ósea con respecto a la captación hepática a fin de establecer un punto de corte a partir del cual la captación de médula ósea fuera considerada patológica por infiltración tumoral.

Además, si bien no figuraba en el Proyecto original, se realizó un análisis tridimensional de volúmenes de interés (VOI) en el esqueleto axial y apendicular mediante el *software* “PET/CT Viewer Beth Israel for FIJI”, de acceso gratuito. Dicho *software* permite la lectura y post-procesado de las imágenes PET, delineando automáticamente los volúmenes tumorales y detectando los voxels definidos por un determinado punto de corte (fijo o relativo respecto al SUV_{máximo}).

Tal y como se indica en el apartado técnico del *software*, su funcionamiento se basa en los siguientes pasos:

1. Definir un área límite mediante segmentación automática
2. Revisión de las ROIs automáticamente definidas por el *software*, eliminando aquellas captaciones debidas a la distribución fisiológica del trazador (cerebro, vejiga, riñón en PET ¹⁸F-FDG, hígado, pancreas, intestino en PET ¹¹C-MET)
3. Activación de métodos de segmentación
4. Adición manual de ROIs en lesiones no definidas por la segmentación automática (por lo general, tumores de baja captación o pequeño tamaño)

En el paso 3, consistente en el uso de métodos de segmentación para obtener los parámetros de carga tumoral metabólica, los parámetros resultantes obtenidos fueron el MTV y TLG, este último derivado del MTV mediante la fórmula $TLG = \sum (SUV_{mean} \times MTV)$. Además del punto de corte tradicionalmente empleado en los estudios PET y recomendado por la European Association of Nuclear Medicine (129) del isocontorno del 41% del SUV_{max} para cada lesión, otros puntos de corte basados en umbrales absolutos SUV_{max} (SUV_{max}= 2, SUV_{max}= 4) o relativos expresados como porcentaje del SUV_{max} (SUV > 30% SUV_{max}, SUV > 60% SUV_{max}) se emplearon para segmentar las imágenes. Para la ¹⁸F-FDG PET/TC, se optó por emplear los puntos de corte para el TMTV y TLG descritos en la literatura (72). En el caso de la ¹¹C-MET, dado que se carece de puntos de corte establecidos, se decidió calcular la mediana asumiendo una distribución homogénea de los datos al analizar su valor pronóstico tomando esta como punto de corte.

1.3 Análisis estadístico

En el **modelo preclínico**, los datos cuantitativos se expresaron con la media ± desviación estándar (DE) o con la mediana y rango intercuartil (RIC) en el caso de

variables que no seguían una distribución normal. El estudio de la normalidad se realizó mediante la inspección gráfica del histograma y se verificó con la prueba de Shapiro-Wilk o Kolmogórov-Smirnov.

Para comparar las variables entre las diferentes modalidades de imagen se utilizó el test X^2 de Pearson (asociación de variables cualitativas) o el test exacto de Fisher (cuando la muestra era pequeña) así como el test de McNemar (para datos emparejados). El test empleado para comprobar la igualdad de varias muestras relacionadas en más de dos poblaciones fue el Test de la Q de Cochran. Para variables cuantitativas se aplicó el test de T-Student (dos variables independientes con distribución paramétrica), U-Mann-Whitney (distribución no paramétrica), Kruskal-Wallis (tres o más variables cuantitativas no paramétricas) y test de Wilcoxon (variables cuantitativas emparejadas). El test estadístico empleado cuando se deseaba comparar las medias de dos o más grupos fue el ANOVA de una vía si se trataba de un solo factor o el ANOVA de dos vías para estudiar la relación entre una variable dependiente cuantitativa y dos variables independientes cualitativas (factores). El método de comparación post-hoc empleado para analizar las diferencias entre grupos fue el de Bonferroni.

En el **modelo clínico**, los datos cuantitativos se expresaron con la media \pm desviación estándar (DE) o con la mediana y rango intercuartil (RIC) en el caso de variables que no seguían una distribución normal. El estudio de la normalidad se realizó mediante la inspección gráfica del histograma y se verificó con la prueba de Shapiro-Wilk o Kolmogórov-Smirnov.

La relación de las variables en estudio se analizó según la naturaleza de dichos valores: las variables cuantitativas se compararon entre grupos mediante las pruebas t-Student o U de Mann-Whitney (dependiendo de si los datos seguían una distribución normal o no), y las variables categóricas mediante tablas de contingencia (X^2 de Pearson o test exacto de Fisher, dependiendo de la magnitud de las frecuencias esperadas).

Tras llevar a cabo el análisis visual para ambos radiofármacos, se realizaron estudios comparativos de ambos radiotrazadores a fin de establecer el rendimiento diagnóstico de lesiones mielomatosas, llevando a cabo un análisis de lesiones focales y extramedulares, así como su localización. Se realizó la determinación del coeficiente de concordancia kappa entre las dos pruebas, excluyéndose aquellas lesiones sometidas a tratamiento con radioterapia externa y las localizadas en

zonas de intervención quirúrgica realizada en las 6 semanas previas. El índice Kappa (κ) se clasificó en pobre (≤ 0.20), débil (0.21-0,40), moderado (0.41-0,60), bueno (0.61- 0,80) y muy bueno (0.81-1.00).

Tras obtener los citados parámetros semicuantitativos, se analizó la correlación de los resultados obtenidos con cada radiofármaco con los parámetros clínicos y biológicos de la enfermedad tales como el componente monoclonal (tipo y cuantía); FLC; infiltración plasmática en médula ósea.

En aquellos pacientes en los que se disponía de PET/TC para valorar respuesta al tratamiento, se realizó un análisis entre la profundidad de la respuesta alcanzada y la reducción de la actividad metabólica en el PET. De esta manera se estableció qué radiofármaco presentaba una mayor concordancia con la respuesta alcanzada, estableciendo la proporción de pacientes en los que la ^{11}C -MET suponía cambios en el estadio de la enfermedad.

El valor pronóstico de los distintos biomarcadores se valorará mediante regresión de Cox univariante. Se seleccionaron variables con importante significación pronóstica clínica conocida que fueron incluidas en el modelo multivariante.

Todos los análisis estadísticos se realizaron con IBM SPSS statistics versión 20 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) y con STATA versión 14.0 (Stata Corp, College Station, Texas, USA). En todos los casos, se consideró significativa una $p < 0,05$.

IV. RESULTADOS

1 CAPTACIÓN DE ^{18}F -FDG Y ^{11}C -MET EN LÍNEAS CELULARES

El primer objetivo del modelo preclínico fue comparar la captación de los trazadores ^{18}F -FDG y ^{11}C -Metionina explorando distintas líneas celulares con el fin de seleccionar aquella que presentara un comportamiento *in vitro* análogo al observado *in vivo* en pacientes, es decir, superior detección con ^{11}C -Metionina que con ^{18}F -FDG.

1.1 Análisis comparativo de la captación

Se llevó a cabo un análisis de cuatro líneas celulares (MM1S, RPMI8226, KMS11, H929), apreciándose diferencias significativas en la captación de ^{18}F -FDG ($p=0.000$) y ^{11}C -Metionina ($p=0.002$) entre ellas. En el análisis por grupos, se observó que únicamente en la línea RPMI la captación de ^{11}C -Metionina (mediana, 1.36, 1.17-2.33) era superior a la de ^{18}F -FDG (mediana, 1.01, RIC 0.65-1.61) ($p<0.001$). Ver tabla 12, figura 9.

Tabla 12. Análisis comparativo resultados *in vitro*. Los datos indican el % de incorporación de cada radiofármaco.

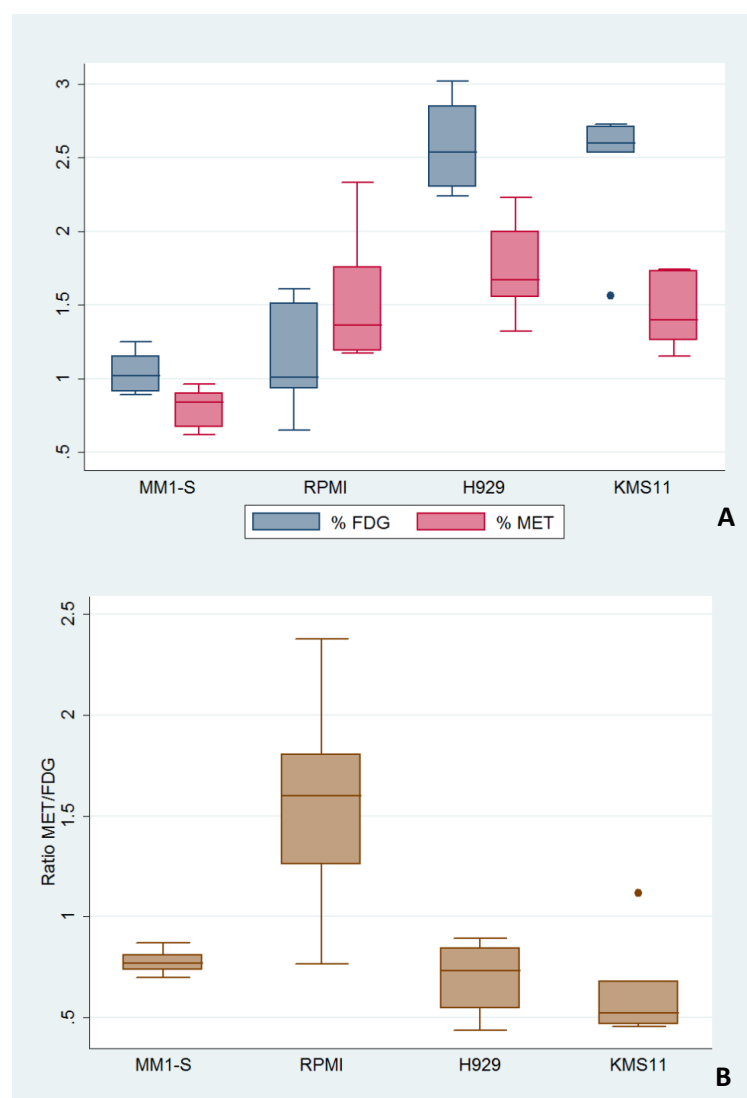
Línea celular	Captación ^{11}C -MET mediana (RIC)	Captación ^{18}F -FDG mediana (RIC)	Valor p
RPMI8226	1.36 (1.17-2.33)	1.01 (0.65-1.61)	$p<0.001$
MM1S	0,84 (0.62-0.96)	1.02 (0.89-1.25)	$p<0.001$
H929	1.67 (1.32-2.23)	2.54 (2.24-3.02)	$p<0.001$
KMS11	1.40 (1.15-1.74)	2.60 (1.56-2.73)	$p<0.001$

Se realizó el cálculo de una ratio ^{11}C -MET/ ^{18}F -FDG para cada línea celular, de manera que valores superiores a 1 indican una mayor incorporación de ^{11}C -MET que de ^{18}F -FDG (tabla 13).

Tabla 13. Comparativa ratios de captación ^{11}C -Metionina/ ^{18}F -FDG entre líneas celulares.

Línea celular	Ratio ^{11}C -MET/ ^{18}F -FDG mediana (RIC)	Valor p
RPMI8226	1.6 (0.76-2.38)	$p < 0.001$
MM1S	0.77 (0.70-0.87)	$p = \text{ns.}$
H929	0.73 (0.44-0.89)	$p = \text{ns.}$
KMS11	0.52 (0.45-1.12)	$p = \text{ns.}$

Figura 9. (A) Comparación % retención en las líneas celulares para la ^{18}F -FDG, ^{11}C -MET (B) Comparativa ratio ^{11}C -MET/ ^{18}F -FDG líneas celulares.



2 ¹¹C-MET, ¹⁸F-FDG Y ¹¹C-COL EN EL ESTUDIO DE EXTENSIÓN TUMORAL EN UN MODELO MURINO

Comparar en los modelos murinos de MM de tumores subcutáneos generados con las líneas MM1S y RPMI8226 la sensibilidad y especificidad de los tres radiofármacos: ¹⁸F-FDG, ¹¹C-MET y ¹¹C-COL.

2.1 Tiempo de crecimiento tumores subcutáneos

Se encontraron diferencias en el tiempo de crecimiento de los tumores subcutáneos en el modelo murino. Para la línea MM1S, el tiempo necesario hasta la visualización de los tumores resultó inferior (4.78 ± 1.28 semanas) que el observado en la línea RPMI8226 (9.20 ± 2.21 semanas), siendo las diferencias estadísticamente significativas, ($p < 0.001$).

2.2 Análisis visual

En el análisis visual de la captación de los tumores MM1S, se observaron diferencias estadísticamente significativas en la intensidad de captación con los tres radiofármacos ($p = 0.018$). Con la ¹¹C-Metionina, la captación fue intensa en 8 tumores y muy intensa en 3. En el caso de la ¹⁸F-FDG, la captación fue intensa en 2 tumores y muy intensa en 9. Sin embargo, con la ¹¹C-Colina, la captación fue débil en un tumor e intensa en 6 y 4 tumores no mostraron captación del trazador. Por tanto, en la línea celular MM1S, tanto la ¹⁸F-FDG como la ¹¹C-Metionina resultaron capaces de detectar todos los tumores, mientras que la sensibilidad de la ¹¹C-Colina resultó inferior (64%).

En los tumores RPMI8226, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en la valoración visual de los tumores con cada trazador ($p = 0.13$). Con la ¹¹C-Metionina, la captación fue débil en un caso, intensa en 13 y muy intensa en otro. Con la ¹¹C-Colina no se objetivó captación en 2 casos, fue débil en 8 e intensa en 5. En el caso de la ¹⁸F-FDG la captación fue intensa en 2 casos y muy intensa en 13. La sensibilidad de la ¹⁸F-FDG y la ¹¹C-Metionina en esta línea fue de un 100%, mientras que la de la ¹¹C-Colina resultó de un 87%.

La ¹⁸F-FDG permitió detectar todos los tumores en ambas líneas celulares, mostrando mayor intensidad de captación. Figura 10.

Figura 10. Imagen MicroPET del modelo subcutáneo MM1S y RPMI8226. La captación del tumor subcutáneo (flecha) con ^{18}F -FDG fue muy intensa, intensa con ^{11}C -MET y débil con ^{11}C -COL.

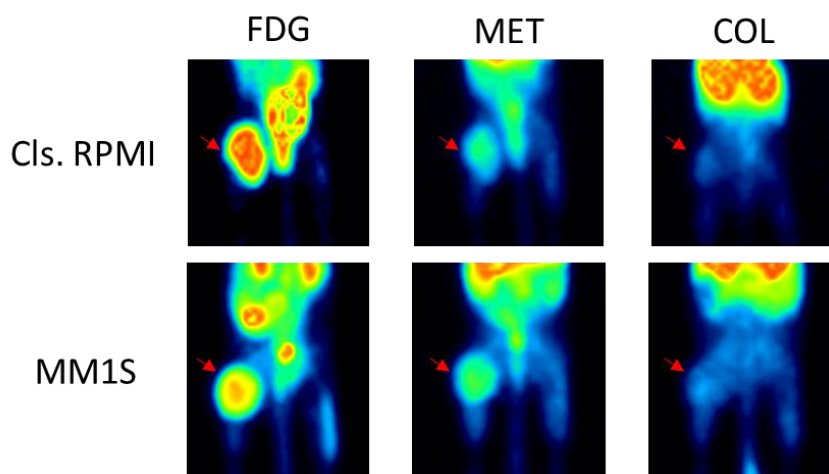


Tabla 14. Resultados análisis visual de cada trazador para los tumores MM1S y RPMI8226.

	Captación	^{11}C -MET	^{18}F -FDG	^{11}C -COL
MM1S	Ausente	--	--	4
	Débil	--	--	1
	Intensa	8	2	6
	Muy intensa	3	9	--
RPMI8226	Ausente	--	--	2
	Débil	1	--	8
	Intensa	13	2	5
	Muy intensa	1	13	--

2.3 Análisis cuantitativo

El resultado del análisis cuantitativo de la captación de los tumores queda reflejado en la Figura 11. En la línea MM1S, los parámetros SUV_{max} , MTV y TLG/TLMU/TLCU presentaron diferencias estadísticamente significativas entre trazadores ($p= 0.004$, $p= 0.004$ y $p= 0.002$). Los tres parámetros fueron superiores

con ^{18}F -FDG y ^{11}C -Metionina que con ^{11}C -Colina, siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p= 0.016$). Si bien estos biomarcadores fueron más altos con ^{18}F -FDG que con ^{11}C -Metionina, a excepción del MTV, estas diferencias no resultaron estadísticamente significativas.

En la línea RPMI8226, los parámetros SUV_{max} , MTV y TLG/TLMU/TLCU presentaron asimismo diferencias entre trazadores ($p<0.001$). Los valores con ^{18}F -FDG y ^{11}C -Metionina resultaron superiores que con ^{11}C -Colina, resultando las diferencias estadísticamente superiores a las halladas en la línea celular MM1S ($p<0.01$). A diferencia de ésta, el SUV_{max} y TLMU de la ^{11}C -Metionina fueron muy inferiores a los de la ^{18}F -FDG ($p<0.001$), no evidenciándose diferencias en el MTV ($p= 0.27$).

La captación de ^{18}F -FDG fue mayor que la de ^{11}C -Metionina en ambos tipos de tumores (Tabla 15):

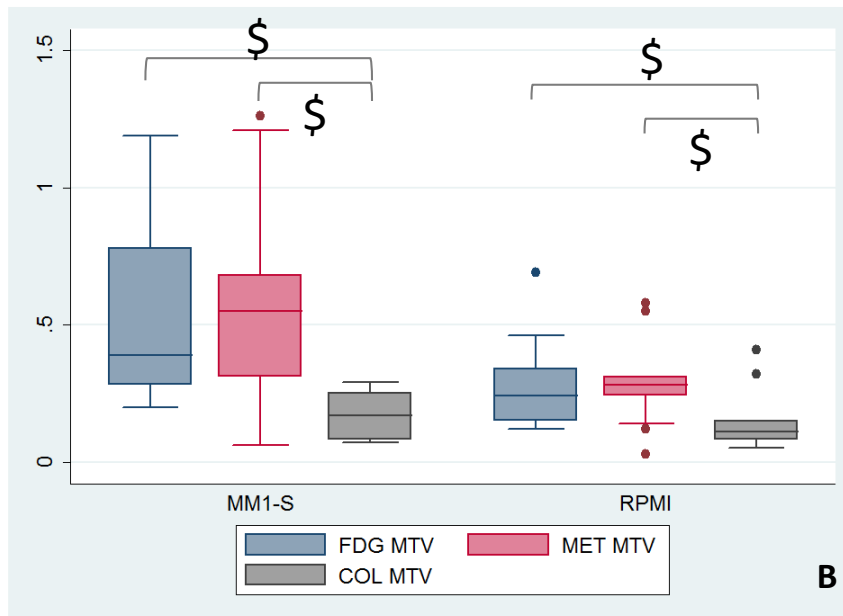
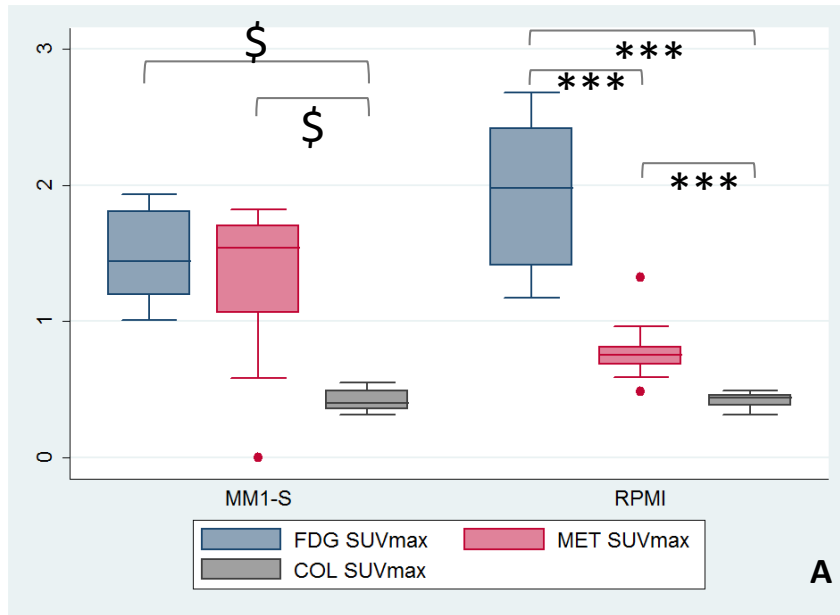
Tabla 15. Resultados análisis cuantitativo de la captación de ^{11}C -Metionina y ^{18}F -FDG en los tumores MM1S y RPMI8226 (media \pm DE).

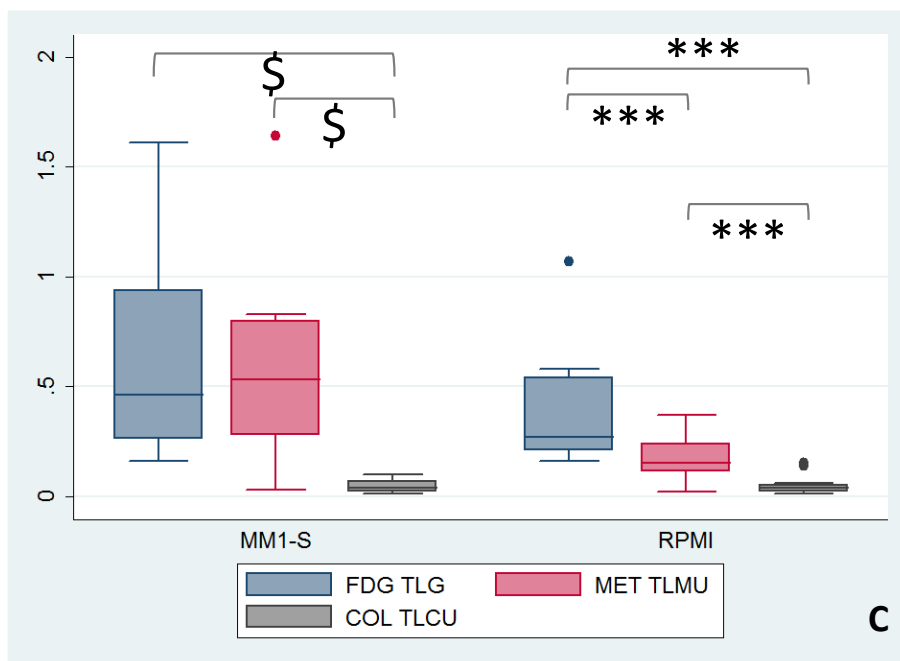
Tumores	SUV_{max} ^{18}F -FDG	MTV ^{18}F -FDG	TLG ^{18}F -FDG
MM1S	(1,51 \pm 0,33)	(0.55 \pm 0.32)	(0,62 \pm 0,45)
RPMI8226	(1,9 \pm 0,52)	(0,27 \pm 0,15)	(0.38 \pm 0.24)
Tumores	SUV_{max} ^{11}C -MET	MTV ^{11}C -MET	TLMU ^{11}C -MET
MM1S	(1,28 \pm 0,57)	(0.59 \pm 0.39)	(0.57 \pm 0,46)
RPMI8226	(0,77 \pm 0,19)	(0,28 \pm 0,14)	(0,17 \pm 0,09)

Estas diferencias fueron más acusadas para los tumores RPMI, donde la incorporación de ^{18}F -FDG resultó superior a la de ^{11}C -Metionina, siendo estas diferencias estadísticamente significativas (SUV_{max} $p<0.001$). Sin embargo, si bien los tumores RPMI fueron más activos metabólicamente que los tumores MM1S, con esta línea se desarrollaron tumores con menor tamaño. Por otra parte, la actividad metabólica de la ^{11}C -Colina en los tumores que mostraron captación fue muy baja

(SUV_{max} MM1S: 0.42 ± 0.08, RPMI: 0,42 ± 0.06), significativamente inferior al resto de radiofármacos (p<0.03). Figura 11.

Figura 11. Comparativa SUV_{max} (A), MTV (B), TLG/TLMU/TLCU (C) líneas celulares. \$ Valor p ≤ 0.01; *** Valor p < 0.001.





2.4 Correlación entre los biomarcadores de imagen y el porcentaje de células tumorales detectado por citometría de flujo

La mediana del porcentaje de infiltración de células tumorales medido mediante citometría de flujo fue superior en los tumores MM1S (mediana 99.34, RIC 90.33-99.86) que en los RPMI8226 (23.30, RIC 15.00-35.60) con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.001$). En la línea MM1S, se observó correlación cercana a la significación estadística entre el porcentaje de células tumorales y los parámetros MTV y TLMU de la ^{11}C -Metionina ($r = 0.586$ y 0.567 , $p = 0.075$ y 0.088), TLCU de la ^{11}C -Colina ($r = 0.708$, $p = 0.075$) y SUV_{max} de la ^{18}F -FDG ($r = 0.578$, $p = 0.062$). Sin embargo, en la línea RPMI8226 no se observó correlación con ningún parámetro.

3 ¹⁸F-FDG Y ¹¹C-METIONINA EN LA VALORACIÓN DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO EN UN MODELO MURINO

El siguiente objetivo fue determinar en el modelo murino con la línea celular MM1S la eficacia del PET con ¹⁸F-FDG y ¹¹C-MET en la valoración de respuesta al tratamiento. Para ello se analizó la actividad metabólica antes y durante el tratamiento con bortezomib y con la triple combinación (bortezomib, lenalidomida, dexametasona) con respecto a un grupo control. Los resultados quedan resumidos en las figuras 12-14 y en las tablas 16-18. La figura 15 muestra una serie de imágenes microPET representativas de estos resultados.

Mediante la medición del tamaño tumoral visible con el calibre (expresado en cm³) se observó que el tratamiento con triple terapia consiguió una mayor inhibición del crecimiento tumoral que el bortezomib, como se puede apreciar en las tablas 16-18. Los tumores subcutáneos del grupo control fueron los que presentaron mayor tamaño tumoral, evidenciándose diferencias significativas con el grupo de tratamiento con bortezomib y con triple terapia tanto en la semana 1 ($p=0.01$), como en la semana 2 ($p<0.01$) y en la semana 3 ($p<0.05$), no así en el momento basal ($p>0.05$).

En términos generales, las variables derivadas del PET con ¹⁸F-FDG presentaron valores superiores a los del PET con ¹¹C-Metionina, tal y como se ha descrito en apartados anteriores para este tipo de tumores con la línea celular MM1S.

En cuanto a los parámetros PET obtenidos con ¹¹C-Metionina y con ¹⁸F-FDG, todos ellos (SUV_{max} , MTV, TLG/TLMU) presentaron valores inferiores en el grupo tratado con triple terapia, siendo las diferencias en los valores de MTV y TLG/TLMU mayores (tablas 16-18). Como se puede apreciar en las figuras 12-14, algunas de estas diferencias fueron estadísticamente significativas, con valores inferiores de SUV_{max} , MTV, TLG/TLMU en el grupo tratado con triple terapia con respecto al grupo tratado con bortezomib o al grupo control, tanto en el estudio de ¹¹C-Metionina como en el de ¹⁸F-FDG.

Sin embargo, entre los grupos tratados con bortezomib y triple terapia únicamente se observaron diferencias significativas en los valores de SUV_{max} del PET con ¹¹C-Metionina en la segunda semana.

En todos los ratones del grupo tratado con triple terapia se observó respuesta metabólica parcial con descenso de la captación tanto en ¹¹C-MET como en ¹⁸F-FDG en la segunda semana, a diferencia de lo que se observó en los grupos tratados con bortezomib y en el grupo control.

Posteriormente, se observó menor actividad metabólica en el grupo tratado con triple terapia que en el grupo tratado con bortezomib y en el grupo control, reflejada en los valores de SUV_{max} en el PET con ^{11}C -MET y ^{18}F -FDG, con valores prácticamente estables o incluso, inferiores durante el tratamiento.

En el grupo de triple terapia, los valores de MTV y TLG aumentaron con el tiempo, como se aprecia en las tablas 16-18, a diferencia de los valores de SUV_{max} que se mantenían estables o disminuían. En el caso del grupo tratado con bortezomib, contrariamente a lo observado en el grupo tratado con triple terapia, la captación de ^{11}C -MET y ^{18}F -FDG se incrementó a pesar del tratamiento (tabla 17). Sorprendentemente, en el grupo control se observó descenso en la captación a partir de la segunda semana (tabla 18), posiblemente debido a necrosis tumoral que se encontraba presente en todos los tumores subcutáneos de los ratones del grupo control, solamente en 3 ratones tratados con bortezomib y únicamente en un ratón tratado con triple terapia.

Tabla 16. Valores SUV_{max} , MTV, TLG del grupo de triple terapia (mediana, RIC).

Tiempo	Radiofármaco	SUV_{max}	MTV	TLG/TLMU	Tamaño tumor (cm ³)
Basal	^{18}F -FDG	1.7, 1.37-1.99	0.25, 0.14-0.37	0.26, 0.16-0.48	0.22, 0.10-0.36
	^{11}C -MET	1.38, 0.93-1.90	0.22, 0.09-0.39	0.26, 0.06-0.38	
1 sem	^{18}F -FDG	1.8, 1.60-2.18	0.41, 0.11-0.68	0.51, 0.16-0.95	0.16, 0.08-0.26
	^{11}C -MET	1.36, 1.01-1.80	0.40, 0.10-0.64	0.40, 0.07-0.81	
2 sem	^{18}F -FDG	1.4, 1.33-1.68	0.50, 0.23-1.41	0.50, 0.21-1.72	0.11, 0.01-0.17
	^{11}C -MET	0.84, 0.69-1.01	0.52, 0.18-1.09	0.30, 0.09-0.72	
3 sem	^{18}F -FDG	1.6, 0.63-1.68	0.65, 0.11-1.64	0.74, 0.05-1.89	0.15, 0.13-0.16
	^{11}C -MET	0.79, 0.44-1.27	1.01, 0.40-1.40	0.54, 0.12-1.17	

Tabla 17. Valores SUV_{max} , MTV, TLG del grupo bortezomib (mediana, RIC).

