

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Gliomák prognosztikai faktorainak kutatása

Dr. Szivos László

Témavezető: Dr. Klekner Álmos



DEBRECENI EGYETEM

IDEGTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2025.

Tartalom

1. Bevezetés	5
2. Irodalmi összefoglalás	6
2.1. Központi idegrendszeri daganatklasszifikáció történeti áttekintése	6
2.2. Epidemiológia	13
2.3. Diffúz gliomák klinikai vonatkozásai	17
2.4. Kezelés	20
2.5. Leggyakoribb molekuláris alterációk patomechanizmusai	23
2.5.1. <i>IDH1/2</i> (izocitrát-dehidrogenáz) mutáció	24
2.5.2. <i>ATRX</i> mutáció	26
2.5.3. 1p/19q kodeléción	26
2.5.4. <i>TERT</i> mutáció	27
2.5.5. H3K27-alteráció és H3.3 G34 R/V mutáció	28
2.5.6. <i>EGFR</i> alterációk	29
2.5.7. <i>MGMT</i> promotor hipermetiláció	29
2.6. Az extracelluláris mátrix (ECM)	30
2.6.1. Peritumorális infiltráció	31
2.6.2. Az ECM molekulák csoportosítása	34
2.6.3. Terápiás célpontok	36
3. Célkitűzés	37
4. Módszertan	38
4.1. Betegek és tumorminták	38
4.1.1. Inváziós panel	39
4.1.2. Eltérő prognosztikai csoportú Gr. 2 asztrocitomák	40
4.1.3. Onkoterápia előtti és utáni Gr. 3 asztrocitomák	43
4.1.4. 2 és 3 grádusú gliomák prognosztikai csoportjai	45
4.1.5. Eltérő prognózissal rendelkező glioblasztomás betegcsoportok	46
4.2. mRNS expresszió meghatározása	48
4.3. A fehérje expresszió meghatározása	49
4.4. Statisztikai módszerek	50
5. Eredmények	51
5.1. Eltérő prognosztikai csoportú Gr. 2 asztrocitomák	51
5.1.1. mRNS expresszió eredmények	51
5.1.2. Fehérje expressziós eredmények	54
5.2. Onkoterápia előtti és utáni Gr. 3 asztrocitomák	55

5.2.1.	mRNS expressziós eredmények	55
5.2.2.	Fehérje expressziós eredmények.....	55
5.3.	Gr 2 és 3 csoportba tartozó diffúz, infiltratív gliómák prognosztikus csoportjainak összevetése.....	58
5.3.1.	mRNS expressziós eredmények	58
5.4.	Eltérő prognózissal rendelkező glioblasztomás betegcsoportok	60
5.4.1.	mRNS expressziós eredmények	60
5.4.2.	Fehérje expressziós eredmények.....	62
6.	Diszkusszió	64
6.1.	Általánosságban	64
6.2.	A Gr. 2 asztocitómák prognosztikus csoportjai az inváziós spektrum alapján elkülöníthetők.....	65
6.3.	A diffúz, infiltratív gliómák esetében alkalmazott kezelési stratégia korlátozott anti-invazív potenciállal bír.....	67
6.4.	A Gr. 2 és Gr. 3 diffúz, infiltratív asztrocitómák csoportjai egymással átfedést mutatnak – a jelenlegi grádusmeghatározás önmagában nem biztosít teljeskörű prognosztikus információt.....	68
6.5.	Az inváziós spektrum hatékony prognosztikus marker glioblasztomás betegek esetében	69
6.6.	Az infiltrációban kiemelt jelentőségű, terápia target molekulaként szerepeltethető ECM molekulák és azok jellemzői	70
7.	Összefoglalás.....	73
8.	Summary	74
9.	Új tudományos eredmények	75
10.	Novel scientific findings.....	76
11.	Irodalomjegyzék	77
12.	Tárgyszavak.....	89
13.	Köszönetnyilvánítás	90

Rövidítésjegyzék

CNS	-	Központi idegrendszer (<i>central nervous system</i>)
ECM	-	Extracelluláris mátrix
Gr.	-	Grádus
IHC	-	Immunhisztokémia
LDA	-	Lineáris diszkriminancia analízis
KIR	-	Központi idegrendszer
PFS	-	Progresszió-mentes túlélési idő (<i>progression-free survival</i>)
OS	-	Teljes túlélési idő (<i>overall survival</i>)

1. Bevezetés

A központi idegrendszer (KIR) két fő sejtípusa a neuron (idegsejt), valamint a neuro-gliális ún. támasztó sejtek csoportja, mely utóbbi csoporton belül szintén két fő csoport különböztethető meg. Az ektodermális eredetű makroglia [asztocita, oligodendrocita, ependyma sejtek], valamint a mesodermális eredetű mikroglia. A központi idegrendszerben az asztrocita tekinthető a leggyakoribb sejtípusnak, a vér-agy gát fenntartásában, valamint a sejtközi homeosztázis fenntartásában tölt be szerepet. Az oligodendrociták myelinhüvely termelési képességük által a sejt-sejt közötti ingerületvitel révén történő kommunikációt gyorsítják meg. A mikroglia sejtek a központi idegrendszer immunsejtjeinek tekinthetőek, az ependyma sejtek pedig a kamrák belső felszínét alkotják, a liquor termelés-, és keringésszabályozásában vesznek részt[1]. Neuro-onkológiai megközelítésben ezen neuro-gliális sejtek neoplasztikus átalakulásaként kialakult daganatformákat nevezünk gliomáknak. Kiindulási hely szerinti megközelítésben a gliomák elsődleges központi idegrendszert érintő daganatformának tekinthetőek, szemben a más szervrendszerben kialakult daganatformákkal, melyek metasztázis révén képesek elérni a központi idegrendszeri struktúrákat.

