

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE CRAIOVA

ȘCOALA DOCTORALĂ

**Teza de doctorat**

**REZUMAT**

**EVALUAREA UNOR MARKERI BIOCHIMICI ÎN  
TUMORILE CEREBRALE**

**Conducător de doctorat**

Prof. Univ. Dr. Anica Dricu

**Student-Doctorand**

Ene Laurențiu

Craiova 2013

## CUPRINS

<b>INTRODUCERE.....</b>	<b>2</b>
<b>PARTEA GENERALĂ.....</b>	<b>2</b>
<b>STUDIUL PERSONAL</b>	
<b>1. OBIECTIVE.....</b>	<b>4</b>
<b>2. MATERIAL ȘI METODĂ.....</b>	<b>5</b>
<b>3. REZULTATE.....</b>	<b>5</b>
<b>4. DISCUȚII.....</b>	<b>8</b>
<b>5. CONCLUZII.....</b>	<b>10</b>
<b>BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ.....</b>	<b>11</b>

### ***CUVINTE CHEIE:***

tumori cerebrale, astrocitom, glioblastom, meningiom, metastaze cerebrale,  
glicemie, insulină, feritină

## **INTRODUCERE**

Tumorile cerebrale reprezintă unul dintre cele mai complexe capitole ale neurologiei. Marea varietate celulară din care se pot dezvolta, evoluția într-un spațiu inextensibil, caracterul invaziv, prezența edemului sunt caracteristici ce individualizează aceste neoplazii.

În ultimii ani asistăm la o ușoară tendință de creștere a duratei de supraviețuire pentru pacienții diagnosticați cu tumori cerebrale. Principalele modalități de abordare terapeutică sunt intervenția chirurgicală și radioterapia. Chimioterapia ocupă un loc secundar, marea majoritate a studiilor demonstrând un beneficiu marginal în ceea ce privește creșterea perioadei asimptomatice și a duratei de supraviețuire.

## **PARTEA GENERALĂ**

Studiile epidemiologice actuale întâmpină unele dificultăți în cazul tumorilor cerebrale datorită accesului inegal la mijloacele imagistice de investigație, lipsei confirmării histopatologice a diagnosticului și complexității examenului histopatologic.

În Statele Unite, Registrul Central al Tumorilor Cerebrale (CBTRUS) centralizează și analizează datele epidemiologice referitoare la tumorile cerebrale. În ultimul raport CBTRUS din anul 2012 meningioamele reprezintă 35,5% din totalul tumorilor cerebrale, glioblastoamele 15,8%, tumorile hipofizare 14,1%, astrocitoamele 6,3%, limfoame 2,2%, oligodendroglioamele 1,8%, ependimoamele 2,0%, tumorile embrionare 1,2% iar tumorile învelișurilor nervilor 8,3%. Tumorile gliale reprezintă 30% din totalul tumorilor, cel mai frecvent dintre acestea fiind glioblastomul (54%).

Markerii tumorali sunt biomolecule ale căror valori crescute sunt asociate cu neoplazia, constituind posibili factori cheie în prognoza, diagnosticarea și tratamentul cancerului. Aceștia pot fi detectați în sânge, urină sau diverse țesuturi. Aceste molecule pot fi produse direct de către țesuturile transformate malign sau pot apărea ca răspuns al țesuturilor normale la prezența neoplaziei.

Unii dintre markerii tumorali testați în tumorile cerebrale au fost proteina p53, proteina p16 și proteina Rb, delețiile 1p/19q, PTEN (proteină omolog a fosfatazei și tensinei), MGMT (O6-metilguanină-metiltransferază), prezența acestora influențând prognosticul sau răspunsul anumitor tipuri tumorale la tratament.

Receptorii tirozinkinazici și liganzii acestora (de ex. factori de creștere) sunt implicați în dezvoltarea și progresia procesului neoplazic, inhibarea sau modularea activității lor fiind ținta unor noi medicamente antineoplazice. Principalele familii de factori de creștere implicate în dezvoltarea neoplaziilor sistemului nervos central sunt EGF, PDGF, VEGF și IGF.