Tiempo	Radiofármaco	SUV_{max}	MTV	TLG/TLMU	Tamaño tumor (cm ³)
Basal	¹⁸ F-FDG	1.54, 1.19-1.80	0.30, 0.19-0.38	0.30, 0.21-0.47	0.21, 0.15-0.34
	¹¹ C-MET	1.12, 0.94-1.40	0.28, 0.15-0.38	0.23, 0.14-0.31	
1 sem	¹⁸ F-FDG	1.87, 1.60-2.12	0.54, 0.34-0.84	0.73, 0.41-1.11	0.39, 0.25-0.87
	¹¹ C-MET	1.24, 0.98-1.51	0.46, 0.29-0.64	0.38, 0.20-0.59	
2 sem	¹⁸ F-FDG	1.94, 1.44-2.08	1.13, 0.67-1.60	1.69, 0.66-2.30	0.33, 0.06-0.49
	¹¹ C-MET	1.35, 1.08-1.85	1.02, 0.70-1.04	0.89, 0.56-1.30	
3 sem	¹⁸ F-FDG	2.01, 1.93-2.34	1.40, 1.18-1.90	1.94, 1.53-2.90	0.61, 0.30-1.35
	¹¹ C-MET	1.70, 1.39-1.87	0.89, 0.64-1.22	0.99, 0.77-1.35	

Tabla 18. Valores SUV_{max} , MTV, TLG/TLMU del grupo control (mediana, RIC).

Tiempo	Radiofármaco	SUV_{max}	MTV	TLG/TLMU	Tamaño tumor (cm ³)
Basal	¹⁸ F-FDG	1.62, 1.28-1.86	0.31, 0.18-0.49	0.38, 0.18-0.54	0.22, 0.12-0.26
	¹¹ C-MET	1.52, 0.97-2.20	0.27, 0.14-0.36	0.24, 0.15-0.53	
1 sem	¹⁸ F-FDG	2.3, 1.60-2.74	0.75, 0.42-0.84	1.13, 0.64-1.47	0.48, 0.20-0.95
	¹¹ C-MET	1.33, 1.23-1.53	0.66, 0.35-0.80	0.63, 0.36-0.74	
2 sem	¹⁸ F-FDG	2.34, 1.92-2.86	1.5, 0.82-1.82	2.31, 1.63-2.84	0.76, 0.56-1.00
	¹¹ C-MET	1.50, 1.04-1.93	1.21, 0.73-1.57	1.03, 0.76-1.55	
3 sem	¹⁸ F-FDG	2, 1.67-2.29	2.18, 2.10-2.61	2.95, 2.43-3.81	0.76, 0.56-1.00
	¹¹ C-MET	1.69, 1.48-1.80	1.27, 0.93-1.72	1.38, 1.07-1.93	

Figura 12. Evolución del SUV_{max} entre puntos temporales (línea continua) y entre grupos terapéuticos (línea discontinua).

* Valor $p \leq 0.05$; # Valor $p < 0.05$; \$ Valor $p \leq 0.01$.

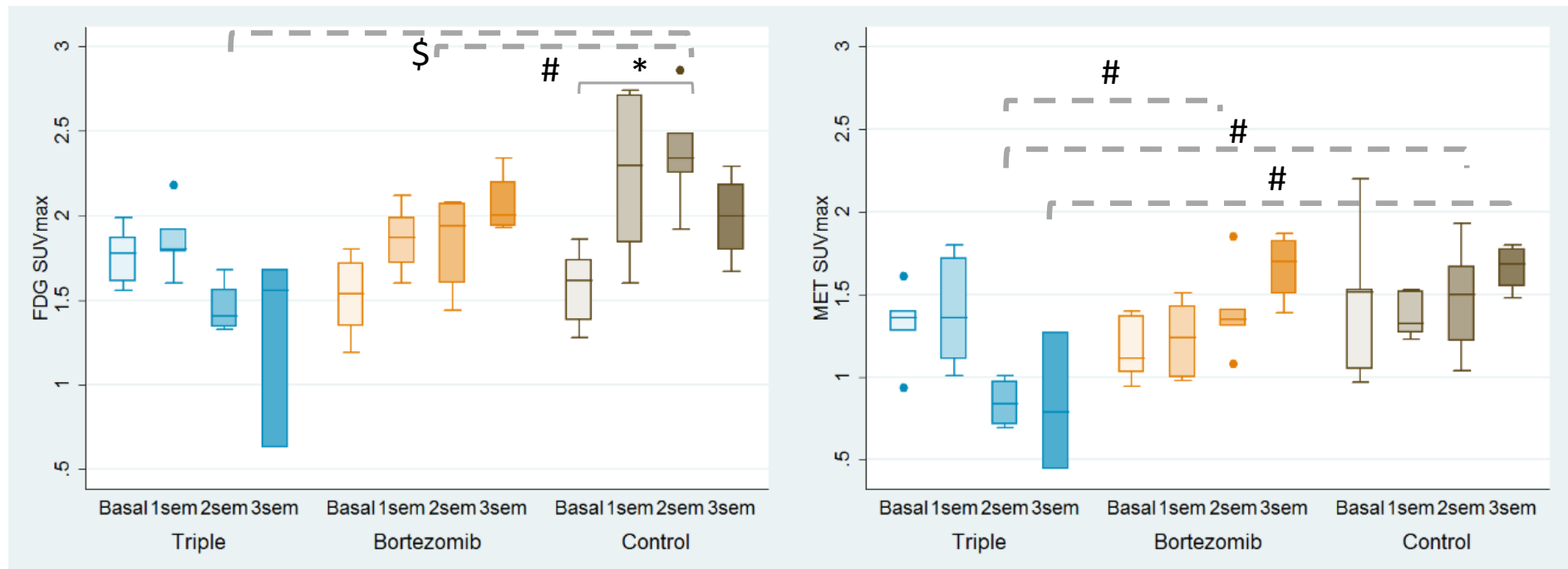


Figura 13. Evolución del MTV durante el tratamiento (línea continua) y entre grupos terapéuticos (línea discontinua).

* Valor $p \leq 0.05$; ** Valor $p = 0.06$; # Valor $p < 0.05$ (línea discontinua).

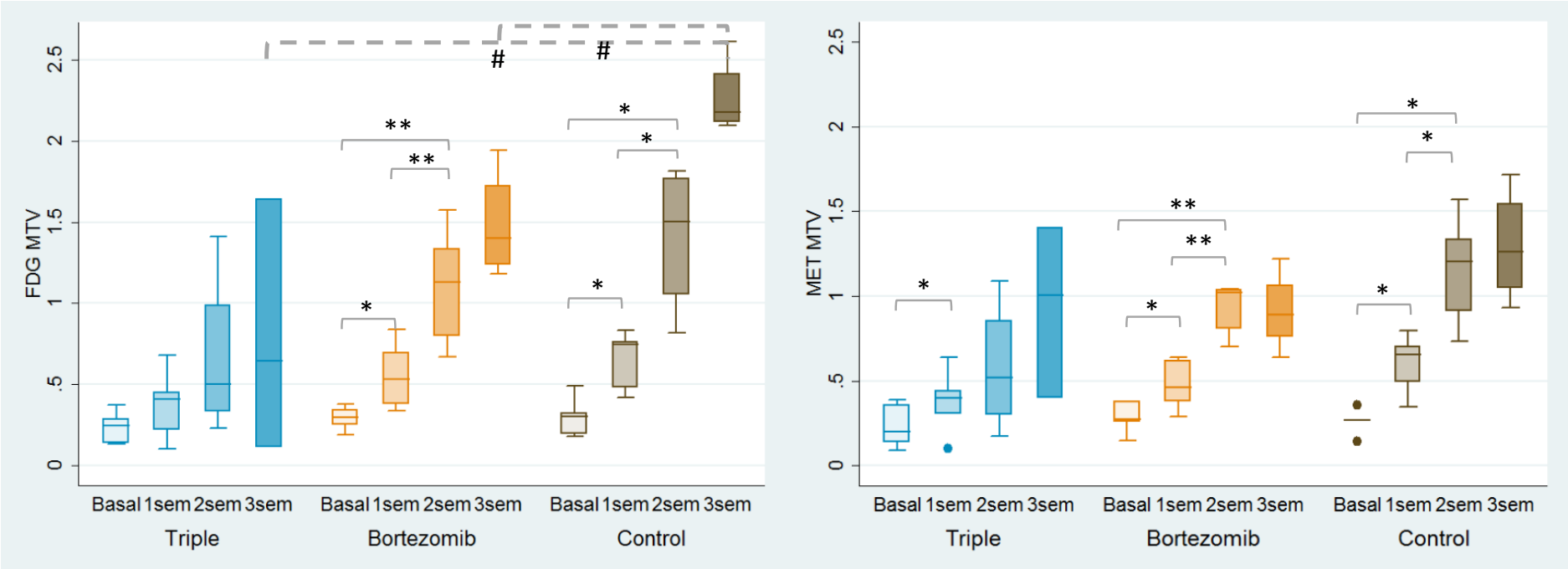


Figura 14. Evolución del TLG/TLMU entre puntos temporales (línea continua) y entre grupos terapéuticos (línea discontinua).

* Valor $p \leq 0.05$; ** Valor $p = 0.06$; # Valor $p < 0.05$ (línea discontinua); § Valor $p \leq 0.01$.

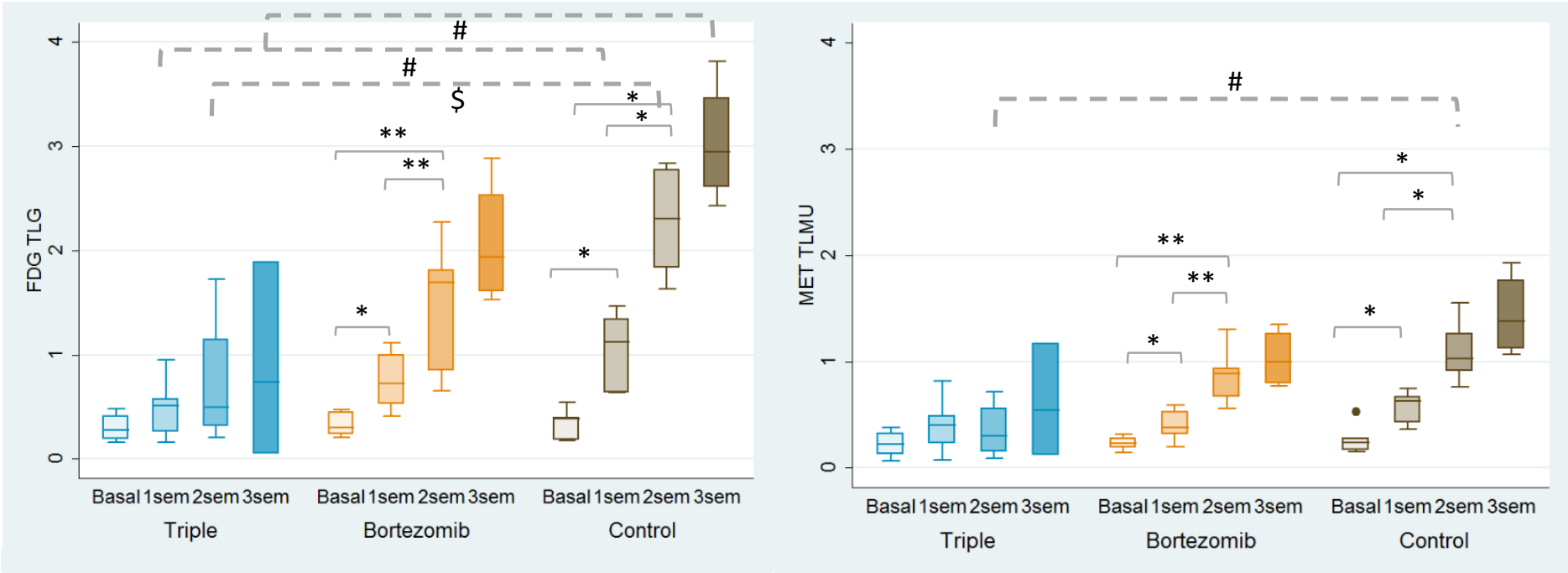
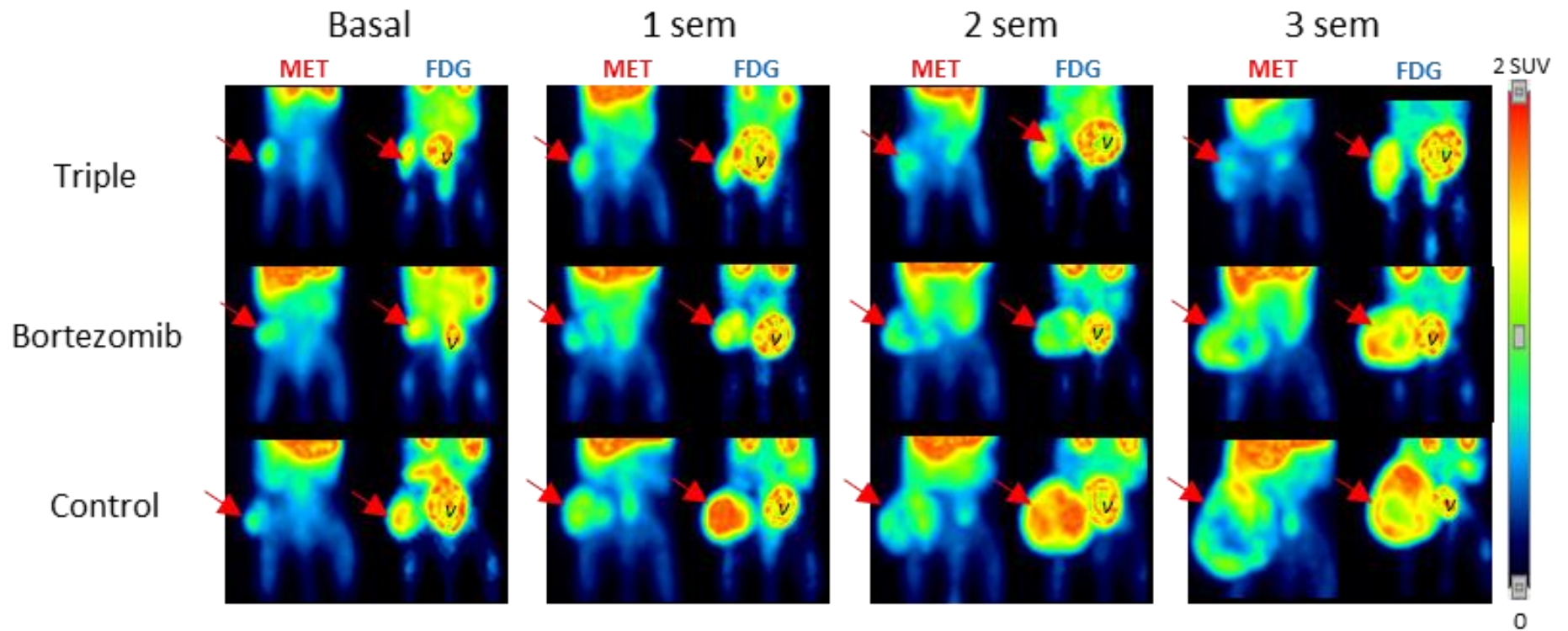


Figura 15. Serie de imágenes MicroPET con ^{11}C -MET y ^{18}F -FDG en el modelo murino con tumor subcutáneo (flecha roja). Cada serie de imágenes corresponde a un mismo animal del grupo tratado con triple terapia (fila superior), con bortezomib (fila media) y del grupo control (fila inferior).



4 ESTUDIO DE EXTENSIÓN TUMORAL CON ¹⁸F-FDG Y ¹¹C-MET EN PACIENTES CON MIELOMA

El primer objetivo del modelo clínico fue el análisis comparativo de la detección de lesiones tumorales con los trazadores ¹⁸F-FDG y ¹¹C-MET en una cohorte de 52 pacientes con MM remitidos para estudio de extensión previo al inicio del tratamiento (incluyendo pacientes con MM quiescente, de nuevo diagnóstico o en recaída). Para este objetivo, se realizó un análisis por paciente y un análisis por lesiones.

4.1 Características basales de la población a estudio

Se incluyeron 52 pacientes consecutivos con MM activo (n=44) o quiescente (n=8) evaluados mediante PET/TC entre 2015 y 2019 en la CUN. La mitad de los pacientes (26/52, 50%) fueron remitidos para estadificación y correspondían a pacientes de nuevo diagnóstico, mientras que los restantes fueron remitidos para reestadificación por sospecha de progresión tumoral/recaída biológica. En 46/52 pacientes (88.5%) se disponía de información de infiltración de MO por células plasmáticas de MM y el grado de infiltración oscilaba entre un 4-75% en los pacientes con MMQ (mediana, 36%), un 8-60% en los pacientes de nuevo diagnóstico (mediana, 32%) y un 1-80% en los pacientes en recaída (mediana, 9.5%). Dieciséis pacientes (31%) tenían citogenética de alto riesgo, definida esta como la presencia de la del17p (tp53) y/o t(4;14) y/o t(14;16). Las características basales de los pacientes se muestran en la Tabla 19.

La mayoría de los pacientes remitidos para reestadificación habían sido tratados con inhibidores del proteasoma (24/26, 92.3%), 20 pacientes (76.9%) habían recibido fármacos inmunomoduladores, 9/26 pacientes (34.6%) recibieron anticuerpos monoclonales y se realizó TASPE en tandem únicamente en 5/26 pacientes (19.2%).

Tabla 19. Características basales de los pacientes

Características	VALOR (N=52)
Edad mediana, años (rango)	61 (37-83)
Sexo (hombre/mujer)	28/24 (54%/46%)
Nuevo diagnóstico/Recaída	26/26 (50%)
Tipo de mieloma, Mieloma Múltiple/Mieloma Quiescente	44/8 (85%/15%)
Subtipo: IgG/IgA/IgD/Bence Jones/oligosecretor, N (%)	29/6/1/15/1 (56%/11%/2%/29%/2%)
Subtipo de cadena ligera, kappa/lambda, N (%)	35/17 (67%/33%)
ISS, N (%)	45/52 (87%)
ISS1	21 (47%)
ISS2	18 (40%)
ISS3	6 (13%)
R-ISS, N (%)	36/52 (69%)
R-ISS 1	10 (28%)
R-ISS 2	23 (64%)
R-ISS 3	3 (8%)
Infiltración MO basal PET (% mediana, rango)	20.50 (1-80)
B2M, mg/L (mediana, rango)	3.16 (1.87-4.04)
LDH > límite superior (mediana, rango)	197 (101-965)
Hgb, g/dl (mediana, rango)	12.4 (7.40-20.40)
Componente M PET basal (mediana, rango)	1.23 (2.08-8.60)
Componente monoclonal total orina PET basal (mediana, rango)	2.05 (0-500)
FLC afectas suero PET basal (mediana, rango)	42.54 (0.14-10500)
Citogenética alto riesgo por FISH, N (%)	16/36 (69/31)
t(4;14), sí/no (N.)	7/49 (14.3%)
t(14;16), sí/no, N (%)	4/49 (8.2%)
del 17p, sí/no, N (%)	9/50 (18%)
Tratamientos previos	
Inhibidores del proteasoma, sí/no, N (%)	24/26 (92.3%)
Fármacos inmunomoduladores, sí/no, N (%)	20/26 (76.9%)
Anticuerpos monoclonales, sí/no, N (%)	9/26 (34.6%)
Doble TASPE, sí/no, N (%)	5/26 (19.2%)

4.2 Análisis por paciente

En 46 pacientes los resultados fueron concordantes con ambos radiofármacos, detectando enfermedad en 44 pacientes (4 pacientes con diagnóstico de MMQ y 40 pacientes con diagnóstico de MM) y ausencia de infiltración tumoral metabólicamente activa en 2 pacientes con MMQ. El índice Kappa de concordancia entre ambos trazadores fue débil ($\kappa = 0.361$, $p < 0.01$). Sin embargo, es importante destacar que 28 de los 44 pacientes con estudio PET positivo en ambos trazadores (63.64%) presentaban un mayor número de lesiones en el estudio de ^{11}C -Metionina PET/TC, mientras que 16 tenían el mismo número de lesiones focales detectadas con ambos trazadores. En los restantes 6 (11%) pacientes los resultados fueron discordantes por detección de enfermedad en ^{11}C -MET PET/TC sin correlato en ^{18}F -FDG PET/TC. Estos pacientes correspondían a:

- Un paciente con MM oligosecretor de nuevo diagnóstico (figura 16),
- Un paciente con MM IgA kappa R-ISS III de nuevo diagnóstico,
- Un paciente con MM IgG kappa R-ISS II en recaída,
- Un paciente con MM Bence Jones kappa R-ISS I de nuevo diagnóstico

- y dos pacientes con MMQ de nuevo diagnóstico (figuras 17 y 18) con criterios de alto riesgo por inmunoparesia severa, porcentaje clonal elevado de células plasmáticas (23 y 45%) o elevado componente M (2.41 y 8.60 g/dL).

Figura 16. *Paciente con MM oligosecretor kappa, estadio III, ISS-2, con hipercaptación difusa en MO en el estudio de ^{11}C -Metionina y lesión focal lítica localizada en la cortical humeral izquierda. En el estudio de ^{18}F -FDG no se identifica la lesión focal y la captación en médula ósea es difusa y de intensidad inferior a la hepática.*

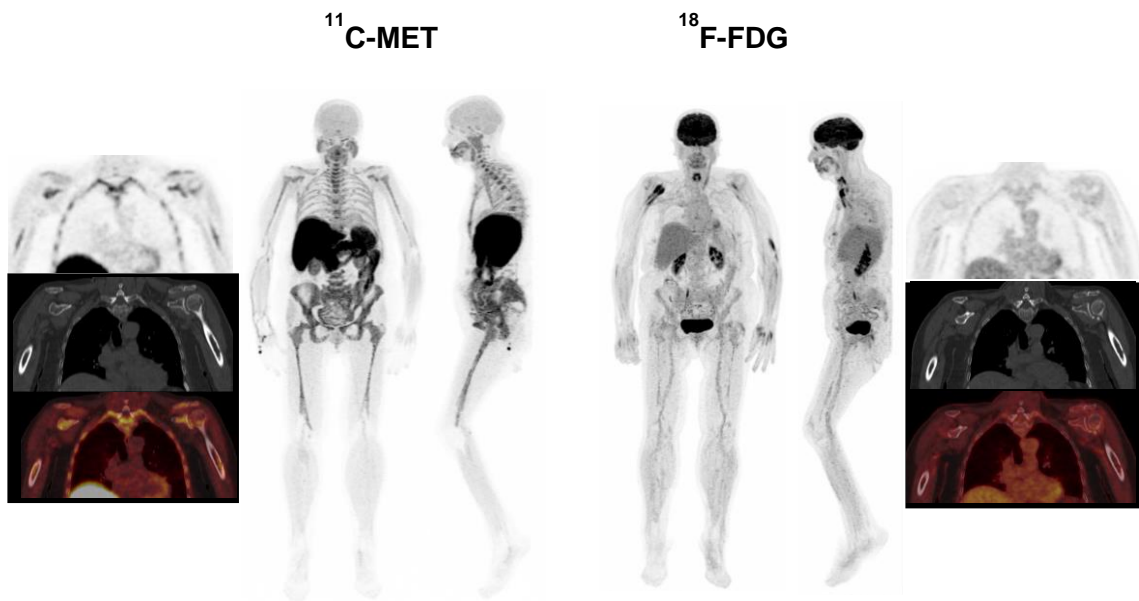


Figura 17. Paciente con MMQ con hipercaptación difusa en MO en el estudio de ^{11}C -Metionina y lesión focal sin componente lítico en la clavícula izquierda (SUVmax= 1.5). En el estudio PET/TC con ^{18}F -FDG la captación de médula ósea es homogénea e inferior a la hepática y no se observa captación focal en la lesión de la clavícula izquierda.

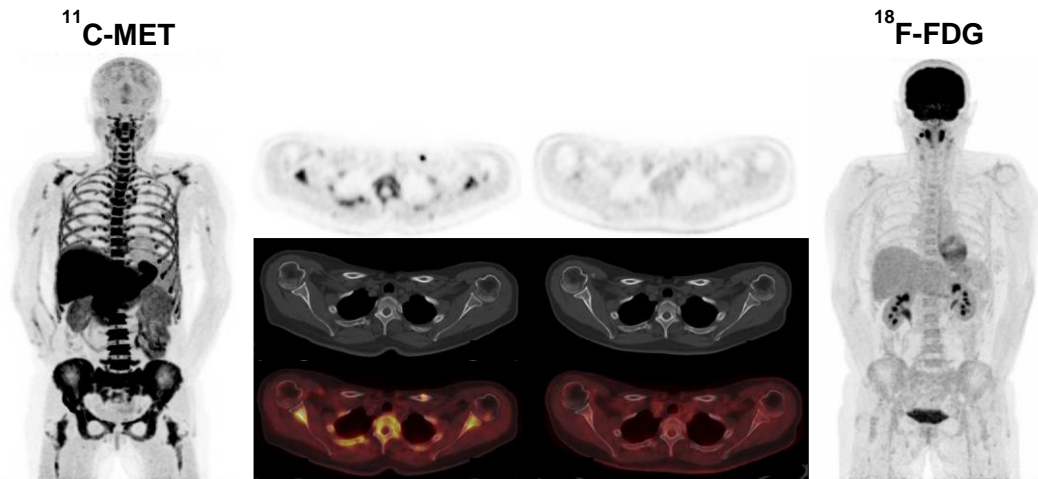
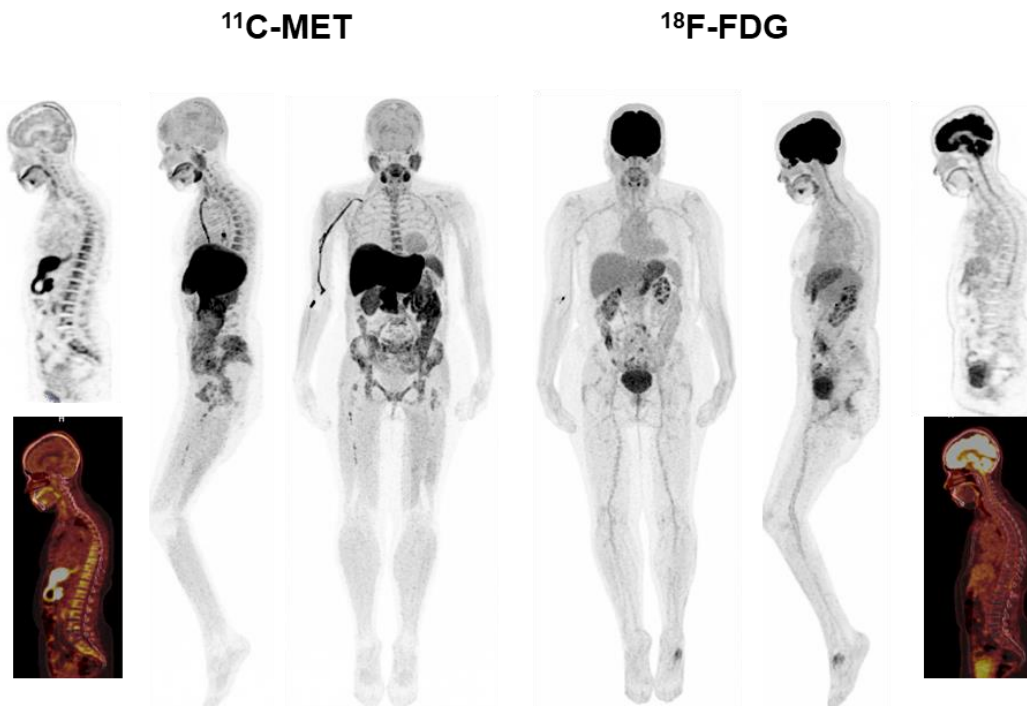
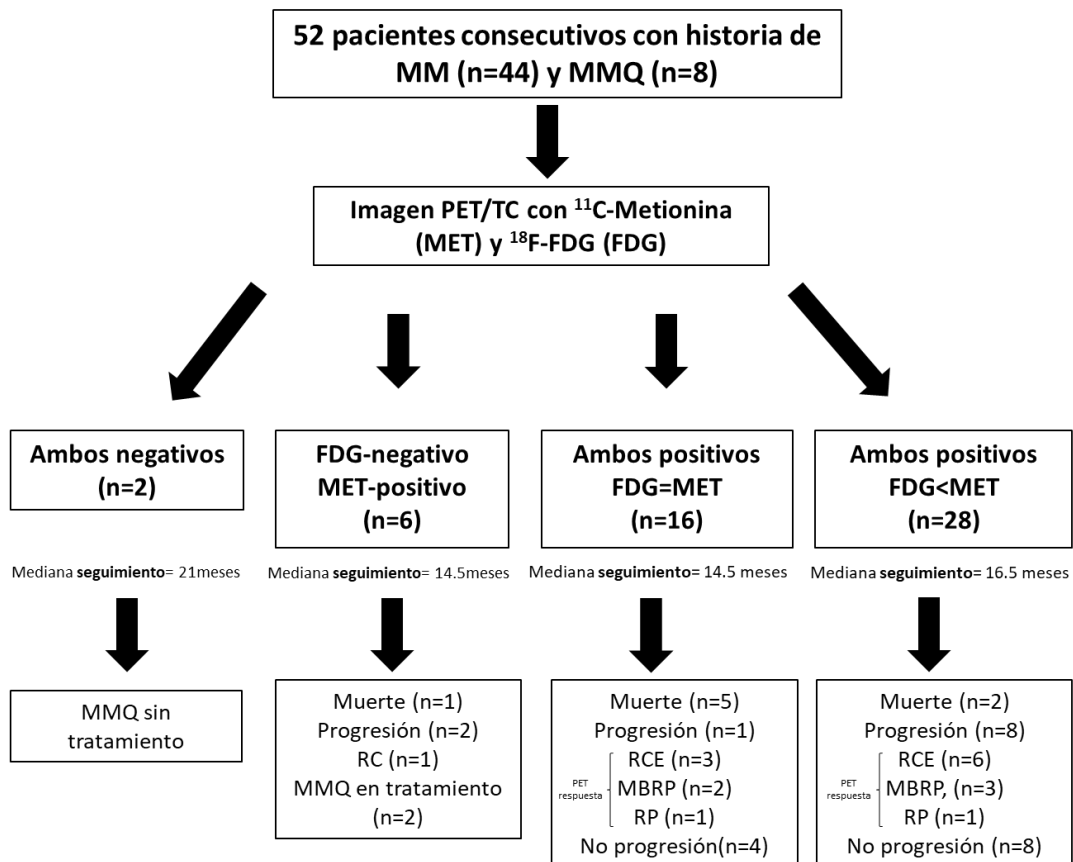


Figura 18. Paciente con MMQ con hipercaptación heterogénea de MO en el estudio de ^{11}C -Metionina en el esqueleto axial y apendicular. En la ^{18}F -FDG no se observan lesiones focales y la captación de médula ósea es homogénea y de menor intensidad que la actividad vascular de mediastino (Deauville 2)



Tras una mediana de seguimiento de 14 meses (RIC= 1-42), el paciente con MM oligosecretor falleció en el plazo de dos meses desde el PET/TC, los pacientes con MM IgA kappa R-ISS III y MM IgG kappa R-ISS II progresaron a los 9 y 42 meses, respectivamente, el paciente con MM Bence Jones kappa R-ISS I alcanzó RC a los 19 meses y los pacientes con MMQ, al ser considerados de alto riesgo, fueron tratados mediante carfilzomib, lenalidomida y dexametasona en inducción, trasplante, consolidación y mantenimiento (ensayo GEM-CESAR) y VRD seguido de trasplante alcanzando RCE mantenida con EMR negativa y RCE, respectivamente. Tras un seguimiento de 40.6 y 8.23 meses, respectivamente, no se observó progresión. En cambio, en los 2 pacientes con MMQ con estudio ¹¹C-MET y ¹⁸F-FDG PET/TC negativo sin perfil citogenético de alto riesgo se optó por realizar seguimiento durante 21 meses sin tratamiento, no experimentando progresión. A continuación, se muestra un diagrama de flujo con la muestra a estudio:

Figura 19. Diagrama de flujo de la población a estudio



4.2.1 Análisis por patrón de captación

En los 44 pacientes con estudio ^{18}F -FDG PET/TC positivo, 2 pacientes (5%) presentaron patrón de infiltración difusa de médula ósea, 17 presentaron únicamente LF (39%), 24 pacientes (55%) mostraron un patrón mixto y 1 paciente (2%) presentó enfermedad extramedular (EM) sin captación difusa o focal asociada.