Jelen doktori disszertáció célja a gliomák csoportján belül a leggyakoribb alcsoportoknak tekinthető diffúz, infiltratív terjedési mintázattal bíró, alacsonyabb grádusú asztrocitómák, valamint a glioblastoma prognosztikus faktorainak vizsgálata. Jelentőségüket adja egyrésztől gyakoriságuk, hiszen az összes malignus központi idegrendszeri daganat $\frac{3}{4}$ -ét ezen daganatok alkotják, másrésztől pedig a rendelkezésünkre álló terápiás lehetőségek korlátozottsága. Sebésztechnikai szempontból az infiltratív jelleg miatt a teljes eltávolítás nem kivitelezhető, onkoterápiás szempontból pedig a kifejezett intratumorális heterogenitás, valamint agresszív növekedési ráta miatt behatárolt a kezelés. Habár az összes malignus daganat csupán 1-2 %-át teszik ki a malignus KIR daganatok, a daganatok jellegéből fakadó kezelési nehézségek, a magas morbiditási tényezők, az érintett aktív keresőképes korosztály jellege miatt, gyakoriságához mérten aránytalanul nagy társadalmi – gazdasági tehernek tekinthető[2]. Az elmúlt bő

évtizedben jelentős változások történtek ezen daganatcsoportok besorolásában, valamint a prognosztikus tényezők klinikai gyakorlatba történő implemetálása során is. Célunk volt egyúttal ezen napi gyakorlatban használt prognosztikus szempontból releváns tényezők, valamint a kapcsolódó klasszifikációs változások összefoglalása, valamint a karakterisztikus diffúz, infiltratív terjedési mintázat mögötti folyamat és az extracelluláris mátrix (ECM) kapcsolatának többértű meghatározása.

2. Irodalmi összefoglalás

2.1. Központi idegrendszeri daganatklasszifikáció történeti áttekintése

A gliális daganatok neuro-onkológiában betöltött szerepének megértéséhez, a jellemvonásaik hiteles értékeléséhez, ezáltal a jelenleg alkalmazott és alkalmazni kívánt prognosztikus markerek taglalásához elengedhetetlen a klasszifikáció változásának történeti áttekintése, mely az elmúlt évtizedben tartalmi és technikai szempontból egyaránt jelentősen megváltozott.

A gliomák első említése, mint primer központi idegrendszeri daganatforma 1838-ban Johannes Müller által történt[3], majd később Bailey and Cushing által került 1926-ban további pontosításra, mely leírás, alapjait tekintve, a mai klasszifikációk törzsét is képezi[4]. A grádusok meghatározása elsőként 1949-ben a Kernohan klasszifikáció által történt meg, majd 1988-ban az alább részletezett hisztopatológiai jellemvonások alapján módosult a grádus meghatározás folyamata (St. Anne – Mayo rendszer)[5,6]. Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) által kiadott beosztás első verziója 1979-ben készült (1. TÁBLÁZAT).

1979	1., VERZIÓ
1993	2., VERZIÓ
2000	3., VERZIÓ
2007	4., VERZIÓ
2014	HARLEEM KONSZENZUS
2016	4., VERZIÓ - REVÍZIÓ
2021	5., VERZIÓ

1. Táblázat

A WHO által kiadott központi idegrendszeri daganatok klasszifikációk időrendi áttekintése

Az említett beosztások által, az elmúlt században a gliális daganatok klasszifikációja leginkább a hisztogenezis irányvonalainak figyelembevételével történt, amely a daganatokat azok mikroszkópikus jellemzőik, feltételezett különböző kiindulási sejtjei és ezek differenciáltsági állapota szerint különböztette meg. A hisztológiai tulajdonságokon alapuló elkülönítés a sejtek fénymikroszkópos jellemzőit, a sejtek származásával összefüggő fehérjék immunhisztokémiai expresszióját és az ultrastruktúrális tulajdonságokat vette figyelembe. Részletezve, a neuropatológus által megadott diagnózis a következő szövettani jellegzetességeken alapult: (1) polimorf, anaplasztikus, szignifikáns anisokariosissal jellemezhető sejtek, ovális vagy elongált, fokozott hyperkromatikus kromatinállomány képében jelenlévő nukleáris atípiával, (2) fokozott mitotikus aktivitás, (3) érproliferáció (angiogenezis) diszkontinuus pericyta sejtssorral az újonnan létrejött erek felszínén, és/vagy (4) nekrosis jelenléte, amely körül gyakran pseudopallisád elrendezésben találhatóak a glia sejtek (St. Anne/Mayo grading rendszer)[7].

Az elmúlt közel három évtized tanulmányai igazolták azonban több molekuláris genetikai alteráció szerepét az agydaganatok tumorigenezisének folyamatában is, melyek végül fokozatosan diagnosztikus kritériumokká is váltak [8]. Néhány ezen általános genetikai alterációk közül már a korábbi 2007-es, 4. verziónak számító WHO KIR daganat klasszifikáció idején is ismert volt, azonban ezek szerepe leginkább prognózis becslésére szolgált, kezdetben diagnosztikus segítséget még nem jelentettek [9].

2014-ben következett be a jelentős fordulat, a Harleem-konszenzus keretében, ahol a daganatklasszifikáció vonatkozásában szakítottak az évszázados, teljes mértékben a mikroszkópos vizsgálaton alapuló diagnosztikus elvvel[10]. Bevezetésre került az integratív diagnosziskötés fogalma, melynek keretében az adott daganattípusra jellegzetes fenotípusos és genotípusos jegyek is meghatározó tényezővé váltak, biológiaiilag homogénebb és pontosabban meghatározott diagnosztikus entitások létrehozásának céljával. A rétegzett diagnosziskötésben a hisztopatológiai jellemvonás (layer 2) mellett a WHO CNS (Central nervous system) grádus (layer 3), valamint a karakterisztikus molekuláris adatok (layer 4) biztosítják a végső diagnosziskötés (layer 1) (2. TÁBLÁZAT).

2. Táblázat

Integrált diagnosziskötés reprezentatív példa

INTEGRÁLT DIAGNÓZIS (LAYER 1)	DIFFÚZ ASZTROCITOMA, IDH-MUTÁNS, CNS WHO GR. 2
Hisztopatológiai klasszifikáció (Layer 2)	Diffúz asztrocitoma
WHO CNS grádus (Layer 3)	Gr. 2
Molekuláris adatok (Layer 4)	IDH1 R132H-mutáns, ATRX-mutáns, TP53-mutáns

A 2016-os revízióban fontos különbségtételt jelentett a diffúz, infiltratív jellemvonásokkal bíró gliomák megjelölése, a körülhatárolt, ezen terjedési mintázattal nem jellemezhető gliomákkal szemben. A múltban az összes asztrocita eredetű tumor ugyanazon csoportba került, a revíziót követően a diffúzan infiltráló gliomák közös csoportba kerültek: alapozva ezt nem csupán a növekedési mintázatukra és viselkedésükre, sokkal inkább a közös jellemzőként fennálló genetikai driver mutációkra az *IDH1* és *IDH2* gének esetében. A 2016-os WHO KIR klasszifikációban, a diffúz gliomák csoportja magában foglalja a WHO Gr. 2 és Gr. 3 típusú asztrocita eredetű tumorokat, a Gr. 2 és Gr. 3 oligodendrogliomákat, a Gr. 4 glioblasztomákat, valamint a kapcsolódó gyermekkori diffúz gliomákat. Ezen megközelítés tehát mellőzi a diffúz

gliomák csoportjából azon asztrocitomákat, amelyek sokkal körülhatároltabb növekedési mintázattal rendelkeznek, nincs bennük az *IDH* géncsaládhoz tartozó mutáció és gyakorta bírnak *BRAF* alterációkkal (pilocytás asztrocitoma, pleomorf xanthoasztrocitoma) vagy *TSC1/TSC2* mutáció (subependimális óriássejtek asztrocitoma) mutatható ki bennük. Összességében, a diffúz asztrocitomák és az oligodendrogliomák mostmár nozológiai szempontból sokkal hasonlóbbak, mint a diffúz asztrocitoma és a pilocytás asztrocitoma; a „családfa” újraértelmezése történt.