Familia IGF cuprinde atât la liganzii insulină, IGF1 și IGF2 cât și receptorii acestora (IR, IGF-1R și IGF-2R). Principalele componente ale sistemului IGF ce sunt supraexprimate în tumorile cerebrale sunt IGF-1, IGF-2 și IGF-1R, acestea fiind evidențiate în glioblastoame, astrocitoame, meningioame, meduloblastoame sau ependimoame.

Glucosa reprezintă principala sursă de energie a creierului, acesta fiind unul dintre organele cu cele mai mari necesități energetice. Cu toate că reprezintă aproximativ 2% din greutatea organismului, metabolismul cerebral utilizează 20% din oxigenul și 25% din glucoza disponibilă.

Una dintre primele modificări metabolice ce apar în oncogeneză este efectul Warburg. Otto Warburg a demonstrat că celulele neoplazice utilizează pentru producerea de energie preponderent glicoliza anaerobă în defavoarea fosforilării oxidative. Aceasta explică și rezistența mai mare la hipoxie a celulelor maligne.

Capacitatea de producere a energiei în tumorile gliale se bazează exclusiv pe disponibilitatea glucozei. Celulele transformate malign sunt incapabile să utilizeze substraturi alternative, precum corpii cetonici sau glutamina, în scop energetic.

Insulina este considerată unul din factorii ce favorizează creșterea, migrarea și diviziunea celulară. Efectele sale mitogenice sunt însă mai scăzute decât cele ale altor factori de creștere precum IGF, PDGF, VEGF sau EGF.

Una dintre problemele medicale aflate în dezbatere în ultimii ani este asocierea diabet zaharat-cancer. Marea majoritate a autorilor consideră că diabetul (în special cel de

tip II) se asociază cu un risc crescut de a dezvolta neoplazii și o mortalitate crescută în prezența acestora.

Feritina este o proteină intracelulară cu rol în depozitarea fierului, transportul și eliberarea acestuia în zonele în care este necesar.

Există mai multe ipoteze actuale privind rolul fierului și feritinei în carcinogeneză. Fierul liber este toxic pentru celule, având rol de catalizator în formarea de radicali liberi hidroxil prin reacția dintre ionul feros ( $\text{Fe}^{2+}$ ) și hidrogen peroxid – reacția Fenton. Astfel, feritina apare ca un mecanism de apărare ce transformă ionul feros în ion feric și îl depozitează într-o manieră non-toxică. Fierul este de asemenea unul dintre factorii necesari proliferării celulare, fiind indispensabil trecerii din faza G1 în faza S a ciclului celular.

Sinteza crescută de feritină la nivelul celulelor gliale transformate malign poate determina creșterea concentrației serice sau în LCR a acesteia. Valori crescute în lichidul cefalo-rahidian au fost întâlnite în special în cazul gliomelor, limfoamelor SNC și carcinomatozei meningeale. Valorile serice crescute au fost raportate în cadrul astrocitoamelor de grad II, III și IV. Rezecția astrocitoamelor a fost însoțită de scăderea nivelului feritinei serice în unele studii.

## **STUDIUL PERSONAL**

### **1. OBIECTIVE**

Având în vedere marea varietate a tumorilor cerebrale, unul dintre primele obiective ale studiului a fost stabilirea structurii lotului de pacienți studiați prin identificarea frecvenței diverselor tipuri histologice, analiza distribuției diverselor grade tumorale în rândul pacienților urmăriți precum și a distribuției tumorilor în funcție de țesutul de origine. Au fost urmărite modalitatea în care vârsta și sexul pacienților a influențat tipul histologic, gradul tumoral sau țesutul de origine tumoral, acestea fiind comparate cu datele din literatură.

Un alt obiectiv al studiului a fost reprezentat de determinarea concentrației glicemiei plasmatică și analiza distribuției valorilor acesteia în funcție de tipul tumoral,

gradul tumoral sau tipul de țesut de origine tumoral. Celelalte variabile urmărite au fost concentrațiile insulinei și feritinei. Au fost determinate valorilor plasmatice ale acestora și au fost analizate statistic datele obținute.

Pentru fiecare dintre cei trei parametri urmăriți s-a căutat o posibilă influență a distribuției valorilor patologice crescute asupra unui anumit tip histologic, grad tumoral sau țesut de origine tumoral.