En los pacientes con estudio ^{11}C -MET PET/TC positivo, 5/50 pacientes (10%) presentaron infiltración difusa como único hallazgo, 4/50 pacientes (8%) presentaron lesiones focales y 41/50 (82%) presentaron un patrón mixto con infiltración difusa de médula ósea y lesiones focales. Por tanto, mediante ^{11}C -MET PET/TC se detectó infiltración difusa de MO en mayor número de pacientes, bien como afectación única o bien como patrón mixto asociada a lesiones focales.

El índice Kappa de concordancia entre ambos trazadores resultó moderado en la detección de lesiones focales ($\kappa = 0.468$, $p < 0.01$) y pobre/débil en el caso de patrón de infiltración difuso y mixto ($\kappa = 0.192$ y 0.227 , $p = 0.009$ y 0.018 , respectivamente).

Tabla 20. Patrón de captación de ^{18}F -FDG y ^{11}C -MET en el estudio de extensión.

	FDG	MET	Índice Kappa	valor p
Estudio PET/TC positivo	44/52 (84.6%)	50/52 (96.2%)	0.361	$p < 0.001$
Análisis por paciente				
lesiones focales	17/44 (39%)	4/50 (8%)	0.468	$p < 0.01$
difusa	2/44 (5%)	5/50 (10%)	0.192	$p = 0.009$
mixto	24/44 (55%)	41/50 (82%)	0.227	$p = 0.018$
enfermedad extramedular	8/44 (18%)	8/50 (16%)	1.000	$p < 0.001$

De acuerdo a la infiltración difusa en el estudio basal de ^{18}F -FDG PET/TC, 2 pacientes fueron categorizados como Deauville 1, 7 pacientes como Deauville 2, 17 pacientes como Deauville 3, 20 pacientes como Deauville 4 y 6 pacientes como Deauville 5. Se consideró un Deauville ≥ 4 como punto de corte para considerar PET positivo.

4.3 Análisis por lesiones

La ^{11}C -MET PET/TC identificó mayor número de lesiones que la ^{18}F -FDG en 33 pacientes (63%, $p = 0.005$). Detectó 1-3 lesiones focales en 10 pacientes, 4-10 lesiones focales en 11 pacientes y más de 10 lesiones focales en 24 pacientes. La ^{18}F -FDG PET/TC detectó 1-3 lesiones focales en 14 pacientes, 4-10 lesiones focales en 9 pacientes y > 10 lesiones focales en 18 pacientes. El índice Kappa de

concordancia entre ambos trazadores para la detección del número de lesiones focales fue moderado y estadísticamente significativo (κ ponderado= 0.637, $p<0.001$) (Tabla 21).

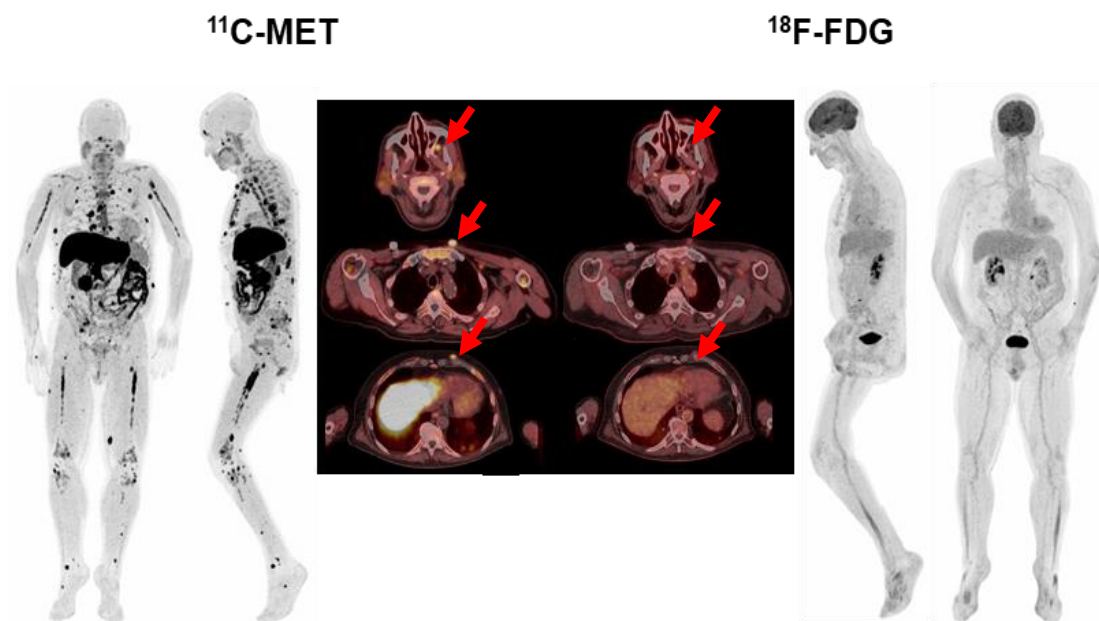
Se detectó enfermedad extramedular en 8 pacientes con ambos trazadores, si bien la ^{11}C -MET PET/TC detectó más lesiones en 2 pacientes, en 7 localizaciones (pulmón, pleura, ganglios, riñones, músculo, tejido celular subcutáneo y grasa periorbitaria) (figura 20).

Tabla 21. Patrón de captación por lesiones ^{18}F -FDG y ^{11}C -MET en el estudio de extensión.

	FDG	MET	Índice kappa	valor p
Estudio PET/TC positivo	44/52 (84.6%)	50/52 (96.2%)	0.361	$p<0.001$
Análisis por lesión				
1-3 LF	14/41 (34%)	10/45 (22%)	0.637	$p<0.001$
4-10 LF	9/41 (22%)	11/45 (24%)		
>10 LF	18/41 (44%)	24/45 (53%)		

LF: Lesiones focales

Figura 20. Paciente de 68 años con MM Bence Jones lambda ISS-2. En el estudio realizado con ^{18}F -FDG únicamente se objetiva captación focal en los nódulos subcutáneos localizados en la region pectoral y en las lesiones pulmonares en lóbulo inferior derecho e izquierdo. En el estudio con MET se objetiva un mayor número de lesiones pulmonares, junto con infiltración tumoral pleural derecha, ganglionar mediastínica y en seno frontal, entre otras localizaciones.



5 VALORACIÓN DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON ¹⁸F-FDG Y ¹¹C-MET EN PACIENTES CON MIELOMA

El segundo objetivo de esta tesis fue la exploración de la correlación de la captación tumoral de ¹⁸F-FDG y ¹¹C-MET con la respuesta al tratamiento. Se llevó a cabo un análisis por paciente y un análisis por lesiones.

5.1 Características basales de la población a estudio

Para este objetivo, se incluyeron 21 pacientes de la muestra remitidos para valoración de respuesta mediante PET/TC con doble trazador (¹⁸F-FDG y ¹¹C-MET). Un paciente tenía MMQ, mientras que 20 pacientes tenían MM, 10 con estudio basal de estadificación y 11 con estudio basal de reestadificación. Tras el tratamiento, el paciente con MMQ y 12 pacientes con MM alcanzaron respuesta completa estricta (RCE), 6 pacientes alcanzaron muy buena respuesta parcial (MBRP) y 2 pacientes respuesta parcial (RP). Figura 21.

5.2 Análisis por pacientes

De los 21 pacientes remitidos para valoración de respuesta, ambos trazadores resultaron concordantes en 17 pacientes (81%), 7 con estudios negativos y 10 con estudios positivos. El índice kappa en la valoración mediante PET/TC con los trazadores ¹⁸F-FDG y ¹¹C-MET fue bueno ($\kappa = 0.625$, $p = 0.001$). Sin embargo, se encontraron discordancias en 4 pacientes (19%) con estudio ¹⁸F-FDG negativo en los que identificaron lesiones metabólicamente activas en ¹¹C-MET PET:

- En un paciente con MBRP (1% de infiltración de células plasmáticas), el estudio PET/TC con FDG evidenció respuesta completa de las lesiones, persistiendo una lesión metabólicamente activa en esternón en el estudio PET/TC con MET.
- En un paciente con RCE y EMR negativa en respuesta metabólica completa en el estudio realizado con FDG, persistían lesiones metabólicamente activas en el estudio de MET PET/TC en clavícula, esternón, hueso iliaco y diáfisis femoral.
- En otro paciente con RCE y EMR positiva (4% de infiltración plasmática), el estudio PET/TC con FDG evidenció respuesta completa de las lesiones, persistiendo captación difusa de MO en esqueleto axial y apendicular en MET.

- En otro paciente con RCE sin determinación de EMR en respuesta metabólica completa en el estudio con FDG, persistía captación difusa de médula ósea en MET, que se normalizó en imagen de control a los 9 meses.

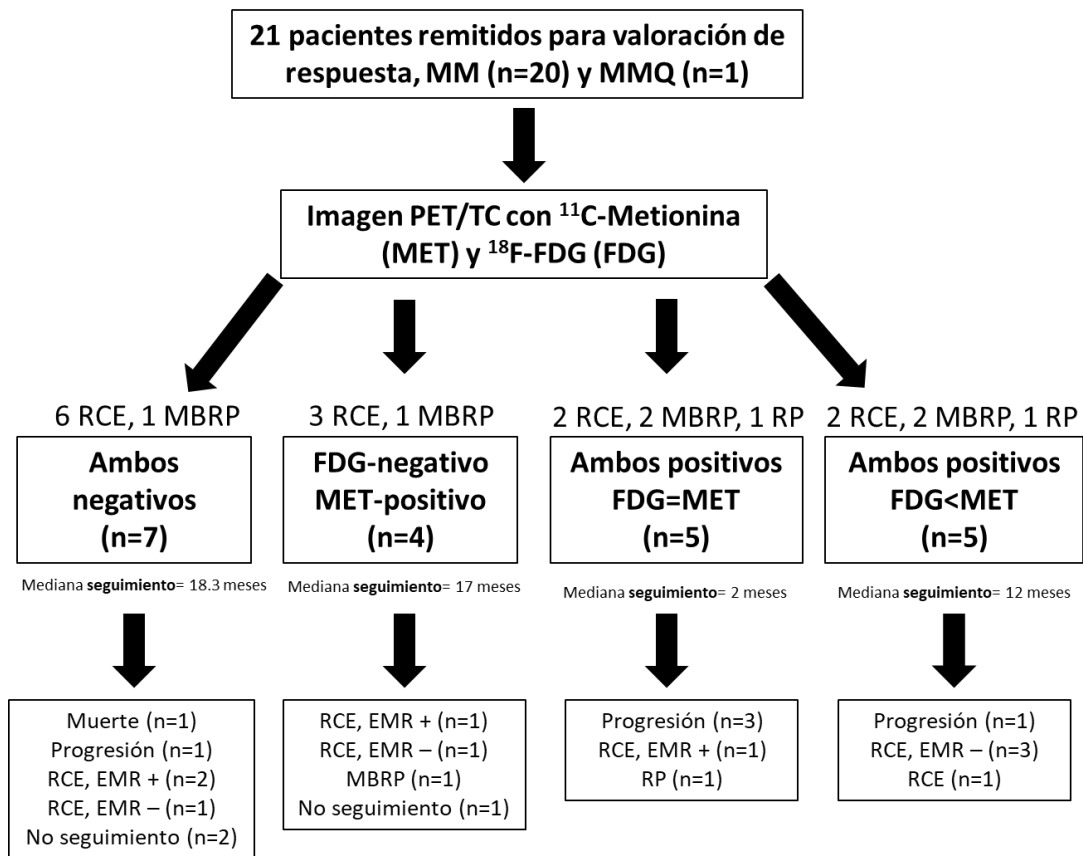
Sin embargo, durante el seguimiento (mediana PFS: 12 meses, RIC 0-19) ninguno de estos 4 pacientes progresó.

El porcentaje de infiltración de MO por células plasmáticas en los pacientes en RCE fue:

- Un 1% en el paciente con MMQ
- Y de un 1% en los pacientes con MM (1-4%, n=9)

El porcentaje de infiltración de MO en los pacientes en MBRP fue de un 2% (0-8%, n=5), y en el paciente en RP fue de un 6%.

Figura 21. Diagrama de flujo de los pacientes remitidos para valoración de respuesta



De los 13 pacientes en RCE, se observó concordancia entre el PET/TC y la respuesta clínica basada en los criterios definidos por el grupo internacional de

mieloma (IMWG) en 6 estudios de ^{11}C -MET PET/TC y 9 estudios de ^{18}F -FDG PET/TC. Sin embargo, en 7 pacientes se observó discordancia con los hallazgos de ^{11}C -MET PET/TC por detección de lesiones metabólicamente activas, 6 de los cuales con lesiones focales y un paciente con patrón de infiltración difusa. De ellos, un paciente con MM IgA lambda ISS 3 progresó al mes, y otro paciente con IgG lambda ISS 1 progresó a los 2 meses, falleciendo 12 meses después debido a progresión intra y extramedular de la enfermedad incluyendo SNC, muscular y ganglionar. Los restantes 5 pacientes con discordancia entre la respuesta clínica y por imagen mediante ^{11}C -MET PET/TC correspondieron a:

- Un paciente MM Bence Jones kappa, ISS 2 en RCE tras seis ciclos de VRD y TASPE dentro de ensayo GEM2012 para menores de 65 años. Progresó durante mantenimiento, iniciando Daratumumab-VD. En PET reciente (julio 2020), ha progresado.
- Un paciente con enfermedad mielomatosa microfocal tratada con Radioterapia, VMP y lenalidomida-dexametasona, presentó respuesta metabólica parcial por imagen. Se propuso cambio del inhibidor de proteasoma dada la escasa mejoría en imagen, la hipogammaglobulina más acusada y la negativa del paciente a recibir inmunomoduladores.
- Otro paciente con MM IgG kappa, ISS 2 presentó recaída por imagen a los 6 meses del PET de respuesta, añadiéndose al esquema terapéutico bortezomib e incrementando las dosis de lenalidomida y dexametasona.
- Otro paciente con MM IgG lambda normalizó la captación en el seguimiento 9 meses después del PET de respuesta. Durante el seguimiento, se encuentra en RCE con EMR positiva que se ha reducido a 0.02% tras VRD y TASPE.
- Por último, otro paciente con MM Bence Jones lambda ISS 1 normalizó la captación 9 meses tras el PET de respuesta.

En el caso de la ^{18}F -FDG PET/TC, se observaron discordancias en 4 pacientes con RCE y persistencia de enfermedad metabólicamente activa, todos concordantes con la ^{11}C -MET PET/TC.

Adicionalmente, en 10 pacientes (48%) se realizó estudio de enfermedad mínima residual (EMR), siendo negativa en 7 pacientes (70%). Se encontraron resultados discordantes con ^{11}C -MET PET/TC en 6/10 pacientes (60%): 2 pacientes con EMR positiva y ^{11}C -MET PET/TC negativa y 4 pacientes con EMR negativa y ^{11}C -MET

PET/TC positiva, 3 de ellos con lesiones focales y moderada captación difusa de médula ósea y 1 paciente con patrón mixto e intensa captación difusa de médula ósea. Durante el seguimiento de los pacientes EMR (-) / MET-PET (+), uno de los pacientes (MM IgA lambda R-ISS 3) progresó de forma extramedular en localización subcutánea, cutánea y retroperitoneal, mientras que en los restantes 3 pacientes la normalización metabólica resultó más tardía.

Por otra parte, el análisis de resultados de ¹⁸F-FDG PET/TC y EMR mostró asimismo 6 resultados discordantes (60%): 3 pacientes con EMR negativa y ¹⁸F-FDG PET/TC positivo por presencia de lesiones focales. Uno de ellos (MM IgA lambda, ISS 3) que debutó con hipercalcemia, insuficiencia renal, afectación ósea y extramedular, bajo porcentaje de infiltración de médula ósea (5%) y amplificación de 1p y delección 1q fue tratado con 2 ciclos de VTD-PACE (Bortezomib, talidomida, dexametasona, cisplatino, doxorubicina, ciclofosfamida y etopósido), alcanzando RCE con EMR negativa con posterior progresión un mes después del estudio PET/TC de respuesta durante el tercer ciclo de VTD. Los otros 3 pacientes con resultados discordantes correspondían a pacientes con EMR positiva y ¹⁸F-FDG PET/TC negativo, uno de ellos con estudio ¹¹C-MET PET/TC positivo. Este paciente correspondía a un MM IgG lambda R-ISS 1 con patrón de infiltración difuso en el estudio de ¹¹C-Metionina PET/TC y persistencia de EMR durante el seguimiento a pesar de tratamiento de mantenimiento con VRD.

Tabla 22. *Tabla concordancia ¹¹C-MET PET/TC y respuesta clínica*

		¹¹ C-MET PET/TC respuesta		¹⁸ F-FDG PET/TC respuesta		Total
		negativo	positivo	negativo	positivo	
Respuesta clínica	RCE	6	7	9	4	13
	MBRP	1	5	2	4	6
	RP	0	2	0	2	2
Total		7	14	11	10	21

Tabla 23. Tabla concordancia ¹¹C-MET PET/TC y EMR

		¹¹ C-MET PET/TC respuesta		¹⁸ F-FDG PET/TC respuesta		Total
		negativo	positivo	negativo	positivo	
EMR	negativa	3	4	4	3	7
	positiva	2	1	3	0	3
	Total	5	5	7	3	10

5.2.1 Análisis del patrón de captación

En los pacientes con estudio ¹¹C-MET PET/TC de respuesta positivo, 12/14 pacientes (86%) presentaron lesiones focales, frente a un 80% (8/10) de los pacientes con ¹⁸F-FDG PET/TC positivo. El índice Kappa de concordancia para la detección de lesiones focales entre ambos trazadores resultó bueno ($\kappa = 0.632$, $p=0.009$). Los 2 pacientes remitidos para valoración de respuesta con enfermedad extramedular al diagnóstico continuaron demostrando enfermedad extramedular metabólicamente activa, con ¹⁸F-FDG, o con ambos radiotrazadores.

De acuerdo a la intensidad de captación de la infiltración difusa en el estudio de valoración de respuesta mediante ¹⁸F-FDG PET/TC, 3 pacientes fueron categorizados como Deauville 1, 4 pacientes como Deauville 2, 12 pacientes como Deauville 3, 2 pacientes como Deauville 4 y no hubo pacientes categorizados como Deauville 5. El punto de corte considerado para considerar PET positivo fue un Deauville 4.

Tabla 24. Análisis del patrón de captación en el estudio de valoración de respuesta

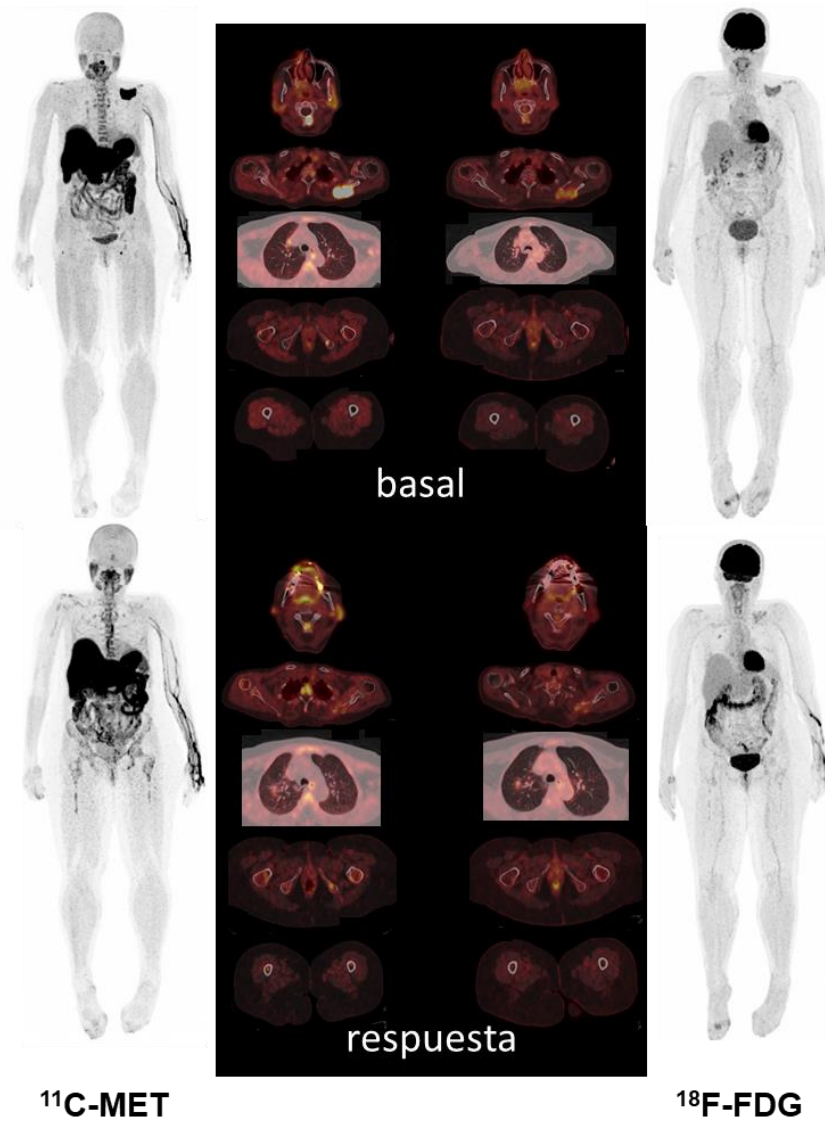
	FDG	MET	Índice kappa	p
Estudio PET/TC positivo	10/21 (47.6%)	14/21 (66.7%)	0.625	p=0.001
Análisis por paciente				
lesiones focales	8/10 (80%)	12/14 (86%)	0.632	p=0.009
Análisis por lesiones				
1-3 LF	7/8 (88%)	7/12 (58%)	0.482	p<0.001
4-10 LF	1/8 (13%)	4/12 (33%)		
>10 LF	0/8 (0%)	1/12 (8%)		

5.3 Análisis por lesiones

La ^{11}C -MET PET/TC identificó mayor número de lesiones que la ^{18}F -FDG en 8 pacientes (38%, $p=0.035$). Detectó 1-3 lesiones focales en 7 pacientes, 4-10 lesiones focales en 4 pacientes y más de 10 lesiones focales en 1 paciente. La ^{18}F -FDG PET/TC detectó 1-3 lesiones focales en 7 pacientes y 4-10 lesiones focales en 1 paciente. El índice Kappa de concordancia entre ambos trazadores para la detección del número de lesiones focales fue moderado y estadísticamente significativo (κ ponderado= 0.482, $p<0.001$). (Tabla 24)

Se detectó persistencia de enfermedad extramedular en 2 pacientes, uno de ellos detectado con ambos trazadores aunque con lesiones detectadas por ^{11}C -MET, metabólicamente inactivas en el estudio ^{18}F -FDG localizadas en tejido celular subcutáneo y pulmones (figura 22), mientras que otro paciente con enfermedad extramedular presentó una única lesión extramedular ^{18}F -FDG positiva, ^{11}C -MET negativa localizada en páncreas cuyo diagnóstico por punción aspiración con aguja fina (PAAF) definitivo fue de infiltración por mieloma (células de morfología plasmocitoide con citoplasmas basófilo y núcleo redondeado con cromatina en grumos, que muestran inmunorreactividad citoplasmática frente a CD138).

Figura 22. Paciente de 64 años con MM IgG kappa ISS-2 que alcanzó MBRP, remitido para valoración de respuesta mediante PET/TC. Basalmente presentó lesiones focales en C7, escápula izquierda, pulmón derecho, isquion izquierdo, endomedular femoral. Tras 8 ciclos de DaraVD y TASPE, se observa respuesta metabólica completa en el estudio realizado con FDG, persistiendo actividad difusa en el estudio de MET. Según el resto de parámetros explorados, se consideró al paciente en RCE con EMR negativa, iniciando mantenimiento con lenalidomida.



6 DETECCIÓN DE INFILTRACIÓN TUMORAL DE MÉDULA ÓSEA CON ^{18}F -FDG Y CON ^{11}C -MET

Para ambos radiofármacos, se analizó la correlación de la captación en médula ósea mediante parámetros semicuantitativos derivados del PET basal en pacientes de nuevo diagnóstico o en recaída, con el porcentaje de infiltración de médula ósea por células plasmáticas, obtenido mediante aspirado de médula ósea de cresta iliaca o esternón.

6.1 Parámetros semicuantitativos PET/TC

En el PET/TC realizado con ^{11}C -Metionina, la mediana del valor de captación máximo (SUV_{max}) de médula ósea en columna lumbar fue de 4.70 (RIC 1.32-12.04), significativamente superior a la observada en el PET/TC realizado con ^{18}F -FDG (2.66, RIC 0.93-6.91, $p < 0.001$). En la pala iliaca la mediana del valor SUV_{max} fue asimismo superior en el estudio de ^{11}C -Metionina (3.98, RIC 1.45-9.64) que en el de ^{18}F -FDG (2.32, RIC 0.87-5.64, $p < 0.001$). En 46/52 (88.5%) pacientes en los que la infiltración de MO fue valorada por biopsia o aspirado de cresta iliaca, los valores de SUV_{max} en localización lumbar e iliaca en ^{11}C -Metionina y ^{18}F -FDG se correlacionaron entre sí de forma moderada/alta ($r = 0.73$ y 0.59 , respectivamente).