A molekuláris diagnosztika fejlődése szükségszerűen újraértelmezést sürgetett az újonnan definiált entitások prognosztikus várakozásaival kapcsolatban is. A korábbi releváns prognosztikus különbség az *IDH*-mutáns WHO Gr. 2 (diffúz) asztrocitomák és az *IDH*-mutáns WHO Gr. 3 (anaplasztikus) asztrocitomák között a kutatások tükrében minimalizálódni látszott[11]. A diffúz, infiltratív, de high-grade jellemvonásokat nem mutató gliomákat egy csoportként, az újabb szakirodalmi terminus szerint alacsonyabb grádusú gliomák (*lower grade glioma*) csoportjaként említik[12]. Ennek alapja, hogy a mitotikus aktivitáson alapuló egzakt elkülönítés nehezen kivitelezhető, valamint bizonyos molekuláris alterációk által kijelölt alcsoportokban a túlélési paraméterek nem a grádussal mutattak összefüggést, hanem a tumor agresszivitását, kemo- és sugárszenzitivitását egyaránt befolyásoló molekuláris eltérésekkel korreláltak [11,13]. A molekuláris markerek fontosságát hangsúlyozza továbbá, hogy azonos szövettani csoportba sorolható alacsonyabb grádusú gliomák a megegyező terápia ellenére is igen eltérő progresszió mentes (PFS) és teljes túlélési adatokat (OS) mutatnak. Ennek megfelelően az alacsonyabb grádusú gliomák csoportján belül a különböző terápiás módszerek indikációs körének meghatározására alacsony és magas rizikójú alcsoportokról beszélhetünk [14,15].

A taxonómia evolúciójára példaként említhető a korábban hisztopatológiai jellemvonások alapján meghatározott oligoasztrocitoma entitás, mely a 2016-os WHO klasszifikáció módosítás szerint csak a molekuláris tesztelés hiányában, kizárólag mint, NOS (not otherwise specified) kategória

tüntethető fel, míg a 2021-es 5. verzió alapján pedig már a továbbiakban ekként sem használható entitás, teljesen kivezetésre került, hiszen mind a diffúz asztrocitómák, mind a diffúz oligodendrogliómák karakterisztikus molekuláris jellemvonásokkal bírnak [16].

A klasszifikáció a 2016-os módosítást követően is több elemében jelentős változáson ment keresztül. A módosítások alapját a cIMPACT (Consortium to Inform Molecular and Practical Approches to CNS Tumor Taxonomy) munkacsoportok által végzett munka jelentette, mely alapján végül a WHO klasszifikáció 5. verziója megalkotásra került[17–19]. Végérvényesen kivezetésre került a primer és szekunder glioblasztoma fogalma, glioblasztoma kizárólag diffúz, infiltratív terjedési mintázattal bíró *IDH*-vadtípusú esetekben diagnosztizálható, *IDH*-mutáns esetekben Gr. 4 asztrocitómáról beszélünk. A molekuláris paraméterek fontosságára vonatkozathatóan példaként említhető a molekuláris glioblasztoma fogalmának bevezetése. *IDH*-, és H3-vadtípusú glioblasztomák esetében amennyiben (1) *EGFR* amplifikáció, (2) *TERT* mutáció, (3) kombinált teljes 7-es kromoszómaszerzés és teljes 10-es kromoszómavesztés (+7/-10) valamelyike igazolhatóan jelen van, úgy mikrovaszkuláris proliferáció és/vagy nekrosis jelenléte nélkül is kimondható az *IDH*-vadtípusú glioblasztoma diagnózisa. Hasonló analógia igaz a Gr. 2,3 *IDH*-mutáns asztrocitómák vonatkozásában, miszerint, *CDKN2A/B* homozigóta deléción jelenléte esetén mikrovaszkuláris proliferáció és/vagy nekrosis nélkül is Gr. 4 *IDH*-mutáns asztrocitomaként kezelendő. A további, újonnan integrált molekuláris genetikai diagnosztikus kritériumok a 2.5. alfejezet alatt kerülnek részletezésre.

Megváltozott továbbá a tumor gradálási rendszer, melynek alapján jelenleg adott entitásokon belül kerülnek az eltérő grádusok meghatározásra, nem pedig különböző entitások között. Szembetűnő, azonban inkább praktikus változtatás a grádusok arab számmal történő jelölése, valamint a specifikus gének esetében történő dőlt betűs írásmód alkalmazása.

Az agydaganatok vonatkozásában az epidemiológiai adatok szisztematikus gyűjtése a jelen is részletezett folyamatos változás miatt meglehetősen nehéz. Többek között ezen nehézség

mérséklésére kerültek bevezetésre a NOS (not otherwise specified) és NEC (not elsewhere specified) fogalmak. A NOS megjelölés arra utal, hogy *elégtelen információ birtokában nem lehetséges a vizsgált molekuláris alteráció specifikus meghatározása*. Ebben az értelmezésben, a NOS kifejezés a legtöbb esetben olyan tumorokra utal, amelyek nem lettek teljes mértékben tesztelve a releváns genetikai paraméter(ek) tekintetében, de néhány ritka esetben olyan tumort is jelenthet, amely tesztelve lett, de nem mutatta a diagnosztikus genetikai elváltozást. A NOS kifejezés nem határoz meg egy specifikus entitást, sokkal inkább egy olyan csoportját jelöli ki a lézióknak, amelyek esetében nem lehetséges a szűken meghatározott csoportokba történő besorolás [16].

A NEC fogalom esetében a molekuláris tesztelés teljes vonatkozásában kivitelezésre került, azonban olyan eredmény született, mely alapján a hagyományosan meglévő diagnosztikus entitások közé a besorolás nem lehetséges.