## **2. MATERIAL ȘI METODĂ**

Studiul nostru a avut un caracter prospectiv și s-a desfășurat pe parcursul a 6 ani în Clinica a III-a Neurochirurgie a spitalului Bagdasar-Arseni, București. Au fost urmăriți un număr de 267 de pacienți diagnosticați consecutiv cu tumori cerebrale în perioada decembrie 2006- februarie 2012. Nu au fost incluși în studiu pacienții care au primit corticoterapie înainte de recoltarea probelor biologice.

Am utilizat o metodă enzimatică colorimetrică de determinare a concentrației glicemiei serice. Pentru determinarea cantitativă a insulinei și feritinei plasmatice am utilizat metode colorimetrice imunoenzimatic.

Pentru a testa distribuția datelor au fost utilizate testele Anderson-Darling și Shapiro-Wilk. A fost utilizat testul non-parametric Kruskal-Wallis dar și testul ANOVA, în special pentru a detecta posibile diferențe semnificative între perechi sau grupuri. Acestea au fost confirmate ulterior prin analizele post-hoc (testul Tuckey HSD și testul Fisher LSD). Pentru a stabili diferențe între distribuția valorilor normale și anormale ale parametrilor studiați am folosit testul chi pătrat.

## **3. REZULTATE**

Lotul studiat a cuprins un număr de 267 de pacienți cu vârste cuprinse între 15 și 83 de ani. Vârsta medie a grupului studiat a fost de 54,41 ani (SD 13,36). Cele mai frecvente tipuri tumorale au fost reprezentate de meningioame (32,96%), glioblastoame (29,21%), metastaze cerebrale (10,49%) și astrocitoame (8,24%).

Am clasificat tumorile cerebrale în funcție de grading-ul tumoral și am considerat un grup separat reprezentat de tumorile metastatice. Din cele 267 de tumori, 32,58% au fost încadrate în gradul I, 13,48% în gradul II, 8,61% în gradul III și 34,83% în gradul IV tumoral.

Observăm că pentru astrocitoame vârsta medie a fost de 38,82 ani (SD 13,37), pentru glioblastoame 56,18 ani (SD 11,04), pentru meningioame 54,99 ani (SD 13,08) iar pentru metastazele cerebrale 60,68 ani (SD 10,99). Testele Kruskal-Wallis și ANOVA au arătat existența de corelații înalt semnificative statistic între vârsta pacienților și tipul histologic tumoral ( $p < 0,0001$ ).

În funcție de grading-ul tumoral, vârsta medie a fost 46,57 ani pentru tumorile de grad III, 47,89 ani pentru tumori de grad II, 51,80 ani pentru tumori de grad I, 53,54 ani pentru tumori de grad IV și 60,68 ani pentru tumori metastatice. Testele Kruskal-Wallis și ANOVA sugerează existența unor corelații înalt semnificative între vârstele pacienților și gradul tumoral ( $p < 0,01$ ).

Dintre cei 267 de pacienți studiați, 128 (47,94%) au avut valori ale glicemiei serice ce depășeau limita normală. Valorile medii ale glicemiei în funcție de tipul histologic au fost 105,64 mg/dl (SD 25,55) pentru astrocitoame, 119,18 mg/dl (SD 42) pentru glioblastoame, 123,25 mg/dl (SD 50,48) pentru meningioame și 126,93 mg/dl (SD 82,08) pentru metastazele cerebrale.

Valoarea medie a glicemiei pentru totalul pacienților a fost de 118,07 mg/dl (SD 49,58). Cea mai mică medie a valorilor glicemiei a fost înregistrată pentru tumorile de grad III (106,74 mg/dl, SD 22,93), urmate de tumorile de grad I (115,69 mg/dl, SD 47,18), tumorile de grad II (119,56 mg/dl, SD 43,38), tumorile de grad IV (119,87 mg/dl, SD 46,27) și de metastazele cerebrale (126,93 mg/dl, SD 82,08).

Un alt parametru urmărit în cadrul studiului nostru a fost reprezentat de insulina serică. Mai mult de jumătate din cei 267 de pacienți (154 pacienți, 57,68%) au avut valori crescute ale insulinei.