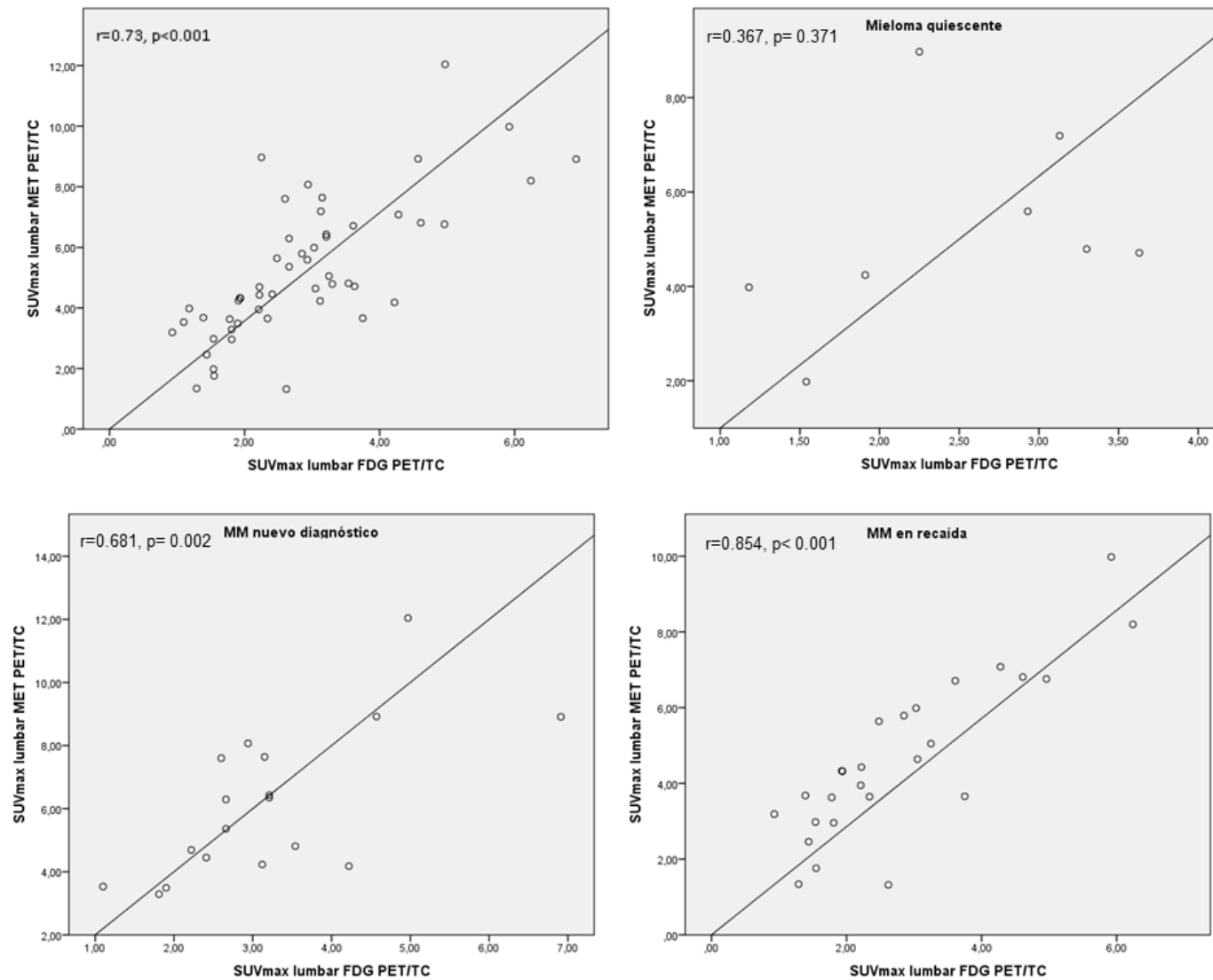


Figura 23. Correlación SUV_{max} vertebral ^{11}C -MET, ^{18}F -FDG

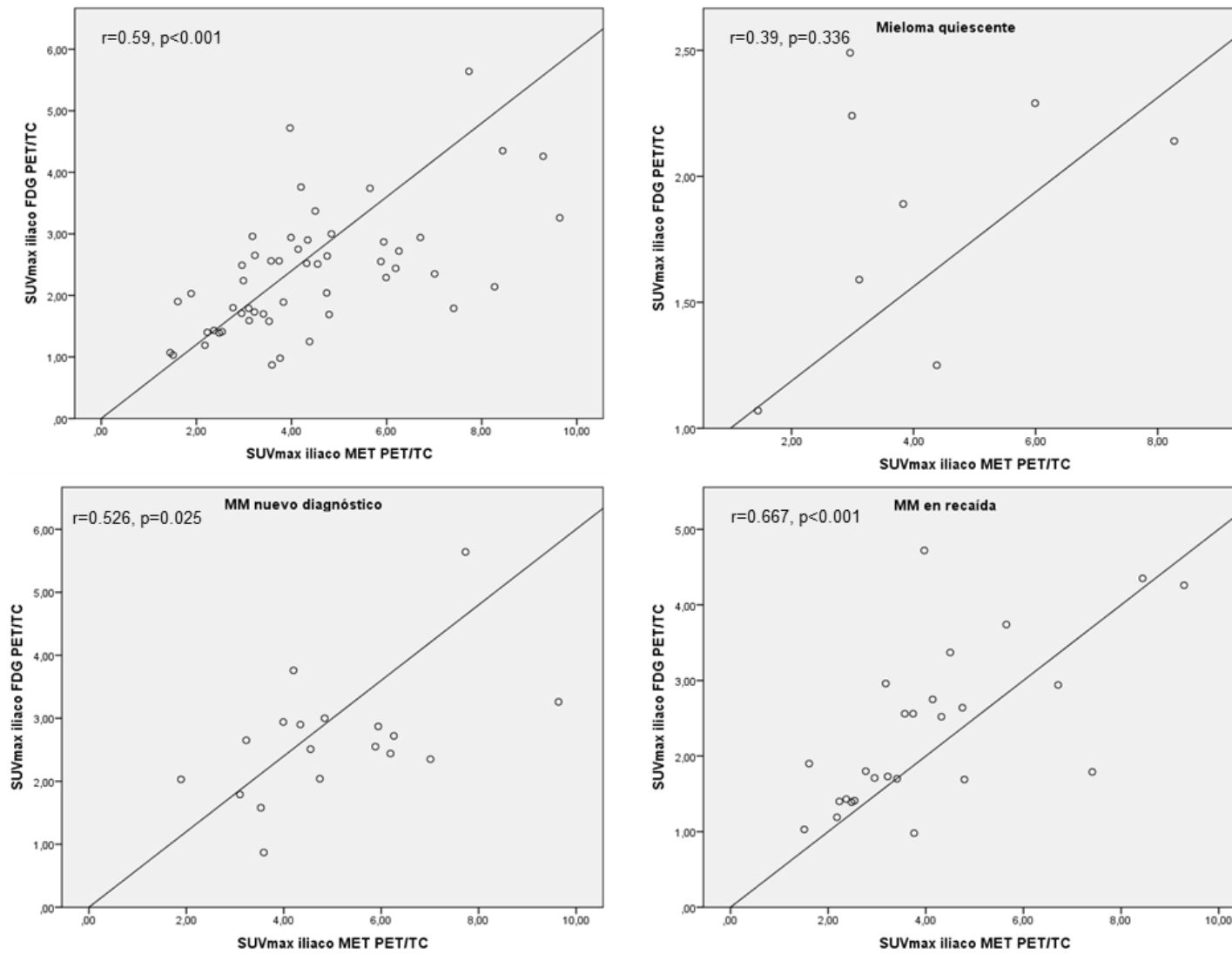


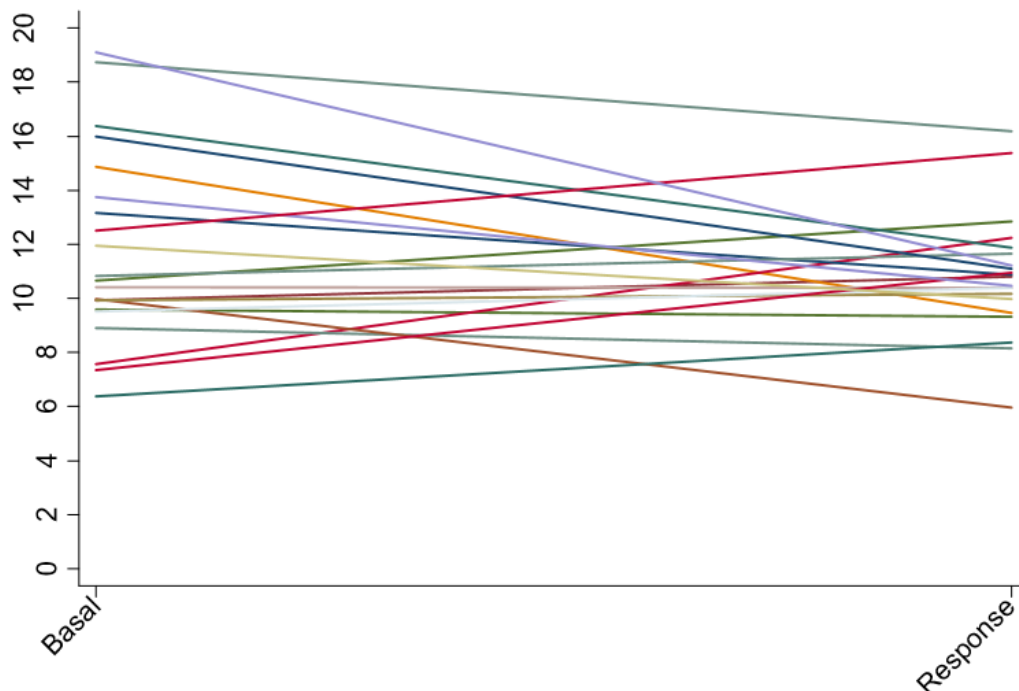
Figura 24. Correlación SUV_{max} iliaco $^{11}\text{C-MET}$, $^{18}\text{F-FDG}$

Al analizar la relación entre los parámetros semicuantitativos (SUV_{max} , SUV_{peak}) lumbares/iliacos y la infiltración de MO, únicamente se observó correlación muy baja con el SUV_{peak} lumbar de ^{11}C -MET (coeficiente de correlación de Pearson, $r=0.30$, $p=0.04$), no observando correlación con los parámetros semicuantitativos obtenidos de la ^{18}F -FDG PET/TC.

Con el fin de explorar el patrón de captación normal de ^{11}C -MET en MO, se evaluó una cohorte de 19 pacientes con hiperparatiroidismo primario (17 mujeres, 2 varones), de edades comprendidas entre 40 y 81 años (mediana, 63). La captación en MO vertebral lumbar expresada mediante SUV_{max} resultó inferior a la observada en los pacientes con MM y % de infiltración de células plasmáticas superior al 10% (4.5 ± 1.01 vs. 5.94 ± 2.43 , $p < 0.001$). De los pacientes con MM y % de infiltración en MO superior al 10%, únicamente 3 pacientes (3/23, 13%) presentaron valores de Hgb inferiores a 10, mientras que no se dispone de este dato en la cohorte de pacientes con hiperparatiroidismo primario.

En relación a los índices TBR de ^{11}C -MET, primeramente, se comprobó que la captación hepática permaneciera constante entre el estudio basal y el de respuesta en el PET con ^{11}C -Metionina, evidenciándose valores similares (mediana SUV_{max} basal: 10.75 vs. mediana SUV_{max} respuesta: 10.82, $p=0.20$). Figura 25.

Figura 25. Captación hepática en ^{11}C -MET PET basal/respuesta



Los índices TBR se correlacionaron significativamente con el porcentaje de infiltración de médula ósea, no sólo el TBR obtenido mediante SUV_{max} de MO/ SUV_{max} hepático ($r= 0.53$, $p<0.001$) sino también el TBR obtenido mediante SUV_{max} lumbar/ SUV_{max} hepático ($r= 0.56$, $p< 0.001$) y el SUV_{max} de pala iliaca/ SUV_{max} hepático ($r= 0.48$, $p<0.001$), este último con mayor interés dado que supone la localización más frecuente de biopsia para evaluar la infiltración de MO.

7 CORRELACIÓN DE ^{18}F -FDG Y ^{11}C -MET CON PARÁMETROS ANALÍTICOS

El cuarto objetivo de esta tesis doctoral fue explorar la correlación de la captación de los hallazgos de imagen con ^{11}C -Metionina y ^{18}F -FDG PET/TC en las distintas categorías de la enfermedad (lesiones focales, captación difusa de médula ósea, enfermedad extramedular) con las características basales de los pacientes y hallazgos de laboratorio (ratio de cadenas ligeras, componente M, entre otros).

7.1 Correlación con parámetros de laboratorio

En el estudio de ^{18}F -FDG PET/TC, únicamente se evidenció correlación entre el valor de captación de médula ósea expresado mediante SUV_{max} y los niveles de B2M ($r= 0.40$, $p= 0.007$), y entre el SUV_{max} de la lesión extramedular metabólicamente más activa y el componente M ($r=0.973$, $p<0.001$).

Sin embargo, en el estudio de ^{11}C -Metionina se evidenció correlación entre el SUV_{max} de la lesión focal metabólicamente más activa y la B2M ($r= 0.33$, $p= 0.03$), entre el valor más alto del SUV_{max} de médula ósea y la B2M ($r= 0.38$, $p= 0.01$) o el componente M ($r=0.54$, $p<0.001$) y, por último, entre el valor de captación SUV_{max} de la lesión extramedular metabólicamente más activa y los valores de cadenas ligeras séricas ($r=0.71$, $p=0.05$). Las correlaciones estadísticamente significativas se muestran en las figuras 26 y 27:

Figura 26. Correlación entre parámetros MET PET y B2M (A, B), FLC (C) y Componente M (D).

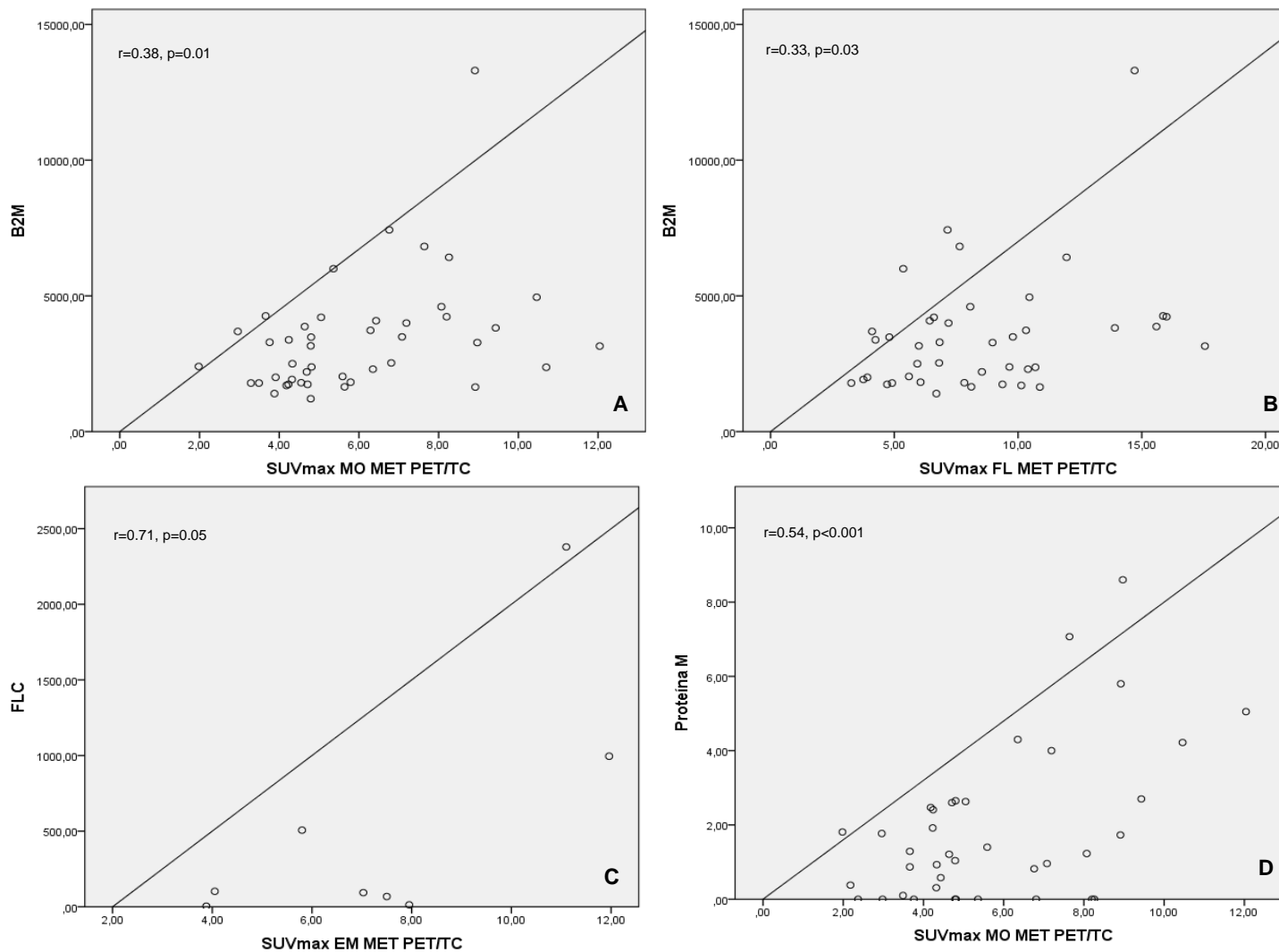
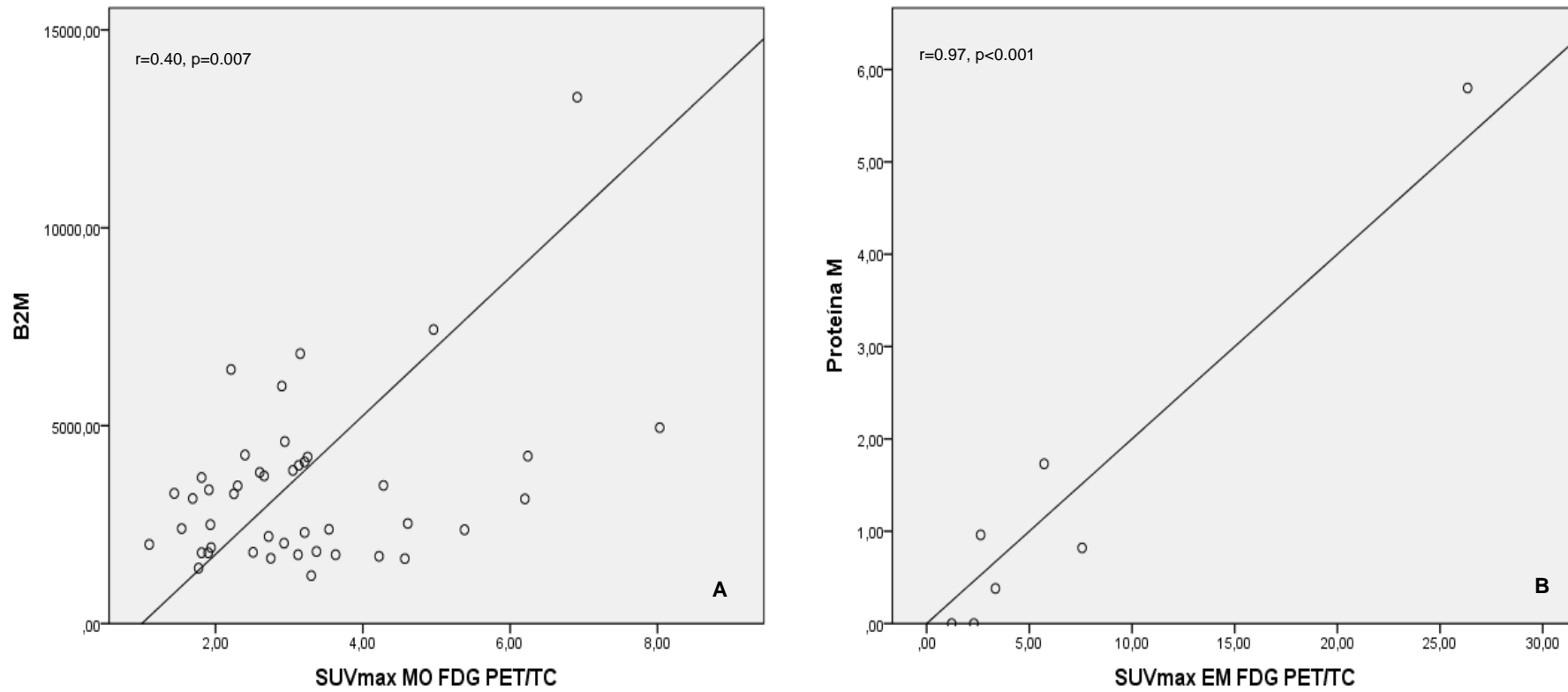


Figura 27. Correlación entre parámetros FDG PET y B2M (A) y Componente M (B)



8 VALOR PRONÓSTICO

Por último, se evaluó el impacto pronóstico de los parámetros visuales y semicuantitativos obtenidos mediante ^{18}F -FDG y ^{11}C -MET PET/TC en el estudio basal. A tal fin, se incluyeron factores pronósticos ya establecidos y nuevos factores como el TMTV, el TLG y el TLMU. Para este objetivo, se evaluaron los 44 pacientes con MM sintomático y con seguimiento mediante valoración clínica e imagen posterior al tratamiento. Durante el seguimiento, 15 pacientes progresaron y 8 pacientes murieron. La mediana de seguimiento para la valoración de la progresión fue de 12.8 meses (RIC 4.9 – 25.6 meses) mientras que la mediana de seguimiento para la SG fue de 15.7 meses (RIC 7.8 – 26.9 meses).

8.1 Características basales de la población

Se estudiaron factores con valor pronóstico conocido como la edad, los niveles de albúmina, beta 2 microglobulina y lactato deshidrogenasa, así como las escalas ISS, R-ISS y la citogenética de alto riesgo, definida como la presencia de t(4;14) y/o t(14;16) y/o del(17p). Los resultados se presentan en la tabla 25.

Dieciséis pacientes (36.4%) de la muestra tenían ≥ 65 años, mientras que niveles de $\text{ALB} < 3.5$ se encontraban presentes en 8/44 pacientes (18.2%), niveles de $\text{B2M} \geq 3.5$ en 15/44 pacientes (34.1%), $\text{B2M} \geq 5.5$ en 5/44 pacientes (11%) y $\text{LDH} \geq 190$ en 19/44 pacientes (43.2%).

Veintitrés pacientes (52.3%) presentaron $\text{ISS} \geq 2$, mientras que un 56.8% (25/44) presentaron $\text{R-ISS} \geq 2$. Un 31.8% de los pacientes presentaba citogenética de alto riesgo.

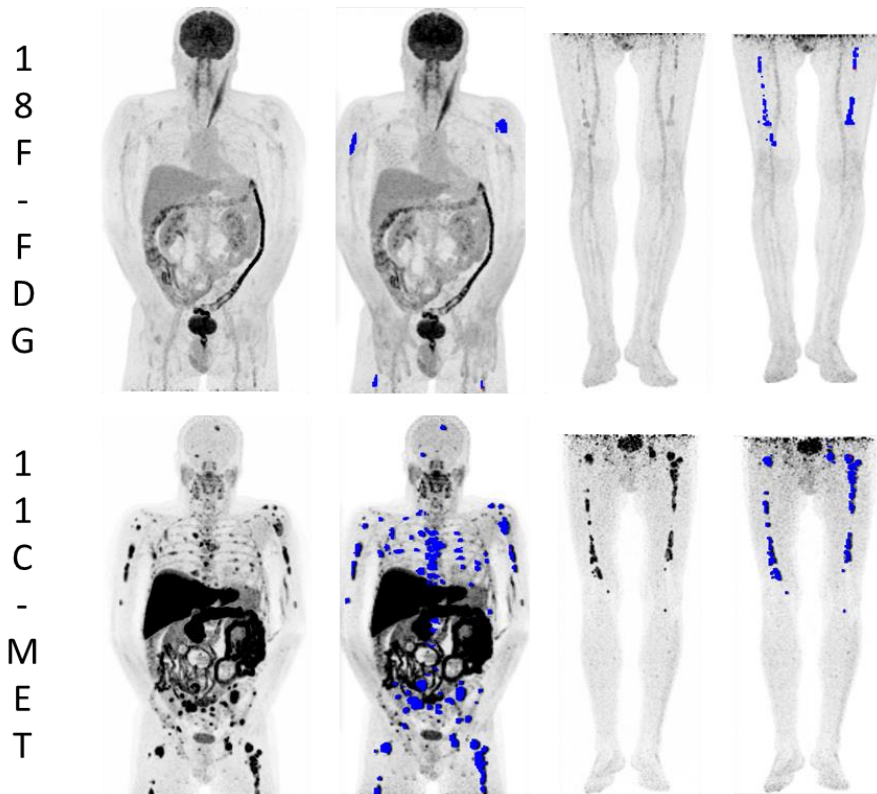
8.2 ^{18}F -FDG PET/TC

Un 11.4% de los pacientes (5/44) no demostraron lesiones focales. Por otra parte, se observaron 1-3 lesiones focales en 12/44 pacientes (27.3%) y más de 3 lesiones focales en 27/44 pacientes (61.4%). Tabla 25. Se observó un $\text{SUV}_{\text{max}} > 3.9$ en 30/44 pacientes (68%). Por otra parte, se observaron valores de TMTV basal $\text{FDG} > 210 \text{ cm}^3$ en 13/44 pacientes (29.5%), mientras que un $\text{TLG} > 205\text{g}$ o $> 620\text{g}$ se evidenció en el 50% (22/44) y 31.8% (14/44) de los pacientes, respectivamente.

8.3 ^{11}C -Metionina PET/TC

Un 2.3% de los pacientes (1/44) no demostraron lesiones focales. Se observaron 1-3 lesiones focales en 9/44 pacientes (20.5%) y más de 3 lesiones focales en 34/44 (77.3%). Tabla 25. La mediana para el TLMU en el estudio de ^{11}C -MET resultó de 1448.25 g, mientras que para el TMTV la mediana resultó de 365.88 cm³. Figura 28.

Figura 28. Paciente de 56 años con MM IgD lambda ISS-1 con superior carga tumoral en ^{11}C -Metionina PET/TC (TMTV: 244,67 cm³, TLMU: 1321,86 g) que en el ^{18}F -FDG PET/TC (TMTV: 43,96 cm³, TLG: 76,77 g).



8.4 Análisis univariante y multivariante

En el análisis univariante para SLP, se encontró asociación pronóstica con la presencia de >3 lesiones focales (HR 2.65, IC 95% 0.84-8.41, $p= 0.097$), >10 lesiones focales (HR 3.01, IC 95% 1.04-8.68, $p= 0.041$), valores de TMTV>210 cm³ (HR 3.69, IC 95% 1.07-12.66, $p= 0.038$), o presencia de EM (HR 4.19, IC 95% 1.25-14.08, $p= 0.02$) en el ¹⁸F-FDG PET/TC. En relación a los parámetros derivados del estudio con ¹¹C-Metionina PET/TC, se observó asociación pronóstica con valores de TMTV>366 cm³ (HR 4.58, IC 95% 1.25-16.82, $p= 0.02$), TLMU>1448 g (HR 4, IC 95% 1.09-14.64, $p= 0.04$) y presencia de EM (HR 4.19, IC 95% 1.25-14.08, $p= 0.02$).

En el análisis univariante para la SG, solamente se encontró asociación pronóstica con la EM en ¹⁸F-FDG PET/TC (HR 4.92, IC 95% 1.15-21.04, $p= 0.03$) y en el ¹¹C-MET PET/TC (HR 4.92, IC 95% 1.15-21.04, $p= 0.03$).

En el análisis multivariante para la SLP, tanto el número de lesiones focales >10 (HR 3.81, IC 95% 1.11-13.05, $p= 0.033$) como el valor de TMTV>210 cm³ (HR 3.26, IC 95% 0.89-11.88, $p= 0.073$) en el estudio de ¹⁸F-FDG PET/CT fueron factores predictores de supervivencia independientes de los factores de ajuste (citogenética e ISS). No se evidenció asociación pronóstica significativa con las variables en el estudio ¹¹C-Metionina PET/TC. En el caso de la SG, no se evidenció asociación pronóstica significativa con ninguna de las variables exploradas.

Tabla 25. Análisis univariante del ^{18}F -FDG y ^{11}C -Metionina PET/TC basales en función de las variables pronósticas SLP y SG.