Összefoglalva, jelenleg a gliomák taxonómiai besorolását tekintve a WHO központi idegrendszeri daganatokat részletező 2021-ben megjelent, 5. kiadása a jelenlegi iránymutató [20]. A központi idegrendszert érintő daganatformák eszerint 13 fő csoportba kerültek beosztásra, mely fő csoportokon belül a gliomák, a glioneuronális és neuronális tumorokkal együttesen kerültek beosztásra (3. TÁBLÁZAT). A gliomák csoportján belül több entitás megkülönböztethető, azonban dolgozatomban a leggyakoribb csoportnak tekinthető diffúz, infiltratív terjedési mintázattal jellemezhető asztrocitomákkal, oligodendrogliomákkal, valamint glioblasztomával foglalkozom.

3. Táblázat

Központi idegrendszeri WHO klasszifikáció (5. verzió, 2021)

ICD-O (International Classification of Diseases for Oncology) morfológiai kódolással együttesen

Morfológiai besorolás: /0 benignus tumorok; /1 nem meghatározott, borderline, vagy bizonytalan viselkedés; /2 in situ carcinoma és gr III intraepitheliális neopláziák; /3: malignus tumorok, elsődleges lokalizációban;/6: malignus tumorok áttéti lokalizációban

- | | |
|--|-----------|
| 1. GLIOMÁK, GLIONEURONÁLIS ÉS NEURONÁLIS TUMOROK | |
| a. Felnőttkori diffúz gliomák | ICD-O kód |
| i. <u>Asztrocitoma, IDH-mutáns</u> | |
| a. Asztrocitoma, IDH-mutáns, grade 2 | 9400/3 |
| b. Asztrocitoma, IDH-mutáns, grade 3 | 9401/3 |
| c. Asztrocitoma, IDH-mutáns, grade 4 | 9445/3 |
| ii. <u>Oligodendroglioma, IDH-mutáns, 1p/19q kodeletált</u> | |
| a. Oligodendroglioma, IDH-mutáns, 1p/19q kodeletált, grade 2 | 9450/3 |
| b. Oligodendroglioma, IDH-mutáns, 1p/19q kodeletált, grade 3 | 9451/3 |
| iii. <u>Glioblasztoma, IDH-vad típus</u> | 9440/3 |
| b. Gyermekkori diffúz low-grade gliomák | |
| c. Gyermekkori diffúz high-grade gliomák | |
| d. Körülírt asztrocitaer gliomák | |
| i. Pilocitás asztrocitoma | 9421/1 |
| ii. High-grade asztrocitoma piloid jellemvonásokkal | 9421/3 |
| iii. Pleomorf xanthoasztrocitoma | 9424/3 |
| iv. Szubependymális óriás sejtes asztrocitoma | 9384/1 |
| v. Chordoid glioma | 9444/1 |
| vi. Asztroblasztóma, MN1-alterált | 9430/3 |
| e. Glioneuronális és neuronális tumorok | |
| f. Ependimómák | |
| 2. PLEXUS CHORIDEUS TUMOROK | |
| 3. EMBRIONÁLIS TUMOROK | |
| 4. PINEÁLIS RÉGIÓT ÉRINTŐ TUMOROK | |
| 5. AGYIDEGEKET ÉS PARASPINÁLIS IDEGEKET ÉRINTŐ TUMOROK | |
| 6. MENINGEÓMÁK | |
| 7. MESENCHYMÁLIS, NON-MENINGOTHELIÁLIS KÖZPONTI IDEGRENSZERT ÉRINTŐ TUMOROK | |
| 8. MELANOCITÁS TUMOROK | |
| 9. KÖZPONTI IDEGRENSZERT ÉRINTŐ HAEMATOLYMPHOID TUMOROK | |
| 10. CSÍRASEJTES TUMOROK | |
| 11. SELLÁRIS RÉGIÓT ÉRINTŐ TUMOROK | |
| 12. METASZTÁZISOK | |
| 13. KÖZPONTI IDEGRENSZERT ÉRINTŐ GENETIKAILAG MEGHATÁROZOTT TUMOR SZINDRÓMÁK | |

2.2. Epidemiológia

A központi idegrendszeri daganatok epidemiológiai adatainak közlése a folyamatosan változó taxonómiai környezet kapcsán korlátozott értékű. A klasszifikáció egyértelműsítése, a konszenzuális, egységesített nyelvezet használata azonban az ismeretanyagunk bővítését, az adataink klinikum orientált feldolgozását is elősegíti. A legnagyobb ezirányú adatbázis az Ostrom és mtsai által évente közölt Central Brain Tumor Registry of the United States (CBTRUS). Munkám során az epidemiológiai adatok vonatkozásában a 2023-ban publikált, a 2016-2020 évek adatait feldolgozó adatbázisban foglaltakra hivatkozom[21].

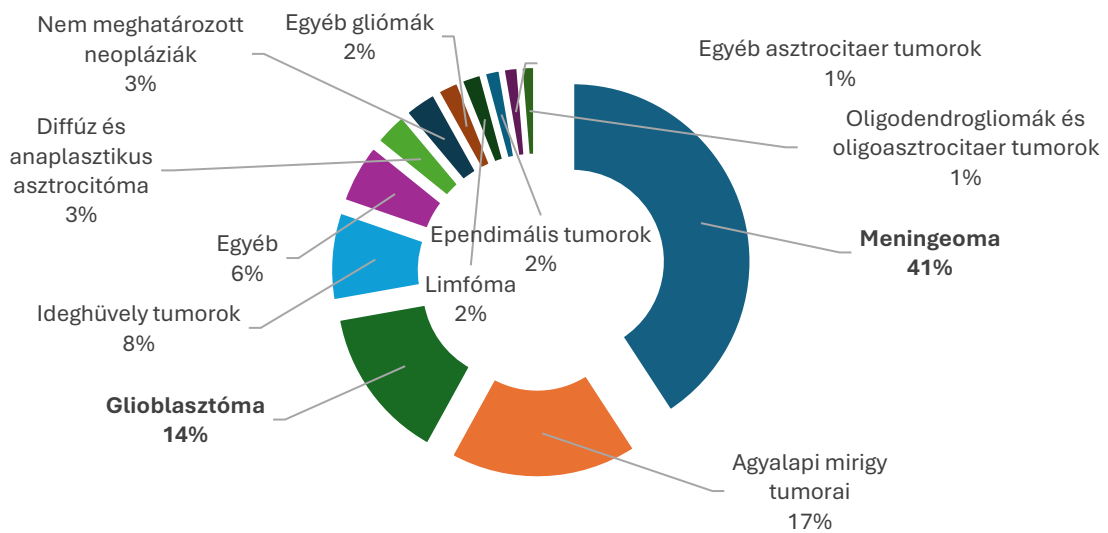
Minden évben, világszerte körülbelül 100.000 ember kerül diffúz gliomával diagnosztizálásra. Ez az összes daganatos diagnózis mindösszesen két százaléka, azonban a morbiditási és mortalitási adatok miatt kifejezett társadalmi hatással bír [22]. Érdekes epidemiológiai adat, hogy azon országokban, ahol az észak-európai származású népesség túlnyomórészt él a betegségek előfordulási aránya sokkal kifejezettebb (Észak- Amerika, Ausztrália, Új-Zéland; Incidencia: 7.8 – 9.6 / 100.000 fő), azok területekhez viszonyítva, ahol túlnyomórészt ázsiai és afrikai népesség található (Délkelet-Ázsia, India; Incidencia: 1.9 – 3.3 / 100.000 fő). Szembetűnő a Nyugat-Európában tapasztalt négyszer magasabb előfordulási arány a jólétben élő kelet-ázsiai országokhoz viszonyítottan is (Nyugat-Európa: 8.5 / 100.000 fő; Japán, Szingapúr: 1.9 / 100.000 fő), mely arra utal, hogy az etnikai, kulturális, valamint környezeti tényezők is jelentős befolyásoló szereppel bírhatnak a gyakorta említett jelentési torzításon felül. Rasszok vonatkozásában a kaukázusi rassz esetében beszélünk nagyobb előfordulási gyakorisággal az afrikai, ázsiai és hispán populációhoz viszonyítva [23].