Am observat cele mai mari valori medii în cazul metastazelor cerebrale (42,10  $\mu$ UI/ml, SD 30,86) și astrocitoamelor (42,76  $\mu$ UI/ml, SD 25,97) în timp ce meningioamele (31,75  $\mu$ UI/ml, SD 17,39) și glioblastoamele (31,49  $\mu$ UI/ml, SD 19,04) au fost caracterizate prin valori medii mai mici. Testului ANOVA ( $p = 0,013$ ) a indicat

posibilitatea existenței unor diferențe semnificative statistic. Testul Fisher LSD a arătat diferențe semnificative statistic între metastazele cerebrale respectiv astrocitoame și meningioame sau glioblastoame.

În raport cu gradul tumoral, valorile cele mai mari ale insulinei au fost întâlnite în rândul metastazelor cerebrale (valoarea medie 42,10  $\mu$ UI/ml, SD 30,86), urmate apoi de tumorile cerebrale de grad III (valoare medie 35,30  $\mu$ UI/ml, SD 23,45). Tumorile de grad I, IV și II au avut valori medii mai mici (30,25  $\mu$ UI/ml cu SD 20,36; 29,06  $\mu$ UI/ml cu SD 18,68 și respectiv 27,07  $\mu$ UI/ml cu SD 11,97). Valoarea medie a insulinei serice a întregului lot de 267 tumori cerebrale a fost de 31,08  $\mu$ UI/ml (SD 20,83). Testul Fischer LSD indică existența unor diferențe înalt semnificativ statistice ale mediilor între tumorile metastatice și tumorile de grad I, II sau IV.

Testul chi pătrat au indicat faptul că hiperinsulinemia este corelată cu tipul tumoral și țesutul de origine tumoral.

Am observat că cele mai mari valori ale feritinei serice au fost întâlnite în cazul metastazelor cerebrale (medie 296,02 ng/ml, SD 152,07), urmate apoi de astrocitoame (212,22 ng/ml, SD 136,50), meningioame (202 ng/ml, SD 167,09) și glioblastoame (173,71 ng/ml, SD 126,79). Numai în cazul glioblastoamelor, valoarea medie obținută se încadrează în media stabilită pentru populația generală (175 ng/ml). Testele ANOVA ( $p=0,007$ ) și Kruskal-Wallis ( $p=0,011$ ) indică diferențe înalt semnificative statistic în funcție de tipul tumoral.

În funcție de gradul tumoral, valori crescute ale feritinei serice se găsesc în cadrul tumorilor de grad II (252,65 ng/ml, SD 186,99) și de grad III (218,72 ng/ml, SD 164,76). Pentru tumorile de grad I și grad IV au fost obținute concentrații medii asemănătoare cu cele ale populației sănătoase (180,29 respectiv 187,47 ng/ml). Testele ANOVA și Kruskal-Wallis indică existența unor diferențe semnificativ statistice între medii respectiv între șirurile de valori ( $p=0,002$  respectiv 0,007). Analiza post-hoc indică diferențe semnificative pentru tumorile metastatice cerebrale numai în raport cu tumorile de grad I și la cele de grad IV. Diferențe semnificative au fost descoperite și pentru tumorile de gradul II față de tumorile de grad I și cele de grad IV.



## 4. DISCUȚII

În ultimii ani, o serie de studii leagă prezența diabetului zaharat sau a sindromului metabolic de creșterea riscului pentru apariția unor neoplazii. O serie de modificări fiziopatologice specifice acestor afecțiuni au fost propuse ca factori ce intervin în transformarea și dezvoltarea celulelor maligne. Două dintre constantele serice ale căror modificări sunt asociate cu diabetul zaharat și sindromul metabolic sunt reprezentate de glicemie și insulinemie. Feritina este o altă proteină ce a fost asociată cu insulino-rezistența, sindromul metabolic și prezența neoplaziei.

Comparând datele din literatură și cele rezultate în cadrul studiului nostru am observat că populația studiată are caracteristici histologice asemănătoare în ceea ce privește frecvența meningioamelor și a astrocitoamelor. Frecvența glioblastoamelor a înregistrat valori mai mari în cadrul lotului nostru de pacienți.