Variable	SLP			SG		
	HR	IC 95%	Valor p	HR	IC 95%	Valor p
Edad > 65 años	0.71	0.22-2.29	0.567	0.54	0.11-2.69	0.453
ALB < 3.5	2.96	0.36-24.12	0.310	1.62	0.18-14.5	0.668
B2M \geq 3.5	2.96	0.86-10.22	0.087	2.86	0.67-12.13	0.155
B2M \geq 5.5	2.46	0.51-11.95	0.264	3.34	0.64-17.4	0.151
LDH \geq 190	3.08	0.81-11.62	0.098	1.5	0.36-6.27	0.580
Citogenética	3.42	1.21-9.66	0.020	2.94	0.73-11.88	0.131
ISS	2.20	1.08-4.51	0.031	1.71	0.65-4.50	0.273
R-ISS	5.81	1.73-19.52	0.004	2.65	0.60-11.63	0.197
LF FDG > 3	2.65	0.84-8.41	0.097	2.42	0.48-12.12	0.282
LF FDG > 10	3.01	1.04-8.68	0.041	1.1	0.26-4.63	0.901
TLG FDG > 205	2.43	0.65-9.10	0.187	*	*	*
TLG FDG > 620	2.89	0.85-9.91	0.090	*	*	*
TMTV FDG > 210	3.69	1.07-12.66	0.038	*	*	*
FDG SUV _{max} > 3.9	1.14	0.34-3.77	0.834	1,15	0.22-6	0.868
EM FDG	4.19	1.25-14.08	0.020	4.92	1.15-21.04	0.032
LF MET > 3	1.05	0.28-3.90	0.939	0.97	0.2-4.84	0.975
LF MET > 10	1.45	0.46-4.57	0.528	0.51	0.12-2.15	0.357
TLMU MET > 1448	4	1.09-14.64	0.036	**	**	**
TMTV MET > 366	4.58	1.25-16.82	0.022	**	**	**
EM MET	4.19	1.25-14.08	0.020	4.92	1.15-21.04	0.032

* Las categorías de referencia no mostraron muertes para los siguientes parámetros: TLG FDG=205 g (\leq 205: 0% muertes vs. > 205: 27.3% muertes; p= 0.024), TLG FDG=620 g (\leq 620: 0% muertes vs. >620: 42.9% muertes; p= 0.002), TMTV FDG=210 cm³ (\leq 210: 0% muertes vs. > 210: 46.2% muertes; p= 0.001).

** Las categorías de referencia no mostraron muertes para los siguientes parámetros: TLMU=1448 g (\leq 1448: 0% muertes vs. > 1448: 35% muertes, p= 0.007), TMTV=366 cm³ (\leq 366: 0% muertes vs. > 366: 35% muertes; p= 0.006).

V. DISCUSIÓN

Teniendo en cuenta la hipótesis, y de acuerdo con los objetivos del estudio, se discuten a continuación los resultados obtenidos en el modelo preclínico y en la serie de pacientes con mieloma.

1 CAPTACIÓN DE ^{18}F -FDG Y ^{11}C -MET EN LÍNEAS CELULARES

El primer objetivo fue comparar la captación de los trazadores ^{18}F -FDG y ^{11}C -Metionina en distintas líneas celulares. En la muestra *in vitro* de las líneas celulares exploradas, solamente la línea RPMI8226 demostró una captación superior de ^{11}C -Metionina que de ^{18}F -FDG.

Si bien existe escasa evidencia publicada que compare la captación de ^{18}F -FDG y ^{11}C -MET entre líneas celulares, Lückerath y cols (125) concluyen que en la línea MM1S, la retención de ^{11}C -Metionina es superior a la de ^{18}F -FDG, siendo estos resultados opuestos a los obtenidos en nuestro estudio. Por otro lado, en el mencionado artículo se concluye que, si bien la línea MM1S muestra ligera superioridad de retención del trazador aminoacídico (144cpm/1000 células), la línea con mejor discriminación ^{11}C -Metionina/ ^{18}F -FDG es la OPM-2 (422cpm/1000 células), esta última no explorada en nuestro trabajo. Se observaron diferencias en las captaciones de ^{18}F -FDG y ^{11}C -MET en la línea MM1S entre ambos estudios a pesar de que el método de cultivo empleado fue el mismo en ambos trabajos (Roswell Park Memorial Institute Medium 1640), y se emplearon tiempos similares hasta el conteo en el contador gamma en el caso de la ^{18}F -FDG (50 min vs. 60 min). Únicamente en el caso de la ^{11}C -MET los tiempos de incubación resultaron diferentes, siendo 5 min en el trabajo de Lückerath y 20 min en nuestro estudio, dado que el periodo de semidesintegración del C-11 es de 20 minutos. Pudiera suceder que no se observara suficiente retención del trazador secundariamente al decaimiento radiactivo, si bien no es posible que este hecho justifique las discordancias observadas dado que se realizó corrección por decaimiento en todas las mediciones y el contador gamma posee elevada sensibilidad.

2 ^{18}F -FDG, ^{11}C -MET Y ^{11}C -COL EN EL ESTUDIO DE EXTENSIÓN TUMORAL EN UN MODELO MURINO

El MM es una neoplasia de células plasmáticas definida por las interacciones con el microambiente tumoral en la médula ósea, siendo éste un compartimento con elevada heterogeneidad celular y estructura única. Estas características hacen crucial el estudio de modelos *in vivo*, cada uno con ventajas e inconvenientes.

El siguiente objetivo fue comparar en un modelo murino de MM con tumor subcutáneo la sensibilidad y especificidad de los tres radiofármacos: ^{18}F -FDG, ^{11}C -Metionina y ^{11}C -Colina. Los resultados mostraron menor detectabilidad de la ^{11}C -Colina, con valores de sensibilidad muy inferiores a los de los otros radiofármacos, especialmente en los tumores MM1S. Además, la captación de ^{11}C -Colina resultó débil/ausente en casi el 50% de los tumores subcutáneos MM1S y en más de la mitad de los casos en los RPMI8226, lo que demuestra la baja actividad de radiofármaco en las lesiones tumorales, corroborada asimismo en el análisis del parámetro semicuantitativo SUV_{max} . Dado que no existen publicaciones sobre Colina marcada con ^{11}C ni ^{18}F en modelos animales, en base a la experiencia tras esta tesis doctoral se desaconseja el uso de ^{11}C -Colina en modelos animales de mieloma con las líneas celulares exploradas. Por el contrario, en pacientes la ^{11}C -Colina ha demostrado superior detección tumoral que la ^{18}F -FDG (101), a diferencia de su análogo fluorado (^{18}F -Colina) con el que los resultados fueron similares (102). Sin embargo, si bien se considera que la Colina (tanto marcada con ^{11}C como con ^{18}F) posee una mejor tasa de detección que la ^{18}F -FDG, presenta las limitaciones de la elevada actividad hepática y de médula ósea que dificultan su valoración.

Con respecto a la ^{11}C -Metionina, una publicación reciente en pacientes (108) sugiere que es más sensible que la ^{11}C -Colina en la detección de lesiones activas en pacientes con MM.

En el análisis cuantitativo, a diferencia de lo observado en el modelo *in vitro* en líneas celulares, la captación de ^{18}F -FDG fue mayor que la de ^{11}C -Metionina en los tumores generados con ambas líneas celulares (MM1S y RPMI8226), siendo las diferencias más acusadas en los tumores de la línea RPMI8226. Las diferencias en el patrón de incorporación *in vitro/in vivo* en la línea RPMI8226 podrían deberse a un cambio metabólico en las células al generar los tumores *in vivo*. Estos hallazgos contrastan con lo observado por Lückcrath y cols (130) para tumores MM1S en los que, de forma similar a lo observado *in vitro*, se evidenció mayor captación de ^{11}C -Metionina que de ^{18}F -FDG. Esta discordancia puede ser debida a que el comportamiento de las células tumorales difiere si las células son cultivadas *in vitro* o crecen *in vivo*. En este caso, hay que tener en cuenta que las células tumorales *in vivo* interactúan con el microambiente tumoral y otras poblaciones celulares pueden influir en el crecimiento del tumor y, por tanto, en la captación de ^{18}F -FDG. Otras posibles causas para esta discordancia constituyen el modelo de ratón empleado (NOD.CB17-Prkdcscid/NCrHsd en el trabajo de Lückcrath y cols,

CB17/lcr-Pkdc-scid/Crl en el presente proyecto de investigación), o el número de células tumorales administradas (5×10^6 en la publicación de Lückerath y cols frente a 3×10^6 en nuestro caso).

En cuanto a la correlación de los biomarcadores de imagen con el porcentaje de células tumorales obtenido mediante citometría, únicamente se observó correlación en los tumores MM1S, no así en los RPMI8226. Por otra parte, si bien los tumores de la línea celular RPMI8226 fueron más activos metabólicamente, presentaban valores de MTV inferiores y necesitaron un tiempo más prolongado hasta su visualización, datos que reflejan su menor tamaño y proliferación celular, respectivamente. Por todo ello, en el modelo murino de tumor subcutáneo se puede afirmar que la línea celular MM1S resulta más conveniente desde el punto de vista procedimental dado que requiere menor tiempo de espera hasta su detección y presenta mejor correlación con el porcentaje de células tumorales. Además, desde el punto de vista metabólico, la mayor captación de ^{11}C -Metionina que de ^{18}F -FDG en los tumores MM1S es similar a la observada en pacientes, a diferencia de los RPMI8226 en los que la captación de ^{18}F -FDG es claramente superior a la de ^{11}C -Metionina.

3 ^{18}F -FDG Y ^{11}C -MET EN LA VALORACIÓN DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO EN UN MODELO MURINO

El tercer objetivo fue determinar en el modelo murino la eficacia diagnóstica de ^{18}F -FDG y ^{11}C -MET en la valoración de respuesta a diferentes tratamientos.

El estudio del tamaño tumoral visible mediante calibre demostró que la triple terapia consigue un mejor control de la enfermedad que el bortezomib al existir una inhibición del crecimiento tumoral. La inhibición del crecimiento tumoral en este modelo animal (tumor ortotópico con línea celular MM1S) por parte de distintas pautas de tratamientos ya establecidos o en investigación es un hecho ya demostrado en investigaciones previas (131). Sin embargo, esta inhibición en el crecimiento sólo se logra durante un tiempo, puesto que, si el tiempo del estudio se alarga, los tumores siempre acaban creciendo.

En nuestra investigación, tanto el tamaño tumoral expresado en cm^3 como la velocidad de crecimiento tumoral resultaron inferiores a los de un trabajo publicado empleando la misma línea celular (131). Dichos hallazgos pudieran estar en relación con el momento de estudio del tamaño tumoral, ya que éste se realizó en fases más precoces (7, 14 y 21 días), mientras que el mayor crecimiento en la

publicación de Ocio y cols. se observó a partir del día 20 en el grupo tratado con bortezomib y en el grupo control.

Tanto la ^{18}F -FDG como la ^{11}C -MET permitieron realizar un seguimiento adecuado de la evolución de la enfermedad tumoral durante el tratamiento, ya que todas las variables PET resultaron inferiores en el grupo tratado con triple terapia que en el grupo tratado con bortezomib, reflejo de su mayor eficacia al lograr un mejor control de la enfermedad.

Si bien se observó un aumento progresivo del MTV y TLG/TLMU en todos los grupos, se detectó un enlentecimiento de la actividad metabólica medida mediante SUV_{max} en el grupo tratado con triple terapia, hallazgo que indica que es el único tratamiento que consiguió el enlentecimiento metabólico/funcional. Esta respuesta metabólica parcial, objetivada mediante el descenso en el SUV_{max} , se observó en la totalidad de los ratones tratados con triple terapia en la segunda semana, a diferencia del grupo tratado con bortezomib o del grupo control, en que se observaron progresiones metabólicas con aumento de SUV_{max} con ambos radiofármacos.

Sin embargo, resulta sorprendente el descenso en los valores de SUV_{max} en el grupo control a partir de la segunda semana detectados por la ^{18}F -FDG. Este hallazgo pudiera encontrarse en relación con la mayor ocurrencia de necrosis tumoral en este grupo debido al desequilibrio entre el rápido crecimiento de los tumores y su vascularización. La aparición de necrosis en modelos murinos con tumores agresivos, debido a la desmedida proliferación celular, está descrita en otros trabajos (Nanni y cols.) (132). En nuestro estudio, el grupo control presentó una tasa de necrosis superior a la del grupo tratado con bortezomib o el tratado con triple terapia a partir de la segunda semana, coincidiendo con el descenso de la variable SUV_{max} . De nuevo, el hecho de que se apreciase menor necrosis tumoral en el grupo tratado con triple terapia vuelve a ser indicativo de un mejor control tumoral.

Por lo tanto, los biomarcadores de imagen PET reflejan el efecto de los tratamientos investigados, con mayor respuesta metabólica en el grupo tratado con triple terapia (bortezomib, lenalidomida y dexametasona), que consigue un mayor control de la enfermedad que el grupo tratado con bortezomib como agente único. Sin embargo, ha de tenerse en cuenta que, en el grupo de ratones tratados con triple terapia, se observó un mayor número de fallecimientos que en el grupo tratado con bortezomib

o en el grupo control, lo que redundó en un menor tamaño muestral. Esta limitación podría justificar la falta de significación estadística en algunas diferencias halladas para cada radiofármaco y grupo investigado.

Dado que no existen discordancias en la detectabilidad de los tumores subcutáneos mediante el radiotrazador estándar (^{18}F -FDG) y el radiotrazador a estudio (^{11}C -MET) en la línea celular y en el modelo murino empleados en esta investigación, se puede deducir que el uso de ^{18}F -FDG resulta más práctico dada su mejor resolución de contraste, mayor disponibilidad y menor coste.

En definitiva, el uso del microPET podría ser útil para la investigación preclínica de respuesta a nuevos tratamientos en los modelos animales de MM, añadiendo información sobre los efectos biológicos del tratamiento en la inhibición de síntesis proteica valorada en el estudio PET con ^{11}C -Metionina y en la disminución de la actividad glicolítica detectada en el estudio PET con ^{18}F -FDG.

El uso del PET/TC se ha expandido rápidamente en el MM para la evaluación de la extensión de la enfermedad al diagnóstico con gran impacto en la detección de enfermedad extramedular, así como para la evaluación de respuesta (92). A pesar de que la ^{18}F -FDG es el radiotrazador estándar, datos recientes sugieren que la ^{11}C -Metionina puede ser un radiotrazador potencialmente mejor en pacientes con MM debido a una superior sensibilidad que la ^{18}F -FDG (105). La finalidad del presente estudio de investigación fue aportar mayor evidencia del papel del aminoácido radiomarcado ^{11}C -Metionina para la imagen funcional de pacientes con MM.

4 ESTUDIO DE EXTENSIÓN CON ^{18}F -FDG Y ^{11}C -MET

Un objetivo fundamental en pacientes con mieloma fue el análisis comparativo de los trazadores ^{18}F -FDG y ^{11}C -MET en el estudio de extensión previo al inicio del tratamiento con el fin de establecer el rendimiento diagnóstico de estos dos radiofármacos para la detección de lesiones mielomatosas.

Se evidenció una mejor concordancia con el trazador estándar (^{18}F -FDG) en el caso del patrón de infiltración focal de médula ósea ($\kappa = 0.468$).

La superioridad de la ^{11}C -Metionina sobre la ^{18}F -FDG se confirma en esta tesis doctoral en seis pacientes con estudio de ^{18}F -FDG PET/TC negativa y enfermedad detectable por ^{11}C -Metionina, a semejanza de los resultados hallados en publicaciones previas (104,107,108,133) que revelan un 10-15% de pacientes con mieloma sin avidez por ^{18}F -FDG. Además, los pacientes con enfermedad ^{18}F -FDG negativa detectada con ^{11}C -Metionina presentaron peor evolución que los pacientes sin enfermedad detectable por ambos trazadores, con progresión a los 9 y 42 meses desde el estudio de extensión.

En paralelo a publicaciones previas que demuestran la mayor sensibilidad de la ^{11}C -Metionina (107), la ^{11}C -Metionina demostró una detectabilidad superior con mayor número de lesiones óseas focales en el 63% y mayor número de lesiones extramedulares en el 25% de los pacientes.

En lo relativo a la enfermedad extramedular, la ^{11}C -Metionina detectó un mayor número de lesiones localizadas en pulmón, pleura, ganglios, riñones, cuero cabelludo y grasa periorbitaria. Desafortunadamente, las implicaciones biológicas de las discordancias en la detectabilidad de lesiones intra y extramedulares no son

dilucidables dada la ausencia de biopsias para analizar su naturaleza inmunohistoquímica/molecular. En la literatura, únicamente una publicación (107) confirma la mayor especificidad de la ^{11}C -MET mediante biopsia, si bien las limitaciones de dicho estudio son el número de pacientes reducido y la falta de datos de los mecanismos biológicos subyacentes.

5 VALORACIÓN DE RESPUESTA CON ^{18}F -FDG Y ^{11}C -MET

En el subgrupo de pacientes con estudio PET/TC con doble trazador para evaluar la respuesta al tratamiento, si bien el índice Kappa de concordancia entre ambos trazadores resultó bueno y superior al observado al diagnóstico ($\kappa = 0.625$ vs. $\kappa = 0.361$, $p < 0.01$), se observaron discordancias en cuatro pacientes con lesiones detectadas con ^{11}C -MET y sin enfermedad metabólicamente activa en el estudio ^{18}F -FDG, uno de ellos en respuesta completa estricta con enfermedad mínima residual positiva y los otros 3 en respuesta completa estricta con EMR negativa, respuesta completa estricta y muy buena respuesta parcial. Sin embargo, durante el seguimiento ninguno de ellos progresó. Además, se encontró una mejor concordancia de ^{18}F -FDG PET/TC con la respuesta clínica e inmunofenotípica, de manera que, de 13 pacientes en respuesta completa estricta, el PET/TC con ^{18}F -FDG resultó positivo únicamente en 4 pacientes (31%), a diferencia del ^{11}C -MET PET/TC que resultó positivo en 7 pacientes (54%). Durante el seguimiento, dos pacientes ^{11}C -MET PET/TC positivos progresaron, falleciendo uno de ellos en un corto periodo de tiempo.

Si bien publicaciones basadas en estudios en modelos *in vitro* e *in vivo* (130) sugieren que la MET es superior a la FDG en la valoración precoz de respuesta a terapia y que los cambios precoces en el PET MET poseen valor pronóstico y predicen respuesta, únicamente una publicación reciente (134) aborda el papel del PET con ^{11}C -Metionina en pacientes con mieloma remitidos para valoración de respuesta. En esta publicación, 27 pacientes con mieloma fueron remitidos para PET/TC con doble trazador (MET y FDG) en el día + 100 post-TASPE, alcanzando la mayoría (16/27, 60%) respuesta completa. Sin embargo, se observó un mayor número de captaciones focales patológicas con la ^{11}C -Metionina que con la ^{18}F -FDG (67% vs. 37%), siendo estos resultados similares a los presentes en esta tesis doctoral (54% vs. 31%).

Por otra parte, en el estudio comparativo entre los hallazgos de la enfermedad mínima residual y el PET/TC con ^{11}C -Metionina y con ^{18}F -FDG, un paciente presentó enfermedad mínima residual positiva y lesiones activas detectables únicamente mediante ^{11}C -Metionina, persistiendo la detección de células malignas por citometría de flujo durante el seguimiento a pesar de tratamiento con el esquema terapéutico estándar (Bortezomib, Lenalidomida, Dexametasona). Dichos hallazgos sugieren la mayor sensibilidad del trazador aminoacídico en la valoración de respuesta y en la detección de enfermedad mínima residual por imagen, dado que diagnostica lesiones compatibles con enfermedad activa que la ^{18}F -FDG PET/TC no detecta. Estos hallazgos resultan concordantes con lo postulado en la literatura (104). En la citada publicación, de 10 pacientes tratados sin elevación de componente M, cinco mostraron enfermedad activa en el PET con ^{11}C -Metionina, cuatro de ellos verdaderos positivos, por lo que se concluye que el PET/TC con ^{11}C -Metionina puede resultar útil en respuesta incluso en MM oligosecretor o no secretor. Si las discordancias ^{11}C -MET/ ^{18}F -FDG en la valoración de respuesta y enfermedad mínima residual poseen valor pronóstico como se ha descrito para la ^{18}F -FDG PET/TC (56) es un aspecto aún sin dilucidar que ha de ser objeto de futuros análisis con un tamaño muestral superior al empleado en esta tesis doctoral.

6 INFILTRACIÓN DE MÉDULA ÓSEA

El propósito de este objetivo fue estudiar la correlación de los parámetros semicuantitativos de captación en médula ósea, obtenidos con ambos radiofármacos, con el porcentaje de infiltración tumoral de médula ósea obtenido mediante biopsia de médula ósea y citometría de flujo.

En el grupo de pacientes estudiados en esta tesis doctoral, el hecho de que solamente los parámetros obtenidos mediante ^{11}C -Metionina se correlacionen con la infiltración de células plasmáticas en médula ósea podría indicar que el trazador aminoacídico refleja mejor la carga tumoral, como se postula en un trabajo publicado recientemente (106). En dicha publicación, la MET resultó positiva en pacientes con MM no secretor y el SUV_{mean} y el SUV_{max} del PET con ^{11}C -Metionina demostraron superior grado de correlación con el porcentaje de infiltración de médula ósea que la ^{18}F -FDG ($r= 0.88-0.90$ vs. $r= 0.58-0.60$), corroborando la noción

de que la captación del trazador aminoacídico puede deberse al anabolismo tumoral y, por tanto, reflejar la verdadera carga tumoral.

Sin embargo, la elevada captación medular presente de forma fisiológica en el estudio PET/TC con ^{11}C -Metionina puede suponer una limitación a la hora de valorar la infiltración tumoral, pudiendo resultar en pérdida de detección de enfermedad en pacientes con un grado muy leve/leve de infiltración medular (104). A este respecto, un trabajo previo (103) ha considerado como cohorte control a pacientes con hiperparatiroidismo primario o secundario, evidenciando valores de SUV_{max} significativamente inferiores a los de pacientes con mieloma múltiple no tratado (1.8 ± 0.3 vs. 4.3 ± 2.0 , $p = 0.001$). Nuestros resultados en una cohorte de pacientes con hiperparatiroidismo primario (HPTP) son concordantes con los publicados (4.5 ± 1 en HPTP frente a 5.94 ± 2.43 en Mieloma, $p < 0.001$), aunque hallando valores superiores de SUV_{max} de la captación vertebral lumbar tanto en pacientes con HPTP como con Mieloma. Sin embargo, ha de considerarse que en nuestro grupo control con hiperparatiroidismo no se excluyeron otros desórdenes hematológicos no relacionados con las discrasias plasmáticas como, por ejemplo, la anemia en el momento de la exploración. A este respecto, el cálculo de ratios tumor/fondo como los empleados en esta tesis doctoral (SUV_{max} médula ósea/ SUV_{max} hepático, SUV_{max} lumbar/ SUV_{max} hepático, SUV_{max} pala iliaca/ SUV_{max} hepático), puede ayudar a diferenciar captación patológica de fisiológica, máxime teniendo en cuenta que éstos mostraron correlación moderada con la infiltración por células plasmáticas tumorales en médula ósea.

7 CORRELACIÓN DE ^{18}F -FDG Y ^{11}C -MET CON PARÁMETROS ANALÍTICOS

El objetivo de explorar la correlación de la captación tumoral de ^{11}C -Metionina y ^{18}F -FDG PET/TC con las características basales de los pacientes y hallazgos de laboratorio se planteó debido a que en un trabajo previo (106) se observó independencia de los resultados del ^{11}C -Metionina PET/TC y parámetros de laboratorio como el FLC o el componente M. A diferencia de los resultados publicados previamente, en la presente tesis doctoral se observó correlación entre el SUV_{max} de la lesión focal de mayor actividad y la B2M ($r = 0.33$), entre el SUV_{max}

en médula ósea y la B2M ($r= 0.38$) y entre el SUV_{max} en la lesión extramedular de mayor actividad y el componente M ($r=0.54$) y los niveles de FLC ($r=0.71$).

Por el contrario, en el caso del PET/TC con ^{18}F -FDG, sólo se observó correlación entre el SUV_{max} de médula ósea y la B2M ($r= 0.40$), y entre el SUV_{max} de la lesión extramedular de mayor actividad con el componente M ($r=0.973$), esta última cercana a la correlación perfecta positiva. Estos hallazgos pueden indicar que la ^{11}C -Metionina refleja la verdadera carga tumoral, hecho corroborado por la mejor correlación de la captación iliaca con el grado de infiltración de células plasmáticas malignas.

8 VALOR PRONÓSTICO

Por último, en este objetivo se evaluó el impacto pronóstico de las variables visuales y semicuantitativas obtenidas de los estudios de ^{18}F -FDG y ^{11}C -MET PET/CT realizados basalmente.

En la presente tesis doctoral, se confirma la asociación pronóstica del número de lesiones focales superior a 3 ó 10 en el ^{18}F -FDG PET/TC, así como de la enfermedad extramedular. Además, se obtuvo asociación pronóstica de valores de de TMTV en ^{18}F -FDG PET/TC superiores a 210 cm^3 . Dichos hallazgos son concordantes con los presentados por McDonald y cols (72), observando en nuestra serie una mayor asociación pronóstica con el TMTV que con el número de lesiones focales (HR: 3.68 vs. 2.65). En relación a los parámetros derivados del estudio de ^{11}C -Metionina PET/TC, se observó asociación pronóstica del TMTV, TLMU (equivalente al término TLG) y enfermedad extramedular en el estudio de extensión, no así en el caso del número de lesiones focales o los valores SUV_{max} .

En el análisis multivariante, el efecto del número de lesiones focales superior a 10 o valores de TMTV en el estudio ^{18}F -FDG PET/TC superiores a 210 cm^3 se mantuvo tras ajustar por la citogenética y el ISS. Por el contrario, las variables derivadas del ^{11}C -Metionina PET/TC no demostraron asociación pronóstica para la supervivencia libre de progresión.

Por tanto, a semejanza de publicaciones previas como la de Bartel y cols (69) y Zamagni y cols (70), la presencia de enfermedad extramedular al diagnóstico, junto con el número de lesiones focales superiores a 3 confirman su valor pronóstico en esta tesis doctoral, no evidenciando en nuestra serie valor pronóstico del SUV_{max} a diferencia de las citadas publicaciones. En lo que a los nuevos biomarcadores

respecta, se confirma el impacto pronóstico de cifras de TMTV superiores a 210 cm³ en el ¹⁸F-FDG PET/TC, dicho valor descrito previamente por McDonald y cols (72), con una Hazard Ratio inferior en nuestro caso (3.69 vs. 5.79), no encontrando sin embargo valor pronóstico del resto de biomarcadores de carga tumoral valorados por el grupo de Little Rock (TLG> 205 g, TLG> 620 g). En cuanto a los biomarcadores tumorales en el PET/TC con ¹¹C-Metionina, no resulta posible comparar nuestros resultados con los de otros grupos dado que no existe literatura acerca del valor pronóstico de dicho trazador en mieloma.

Debido al carácter heterogéneo de la serie y al uso de variadas estrategias terapéuticas de estos pacientes, no resulta posible dilucidar si el hecho de que los parámetros PET con valor pronóstico conocido en ¹⁸F-FDG no resulten predictores de supervivencia en el PET/TC con ¹¹C-Metionina se debe a que existan otros puntos de corte para este trazador. A favor de este argumento, se conoce que el SUV_{max} de las lesiones metabólicamente activas en la ¹¹C-Metionina resulta a menudo superior al de la ¹⁸F-FDG y que la ¹¹C-Metionina se acumula en médula ósea de forma fisiológica. Por ello, la búsqueda de un punto de corte para la interpretación de los estudios PET/TC con ¹¹C-Metionina resulta mandatorio a fin de evaluar si este trazador posee impacto pronóstico. En nuestra serie, sí se puede objetivar una tendencia en este sentido, apreciándose peor evolución en pacientes con cargas tumorales superiores. Sin embargo, el escaso tamaño muestral y el bajo número de eventos (progresiones y/o muertes) detectados hacen difícil dirimir esta cuestión.

9 LIMITACIONES

- En la valoración de pacientes con MM al diagnóstico/reestadificación, a pesar de haber hallado discordancias en la detectabilidad de lesiones intra y extramedulares, con lesiones detectadas únicamente por la ¹¹C-Metionina, no resulta posible analizar su naturaleza inmunohistoquímica/molecular dada la ausencia de biopsias.
- En los pacientes en respuesta, la ¹¹C-Metionina presenta un mayor número de captaciones focales patológicas que la ¹⁸F-FDG. A pesar de estos resultados, el tamaño muestral reducido en esta tesis doctoral y en la

literatura existente hasta la fecha (n= 27) dificulta establecer conclusiones acerca del rol del PET/TC con ^{11}C -Metionina en la valoración de respuesta.

- La elevada captación medular fisiológica en el PET/TC con ^{11}C -Metionina supone una limitación a la hora de valorar la infiltración tumoral, pudiendo resultar en pérdida de detección de enfermedad en pacientes con un grado muy leve/leve de infiltración medular. Sin embargo, análisis comparativos de pacientes con MM y % de infiltración en MO > 10% muestran valores superiores de SUV_{max} que pacientes sin discrasias plasmáticas, por lo que la elevada captación medular no supone en si una contraindicación para su uso en esta indicación.
- Es necesario el estudio de la ^{11}C -Metionina en un mayor número de pacientes para concluir si esta posee o no valor pronóstico, tal y como se ha reportado en el caso del PET/TC con ^{18}F -FDG.

10 LÍNEAS DE FUTURO

- En el modelo preclínico, las discordancias en el modelo *in vivo* con respecto al modelo *in vitro* y a otras publicaciones hacen mandatorio el estudio inmunohistoquímico/molecular de las discordancias, aspecto de difícil ejecución dado el tamaño tumoral y la ausencia de diferenciación clara a nivel macroscópico de las regiones ^{18}F -FDG negativas, ^{11}C -Metionina positivas.
- En pacientes, el valor pronóstico de las discordancias ^{11}C -MET/ ^{18}F -FDG en la valoración de respuesta y enfermedad mínima residual es un aspecto prometedor a evaluar en futuros análisis con tamaño muestral superior al empleado en esta tesis doctoral.
- Otro aspecto a valorar en investigaciones futuras incluiría el estudio de la enzima hexokinasa II y transportadores (LAT1, etc) así como la consideración de las diferencias/similitudes de los pacientes sin enfermedad activa en el ^{18}F -FDG PET/TC con lesiones detectables por ^{11}C -Metionina a fin de concluir qué pacientes son candidatos al estudio mediante ^{11}C -Metionina como trazador único a pesar de su menor disponibilidad.