A központi idegrendszert érintően a leggyakoribb benignus folyamatnak a meningeoma, míg leggyakoribb malignus léziónak a glioblasztoma tekinthető. Elmondható, hogy a központi idegrendszert érintő daganatok 27.9 %-a tekinthető malignusnak. A malignus léziók több, mint 50

%-ért a glioblasztoma tehető felelőssé, összességében a gliális folyamatok pedig több, mint 80 %-át adják a malignus KIR daganatoknak (1. és 2. ÁBRA).

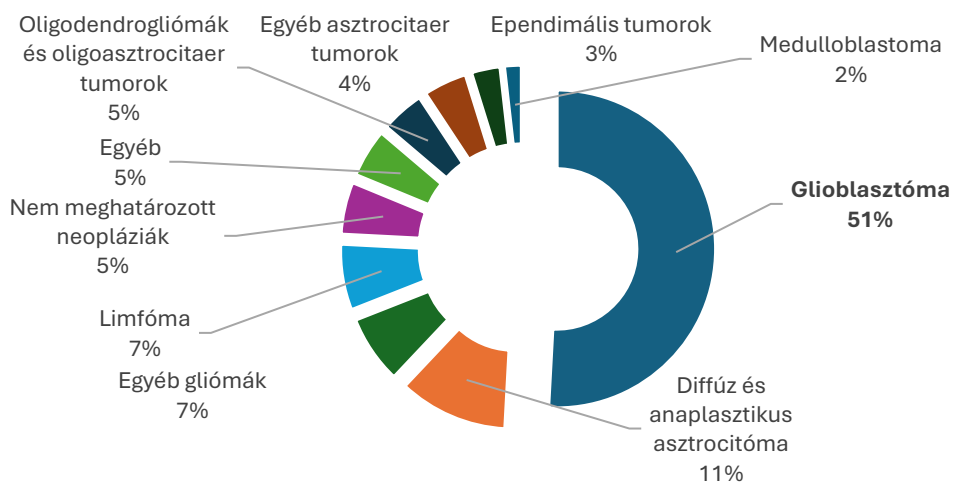
1. Ábra

A központi idegrendszert érintő daganatok hisztopatológiai jellemvonások szerinti eloszlása (Ostrom et al, Neuro Oncol, 2023 alapján)



2. Ábra

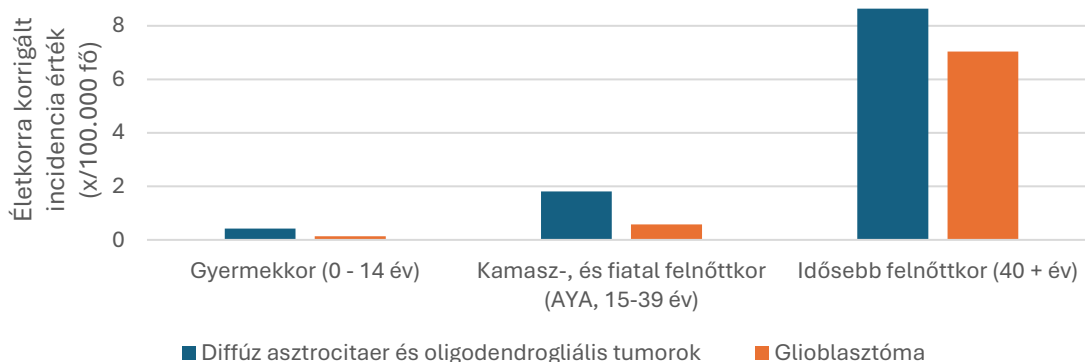
A központi idegrendszert érintő malignus daganatok hisztopatológiai jellemvonások szerinti eloszlása (Ostrom et al, Neuro Oncol, 2023 alapján)



Az életkorra korrigált incidenciák értékei vonatkozásában a diffúz asztrocitaer és oligodendrogliális tumorok 4.45 / 100.000 fő (95 % CI: 4.42 – 4.48), míg a glioblasztoma 3.27 / 100.000 fő (95 % CI: 3.24 – 3.29) értékkel jellemezhető, a férfi nem esetében másfél – kétszeres predominancia mellett, valamint a 40 év fölötti életkor tekintetében gyakoribb előfordulási rátával (3. ÁBRA). A glioblasztomával diagnosztizált betegek medián életkora 66 év, míg a teljes diffúz, infiltratív terjedési mintázattal bíró daganatcsoportot jellemzően 63 évről beszélhetünk. A medián túlélési adatok mellett releváns adat, hogy a 15 – 39 éves, ún. AYA – populációban (Adolescent and young adults) a daganatos halálozások esetében a központi idegrendszert érintő daganatos elváltozások a második leggyakoribb haláloknak tekinthetők.