Mediana vârstei pentru întregul lot de pacienți studiat a fost de 55 ani. Medianele vârstelor au fost de 37,5 ani pentru astrocitoame, 56 de ani pentru glioblastoame, 57 de ani pentru meningioame și 63 de ani pentru metastazele cerebrale. Ultima analiză CBTRUS raportează o valoare mediană a vârstei de 59 ani pentru toți cei 311.202 pacienți urmăriți. Pentru astrocitoame valoarea mediană este variabilă între 48 și 54 de ani în funcție de diversele aspecte histologice, pentru glioblastoame este de 64 de ani iar pentru meningioame 65 de ani. Privind aceste date trebuie să remarcăm faptul că medianele raportate de CBTRUS sunt cu 4 până la 10 ani mai mari decât cele ale lotului studiat. Se observă astfel o tendință a tumorilor cerebrale de a afecta pacienți mai tineri în statistica noastră.

Am luat în calcul ipoteza că hiperglicemia ar putea fi unul din promotorii creșterii tumorale. Cu toate că 47,94% din cei 267 de pacienți a avut valori ale glucozei plasmatice mai mari de 105 mg/dl, nu au fost găsite corelații semnificative statistic între tipul tumoral sau gradul tumoral și glicemie.

Un număr mare de articole evaluează diabetul zaharat și riscul generat de acesta pentru dezvoltarea unor neoplazii. În ceea ce privește prezența diabetului zaharat în rândul pacienților cu cancer, datele din literatură sugerează că diabetul zaharat apare cel

mai frecvent la pacienții cu cancer pancreatic, prevalența ridicându-se la 68% din cazuri. Alte tumori asociate cu prevalență crescută a diabetului sunt cele pulmonare (19,6%), cele de sân (19,4%), colon (20,7%) și prostată (14,8%).

Este un fapt demonstrat că insulina este implicată în diferențierea celulară, activitatea anormală a insulinei putând crește riscul de dezvoltare a unor celule neoplazice nediferențiate

Inițial am descoperit că 57,68% din pacienții studiați au avut niveluri înalte ale insulinei plasmatice (peste 25  $\mu$ UI/ml).

În funcție de tipul histologic analiza post-hoc a evidențiat diferențe semnificative statistic între metastaze și glioblastoame sau meningioame, respectiv între astrocitoame și glioblastoame sau meningioame. Am concluzionat că metastazele cerebrale dar și astrocitoamele au fost caracterizate prin valori ale insulinei plasmatice superioare față de cele ale meningioamelor sau glioblastoamelor.

Analizând diversele grade de tumori cerebrale am ajuns la concluzia că metastazele cerebrale sunt caracterizate prin valori ale insulinei plasmatice superioare tumorilor de grad I, II și IV, diferențele dintre acestea având semnificație statistică.

Unul dintre markerii plasmatici ale cărui valori crescute sunt asociate cu diverse neoplazii sistemice este feritina. În cadrul grupului de pacienți studiat am obținut o valoare medie a feritinei plasmatice de 207,99 ng/ml. Această valoare este mai mare decât valorile medii ale concentrațiilor feritinei în populația sănătoasă (105 ng/ml pentru femei și 175 ng/ml pentru bărbați).

Analiza statistică a indicat diferențe înalt semnificative statistic între tipurile histologice de tumori cerebrale studiate ( $p$ ANOVA=0,007 și  $p$ K-W=0,011). Analiza post-hoc a scos însă în evidență diferențe semnificative statistic numai pentru tumorile cerebrale metastatice, acestea având tendința de a avea valori ale feritinei superioare față de tumorile cerebrale primare.

În funcție de gradul tumoral am observat un model de distribuție a valorilor feritinei plasmatice similar pentru tumorile de grad I și grad IV respectiv pentru tumorile de grad II și III. Analiza statistică a identificat grupul tumorilor metastatice respectiv cel al tumorilor de grad II ca având diferențe semnificative ale valorilor feritinei plasmatice atunci când sunt raportate cu tumorile de grad I și IV.

Studiile din literatură au asociat niveluri serice crescute ale feritinei cu astrocitoame de grad II, III și IV. Urmărirea în dinamică a constatat normalizarea valorii acesteia după rezecția chirurgicală, autorii corelând valoarea acesteia cu prezența celulelor gliale maligne.

Calitatea de biomarker al feritinei a fost dovedită în cadrul studiului nostru numai pentru tumorile metastatice cerebrale, rolul său în tumorile cerebrale primare necesitând evaluări suplimentare.