- Por último, consideramos que el estudio de los pacientes con mieloma quiescente con positividad en el estudio PET/TC de ^{11}C -Metionina sin hallazgos en el estudio de ^{18}F -FDG resulta asimismo de interés dado que se desconoce el papel del primer trazador en esta situación clínica. En nuestra experiencia, dos pacientes con PET/TC ^{11}C -Metionina positivo/ ^{18}F -FDG negativo mostraron una peor evolución con respecto a aquellos pacientes que tenían resultados negativos con ambos trazadores, si bien no resulta posible establecer conclusiones dado que podrían corresponder a hechos aislados.

VI. CONCLUSIONES

1. La línea tumoral RPMI8226 demuestra una mayor retención *in vitro* de ^{11}C -Metionina que de ^{18}F -FDG, comportamiento análogo al observado en pacientes con mieloma.
2. En base a la experiencia tras la realización de esta tesis doctoral, se desaconseja el uso de la ^{11}C -Colina en el modelo murino de mieloma con las líneas celulares RPMI8226 y MM1S. La ^{18}F -FDG y la ^{11}C -Metionina detectan todos los tumores y la captación de ^{18}F -FDG es superior a la de ^{11}C -Metionina en los tumores RPMI8226 y similar en los tumores MM1S.
3. En el modelo murino de mieloma, tanto la ^{18}F -FDG como la ^{11}C -Metionina permiten realizar la valoración de respuesta a tratamientos frecuentemente empleados en mieloma (bortezomib, lenalidomida, dexametasona), confirmando que la triple terapia consigue un mayor control tumoral que el bortezomib en monoterapia.
4. La ^{11}C -Metionina detecta infiltración tumoral en un 11% de pacientes con mieloma y PET ^{18}F -FDG negativo, identificando y detectando mayor número de lesiones que la ^{18}F -FDG en la mayoría de pacientes.
5. Existe mayor detectabilidad de lesiones con ^{11}C -Metionina en la valoración de respuesta y en la detección de enfermedad mínima residual, siendo 1.75 veces más probable encontrar lesiones focales patológicas con ^{11}C -Metionina que con ^{18}F -FDG.
6. Dado que la captación de ^{11}C -Metionina demuestra correlación con la infiltración de células plasmáticas de médula ósea, refleja la carga tumoral medular mejor que la ^{18}F -FDG. No obstante, ha de tenerse en cuenta que su elevada captación medular fisiológica puede suponer una limitación para la valoración, por lo que el cálculo de ratios respecto a la actividad hepática puede resultar de utilidad.
7. La correlación de los parámetros PET con ^{11}C -Metionina con parámetros clínicos y analíticos, a diferencia de la ^{18}F -FDG, parece indicar que este radiotrazador refleja mejor la carga tumoral total.

8. Se confirma el valor pronóstico de la presencia de enfermedad extramedular y de más de 3 lesiones focales, así como del biomarcador TMTV en ^{18}F -FDG PET. Por primera vez, en esta tesis doctoral se postula el valor pronóstico en ^{11}C -MET PET de la enfermedad extramedular y de los biomarcadores TMTV y TLMU.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Kyle RA. Multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2004;351(2):1860–73.
2. Brenner H, Gondas A, Pulte D. Recent major improvement in long-term survival of younger patients with multiple myeloma. *Blood*. 2008;111(5):2521–6.
3. Kumar SK, Rajkumar SV, Dispenzieri A, Lacy MQ, Hayman SR, Buadi FK, et al. Improved survival in multiple myeloma and the impact of novel therapies. *Blood*. 2008;111(5):2516–20.
4. Palumbo A. Multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2011;364:1046–60.
5. Hallek M, et al. Multiple myeloma: increasing evidence for a multistep transformation process. *Blood*. 1998;91(1):1–16.
6. Giada Bianchi. Pathogenesis beyond the cancer clone(s) in multiple myeloma. *Blood*. 2016;125(20):1–11.
7. ROBERT A. KYLE, FRANCIS BUADI and SVR. Management of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance (MGUS) and Smoldering Multiple Myeloma (SMM). *Oncology*. 2011;25(7):578–86.
8. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* [Internet]. 2014;15(12):e538–48. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)70442-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(14)70442-5)
9. Roman Hajek. Strategies for the Treatment of Multiple Myeloma in 2013: Moving Toward the Cure. *Intech* [Internet]. 2013;13. Available from: <https://www.intechopen.com/predownload/43700>
10. Kocoglu M, Badros A. The role of immunotherapy in multiple myeloma. *Pharmaceuticals*. 2016;9(1).
11. Avet-Loiseau H, Attal M, Moreau P, Charbonnel C, Garban F, Hulin C, et al. Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma: The experience of the Intergroupe Francophone du Myélome. *Blood*. 2007;109(8):3489–95.
12. Palumbo A, Avet-Loiseau H, Oliva S, Lokhorst HM, Goldschmidt H, Rosinol L, et al. Revised international staging system for multiple myeloma: A report from international myeloma working group. *J Clin Oncol*. 2015;33(26).
13. Bergsagel PL, Kuehl WM. Molecular pathogenesis and a consequent classification of multiple myeloma. *J Clin Oncol*. 2005;23(26):6333–8.
14. Kuehl WM, Burington BP. Multiple myeloma: evolving genetic events and host

- interactions. *Nat Rev Cancer*. 2002;2(3):175–87.
15. Chan NC CN. Recurrent cytogenetic abnormalities in Multiple Myeloma. *Methods Molecular Biology*. *Methods Mol Biol*. 2017;1541:295–302.
 16. García-sanz R, Mateos MV, San Miguel JF. Mieloma múltiple. *Med Clin*. 2007;129(3):104–15.
 17. Boersma-Vreugdenhil GR, Kuipers J, Van Stralen E, Peeters T, Michaux L, Hagemeyer A, et al. The recurrent translocation t(14;20)(q32;q12) in multiple myeloma results in aberrant expression of MAFB: A molecular and genetic analysis of the chromosomal breakpoint. *Br J Haematol*. 2004;126(3):355–63.
 18. Ross FM, Chiecchio L, Dagrada G, Protheroe RKM, Stockley DM, Harrison CJ, et al. The t(14;20) is a poor prognostic factor in myeloma but is associated with long-term stable disease in monoclonal gammopathies of undetermined significance. *Haematologica*. 2010;95(7):1221–5.
 19. Aldo M. Roccaro. MicroRNAs 15a and 16 regulate tumor proliferation in multiple myeloma. *Blood*. 2009;113(26):6669–80.
 20. RA Kyle and SV Rajkumar. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma. *Leukemia*. 2009;23(1):3–9.
 21. Jonathan J. Keats. Clonal competition with alternating dominance in multiple myeloma. *Blood*. 2012;120(5):1067–76.
 22. Podar K, Tai YT, Lin BK, Narsimhan RP, Sattler M, Kijima T, et al. Vascular endothelial growth factor-induced migration of multiple myeloma cells is associated with β 1 integrin- and phosphatidylinositol 3-kinase-dependent PKC α activation. *J Biol Chem*. 2002;277(10):7875–81.
 23. Yang WC, Lin SF. Mechanisms of Drug Resistance in Relapse and Refractory Multiple Myeloma. *Biomed Res Int*. 2015;2015:341430.
 24. Adams J. The proteasome: A suitable antineoplastic target. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(5):349–60.
 25. Quach H, Ritchie D, Stewart AK, Neeson P, Harrison S, Smyth MJ, et al. Mechanism of action of immunomodulatory drugs (IMiDS) in multiple myeloma. *Leukemia*. 2010;24(1):22–32.
 26. REDECAN. Cancer incidence in Spain 2015. *Clin Transl Oncol*.
 27. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality

- worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394–424.
28. Altekruse SF, Kosary CL, Krapcho M et al. No Title. SEER cancer statistics review, 1975-2007. 2009.
 29. Kristinsson SY, Landgren O, Dickman PW, Derolf ÅR, Björkholm M. Patterns of survival in multiple myeloma: A population-based study of patients diagnosed in Sweden from 1973 to 2003. *J Clin Oncol.* 2007;25(15):1993–9.
 30. Cancer Research UK. Myeloma statistics [Internet]. Available from: www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics-by-cancer-type/myeloma
 31. Marinac CR, Ghobrial IM, Birmann BM, Soiffer J, Rebeck TR. Dissecting racial disparities in multiple myeloma. *Blood Cancer J [Internet].* 2020;10(2). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41408-020-0284-7>
 32. Terpos E, Ntanasis-Stathopoulos I, Gavriatopoulou M, Dimopoulos MA. Pathogenesis of bone disease in multiple myeloma: From bench to bedside. *Blood Cancer J [Internet].* 2018;8(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41408-017-0037-4>
 33. Dimopoulos MA, Terpos E, Chanan-Khan A, Leung N, Ludwig H, Jagannath S, et al. Renal impairment in patients with multiple myeloma: A consensus statement on behalf of the International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol.* 2010;28(33):4976–84.
 34. León GC para el E de GM de C y. Resumen oncoguía mieloma múltiple. 2017;Versión 3.
 35. Ross FM, Avet-Loiseau H, Ameye G, Gutiérrez NC, Liebisch P, O'Connor S, et al. Report from the European myeloma network on interphase FISH in multiple myeloma and related disorders. *Haematologica.* 2012;97(8):1272–7.
 36. Zamagni E, Cavo M. The role of imaging techniques in the management of multiple myeloma. *Br J Haematol.* 2012;159(5):499–513.
 37. Hillengass J, Usmani S, Rajkumar SV, Durie BGM, Mateos MV, Lonial S, et al. International myeloma working group consensus recommendations on imaging in monoclonal plasma cell disorders. *Lancet Oncol.* 2019;20(6):e302–12.
 38. Edelstyn GA, Gillespie PJ. the Demonstration of Osseous Experimental

Observations. *Clin Radiol*. 1967;18(2):158–62.

39. Siontis B, Kumar S, Dispenzieri A, Drake MT, Lacy MQ, Buadi F, et al. Positron emission tomography-computed tomography in the diagnostic evaluation of smoldering multiple myeloma: Identification of patients needing therapy. *Blood Cancer J* [Internet]. 2015;5(10):e364-4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/bcj.2015.87>
40. Hillengass J, Moulopoulos LA, Delorme S, Koutoulidis V, Mosebach J, Hielscher T, et al. Whole-body computed tomography versus conventional skeletal survey in patients with multiple myeloma: A study of the International Myeloma Working Group. *Blood Cancer J* [Internet]. 2017;7(8). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/bcj.2017.78>
41. Pianko MJ, Terpos E, Roodman GD, Divgi CR, Zweegman S, Hillengass J, et al. Whole-body low-dose computed tomography and advanced imaging techniques for multiple myeloma bone disease. *Clin Cancer Res*. 2014;20(23):5888–97.
42. Barwick T, Bretszajn L, Wallitt K, Amiras D, Rockall A, Messiou C. Imaging in myeloma with focus on advanced imaging techniques. *Br J Radiol*. 2019;92(1096).
43. Ippolito D, Besostri V, Bonaffini PA, Rossini F, Di Lelio A, Sironi S. Diagnostic value of whole-body low-dose computed tomography(WBLDCT) in bone lesions detection in patients with multiplemyeloma (MM). *Eur J Radiol* [Internet]. 2013;82(12):2322–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejrad.2013.08.036>
44. Tagliafico AS, Cea M, Rossi F, Valdora F, Bignotti B, Succio G, et al. Differentiating diffuse from focal pattern on Computed Tomography in multiple myeloma: Added value of a Radiomics approach. *Eur J Radiol*. 2019;121(September).
45. Matsue K, Kobayashi H, Matsue Y, Abe Y, Narita K, Kitadate A, et al. Prognostic significance of bone marrow abnormalities in the appendicular skeleton of patients with multiple myeloma. *Blood Adv*. 2018;2(9):1032–9.
46. Cretti F, Perugini G. Patient dose evaluation for the whole-body low-dose multidetector CT (WBLDMDCT) skeleton study in multiple myeloma (MM). *Radiol Medica*. 2016;121(2):93–105.
47. NICE guideline. Myeloma: diagnosis and management [Internet]. 2016.

Available from: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng35>

48. Dimopoulos MA, Hillengass J, Usmani S, Zamagni E, Lentzsch S, Davies FE, et al. Role of magnetic resonance imaging in the management of patients with multiple myeloma: A consensus statement. *J Clin Oncol*. 2015;33(6):657–64.
49. Baur-Melnyk A, Buhmann S, Dürr HR, Reiser M. Role of MRI for the diagnosis and prognosis of multiple myeloma. *Eur J Radiol*. 2005;55(1):56–63.
50. Kloth JK, Hillengass J, Listl K, Kilk K, Hielscher T, Landgren O, et al. Appearance of monoclonal plasma cell diseases in whole-body magnetic resonance imaging and correlation with parameters of disease activity. *Int J Cancer*. 2014;135(10):2380–6.
51. Mai EK, Hielscher T, Kloth JK, Merz M, Shah S, Hillengass M, et al. Association between magnetic resonance imaging patterns and baseline disease features in multiple myeloma: analyzing surrogates of tumour mass and biology. *Eur Radiol*. 2016;26(11):3939–48.
52. Walker R, Barlogie B, Haessler J, Tricot G, Anaissie E, Shaughnessy JD, et al. Magnetic resonance imaging in multiple myeloma: Diagnostic and clinical implications. *J Clin Oncol*. 2007;25(9):1121–8.
53. Pearce T, Philip S, Brown J, Koh DM, Burn PR. Bone metastases from prostate, breast and multiple myeloma: Differences in lesion conspicuity at short-tau inversion recovery and diffusion-weighted MRI. *Br J Radiol*. 2012;85(1016):1102–6.
54. Messiou C, Kaiser M. Whole body diffusion weighted MRI - a new view of myeloma. *Br J Haematol*. 2015;171(1):29–37.
55. Koutoulidis V, Fontara S, Terpos E, Zagouri F, Matsaridis D, Christoulas D, et al. Quantitative diffusion-weighted imaging of the bone marrow: An adjunct tool for the diagnosis of a diffuse MR imaging pattern in patients with multiple myeloma. *Radiology*. 2017;282(2):484–93.
56. Moreau P, Attal M, Caillot D, Macro M, Karlin L, Garderet L, et al. Prospective evaluation of magnetic resonance imaging and [18F]fluorodeoxyglucose positron emission tomography-computed tomography at diagnosis and before maintenance therapy in symptomatic patients with multiple myeloma included in the IFM/DFCI 2009 trial. *J Clin Oncol*. 2017;35(25):2911–8.

57. Ippolito D, Talei Franzesi C, Spiga S, Besostri V, Pezzati S, Rossini F, et al. Diagnostic value of whole-body ultra-low dose computed tomography in comparison with spinal magnetic resonance imaging in the assessment of disease in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2017;177(3):395–403.
58. Dammacco F, Rubini G, Ferrari C, Vacca A, Racanelli V. 18F-FDG PET/CT: a review of diagnostic and prognostic features in multiple myeloma and related disorders. *Clin Exp Med*. 2014;15(1):1–18.
59. Lu YY, Chen JH, Lin WY, Liang JA, Wang HY, Tsai SC, et al. FDG PET or PET/CT for detecting intramedullary and extramedullary lesions in multiple myeloma: A systematic review and meta-analysis. *Clin Nucl Med*. 2012;37(9):833–7.
60. Moreau P, Attal M, Karlin L, Garderet L, Facon T, Macro M, et al. Prospective Evaluation of MRI and PET-CT at Diagnosis and before Maintenance Therapy in Symptomatic Patients with Multiple Myeloma Included in the IFM/DFCI 2009 Trial. *Blood* [Internet]. 2015 [cited 2017 Aug 8];126(23). Available from: <http://www.bloodjournal.org/content/126/23/395>
61. Nanni C, Zamagni E, Versari A, Chauvie S, Bianchi A, Rensi M, et al. Image interpretation criteria for FDG PET/CT in multiple myeloma: a new proposal from an Italian expert panel. IMPeTUs (Italian Myeloma criteria for PET USE). *Eur J Nucl Med Mol Imaging* [Internet]. 2016 [cited 2017 Aug 8];43. Available from: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs00259-015-3200-9.pdf>
62. Meignan M, Gallamini A, Haioun C. Report on the First International Workshop on interim-PET scan in lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2009;50(8):1257–60.
63. Mesguich C, Fardanesh R, Tanenbaum L, Chari A, Jagannath S, Kostakoglu L. State of the art imaging of multiple myeloma: Comparative review of FDG PET/CT imaging in various clinical settings. *Eur J Radiol* [Internet]. 2014 [cited 2017 Aug 8];83:2203–23. Available from: http://ac.els-cdn.com/S0720048X14004550/1-s2.0-S0720048X14004550-main.pdf?_tid=929f09a6-7c1d-11e7-91ee-00000aacb35e&acdnat=1502185391_5c8d2a329634ca017ed90226e05cbb03
64. van Lammeren-Venema D, Regelink JC, Riphagen II, Zweegman S, Hoekstra OS, Zijlstra JM. 18F-fluoro-deoxyglucose positron emission tomography in

- assessment of myeloma-related bone disease: A systematic review. *Cancer* [Internet]. 2012 Apr 15 [cited 2017 Aug 8];118(8):1971–81. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/cncr.26467>
65. Fonti R, Salvatore B, Quarantelli M, Sirignano C, Segreto S, Petruzzello F, et al. 18F-FDG PET/CT, 99mTc-MIBI, and MRI in evaluation of patients with multiple myeloma. *J Nucl Med*. 2008;49(2):195–200.
 66. Fonti R, Pace L, Cerchione C, Catalano L, Salvatore B, De Luca S, et al. 18F-FDG PET/CT, 99mTc-MIBI, and MRI in the prediction of outcome of patients with multiple myeloma: A comparative study. *Clin Nucl Med*. 2015;40(4):303–8.
 67. Zamagni E, Nanni C, Patriarca F, Englaro E, Castellucci P, Geatti O, et al. A prospective comparison of 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography-computed tomography, magnetic resonance imaging and whole-body planar radiographs in the assessment of bone disease in newly diagnosed multiple myeloma. *Haematologica* [Internet]. 2007 [cited 2017 Aug 8];92(1). Available from: <http://www.haematologica.org/content/92/1/50.full.pdf+html>
 68. Rasche L, Angtuaco E, McDonald JE, Buros A, Stein C, Pawlyn C, et al. Low expression of hexokinase-2 is associated with false-negative FDG-positron emission tomography in multiple myeloma. *Blood*. 2017;130(1):30–4.
 69. Bartel TB, Haessler J, Brown TLY, Shaughnessy JD, Van Rhee F, Anaissie E, et al. F18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography in the context of other imaging techniques and prognostic factors in multiple myeloma. *Blood*. 2009;114(10):2068–76.
 70. Zamagni E, Patriarca F, Nanni C, Zannetti B, Englaro E, Pezzi A, et al. Prognostic relevance of 18-F FDG PET/CT in newly diagnosed multiple myeloma patients treated with up-front autologous transplantation. *Blood*. 2011;118(23):5989–95.
 71. Fonti R, Larobina M, Del Vecchio S, De Luca S, Fabbricini R, Catalano L, et al. Metabolic tumor volume assessed by 18F-FDG PET/CT for the prediction of outcome in patients with multiple myeloma. *J Nucl Med*. 2012;53(12):1829–35.
 72. James E McDonald, Marcus M Kessler, Michael W Gardner, Amy F Buros, James A Ntambi, Sarah Waheed, Frits van Rhee, Maurizio Zangari, Christoph

- J Heuck, Nathan Petty, Carolina Schinke, Sharmilan Thanendrarajan, Alan Mitchell, Antje Hoering, Bart Barlogie, G and FED. Assessment of Total Lesion Glycolysis by 18F FDG PET/CT Significantly Improves Prognostic Value of GEP and ISS in Myeloma. *Clin Cancer Res.* 2017;23(8):1981–7.
73. Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, Larson DR, Plevak MF, Offord JR, Dispenzieri A, Katzmann JA ML 3rd. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med.* 2006;354(13):1362. – 1369.
 74. Kyle RA, Larson DR, Therneau TM, Dispenzieri A, Kumar S, Cerhan JR, et al. Long-term follow-up of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med.* 2018;378(3):241–9.
 75. Hillengass J, Weber MA, Kilk K, Listl K, Wagner-Gund B, Hillengass M, et al. Prognostic significance of whole-body MRI in patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Leukemia* [Internet]. 2014;28(1):174–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/leu.2013.244>
 76. Hillengass J, Ritsch J, Merz M, Wagner B, Kunz C, Hielscher T, et al. Increased microcirculation detected by dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging is of prognostic significance in asymptomatic myeloma. *Br J Haematol.* 2016;174(1):127–35.
 77. Rajumar, S.V.; Larson, D.; Kyle RA. Diagnosis of smoldering multiple myeloma. *N Engl J Med.* 2011;365:474–5.
 78. JT Larsen, SK Kumar, A Dispenzieri, RA Kyle, JA Katzmann SRa. Serum free light chain ratio as a biomarker for high-risk smoldering multiple myeloma. *Leukemia.* 2013;27(4):941–6.
 79. Hillengass J, Fechtner K, Weber MA, Bäuerle T, Ayyaz S, Heiss C, et al. Prognostic significance of focal lesions in whole-body magnetic resonance imaging in patients with asymptomatic multiple myeloma. *J Clin Oncol.* 2010;28(9):1606–10.
 80. Kastritis E, Mouloupoulos LA, Terpos E, Koutoulidis V, Dimopoulos MA. The prognostic importance of the presence of more than one focal lesion in spine MRI of patients with asymptomatic (smoldering) multiple myeloma. *Leukemia* [Internet]. 2014;28(12):2402–3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/leu.2014.230>
 81. Merz M, Hielscher T, Wagner B, Sauer S, Shah S, Raab MS, et al. Predictive value of longitudinal whole-body magnetic resonance imaging in patients with

- smoldering multiple myeloma. *Leukemia*. 2014;28(9):1902–8.
82. Zamagni E, Nanni C, Gay F, Pezzi A, Patriarca F, Bellò M, et al. 18F-FDG PET/CT focal, but not osteolytic, lesions predict the progression of smoldering myeloma to active disease. *Leukemia*. 2016;30(2):417–22.
 83. Durie BGM. The role of anatomic and functional staging in myeloma: Description of Durie/Salmon plus staging system. *Eur J Cancer*. 2006;42(11):1539–43.
 84. Greipp PR, Miguel JS, Dune BGM, Crowley JJ, Barlogie B, Bladé J, et al. International staging system for multiple myeloma. *J Clin Oncol*. 2005;23(15):3412–20.
 85. Mateos MV, Hernández MT, Giraldo P, de la Rubia J, de Arriba F, Corral LL, et al. Lenalidomide plus dexamethasone versus observation in patients with high-risk smoldering multiple myeloma (QuiRedex): long-term follow-up of a randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* [Internet]. 2016;17(8):1127–36. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(16\)30124-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(16)30124-3)
 86. Lonial S, Jacobus S, Fonseca R, Weiss M, Kumar S, Orlowski RZ, et al. Randomized trial of lenalidomide versus observation in smoldering multiple myeloma. *J Clin Oncol*. 2020;38(11):1126–37.
 87. Moreau P, San Miguel J, Sonneveld P, Mateos M V., Zamagni E, Avet-Loiseau H, et al. Multiple myeloma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2017;28:iv52–61.
 88. S. Vincent Rajkumar and SK. Multiple Myeloma: Diagnosis and Treatment. *Mayo Clin Proc*. 2016;91(1):101–19.
 89. Cavo M, Rajkumar SV, Palumbo A, Moreau P, Orlowski R, Blade J, et al. IMWG consensus approach to the treatment of multiple myeloma patients who are candidates for autologous SCT. *Blood*. 2011;117(23):6063–73.
 90. Mateos M-V, Ludwig H, Bazarbachi A, Beksac M, Bladé J, Boccadoro M, et al. Insights on Multiple Myeloma Treatment Strategies. *HemaSphere*. 2019;3(1):e163.
 91. Mina R, Lonial S. Is there still a role for stem cell transplantation in multiple myeloma? *Cancer*. 2019;125(15):2534–43.
 92. Kumar S, Paiva B, Anderson KC, Durie B, Landgren O, Moreau P, et al.

International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma [Internet]. Vol. 17, *The Lancet Oncology*. 2016 [cited 2017 Aug 8]. p. e328–46. Available from: http://ac.els-cdn.com/S1470204516302066/1-s2.0-S1470204516302066-main.pdf?_tid=7fd00b64-7c1c-11e7-bcea-00000aacb35f&acdnat=1502184930_aed092c8c6204497c73ae8de492ab893

93. Usmani SZ, Mitchell A, Waheed S, Crowley J, Hoering A, Petty N, et al. PROGNOSTIC IMPLICATIONS OF SERIAL 18-FLUORO-DEOXYGLUCOSE EMISSION TOMOGRAPHY IN MULTIPLE MYELOMA TREATED WITH TOTAL THERAPY 3. 2013 [cited 2017 Aug 8]; Available from: www.bloodjournal.org
94. Davies FE, Rosenthal A, Rasche L, Petty NM, McDonald JE, Ntambi JA, et al. Treatment to suppression of focal lesions on positron emission tomography-computed tomography is a therapeutic goal in newly diagnosed multiple myeloma. *Haematologica*. 2018;103(6):1047–53.
95. Mouloupoulos LA, Dimopoulos MA, Alexanian R, Leeds NE, Libshitz HI. Multiple myeloma: MR patterns of response to treatment. *Radiology*. 1994;193(2):441–6.
96. Hillengass J, Ayyaz S, Kilk K, Weber MA, Hielscher T, Shah R, et al. Changes in magnetic resonance imaging before and after autologous stem cell transplantation correlate with response and survival in multiple myeloma. *Haematologica*. 2012;97(11):1757–60.
97. Horger M, Weisel K, Horger W, Mroue A, Fenchel M, Lichy M. Whole-body diffusion-weighted MRI with apparent diffusion coefficient mapping for early response monitoring in multiple myeloma: Preliminary results. *Am J Roentgenol*. 2011;196(6).
98. Messiou C, Giles S, Collins DJ, West S, Davies FE, Morgan GJ, et al. Assessing response of myeloma bone disease with diffusion-weighted MRI. *Br J Radiol*. 2012;85(1020).
99. Fuccio C, Rubello D, Castellucci P, Marzola MC, Fanti S. Choline PET/CT for prostate cancer: Main clinical applications. *Eur J Radiol*. 2011;80(2):50–6.
100. Ambrosini V, Farsad M, Nanni C, Schiavina R, Rubello D, Castellucci P, et al. Incidental finding of an 11C-choline PET-positive solitary plasmacytoma lesion. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2006;33(12):1522.

101. Nanni C, Zamagni E, Cavo M, Rubello D, Tacchetti P, Pettinato C, et al. 11C-choline vs. 18F-FDG PET/CT in assessing bone involvement in patients with multiple myeloma. *World J Surg Oncol*. 2007;5:1–7.
102. Cassou-Mounat T, Balogova S, Nataf V, Calzada M, Huchet V, Kerrou K, et al. 18F-fluorocholine versus 18F-fluorodeoxyglucose for PET/CT imaging in patients with suspected relapsing or progressive multiple myeloma: a pilot study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* [Internet]. 2016;43(11):1995–2004. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00259-016-3392-7>
103. Dankerl A, Liebisch P, Glatting G, Friesen C, Blumstein NM, Kocot D, et al. Multiple Myeloma: Molecular Imaging with C-Methionine PET/CT—Initial Experience. *Radiology* [Internet]. 2007 Feb [cited 2017 Aug 8];242(2):498–508. Available from: <http://pubs.rsna.org/doi/10.1148/radiol.2422051980>
104. Nakamoto Y, Kurihara K, Nishizawa M, Yamashita K, Nakatani K, Kondo T, et al. Clinical value of 11 C-methionine PET/CT in patients with plasma cell malignancy: comparison with 18 F-FDG PET/CT. [cited 2017 Aug 8]; Available from: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs00259-012-2333-3.pdf>
105. Okasaki M, Kubota K, Minamimoto R, Miyata Y, Morooka M, Ito K, et al. Comparison of 11C-4'-thiothymidine, 11C-methionine, and 18F-FDG PET/CT for the detection of active lesions of multiple myeloma. *Ann Nucl Med*. 2015;
106. Lapa C, Knop S, Schreder M, Rudelius M, Knott M, Jörg G, et al. C-Methionine-PET in Multiple Myeloma: Correlation with Clinical Parameters and Bone Marrow Involvement. *Theranostics* [Internet]. 2016 [cited 2017 Aug 8];6(62):254–61. Available from: <http://www.thno.org>
107. Lapa C, Garcia-Velloso MJ, Lückerrath K, Samnick S, Schreder M, Rodriguez Otero P, et al. C-Methionine-PET in Multiple Myeloma: A Combined Study from Two Different Institutions. *Theranostics* [Internet]. 2017 [cited 2017 Sep 4];7(711). Available from: <http://www.thno.org>
108. Lapa C, Kircher M, Da Via M, Schreder M, Rasche L, Kortüm KM, et al. Comparison of 11C-Choline and 11C-Methionine PET/CT in Multiple Myeloma. *Clin Nucl Med*. 2019;44(8):620–4.
109. Ho CL, Chen S, Leung YL, Cheng T, Wong KN, Cheung SK, et al. 11C-Acetate PET/CT for metabolic characterization of multiple myeloma: A comparative study with 18F-FDG PET/CT. *J Nucl Med*. 2014;55(5):749–52.