3. Ábra

Életkorra korrigált incidenciák értékei diffúz asztrocitaer és oligodendrogliális tumorok vonatkozásában, valamint ezen belül a glioblasztoma alcsoportjában



Túlélési adatok vonatkozásában a 1-, valamint 5-éves túlélési mutatók az irányadóak az onkológiai gyakorlatban (4. TÁBLÁZAT), valamint jellemző adat a medián teljes túlélési idő, mely a glioblasztoma esetében 8 hónap (95 % CI: 8-9), a legjobb prognózisú Gr. 2 oligodendroglioma esetében pedig 205 hónap (95 % CI: 196-209) [21].

A diffúz, infiltratív terjedési mintázattal jellemezhető gliális folyamatok legtöbbször sporadikusan alakul ki, többnyire családi vagy örökletes predisponáló szindróma nélkül. Ritka kivételek esetében a Li-Fraumeni szindróma (csírasejtes *TP53* mutáció), Ollier-kór (*IDH1/2* mutáció), Lynch-szindróma (*MSH2*, *MLH1* mutáció), a neurofibromatosis (*NF 1/2* gén mutáció) esetében

találkozhatunk halmozott előfordulással. Gliális folyamattal érintett elsőfokú rokon kétszeres rizikót jelent a folyamat kialakulására vonatkozóan[24].

4. Táblázat

Korcsoportoktól független 1, valamint 5 éves túlélési adatok a gliális folyamatok egyes alcsoportjaiban, szövettani altípus szerinti bontásban. (Ostrom et al, Neuro Oncol, 2023 alapján)

HISZTOPATOLÓGIA	1 ÉVES TÚLÉLÉSI ARÁNY (%)	5 ÉVES TÚLÉLÉSI ARÁNY (%)
Diffúz asztrocitoma	76.8	53.5
Anaplasztikus asztrocitoma	67.5	32.2
Glioblasztoma	42.9	6.9
Oligodendroglioma	95.3	84.6
Anaplasztikus oligodendroglioma	89.1	66.8
Pilocitás asztrocitoma	98.1	94.8
Ependimális tumorok	96.0	90.5

Környezeti tényezők esetében, a különösen gyermekkorban elszenvedett ionizáló sugárzás tekinthető a legjelentősebbnek. A daganat kialakulása akár 7-9 évvel a sugárterhelést követően is bekövetkezhet, dóziszfüggő jelleget mutatva. Értendő ez mind az alacsonyabb dózisú sugárterhelésre (atombomba túlélők), mind a nagyobb dózisú terápiás gyermekkori sugárkezelésekre, melyeket fertőzések, valamint daganatok kezelésére alkalmaztak. A terápiás sugárkezelés 3-7-szeresére képes növelni a glioma kialakulási rizikóját [25,26]. A mobiltelefon használatra vonatkoztathatóan egy a WHO által készült, 2022-ben publikált meta-analízis nem talált összefüggést a mobiltelefon használatára és a gliális daganatok kialakulásának kockázata között, függetlenül az időtartamtól és használati gyakoriságtól [27]. Ellenkezőleg, több tanulmány igazolta, hogy az allergiás, valamint egyéb atópiás állapotok (szénanátha, ekcéma, asztma) csökkentik a gliomák kialakulási kockázatát [28].

2.3. Diffúz gliomák klinikai vonatkozásai

A gliomák a központi idegrendszerben bárhol kialakulhatnak, azonban a legtöbb daganat mégis szupratentoriálisan, a frontális (30 – 50 %) és temporális lebenyek (20 – 30 %) területén alakul ki, szignifikáns jobb / bal lateralizációt nem mutatva. Infratentoriális lokalizációval elsősorban a gyermekek esetében találkozunk [29].

A klinikai tünetek közül általános, valamint fokális (meghatározott agyi régióra jellemző) tüneteket különböztethetünk meg. A tünetek a térfoglaló hatás és peritumorális ödéma által megemelkedett intrakraniális nyomással, valamint a daganat direkt infiltrációjával hozhatóak összefüggésbe [30]. Általános tünetek közül az állandó, gyógyszeres terápiára nem mérséklődő, általában reggeli órákban kifejezettebb fejfájás emelendő ki, a hányinger, hányás, valamint gyengeség és tudatzavar mellett. Neurológiai tünetekkel az alacsonyabb grádusú folyamatok esetében a lassabb növekedési ütem, ezáltal a kompenzáló neuroplaszticitás miatt később találkozunk, míg a glioblasztoma esetén a rapid növekedés miatt a koponyaűri nyomásfokozódás tünettana lehet az elsőként jelentkező szimptóma. Gyakori klinikai megnyilvánulási forma a diffúz gliomák esetében az epileptiform rosszullét jelentkezése, az esetek releváns hányadában ez a képalkotó diagnosztika elsődleges indikációja. Az eltelt időszakban, a képalkotás rohamos fejlődésének és az egészségügyi ellátáshoz való hozzáférés javulása miatt az incidentálisan felfedezett esetek is növekszenek, kb. 10 %-ra tehető arányuk. Ez esetekben fejfájás, esetlegesen traumás eltérés miatt történik agyi képalkotás [31]. A fokális tünetek adott agyi régióra jellegzetes tüneteket jelentenek, mely a teljesség igénye nélkül az egyes lebenyek esetében: 1, homloklebeny: személyiségváltozás, megváltozott ítélőképesség, végtaggyengeség, beszédképesség zavara; 2, halántéklebeny: memóriazavar, hallucináció, beszédzavar; 3, fali lebeny: érzékszavarok, térbeli orientációs problémák, írás-, és számolási képesség megváltozása; 4, halántéklebeny: látótér defektusok; 5, agytörzs: agyideg problémák, nyelési nehézség, szemmozgászavarok; 6, kisagy: koordinációs zavar, járászavar, szédülés [29].

Az iránydiagnózis alapjául a képalkotó felvételek szolgálnak. Sok esetben a primer modalitás a koponya CT, azonban a gold standard eljárásnak a gadolínium kontrasztanyag adásával készült koponya MR felvétel tekinthető. Az alacsonyabb grádusú folyamatok általában nem kontraszthalmozó természetűek, kiterjedésük leginkább a vékonyrétegű T2, valamint FLAIR szekvenciák segítségével megítélhető. A magasabb grádusú folyamatok esetében a daganatok kontraszthalmozása heterogén, általában a tumormassza széli részében észlelhető[32].