## **5. CONCLUZII**

1. Tipul histologic de tumoră cerebrală este influențat de vârsta pacienților. Astrocitoamele de grad jos apar mai frecvent în rândul pacienților în decada a 4- a de viață. Glioblastoamele, meningioamele și metastazele cerebrale apar mai frecvent în rândul pacienților în decada 6-7 de viață.
2. În cadrul studiului nostru am observat o tendință de apariție a tumorilor cerebrale la vârste mai tinere decât cele raportate de statisticile Statelor Unite (cea mai amplă raportare epidemiologică existentă în momentul actual).
3. Cu toate că glicemia poate fi unul dintre parametrii frecvent crescuți în rândul pacienților cu tumori cerebrale, valorile acesteia nu sunt corelate cu tipul histologic, gradul tumoral sau țesutul de origine tumoral.
4. Valorile plasmatiche ale insulinei sunt corelate cu tipul histologic al tumorilor cerebrale. Metastazele cerebrale și astrocitoamele au avut valori semnificative statistic superioare celor înregistrate pentru glioblastoame și meningioame. Prezența valorilor anormal crescute ale insulinei plasmatiche este un factor corelat cu tipul histologic tumoral și țesutul tumoral de origine.
6. Valorile feritinei plasmatiche sunt cele mai crescute în cazul metastazelor cerebrale. Tumorile de grad II prezintă valori semnificativ crescute ale feritinei plasmatiche în raport cu tumorile de grad I și IV.

## BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. **Dolecek TA, Propp JM, Stroup NE, Kruchko C.** CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2005-2009. *Neuro Oncol.* Nov;14 Suppl 5:v1-49.
2. **Lonn S, Inskip PD, Pollak MN, Weinstein SJ, Virtamo J, Albanes D.** Glioma risk in relation to serum levels of insulin-like growth factors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007 Apr;16(4):844-6.
3. **Belanger M, Allaman I, Magistretti PJ.** Brain energy metabolism: focus on astrocyte-neuron metabolic cooperation. *Cell Metab.* Dec 7;14(6):724-38.
4. **Coughlin SS, Calle EE, Teras LR, Petrelli J, Thun MJ.** Diabetes mellitus as a predictor of cancer mortality in a large cohort of US adults. *Am J Epidemiol.* 2004 Jun 15;159(12):1160-7.
5. **Hemkens LG, Grouven U, Bender R, et al.** Risk of malignancies in patients with diabetes treated with human insulin or insulin analogues: a cohort study. *Diabetologia.* 2009 Sep;52(9):1732-44.
6. **Barone BB, Yeh HC, Snyder CF, et al.** Long-term all-cause mortality in cancer patients with preexisting diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *JAMA.* 2008 Dec 17;300(23):2754-64.
7. **McGirt MJ, Chaichana KL, Gathinji M, et al.** Persistent outpatient hyperglycemia is independently associated with decreased survival after primary resection of malignant brain astrocytomas. *Neurosurgery.* 2008 Aug;63(2):286-91; discussion 91.
8. **Chambless LB, Parker SL, Hassam-Malani L, McGirt MJ, Thompson RC.** Type 2 diabetes mellitus and obesity are independent risk factors for poor outcome in patients with high-grade glioma. *J Neurooncol.* Jan;106(2):383-9.
9. **Wurth R, Pattarozzi A, Gatti M, et al.** Metformin selectively affects human glioblastoma tumor-initiating cell viability: A role for metformin-induced inhibition of Akt. *Cell Cycle.* Jan 1;12(1):145-56.
10. **Soritau O, Tomuleasa C, Aldea M, et al.** Metformin plus temozolomide-based chemotherapy as adjuvant treatment for WHO grade III and IV malignant gliomas. *J BUON.* Apr-Jun;16(2):282-9.
11. **Sato Y, Honda Y, Asoh T, Oizumi K, Ohshima Y, Honda E.** Cerebrospinal fluid ferritin in glioblastoma: evidence for tumor synthesis. *J Neurooncol.* 1998 Oct;40(1):47-50.
12. **Davis FG, Dolecek TA, McCarthy BJ, Villano JL.** Toward determining the lifetime occurrence of metastatic brain tumors estimated from 2007 United States cancer incidence data. *Neuro Oncol.* Sep;14(9):1171-7.