110. Lin C, Ho CL, Ng SH, Wang PN, Huang Y, Lin YC, et al. ¹¹C-Acetate as a new biomarker for PET/CT in patients with multiple myeloma: Initial staging and postinduction response assessment. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2014;41(1):41–9.
111. Lodge MA, Holdhoff M, Leal JP, Bag AK, Nabors LB, Mintz A, et al. Repeatability of ¹⁸F-FLT PET in a multicenter study of patients with high-grade glioma. *J Nucl Med*. 2017;58(3):393–8.
112. Agool A, Slart RHJA, Kluin PM, De Wolf JTM, Dierckx RAJO, Vellenga E. ¹⁸F-FLT PET: A noninvasive diagnostic tool for visualization of the bone marrow compartment in patients with aplastic anemia: A pilot study. *Clin Nucl Med*. 2011;36(4):286–9.
113. Sachpekidis C, Goldschmidt H, Kopka K, Kopp-Schneider A, Dimitrakopoulou-Strauss A. Assessment of glucose metabolism and cellular proliferation in multiple myeloma: a first report on combined ¹⁸F-FDG and ¹⁸F-FLT PET/CT imaging. *EJNMMI Res*. 2018;8.
114. Alsayed Y, Ngo H, Runnels J, Leleu X, Singha UK, Pitsillides CM, et al. Mechanisms of regulation of CXCR4/SDF-1 (CXCL12)-dependent migration and homing in multiple myeloma. *Blood*. 2007;109(7):2708–17.
115. Vance Broek I, Leleu X, Schots R, Facon T, Vanderkerken K, Van Camp B VRI. Clinical significance of chemokine receptor (CCR1, CCR2 and CXCR4) expression in human myeloma cells: the association with disease activity and survival. *Haematologica*. 2006;91(2):200–6.
116. Herrmann K, Schottelius M, Lapa C, Osl T, Poschenrieder A, Hänscheid H, et al. First-in-human experience of CXCR4-directed endoradiotherapy with ¹⁷⁷Lu- and ⁹⁰Y-labeled pentixather in advanced-stage multiple myeloma with extensive intra- and extramedullary disease. *J Nucl Med*. 2016;57(2):248–51.
117. Lapa C, Lückerrath K, Kircher S, Hänscheid H, Grigoleit GU, Rosenwald A, et al. Potential influence of concomitant chemotherapy on CXCR4 expression in receptor directed endoradiotherapy. *Br J Haematol*. 2019;184(3):440–3.
118. Qingqing Pan, Xinxin Cao, Yaping Luo, Jian Li, Jun Feng³, Fang Li^{1 2}. Chemokine receptor-4 targeted PET / CT with ⁶⁸Ga-Pentixafor in assessment of newly diagnosed multiple myeloma : comparison. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2020;47(3):537–46.
119. Bartee, E., Chan, W.M., Moreb, J.S. et al. Selective purging of human multiple

- myeloma cells from autologous stem cell transplantation grafts using oncolytic myxoma virus. *Biol Blood Marrow Transpl.* 2012;18:1540–51.
120. Wu, KD., Zhou, L., Burtrum, D. et al. Antibody targeting of the insulin-like growth factor I receptor enhances the anti-tumor response of multiple myeloma to chemotherapy through inhibition of tumor proliferation and angiogenesis. *Cancer Immunol Immunother.* 2006;56:343–57.
 121. Gazdar, AF., Oie, HK., Kirsch, IR., Hollis G. Establishment and characterization of a human plasma cell myeloma culture having a rearranged cellular myc proto-oncogene. *Blood.* 1986;67(6):1542–9.
 122. Namba, M., Ohtsuki, T., Mori, M. et al, MASAYOSHI NAMBA, TAKEMI OHTSUKI, MASA HARU MORI, ATSUSHI TOGAWA, HIDEHO WADA, TAKASHI SUGIHARA, YOSHIHITO YAWATA ATK. Establishment of five human myeloma cell lines. *Vitr Cell Dev Biol.* 1989;25(8):723–9.
 123. Chandini, M., Thirukkumaran, Z., Nuovo, G. et al. Oncolytic immunotherapy and nortezomib synergy improves survival of refractory multiple myeloma in a preclinical model. *Lymphoid neoplasia.* 2019;
 124. Mitsiades, CS., Mitsiades, NS., Bronson, RT. et al. Fluorescence imaging of multiple myeloma cells in a clinically relevant SCID/NOD in vivo model: biologic and clinical implications. *Cancer Res.* 63:6689–96.
 125. Lückcrath K, Lapa C, Spahmann A, Jörg G, Samnick S, Rosenwald A, et al. Targeting paraprotein biosynthesis for non-invasive characterization of myeloma biology. *PLoS One.* 2013;8(12):1–10.
 126. Jensen MM, Jørgensen JT, Binderup T, Kjær A. Tumor volume in subcutaneous mouse xenografts measured by microCT is more accurate and reproducible than determined by 18F-FDG-microPET or external caliper. *BMC Med Imaging.* 2008;8:1–9.
 127. Kobayashi K, Hirata K, Yamaguchi S, Manabe O, Terasaka S, Kobayashi H, et al. Prognostic value of volume-based measurements on 11C-methionine PET in glioma patients. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2015;42(7):1071–80.
 128. Oprea-Lager DE, Kramer G, Van De Ven PM, Van Den Eertwegh AJM, Van Moorselaar RJA, Schober P, et al. Repeatability of quantitative 18F-Fluoromethylcholine PET/CT studies in prostate cancer. *J Nucl Med.* 2016;57(5):721–7.
 129. Boellaard R, O'Doherty MJ, Weber WA, Mottaghy FM, Lonsdale MN,

- Stroobants SG, et al. FDG PET and PET/CT: EANM procedure guidelines for tumour PET imaging: Version 1.0. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2010;37(1):181–200.
130. Lückerath K, Lapa C, Albert C, Herrmann K, Jörg G, Samnick S, et al. C-Methionine-PET: A novel and sensitive tool for monitoring of early response to treatment in multiple myeloma. *Oncotarget* [Internet]. 2015 [cited 2017 Aug 8];6(10). Available from: www.impactjournals.com/oncotarget
131. Ocio EM, Vilanova D, Atadja P, Maiso P, Crusoe E, Fernández-Lázaro D, et al. In vitro and in vivo rationale for the triple combination of panobinostat (LBH589) and dexamethasone with either bortezomib or lenalidomide in multiple myeloma. *Haematologica* [Internet]. 2010 [cited 2017 Aug 8];95(5). Available from: <http://www.haematologica.org/content/95/5/794.full.pdf+html>
132. Nanni C, Di Leo K, Tonelli R, Pettinato C, Rubello D, Spinelli A, et al. FDG small animal PET permits early detection of malignant cells in a xenograft murine model. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2007;34(5):755–62.
133. Nishizawa M, Nakamoto Y, Tsuyoshi @bullet, @bullet S, Kitano T, Takayuki @bullet, et al. 1 C-Methionine PET/CT for multiple myeloma. [cited 2017 Aug 8]; Available from: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs12185-010-0595-8.pdf>
134. M V Solovev, L P Mendeleeva, M V Firsova, I P Aslanidi, O V Mukhortova VGS. PET/CT with 18F-fluorodeoxyglucose and 11C-methionine after autologous stem cell transplantation in multiple myeloma patients. *Ter Arkh*. 2019;91(7):75–82.

VIII. ADDENDUM

Addendum 1. Informe del Comité de Ética de la Clínica Universidad de Navarra para la aprobación del estudio PET/TC con doble trazador en pacientes.



Doña BEATRIZ GONZÁLEZ G^a DE BORDALLO, Doctora en Filosofía y Letras,
Secretaria Técnica del Comité de Ética de la Investigación de la Universidad de Navarra,

CERTIFICA: Que, en la sesión ordinaria celebrada el día 22/03/2016, el Comité examinó los aspectos éticos del proyecto 161/2015, presentado por la Dra. M^a José García Velloso, como Investigador Principal, titulado:

ESTUDIO DE TOMOGRAFIA POR EMISION DE POSITRONES (PET) MEDIANTE ISFDG Y IIC-MET EN PACIENTES CON TUMORES DE CÉLULAS PLASMÁTICAS

Se revisaron las respuestas del investigador a las cuestiones planteadas por el comité en la sesión ordinaria del día 05/05/2016, tras lo que se dictó un informe favorable para la realización de dicho proyecto, dado que ha considerado que se ajusta a las normas éticas esenciales y a los criterios deontológicos que rigen en este centro.

Y para que así conste, expide el presente certificado en Pamplona, a 11 de mayo de 2016.




A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'B. González', written over a horizontal line.

Dra. Beatriz González
Secretaria Técnica

IX. PUBLICACIONES

ARTICULO

¹⁸F-FDG and ¹¹C-Methionine PET/CT in Newly Diagnosed Multiple Myeloma Patients: Comparison of Volume-Based PET Biomarkers

Maria I Morales-Lozano ¹, Oliver Viering ², Samuel Samnick ², Paula Rodriguez-Otero ³, Andreas K Buck ², Maria Marcos-Jubilar ³, Leo Rasche ⁴, Elena Prieto ¹, K Martin Kortüm ⁴, Jesus San-Miguel ³, Maria J. Garcia-Velloso ^{1,*†} and Constantin Lapa ^{2,5,†}

¹ Department of Nuclear Medicine, University Clinic of Navarra, Center of Applied Medical Research (CIMA), Navarra Institute for Health Research (IDISNA), 31008 Pamplona, Spain; mmlozano@unav.es (M.I.M.-L.); eprietoaz@unav.es (E.P.)

² Department of Nuclear Medicine, University Hospital Würzburg, 97080 Würzburg, Germany; oli4ing@googlemail.com (O.V.); samnick_S@ukw.de (S.S.); buck_a@ukw.de (A.K.B.); Constantin.Lapa@uk-augsburg.de (C.L.)

³ Department of Hematology, University Clinic of Navarra, CIMA, CIBERONC, IDISNA, 31008 Pamplona, Spain; paurodriguez@unav.es (P.R.-O.); mmarcos.3@unav.es (M.M.-J.); sanmiguel@unav.es (J.S.-M.)

⁴ Department of Internal Medicine II, University Hospital Würzburg, 97080 Würzburg, Germany; rasche_I@ukw.de (L.R.); Kortuem_M@ukw.de (K.M.K.)

⁵ Nuclear Medicine, Medical Faculty, University of Augsburg, Stenglinstrasse 2, 86156 Augsburg, Germany

* Correspondence: mjgarciave@unav.es; Tel.: +34-948-255400 (ext. 4948); Fax: +34-948-296500 † These authors contributed equally to this work.



Received: 30 March 2020; Accepted: 21 April 2020; Published: 23 April 2020

Abstract: ¹¹C-methionine (¹¹C-MET) is a new positron emission tomography (PET) tracer for the assessment of disease activity in multiple myeloma (MM) patients, with preliminary data suggesting higher sensitivity and specificity than ¹⁸F-fluorodeoxyglucose (¹⁸F-FDG). However, the value of tumor burden biomarkers has yet to be investigated. Our goals were to corroborate the superiority of ¹¹C-MET for MM staging and to compare its suitability for the assessment of metabolic tumor burden biomarkers in comparison to ¹⁸F-FDG. Twenty-two patients with newly diagnosed, treatment-naïve symptomatic MM who had undergone ¹¹C-MET and ¹⁸F-FDG PET/CT were evaluated. Standardized uptake values (SUV) were determined and compared with total metabolic tumor volume (TMTV) for both tracers: total

lesion glycolysis (TLG) and total lesion ^{11}C -MET uptake (TLMU). PET-derived values were compared to Revised International Staging System (R-ISS), cytogenetic, and serologic MM markers such as M component, beta 2 microglobulin (B2M), serum free light chains (FLC), albumin, and lactate dehydrogenase (LDH). In 11 patients (50%), ^{11}C -MET detected more focal lesions (FL) than FDG ($p < 0.01$). SUVmax, SUVmean, SUVpeak, TMTV, and TLMU were also significantly higher in ^{11}C -MET than in ^{18}F -FDG ($p < 0.05$, respectively). ^{11}C -MET PET biomarkers had a better correlation with tumor burden (bone marrow plasma cell infiltration, M component; $p < 0.05$ versus $p = \text{n.s.}$ respectively). This pilot study suggests that ^{11}C -MET PET/CT is a more sensitive marker for the assessment of myeloma tumor burden than ^{18}F -FDG. Its implications for prognosis evaluation need further investigation.

Keywords: multiple myeloma; methionine; total lesion glycolysis (TLG); metabolic tumor volume (MTV); total lesion methionine uptake (TLMU)

1. Introduction

Multiple myeloma (MM) is a malignant disorder of clonal plasma cells (PCs) that represents approximately 10% of hematological malignancies [1]. Positron emission tomography (PET) in combination with computed tomography (CT) and ^{18}F -fluorodeoxyglucose (^{18}F -FDG) is a well-established imaging technique in MM. It has proven its value in the assessment of tumor burden and disease activity in MM, with sensitivity and specificity ranging from 80% to 100% [2,3]. Additionally, it has demonstrated prognostic impact, and the presence of more than three focal lesions (FL), maximum standardized uptake values (SUVmax) higher than 4.2, or the presence of extramedullary disease are, indeed, predictors of poor prognosis [4,5]. On top of this, post-therapy imaging studies have demonstrated that PET negativity after induction treatment [6,7] or autologous/allogeneic stem cell transplantation (ASCT) [7–10] correlates with longer progression-free survival (PFS). Moreover, new parameters measuring tumor burden in ^{18}F -FDG PET/CT such as metabolic

tumor volume (MTV) and total lesion glycolysis (TLG) have also demonstrated an association with survival in MM patients [11,12]. Furthermore, patients with high TLG had poor outcome even in the context of molecularly defined low-risk disease, highlighting the additional value of novel markers in the assessment of MM.

Nevertheless, ^{18}F -FDG PET/CT is associated with several shortcomings: (1) the sensitivity is poor in patients with diffuse bone marrow (BM) infiltration; (2) ^{18}F -FDG avidity may be absent in patients with low hexokinase-2 expression [13] and specificity is not reliable in inflammatory or infectious lesions. For these reasons, alternative tracers such as ^{11}C -methionine (^{11}C -MET) [14], ^{11}C -choline [15], or radiolabeled C-X-C chemokine receptor 4 ligands [16,17] have been investigated. Several studies have suggested a higher sensitivity of ^{11}C -MET PET/CT over ^{18}F -FDG PET/CT in the detection of both intra- and extramedullary disease [18,19]. In addition, a better correlation of ^{11}C -MET uptake with the degree of BM infiltration by malignant PCs has been recently reported [20].

The aim of the study was to assess the diagnostic value of volume-based ^{11}C -MET PET/CT biomarkers in newly diagnosed, treatment-naïve MM patients in comparison to ^{18}F -FDG.

2. Results

2.1. Patient-Based Analysis

On a patient basis analysis, both techniques were positive in all patients. In ^{11}C -MET PET/CT, diffuse BM infiltration, as a single abnormality, was detected in 6/22 (27.3%) patients, while FL only were present in 3/22 cases (13.6%), and a combined pattern (both focal and diffuse) was detected in 13/22 patients (59.1%). With ^{18}F -FDG PET/CT, disease was categorized as only diffuse BM in 6/22 (27.3%), FL in 10/22 (45.5%), and a combined pattern in 6/22 (27.3%) patients. These results indicate that ^{11}C -MET PET/CT was able to detect combined infiltration in more patients than ^{18}F -FDG PET/CT (13 versus 6 cases, respectively) (Figure 1), while ^{18}F -FDG detected FL in more patients than ^{11}C -MET ($p = 0.003$). No extramedullary disease was identified. An incidental finding consisting of a focal uptake on the right lobe of the prostate was only detected by ^{18}F -FDG PET/CT and turned out to be an adenocarcinoma (Figure 1).

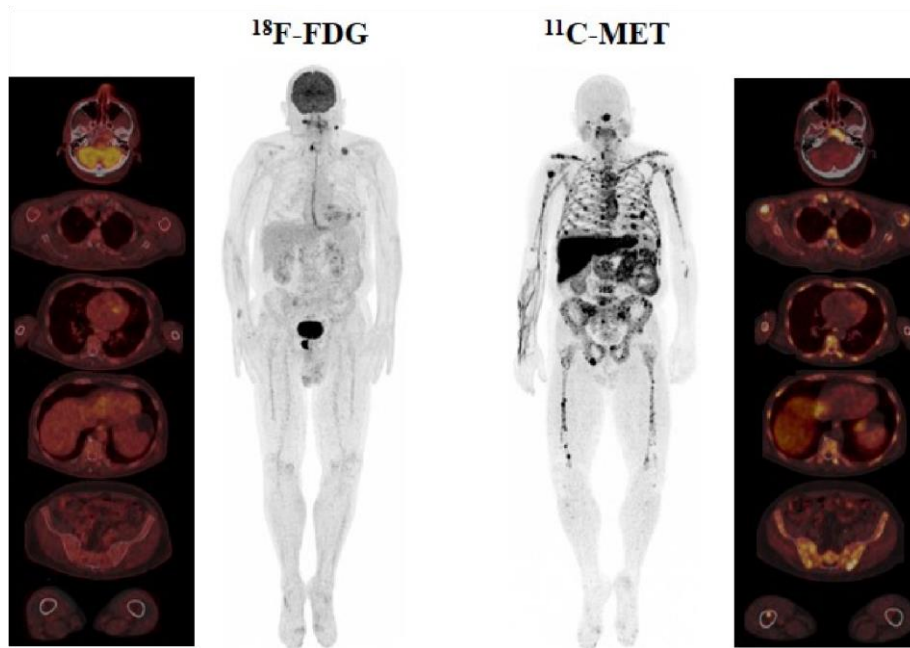


Figure1. Display of a 68-year-old male with Bence–Jones kappa multiple myeloma Revised International Staging System (R-ISS) II. In ^{18}F -fluorodeoxyglucose (^{18}F -FDG) positron emission tomography (PET)/computed tomography (CT), focal lesions (FL) located on the right thyroid cartilage and sacral bone were identified. Nevertheless, the focal uptake on the lower cervical region and left clavicle corresponded to a lymph node and a fracture, respectively, and were thus considered unspecific findings. Please note that diffuse uptake in ^{18}F -FDG PET/CT was homogeneous and below the liver cut-off. Conversely, a combined infiltration pattern with bone marrow (BM) infiltration and more than 10 FL was present in ^{11}C -MET PET/CT. Importantly, they did not demonstrate a correlation in ^{18}F -FDG PET/CT (fusion images).

2.2. Lesion-Based Analysis

On a lesion basis analysis, ^{18}F -FDG and ^{11}C -MET were concordant, depicting > 3 FL in seven patients, < 3 FL in five patients, and diffuse infiltration in five patients (kappa agreement index = 0.66) (Table 1). However, more FL were detected by ^{11}C -MET in 11 patients (50%, $p < 0.01$), 3 patients with FL, and 8 patients with combined infiltration (Figure 2). By contrast, ^{18}F -FDG detected more FL in only one patient.

Table 1. Comparison of diagnostic performance for ^{18}F -FDG and ^{11}C -methionine (^{11}C -MET) PET/CT.

		MET-PET				Total
		Focal, > 3 FL	Combined, < 3 FL	Combined, > 3 FL	Diffuse	
FDG-PET	Focal, < 3 FL	0	1	3	0	4
	Focal, > 3 FL	3	0	3	0	6
	Combined, < 3 FL	0	4	0	1	5
	Combined, > 3 FL	0	0	1	0	1
	Diffuse	0	1	0	5	6
Total		3	6	7	6	22

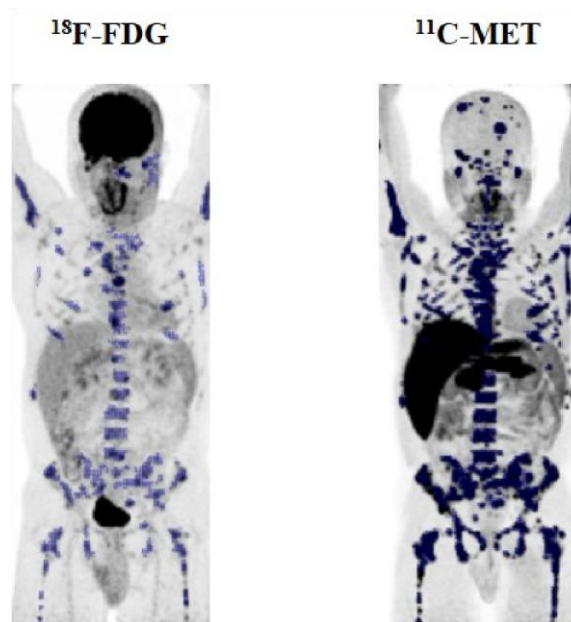


Figure 2. Display of a 47-year-old male (patient #10) with multiple myeloma R-ISS II. A combined pattern of diffuse and focal disease and more than three FL were detected by ^{18}F -FDG PET/CT. The same lesions were detected by ^{11}C -MET PET/CT and, noticeably more FL were detected, some of them located in the skull, leading to a remarkable difference of 103.3% in total metabolic tumor volume (TMTV) (TMTV MET: 726 cm^3 vs. TMTV FDG: 357.1) and 366.1% in TLG/TLMU (MET TLMU: 6061.4 g vs. FDG TLG: 1300.4 g).

2.3. PET-Derived Biomarkers

We analyzed SUVmax, SUVmean, and SUVpeak for both techniques. Median, inter-quartile range (IQR), and SUVmax values were significantly higher for ^{11}C -MET (16.40 (6–195.6)) than for ^{18}F -FDG PET/CT (8.76 (3.45–62.23)) ($p = 0.008$). The same difference was observed for median SUVmean (^{11}C -MET: 4.59 (2.79–8.35))

versus ^{18}F -FDG: 3.55 (1.82–7.74), $p = 0.022$ and SUV_{peak} (^{11}C -MET: 10.72 (4.64–126.50) versus ^{18}F -FDG: 6.56 (2.82–39.85), $p = 0.005$).

Regarding volume-based biomarkers, median total metabolic tumor volume (TMTV) for ^{11}C -MET PET/CT (443.4 cm³ (145.2–1102.6)) was significantly higher than median TMTV for ^{18}F -FDG (134.8 cm³ (5.6–524.9); $p < 0.001$) with a median difference of 141.2% (21.6–18,369). The same finding was observed for total lesion ^{11}C -MET uptake (TLMU) (^{11}C -MET, median: 2021.4 g (761.6–6061.4) versus TLG ^{18}F -FDG, median: 598.4 g, (10.7–2086.4), $p < 0.001$) with a median difference of 216.7% (40.3–19,212.2). Global comparisons of TMTV and TLG/TLMU between ^{11}C -MET and ^{18}F -FDG PET/CT, as well as differences for each tracer depending on uptake patterns are shown in Figure 3. Differences in TMTV and TLG/TLMU between the two tracers on a patient's based analysis are shown in Figure 4.

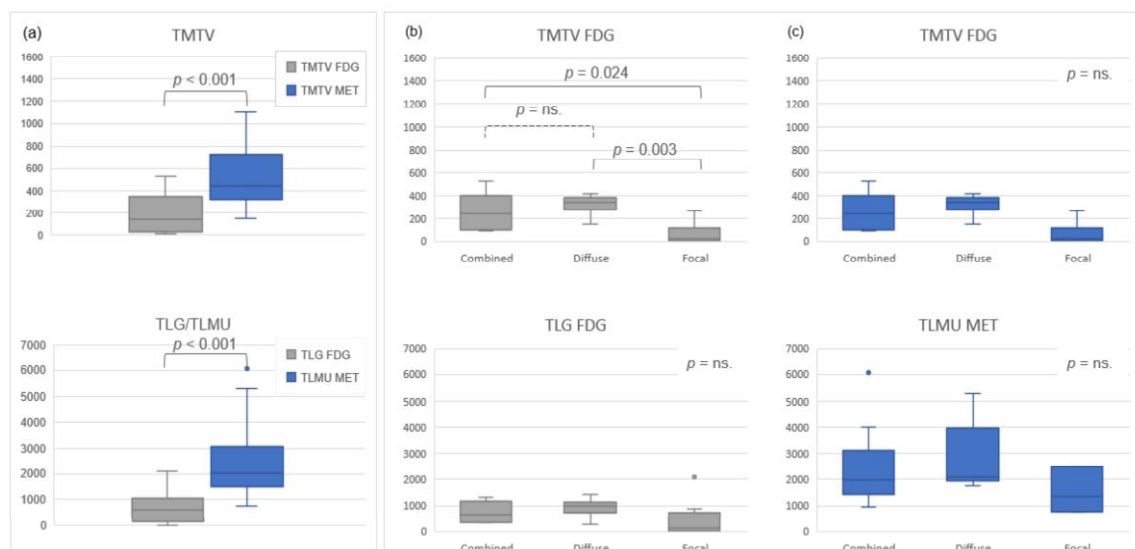


Figure 3. Global comparison of TMTV and total lesion glycolysis (TLG)/total lesion ^{11}C -MET uptake (TLMU) between ^{11}C -MET and ^{18}F -FDG PET/CT scan (a), and comparison of TMTV and TLG/TLMU, according to the observed pattern, for ^{18}F -FDG (b) and ^{11}C -MET (c).

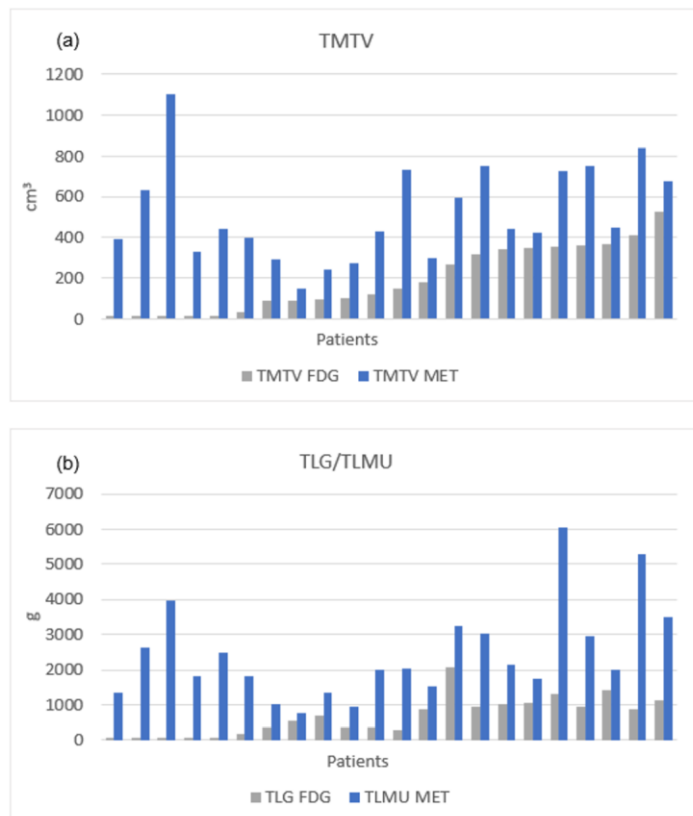


Figure 4. Differences in TMTV (a) and TLG/TLMU (b) between the two tracers on a patient-based analysis sorted by tumor burden in ^{18}F -FDG PET/CT.

2.4. Correlation of PET Biomarkers with Tumor-Burden derived Parameters

We have analyzed the correlations between four different PET parameters (presence of FL, SUVmax, SUVmean, and volumetric parameters: TMTV and TLG/TLMU) and different clinical variables that reflect myeloma burden (M-component, percentage of plasma cells (PC), beta 2 microglobulin (B2M), free light chains (FLC) levels, creatinine, albumin, and Revised International Staging System (R-ISS)).

No correlation was found between the number of FL detected by ^{18}F -FDG or ^{11}C -MET PET/CT and the M component ($p = 0.71$ for ^{18}F -FDG PET and $p = 0.81$ for ^{11}C -MET PET), B2M ($p = 0.38$ for ^{18}F -FDG PET and $p = 0.17$ for ^{11}C -MET PET), FLC levels ($p = 0.24$ for ^{18}F -FDG PET and $p = 0.82$ for ^{11}C -MET PET) nor R-ISS ($p = 0.35$ for ^{18}F -FDG PET and $p = 0.76$ for ^{11}C -MET PET).

Upon analyzing semi-quantitative parameters (SUVmax and SUVmean) obtained by ^{18}F -FDG PET/CT, a moderate correlation was found with both SUVmax and SUVmean and high $\beta 2\text{M}$ levels (>3.5 mg/L) (SUVmax: $r_s = -0.458$, $p = 0.03$;

SUVmean: $r_s = -0.417$; $p = 0.05$). However, no significant correlation was detected between SUVmean and SUVmax in ^{18}F -FDG and albumin < 3.5 g/dL ($p = 0.12$ for SUVmax and $p = 0.19$ for SUVmean) or creatinine > 2 mg/dL ($p = 0.66$ for SUVmax, $p = 0.44$ for SUVmean).