Az említett konvencionális képalkotási lehetőségeken túl a mindennapokban is egyre inkább használatos MR technika között a perfúziós MR (vaszkuláris vérátáramlás és vértérfogat mérése), az MR spektroszkópia (daganatkomponensek indirekt meghatározása), valamint a pozitron emissziós tomográfia, melynek kapcsán a gliális folyamatok vonatkozásában radioaktívan jelölt aminosav traccerek alkalmazása történik, mely jelentős segítséget nyújt a tumortérfogat, valamint tumorheterogenitás, a kezelés során pedig a recidív folyamatok azonosításánál [32].

Klinikai, egyúttal prognosztikus szempontból is kiemelendő a daganatsebészeti beavatkozás szerepe. A jelenleg érvényes ajánlások szerint, amennyiben a beteg általános állapota, társbetegségei ezt lehetővé teszik úgy a sebészi eltávolítás az elsődlegesen választandó eljárás. A sebészi eltávolítás radikalitásának mértéke minden gliális daganatforma vonatkozásában pozitív prognosztikai tényezőnek tekinthető [31]. Az ezirányú vizsgálatok közül kiemelendő a glioblasztómára vonatkoztatható RANO (Response Assessment in Neuro-Oncology) resect csoport tanulmánya, mely az eltávolítás mértékének stratifikálását vezette be és értékelte annak jelentőségét. A reszekció esetében a képalkotó felvételen azonosított kontraszthalmozó és nem-kontraszthalmozó (T2, FLAIR szekvencián azonosított) daganatos területek volumetrikus azonosítása szükségszerű. Jelen felosztás szerint megkülönböztetjük a szupramaximális, maximális, szubmaximális eltávolítást jelentő, valamint biopsziás mintavételre szorítkozó sebészi beavatkozásokat. Szupramaximális esetben a teljes kontraszthalmozó rész eltávolításra került és a nem-kontraszthalmozó daganatos területek térfogata is kevesebb, mint 5 cm³. Maximális

reszekció esetén két alcsoport különböztethető meg. Komplet eltávolítás esetén szintén teljes kontraszthalmozó tumoros terület eltávolításról beszélünk, több, mint 5 cm^3 -nyi nem halmozó terület visszamaradásával, míg near-total eltávolítás esetén kontraszthalmozó terület is marad vissza, azonban csak kevesebb, mint 1 cm^3 -nyi térfogatban. Szubmaximális esetben is kontraszthalmozó tumoros terület marad vissza a sebészi eltávolítást követően, amennyiben ez kevesebb, mint 5 cm^3 , úgy szubtotális, amennyiben több, mint 5 cm^3 , úgy parciális reszekcióról beszélünk. Kimutatásra került, hogy a szupramaximális és maximális reszekciós csoportok tekintetében, valamint a nem-kontraszthalmozó területek térfogatarányától függően is pozitív prognosztikus relevanciájú a sebészi eltávolítás mértéke [33].

A sebészi eltávolítás kapcsán az onko – funkcionális egyensúly megtartása a legfontosabb iránytű. Habár a radikalitás mértéke a teljes túlélési idővel korrelál, az eltávolítás mértékének meghatározását kellő részletességű kockázat-haszon értékelésnek szükséges megelőznie ahhoz, hogy a beteg számára a lehető legkisebb mértékű életminőség romlás mellett a lehető legnagyobb mértékű reszekció (extent of resection – EOR) elvégzését érhessük el (maximális funkciómegtartó sebészeti megközelítés)[34,35].

Az onko-funkcionális egyensúly megteremtésében jelentős szerepet kapnak a képalkotó diagnosztikai modalitások, valamint ezek feldolgozásával nyert többlet információk. A morbiditási tényezőket elsősorban az ún. elokvens területek érintettsége befolyásolja. Az elokvens területek közé tartoznak a beszédfunkciókat, motoros funkciókat, valamint magasabb rendű kognitív és emocionális funkciókat betöltő agyi területek. Ezen funkcionális, pre-operatív azonosítására alkalmas technikák közül kiemelendő a funkcionális MR (fMRI) felvétel, melynek segítségével az agykérgi aktiváció hatására bekövetkező vérátáramlás detektálásával indirekt kortikális térképezésre, az elokvens területek azonosítására van lehetőségünk. Jelentős szerep tulajdonítható továbbá a diffúziós tenzor képalkotásnak (DTI), mely a szubkortikális régió, a fehérállományi pályarendszerek azonosítását (traktográfia) teszi lehetővé [36].

Intraoperatív vonatkozásában az előzetesen részletezett konvencionális és funkcionális azonosítást szolgáló képalkotó felvételeket is felhasználó neuro-navigáció, a mikrosebészeti módszerek, intraoperatív képalkotás (UH, MR), valamint a tumorosan infiltrált agyi területek vizualizációját segítő 5-aminolevulinsav alkalmazása nyújthat segítséget. Bizonyos esetekben az éber műtéti technika, valamint az elektrofiziológiai direkt kortikális és szubkortikális ingerlés segíti a maximális funkciómegtartó sebészeti megközelítés alkalmazását[35].

2.4. Kezelés

A posztoperatív kezelési stratégiák felállításával kapcsolatban elmondható, hogy a folyamatosan bővülő ismeretanyagot a klinikai vizsgálatok nem képesek naprakészen követni. A vizsgálatok elvégzését, értékelését nehezíti az altípusok eltérő biológiai viselkedése, terápiás válaszkészsége, valamint az, hogy az általában hosszú követést igénylő tanulmányokban az altípusok reprezentáltsága nem kellő mértékű, így a levonható következtetések is korlátozott értékűek. A jelenlegi egyszerűsített posztoperatív EANO (European Association of Neuro-Oncology) terápiás ajánlási rendet az alábbiakban foglalom össze (5. ÉS 6. TÁBLÁZAT).

Általánosságban elmondható, hogy a kedvező prognosztikus mutatókkal rendelkező, alacsonyabb grádusú folyamatok esetében elsősorban a PCV (procarbazin, lomustin [CCNU], vincristine) kombinált kemoterápiás regimen, míg kedvezőtlenebb esetben a szintén alkiláló kemoterápiás szernek minősíthető temozolomid (TMZ) kezelés részesítendő előnyben a radioterápia alkalmazása mellett. Magasabb grádusú folyamatok, így a glioblasztoma esetében is a terápiás protokoll részét képezi a konkurráló kemo-irradáció, az ún. Stupp-protokoll. Ennek része a frakcionált, lokalizált radioterápia (össz. 60 Gy, 30-33 egyenként 1.8-2 Gy dózisú frakció), 6 héten keresztül, heti 5 napban.