In ^{11}C -MET PET/CT, no correlation was identified between SUVmax and SUVmean and albumin < 3.5 g/dL ($p = 0.38$ for SUVmax and $p = 0.43$ for SUVmean), creatinine > 2 mg/dL ($p = 0.74$ for SUVmax, $p = 0.44$ for SUVmean), or $\beta 2\text{M} > 3.5$ mg/L ($p = 0.29$ for SUVmax and $p = 0.64$ for SUVmean). In addition, no differences were present between SUVmax values and cytogenetic risk in ^{18}F -FDG PET/CT nor ^{11}C -MET PET/CT ($p = 0.32$ for ^{18}F -FDG and $p = 0.66$ for ^{11}C -MET).

Finally, we explored correlations between volumetric parameters (TMTV and TLG/TLMU values) obtained with both tracers and clinical variables. A positive correlation was found between TMTV and B2M levels both in ^{18}F -FDG PET/CT ($r = 0.434$, $p = 0.044$) and in ^{11}C -MET PET/CT ($r = 0.569$, $p = 0.006$), in which the latter had a higher correlation. Moreover, in ^{11}C -MET PET/CT, significant correlations between TMTV and the M-component ($r = 0.781$, $p = 0.003$) or BM infiltration ($r = 0.571$, $p = 0.007$) were recorded. With respect to TLG, no correlations were detected in ^{18}F -FDG PET/CT, whereas moderate to good positive correlations were demonstrated in ^{11}C -MET PET/CT for TLMU and B2M levels ($r = 0.428$, $p = 0.047$), TLMU, M component ($r = 0.616$, $p = 0.033$), and TLMU and BM infiltration ($r = 0.450$, $p = 0.041$). No other correlations were present for the rest of the serum parameters explored.

3. Discussion

The use of PET-CT has rapidly expanded in MM both for the evaluation of disease extension at presentation (particularly for detection of extramedullary disease) as well as for treatment response assessment [21]. Although ^{18}F -FDG is the gold standard radiotracer, recent data suggest that ^{11}C -MET may be a potentially superior radiotracer for MM imaging due to higher sensitivity than ^{18}F -FDG [22].

The current study conducted in patients with newly diagnosed, treatment-naïve MM confirms the higher sensitivity of ^{11}C -MET PET/CT, with about 50% of subjects demonstrating more lesions as compared to ^{18}F -FDG PET/CT, thus being in line with previous preliminary observations [18–20,22]. Furthermore, we have investigated for the first time ^{11}C -MET PET volume-based biomarkers (TMTV, TMLU) demonstrating a positive correlation with MM serum markers of tumor

burden such as M component, bone marrow (BM) infiltration, or B2M. In contrast, ^{18}F -FDG derived markers only showed a modest correlation with $\beta 2\text{M}$, while no association was found with other indicators of disease including albumin, FLC, M component, or the percentage of BM infiltration by malignant plasma cells (assessed by random iliac crest BM biopsy). Thus, ^{11}C -MET might be considered a highly sensitive radiotracer to be used as a non-invasive surrogate for the investigation of MM disease activity, including the detection of minimal residual disease.

On the other hand, ^{18}F -FDG PET/CT remains the standard technique for the nuclearmedicine-based evaluation of myeloma, given its availability and the vast body of experience in various clinical settings. Beyond mere diagnostic accuracy, ^{18}F -FDG has proven its prognostic value in various studies and has even outperformed magnetic resonance imaging in terms of therapy monitoring and response assessment [7]. In addition, recent studies with ^{18}F -FDG PET/CT have investigated the prognostic value of the new metabolic biomarkers (TMTV and TLG) and have suggested significant survival implications at baseline and a more precise quantitation of the glycolytic phenotype of active disease [11,12]. The aim of the current study was just to compare the performance of C-MET versus F-FDG in newly diagnosed MM patients, and it was out of the scope to explore the prognostic value of C-MET due to the small sample size, retrospective nature, short follow up, and treatment heterogeneity. However, as mentioned above, it is important to underscore the correlation between volume-based biomarkers and MM tumor burden markers (both median TMTV and TLMU), which were clearly higher in ^{11}C -MET PET/CT as compared to ^{18}F -FDG PET/CT. Whether this would translate in better survival prognostication and individually tailored treatment decisions remains to be investigated. It is necessary to take into account that the short half-life of C-11 makes necessary an on-site cyclotron, which could be a major limitation for the tracer's widespread use.

In addition, there is still a need for the standardization of segmentation methods when calculating TMTV. In the present study, it was decided to segment individually by an absolute or a relative threshold instead of employing a global threshold of the CT image, as described by Takahashi et al. [23] or a fixed threshold of 40% of SUVmax as described by Fonti et al. [24]. In our experience, the use of a fixed cut-off value does not necessarily work for all patients, especially when focal disease is present or double tracer studies are carried out (Figure S1). Our proposal is to use a relative SUVmax threshold (i.e., $\text{SUV} > 41\%$ of SUVmax) whenever diffuse or

combined uptake is present, while in the presence of FL only, results are not unequivocal and further studies are needed to achieve a general optimal single threshold.

Despite all limitations mentioned above, this two-center study is the first that has investigated ^{11}C -MET PET volume-based biomarkers (TMTV, TLMU) and demonstrated a correlation between these new ^{11}C -MET-PET biomarkers and other MM prognostic factors [14].

4. Materials and Methods

4.1. Study Description and Patient Population

The study has been approved by the University Hospital of Würzburg (212/13) and by the University Clinic of Navarra (161/2015) ethics committees. All patients signed an informed consent form according to the Declaration of Helsinki. ^{11}C -MET was administered under the conditions of the German and Spanish pharmaceutical law (German Medicinal Products Act, AMG §13 2b; RD 1015/2009) and in accordance with the responsible regulatory bodies (Regierung von Oberfranken, Germany; AEMPS, Spain).

Twenty-two consecutive patients with newly diagnosed, treatment-naïve MM referred for dual tracer (^{18}F -FDG and ^{11}C -MET) staging PET/CT were retrospectively reviewed by PET experts from the University Hospital of Würzburg (C.L., Würzburg, Germany) and University Clinic of Navarra (M.J.G.-V., Pamplona, Spain). None of the patients have been previously reported in previous publications. Patients with plasma cell malignancies other than MM (e.g., smoldering myeloma) were excluded from the analysis. The following characteristics were documented and subsequently analyzed: age, gender, hemoglobin, calcium, serum creatinine, C-reactive protein, B2M, albumin, M component, percentage of malignant plasma cell infiltration as assessed by random bone marrow biopsy of the iliac crest, lactate dehydrogenase (LDH), platelet count, type of monoclonal component, presence and level of serum light chains, clinical staging according to the R-ISS, and chromosomal abnormalities defining high-risk patients: t(4;14) and /or t(14;16) and/or del(17p). Patients' characteristics are summarized in Tables 2 and S1.

Table 2. Patients' characteristics.

No.	Sex	Age	Myeloma Type	R-ISS	High-Risk Cytogenetics
1	male	75	IgG kappa	n/a	n/a
2	male	64	IgA kappa	Stage II	yes
3	male	54	IgA kappa	Stage II	no

4	female	56	IgA lambda	Stage II	n/a
5	male	59	kappa	Stage I	no
6	male	48	IgG kappa	Stage I	no
7	female	74	IgG lambda	Stage II	no
8	female	62	IgG kappa	Stage I	no
9	male	63	kappa	Stage III	yes
10	male	47	kappa	Stage II	no
11	male	59	IgG kappa	Stage I	no
12	male	72	IgG lambda	Stage II	no
13	male	61	kappa	Stage II	yes
14	male	68	IgG kappa	Stage II	yes
15	male	61	IgG kappa	Stage I	no
16	female	61	IgG kappa	Stage II	yes
17	male	37	kappa	Stage I	no
18	male	79	IgG kappa	n/a	no
19	male	68	kappa	Stage II	no
20	female	43	IgG lambda	Stage I	no
21	male	46	lambda	Stage II	yes
22	female	44	IgG kappa	Stage II	n/a

n/a = not available; high-risk cytogenetics is defined as t (4;14) and/or t (14;16) and/or del(17p); Ig: Immunoglobulin; R-ISS = Revised International Staging System.

4.2. PET/CT Acquisition

¹⁸F-FDG and ¹¹C-MET were synthesized in-house with a 16 MeV Cyclotron (Würzburg; GE PET trace 6; GE Healthcare, Milwaukee, USA) or an 18 MeV Cyclotron (Navarra; Cyclone 18/9, IBA Radiopharma Solutions, Belgium). PET/CT was performed in both institutions on a PET/CT scanner (Siemens Biograph mCT 64, Siemens, Knoxville, USA) within a median interval of 1 day between ¹⁸F-FDG and ¹¹C-MET scans (range, 0–11).

Patients fasted at least 4 hours before ¹⁸F-FDG (3 to 5 MBq/kg) and ¹¹C-MET injection (6–10 MBq/kg). No adverse effects associated to radiotracer injection were observed. PET/CT scans were acquired after 60 min (¹⁸F-FDG) or 20 min (¹¹C-MET), using contrast-enhanced CT with dose modulation and a quality reference of 210 mAs (Würzburg) or non-contrast-enhanced CT with Care Dose 4D and a quality reference of 80–120 mAs (Würzburg, Navarra), including the skull to the proximal thighs and lower limbs. Consecutively, PET emission data were acquired in 3D-mode with 2 min (Würzburg) or 2–3 min (Navarra) emission time per bed

position in the skull to mid-thighs and 1 min/bed in the lower limbs. After decay and scatter correction, PET data were reconstructed according to standard protocols consisting of 3D ordinary Poisson ordered-subset expectation maximization (OSEM) iterative reconstruction with time-of-flight and point spread function modeling, 3 iterations, and 21 subsets, a 2 mm full-width at half-maximum Gaussian post-filter and a 200 × 200 image matrix.

4.3. PET/CT Assessment

Two experienced nuclear medicine physicians (M.J.G.-V. and C.L.) blinded to the results of clinical and biologic data visually assessed PET/CT anonymized images. ¹⁸F-FDG PET maximum intensity projection (MIP) and axial/sagittal/coronal images were reviewed and focal lesions as well as bone infiltration were characterized following the patterns defined by Moreau et al [7].

For ¹¹C-MET, every focal uptake with higher activity than the surrounding normal tissue or contralateral structure was considered positive. Criteria for the diagnosis of involvement of BM was focally increased ¹¹C-methionine uptake in the BM or diffusely increased ¹¹C-methionine in the whole hematopoietic BM with or without the expansion of BM into distal parts of long bones [14]. BM biopsy, performed without clinical information nor PET/CT results, served as the standard of reference in all cases.

Thereafter, ¹⁸F-FDG and ¹¹C-MET PET/CT images underwent a three-dimensional volume of interest analysis of the axial and appendicular skeleton with “PET/CT Viewer Beth Israel for FIJI” [25–27]. This software allows calculating SUVmax, SUVmean and SUVpeak values as well as the new biomarkers MTV, which were defined for each lesion as the sum of voxels exceeding an absolute SUV threshold or relative threshold, and the TLG, which was calculated with the following formula: $TLG = P (SUVmean \times MTV)$. For ¹¹C-MET PET, the equivalent term for TLG was the total lesion methionine uptake (TLMU), which was defined as MTV times the mean standardized uptake values (SUVmean) within the boundary [28]. The total MTV (TMTV) in each patient was defined as the sum of MTV of all the individual lesions obtained.

For the calculation of tumor volume biomarkers, the software automatically delineated the tumor volume, requiring operator supervision to discard those physiological uptakes (bladder, brain, liver, etc.). Later, a threshold was set so that the software detected all voxels included in that cut-off point. In addition to the 41%

of SUVmax threshold (calculated at the local maximum point) recommended by the European Association of Nuclear Medicine [29], other absolute (SUV > 1, 3, and 4) and relative thresholds (SUV > 30% and 50% of SUVmax) were used to segment the images (Figure S1). Finally, the automatically generated thresholds were evaluated, and the threshold that best fit with the visually identified active lesions was chosen. In ^{18}F -FDG PET/CT, the best threshold for segmentation was SUV > 41% of SUVmax in 15/22 patients (68.2%), while in other patients, different thresholds were eligible because of under- or overestimation. The second most selected threshold was SUV > 4 in 4/22 patients (18.2%), and the remaining cases corresponded to a threshold of SUV > 50% SUVmax in 2/22 patients (9.1%) and SUV >1 in 1 patient (4.5%). An example of these different criteria is demonstrated in Figure S1. In ^{11}C -MET PET/CT, similar results were obtained, with a relative threshold SUV > 41% SUVmax as the most frequently selected (16/22, 72.7%), and some cases with different thresholds because of under- or overestimation, SUV > 30% SUVmax (1/22, 4.5%), SUV > 50% SUVmax (1/22, 4.5%), and SUV > 4 (4/22, 18.2%). Overall, in 10 patients with focal disease in ^{18}F -FDG, different segmentation methods on FIJI software were employed and are shown in Table S2. Figure S2 shows a representative image of the impaired results of selecting a fixed threshold of SUV > 41% SUVmax in the case of focal disease. Interestingly, when a diffuse or combined focal/diffuse pattern was present, only relative thresholds fit better with the disease extension in all cases. This pattern was also present for ^{11}C -MET PET/CT with the exception of two cases with combined infiltration in which SUV > 4 was preferred.

4.4. Statistical Analysis

Quantitative data are presented as the median, inter-quartile range (IQR), and mean \pm SD, as appropriate. Spearman correlation was used to estimate linear relationships. A Chi square or Fisher exact test was conducted for comparison of frequency data between independent subgroups. The Wilcoxon test was the non-parametric statistical test used to compare two related samples, matched samples, or repeated measurements. A comparison of quantitative values from three independent groups was performed using the Kruskal–Wallis test. Concordance between ^{11}C -MET and ^{18}F -FDG PET imaging was presented in a two-way table. The level of agreement between the two evaluations was expressed by kappa statistics. Correlations between categorical and quantitative variables were performed using Spearman's Rho.

Statistical analyses were performed in R (version 3.4.4, R Core Team, Vienna, Austria, 2018) and SPSS (version 22.0; SPSS, Inc. Chicago, IL, USA). All statistical tests were performed two-sided, and a p -value < 0.05 was considered to indicate statistical significance.

5. Conclusions

In summary, our preliminary results show that ^{11}C -MET seems to be a more sensitive and accurate surrogate for total myeloma burden as compared to ^{18}F -FDG. Our results might stimulate future research and be considered as groundwork for future prospective studies with larger sample sizes.

Supplementary Materials: The following are available online at <http://www.mdpi.com/2072-6694/12/4/1042/s1>, Table S1: Patients' characteristics, Table S2: Thresholds selected for FIJI software, Figure S1: Example of different cut-off values performed for both tracers, Figure S2: Example of impaired results of a fixed threshold of SUV $> 41\%$ SUVmax.

Author Contributions: Conceptualization, M.I.M.-L., M.J.G.-V., and C.L.; methodology, M.I.M.-L., M.J.G.-V., and C.L.; software, M.I.M.-L., O.V., and E.P.; validation, M.J.G.-V., C.L., O.V., and M.I.M.-L.; formal analysis, M.I.M.-L., M.J.G.-V., C.L., and P.R.-O.; investigation, M.I.M.-L.; resources, M.J.G.-V., and C.L.; data curation, M.I.M.-L., M.J.G.-V., P.R.-O., O.V., and C.L.; writing—original draft preparation, M.I.M.-L., M.J.G.-V., P.R.-O., and C.L.; writing—review and editing, L.R., K.M.K., A.K.B., S.S., O.V., C.L., E.P., M.M.-J., M.J.G.-V., P.R.-O., J.S.-M., and M.I.M.-L.; visualization, M.I.M.-L., M.J.G.-V., and C.L.; supervision, M.J.G.-V., C.L., P.R.-O., and J.S.-M.; project administration, M.J.G.-V., and C.L.; funding acquisition M.J.G.-V., and C.L. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Ministry of Economy and Competitiveness (PI 16/00225), the Ministry of Science and Innovation, Government of Spain (grant no. ADE 10/00028) and the Wilhelm Sander-Stiftung

(grant 2017.061.1).

Conflicts of Interest: PR-O received honoraria derived from advisory boards from Celgene, Janssen, Kite Pharma, Sanofi, Abbvie, GSK and Oncopetides as well as honoraria from lectures from Janssen, Amgen, and Celgene. All other authors declare no conflict of interest.

6. References

1. Siegel, R.L.; Miller, K.D.; Jemal, A. Cancer statistics, 2018. *CA Cancer J. Clin.* **2018**, *68*, 7–30. [CrossRef]
2. Rajkumar, S.V.; Dimopoulos, M.A.; Palumbo, A.; Bladé, J.; Merlini, G.; Mateos, M.-V.; Kumar, S.; Hillengass, J.; Kastritis, E.; Richardson, P.; et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* **2014**, *15*, e538–e548. [CrossRef]
3. Cavo, M.; Terpos, E.; Nanni, C.; Moreau, P.; Lentzsch, S.; Zweegman, S.; Hillengass, J.; Engelhardt, M.; Usmani, S.Z.; Vesole, D.H.; et al. Role of ^{18}F -FDG PET/CT in the diagnosis and management of multiple myeloma and other plasma cell disorders: A consensus statement by the International Myeloma Working Group. *Lancet Oncol.* **2017**, *18*, e206–e217. [CrossRef]
4. Bartel, T.B.; Haessler, J.; Brown, T.L.Y.; Shaughnessy, J.D.; Van Rhee, F.; Anaissie, E.; Alpe, T.; Angtuaco, E.; Walker, R.; Epstein, J.; et al. ^{18}F -fluorodeoxyglucose positron emission tomography in the context of other imaging techniques and prognostic factors in multiple myeloma. *Blood* **2009**, *114*, 2068–2076. [CrossRef]
5. Zamagni, E.; Patriarca, F.; Nanni, C.; Zannetti, B.; Englaro, E.; Pezzi, A.; Tacchetti, P.; Buttignol, S.; Perrone, G.; Brioli, A.; et al. Prognostic relevance of ^{18}F -FDG PET/CT in newly diagnosed multiple myeloma patients treated with up-front autologous transplantation. *Blood* **2011**, *118*, 5989–5995. [CrossRef] [PubMed]

6. Usmani, S.Z.; Mitchell, A.; Waheed, S.; Crowley, J.; Hoering, A.; Petty, N.; Brown, T.; Bartel, T.; Anaissie, E.; Van Rhee, F.; et al. Prognostic implications of serial 18-fluoro-deoxyglucose emission tomography in multiple myeloma treated with total therapy 3. *Blood* **2013**, *121*, 1819–1823. [CrossRef]
7. Moreau, P.; Attal, M.; Caillot, D.; Macro, M.; Karlin, L.; Garderet, L.; Facon, T.; Benboubker, L.; Escoffre-Barbe, M.; Stoppa, A.-M.; et al. Prospective Evaluation of Magnetic Resonance Imaging and [18F]Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography-Computed Tomography at Diagnosis and Before Maintenance Therapy in Symptomatic Patients With Multiple Myeloma Included in the IFM/DFCI 2009 Trial: Results of the IMAJEM Study. *J. Clin. Oncol.* **2017**, *35*, 2911–2918. [CrossRef]
8. Nanni, C.; Zamagni, E.; Celli, M.; Caroli, P.; Ambrosini, V.; Tacchetti, P.; Brioli, A.; Zannetti, B.; Pezzi, A.; Pantani, L.; et al. The Value of 18F-FDG PET/CT after Autologous Stem Cell Transplantation (ASCT) in Patients Affected by Multiple Myeloma (MM). *Clin. Nucl. Med.* **2013**, *38*, e74–e79. [CrossRef] [PubMed]
9. Lapa, C.; Lückerrath, K.; Malzahn, U.; Samnick, S.; Einsele, H.; Buck, A.K.; Herrmann, K.; Knop, S. 18FDG-PET/CT for prognostic stratification of patients with multiple myeloma relapse after stem cell transplantation. *Oncotarget* **2014**, *5*, 7381–7391. [CrossRef] [PubMed]
10. Stolzenburg, A.; Lückerrath, K.; Samnick, S.; Speer, M.; Kneer, K.; Schmid, J.-S.; Grigoleit, G.U.; Hofmann, S.; Beer, A.J.; Bunjes, D.; et al. Prognostic value of [18F]FDG-PET/CT in multiple myeloma patients before and after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2018**, *45*, 1694–1704. [CrossRef]
11. McDonald, J.E.; Kessler, M.M.; Gardner, M.W.; Buros, A.F.; Ntambi, J.A.; Waheed, S.; Van Rhee, F.; Zangari, M.; Heuck, C.J.; Petty, N.; et al. Assessment of Total Lesion Glycolysis by 18F-FDG PET/CT Significantly Improves Prognostic Value of GEP and ISS in Myeloma. *Clin Cancer Res.* **2017**, *23*, 1981–1987. [CrossRef] [PubMed]
12. Fonti, R.; Larobina, M.; Del Vecchio, S.; De Luca, S.; Fabbri, R.; Catalano, L.; Pane, F.; Salvatore, M.; Pace, L. Metabolic Tumor Volume Assessed by 18F-FDG PET/CT for the Prediction of Outcome in Patients with Multiple Myeloma. *J. Nucl. Med.* **2012**, *53*, 1829–1835. [CrossRef] [PubMed]
13. Rasche, L.; Angtuaco, E.; McDonald, J.E.; Buros, A.; Stein, C.; Pawlyn, C.; Thanendrarajan, S.; Schinke, C.; Samant, R.; Yaccoby, S.; et al. Low expression of hexokinase-2 is associated with false-negative FDG–positron emission tomography in multiple myeloma. *Blood* **2017**, *130*, 30–34. [CrossRef] [PubMed]
14. Dankerl, A.; Liebisch, P.; Glatting, G.; Friesen, C.; Blumstein, N.M.; Kocot, D.; Wendl, C.; Bunjes, D.; Reske, S.N. Multiple Myeloma: Molecular Imaging with C-Methionine PET/CT—Initial Experience. *Radiology* **2007**, *242*, 498–508. [CrossRef] [PubMed]
15. Nanni, C.; Zamagni, E.; Cavo, M.; Rubello, D.; Tacchetti, P.; Pettinato, C.; Farsad, M.; Castellucci, P.; Ambrosini, V.; Montini, G.C.; et al. 11C-choline vs. 18F-FDG PET/CT in assessing bone involvement in patients with multiple myeloma. *World J. Surg. Oncol.* **2007**, *5*, 68. [CrossRef]
16. Philipp-Abbrederis, K.; Herrmann, K.; Knop, S.; Schottelius, M.; Eiber, M.; Lückerrath, K.; Pietschmann, E.; Habringer, S.; Gerngroß, C.; Franke, K.; et al. In vivo molecular imaging of chemokine receptor CXCR 4 expression in patients with advanced multiple myeloma. *EMBO Mol. Med.* **2015**, *7*, 477–487. [CrossRef]
17. Lapa, C.; Herrmann, K.; Schirbel, A.; Hänscheid, H.; Lückerrath, K.; Schottelius, M.; Kircher, M.; Werner, R.A.; Schreder, M.; Samnick, S.; et al. CXCR4-directed endoradiotherapy induces high response rates in extramedullary relapsed Multiple Myeloma. *Theranostics* **2017**, *7*, 1589–1597. [CrossRef]
18. Nakamoto, Y.; Kurihara, K.; Nishizawa, M.; Yamashita, K.; Nakatani, K.; Kondo, T.; Takaori-Kondo, A.; Togashi, K. Clinical value of 11C-methionine PET/CT in patients with plasma cell malignancy: Comparison with 18F-FDG PET/CT. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2013**, *40*, 708–715. [CrossRef]

19. Lapa, C.; García-Velloso, M.; Lückerath, K.; Samnick, S.; Schreder, M.; Otero, P.R.; Schmid, J.-S.; Herrmann, K.; Knop, S.; Buck, A.K.; et al. 11C-Methionine-PET in Multiple Myeloma: A Combined Study from Two Different Institutions. *Theranostics* **2017**, *7*, 2956–2964. [CrossRef]
20. Lapa, C.; Knop, S.; Schreder, M.; Rudelius, M.; Knott, M.; Jörg, G.; Samnick, S.; Herrmann, K.; Buck, A.K.; Einsele, H.; et al. 11C-Methionine-PET in Multiple Myeloma: Correlation with Clinical Parameters and Bone Marrow Involvement. *Theranostics* **2016**, *6*, 254–261. [CrossRef]
21. Kumar, S.K.; Paiva, B.; Anderson, K.C.; Durie, B.; Landgren, O.; Moreau, P.; Munshi, N.C.; Lonial, S.; Bladé, J.; Mateos, M.-V.; et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *Lancet Oncol.* **2016**, *17*, e328–e346. [CrossRef]
22. Okasaki, M.; Kubota, K.; Minamimoto, R.; Miyata, Y.; Morooka, M.; Ito, K.; Ishiwata, K.; Toyohara, J.; Inoue, T.; Hirai, R.; et al. Comparison of 11C-4'-thiothymidine, 11C-methionine, and 18F-FDG PET/CT for the detection of active lesions of multiple myeloma. *Ann. Nucl. Med.* **2015**, *29*, 224–232. [CrossRef] [PubMed]
23. Takahashi, M.E.S.; Mosci, C.; Souza, E.M.; Brunetto, S.Q.; Etchebehere, E.; Santos, A.O.; Camacho, M.R.; Miranda, E.; Lima, M.C.L.; Amorim, B.J.; et al. Proposal for a Quantitative 18F-FDG PET/CT Metabolic Parameter to Assess the Intensity of Bone Involvement in Multiple Myeloma. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 1–8. [CrossRef] [PubMed]
24. Fonti, R.; Pellegrino, S.; Catalano, L.; Pane, F.; Del Vecchio, S.; Pace, L. Visual and volumetric parameters by 18F-FDG-PET/CT: A head to head comparison for the prediction of outcome in patients with multiple myeloma. *Ann. Hematol.* **2019**, *99*, 127–135. [CrossRef]
25. Kanoun, S.; Tal, I.; Berriolo-Riedinger, A.; Rossi, C.; Riedinger, J.-M.; Vrigneaud, J.-M.; Legrand, L.; Humbert, O.; Casasnovas, R.-O.; Brunotte, F.; et al. Influence of Software Tool and Methodological Aspects of Total Metabolic Tumor Volume Calculation on Baseline [18F]FDG PET to Predict Survival in Hodgkin Lymphoma. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0140830. [CrossRef]
26. Mettler, J.; Müller, H.; Voltin, C.-A.; Baues, C.; Klaeser, B.; Moccia, A.; Borchmann, P.; Engert, A.; Kuhnert, G.; Drzezga, A.E.; et al. Metabolic Tumor Volume for Response Prediction in Advanced-Stage Hodgkin Lymphoma. *J. Nucl. Med.* **2018**, *60*, 207–211. [CrossRef]
27. Racaru, L.V.; Sinigaglia, M.; Kanoun, S.; Ben Bouallegue, F.; Tal, I.; Brillouet, S.; Bauriaud-Mallet, M.; Zerdoud, S.; Dierickx, L.; Vallot, D.; et al. Fluorine-18-fluorocholine PET/CT parameters predictive for hematological toxicity to radium-223 therapy in castrate-resistant prostate cancer patients with bone metastases: A pilot study. *Nucl. Med. Commun.* **2018**, *39*, 672–679. [CrossRef]
28. Kobayashi, K.; Hirata, K.; Yamaguchi, S.; Manabe, O.; Terasaka, S.; Kobayashi, H.; Shiga, T.; Hattori, N.; Tanaka, S.; Kuge, Y.; et al. Prognostic value of volume-based measurements on 11C-methionine PET in glioma patients. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2015**, *42*, 1071–1080. [CrossRef]
29. Boellaard, R.; O'Doherty, M.J.; Weber, W.A.; Mottaghy, F.M.; Lonsdale, M.N.; Stroobants, S.; Oyen, W.; Kotzerke, J.; Hoekstra, O.S.; Pruim, J.; et al. FDG PET and PET/CT: EANM procedure guidelines for tumour PET imaging: Version 1.0. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2009**, *37*, 181–200. [CrossRef]



COMUNICACIONES A CONGRESOS Y PÓSTER

NACIONALES

- 36º Congreso SEMNIM (Palma de Mallorca, 2017).
 - FDG PET/CT en la valoración de respuesta y enfermedad mínima residual en pacientes con mieloma múltiple (comunicación oral).
- 37º Congreso SEMNIM (Oviedo, 2018).
 - ^{18}F -FDG y ^{11}C -Metionina PET/TC en pacientes con discrasia de células plasmáticas (comunicación oral).
 - Estudios PET multitrizador en un modelo murino de mieloma múltiple (comunicación oral).

INTERNACIONALES

- 30th Annual Congress of the EANM (Vienna, 2017).
 - ^{11}C -Methionine versus ^{18}F -fluorodeoxyglucose for PET/CT imaging in patients with multiple myeloma or other plasma cell malignancies: initial staging and re- staging (póster).
- 23rd Congress European Hematology Association (Stockholm, 2018).
 - Correlation of ^{11}C -Methionine-PET and FDG-PET in multiple myeloma with MRD assessment by flowcitometry (póster).
- 31th Annual Congress of the EANM (Düsseldorf, 2018).
 - Multi-tracer PET studies in a murine model of multiple myeloma (póster).
- 7th International workshop on PET (Menton, 2018).
 - ^{11}C -Methionine and ^{18}F -FDG PET/CT and MRD assessment by flow citometry in patients with Plasma Cells Malignancy (póster).

- ^{11}C -Methionine versus ^{18}F -fluorodeoxyglucose for PET/CT imaging in patients with Multiple Myeloma: initial staging and relapse (póster).