Egy időben zajlik a konkuráló kemoterápiás kezelés, amely a TMZ adásával történik. A beteg 75 mg/testfelszín-négyzetméter TMZ-t kap heti 7 napon keresztül a radioterápia első napjától az utolsóig, de legfeljebb 49 napig. 4 hét szünet elteltével, egy legalább 6 cikusból álló adjuváns kemoterápia következik, amelyben egy-egy 28 napos ciklus során 5 napig 150-200 mg/testfelszín-négyzetméter temozolomid adása történik.

5. Táblázat

A glioblasztoma esetében jelenleg alkalmazott kezelési algoritmus, valamint a stratifikációs kritériumok rendszere (European Association of Neuro-Oncology [EANO] 2021 ajánlás alapján)

PROGNOSZTIKAI TÉNYEZŐK	KEZELÉS
<i>Kedvező prognosztikai tényezők:</i> - Életkor < 70 év - KPS ≥ 70	Temozolomid kemoradioterápia
<i>Kedvezőtlen prognosztikai tényezők:</i> - Életkor < 70 év - KPS < 70	Sugárkezelés (hipofrakcionált)
<i>Kedvezőtlen prognosztikai tényezők:</i> - Életkor ≥ 70 év - MGMT-promóter nem metilált	Sugárkezelés (hipofrakcionált)
<i>Kedvezőtlen prognosztikai tényezők:</i> - Életkor ≥ 70 év - MGMT-promóter metilált	Temozolomid kemoradioterápia vagy temozolomid monoterápia
<i>Nagyon kedvezőtlen prognosztikai tényezők:</i> - KPS < 50 vagy a kezeléshez való hozzájárulás képtelensége	Palliatív kezelés

6. Táblázat

Az *IDH* mutációval rendelkező diffúz, infiltratív gliális folyamatok esetében jelenleg alkalmazott kezelési algoritmus, valamint a stratifikációs kritériumok rendszere (European Association of Neuro-Oncology [EANO] 2021 ajánlás alapján)

DAGANATTÍPUS	PROGNOSZTIKAI TÉNYEZŐK	KEZELÉS
Oligodendroglioma, <i>IDH</i> -mutáns, 1p/19q ko-deléció, WHO Gr. 2	Kedvező: - Életkor < 40 év - Nincs neurológiai deficit - Alacsony daganatterhelés - Grade 2	Kedvező: - „Várakozás és megfigyelés” vagy sugárkezelés PCV követésével (vagy: temozolomide kemoradioterápia)
Oligodendroglioma, <i>IDH</i> -mutáns, 1p/19q ko-deléció, WHO Gr. 3	Kedvezőtlen: - Életkor ≥ 40 év - Neurológiai deficit - Reziduális tumor - Grade 3	Kedvezőtlen: - Sugárkezelés PCV követésével (vagy: temozolomide [TMZ] kemoradioterápia)
Asztrocitoma, <i>IDH</i> -mutáns, WHO Gr. 2	Kedvező: - Életkor < 40 év - Nincs neurológiai deficit - Alacsony daganatterhelés - Grade 2	Kedvező: - „Várakozás és megfigyelés” vagy sugárkezelés PCV követésével (vagy: Sugárkezelés TMZ követésével)
Asztrocitoma, <i>IDH</i> -mutáns, WHO Gr. 3	Kedvezőtlen: - Életkor ≥ 40 év - Neurológiai deficit - Reziduális tumor - Grade 3	Kedvezőtlen: - Sugárkezelés TMZ követésével (vagy: sugárkezelés PCV követésével)
Asztrocitoma, <i>IDH</i> -mutáns, WHO Gr. 4	Prognosztikai tényezők: - Életkor - Neurológiai deficit - Reziduális tumor - Gr 2/3 esetekben részletezettek	Sugárkezelés, amelyet temozolomid követ (vagy: konkuráló temozolomide alkalmazásával vagy anélkül)

A gyógyszeres terápiák tekintetében hosszú évek óta nem volt újonnan bevezetésre kerülő készítmény, mely a mindennapos kezelési algoritmusokba bekerülhetett volna. 2024. augusztusában azonban a FDA (U.S. Food and Drug Administration) elfogadta a vorasidenib készítményt, mely 12 évesnél idősebb, Gr. 2 *IDH* 1/2 mutáns asztrocitomával vagy

oligodendrogliomával rendelkező betegek esetében alkalmazható. Az INDIGO tanulmány értelmében a vorasidenib kezelésben részesülőknél a progresszió-mentes túlélés időtartama 27.7 hónap a placebo csoportban lévő betegcsoporthoz képest, ahol a PFS 11.1 hónapnak mutatkozott [37].

2.5. Leggyakoribb molekuláris alterációk patomechanizmusai

Gliomák prognosztikai kutatásához hozzátartozik a releváns molekuláris markerek patomechanizmusának megértése, a biokémiai folyamatok értelmezése. A disszertáció jelentős részében a diagnosztikus és egyben prognosztikus vagy prediktív szempontból fontos markereket több kontextusban említtem, azonban a háttérmechanizmusok tárgyalását, az eddig elért szakmai konszenzuális eredmények értékelését elengedhetetlennek látom egy naprakész dolgozat megírása esetén. Az alábbiakban a legfontosabb, gliális daganatok diagnózisalkotásában szerepet játszó molekuláris alterációk mechanizmusait részletezem (7. TÁBLÁZAT) [38].

7. Táblázat

Diffúz infiltratív gliómák diagnosztikus algoritmus az integratív diagnózisalkotás alapján

<i>IDH</i> 1/2 mutáció igazolható	<i>ATRX</i> loss-of-function mutáció igazolható	MVP / Nekrózis / CDKN2/B deléció igazolható	Asztrocitoma, <i>IDH</i> -mutáns, CNS WHO Gr. 4.
		MVP / Nekrózis / CDKN2/B deléció NEM igazolható	Asztrocitoma, <i>IDH</i> -mutáns, CNS WHO Gr. 2. és 3.
	<i>ATRX</i> loss-of-function mutáció NEM igazolható	1p19q kodeléció igazolható	Oligodendroglioma, <i>IDH</i> -mutáns és 1p/19q kodeletált, CNS WHO Gr. 2. és 3.
		1p19q kodeléció NEM igazolható	Asztrocitoma, <i>IDH</i> -mutáns, CNS WHO Gr. 2. és 3.
<i>IDH</i> 1/2 mutáció NEM igazolható	MVP / nekrózis / EGFR amplifikáció / TERTp mutáció / +7/-10 státusz igazolható	Glioblasztoma, <i>IDH</i> -vad típus, CNS WHO Gr. 4.	
	MVP / nekrózis / EGFR amplifikáció / TERTp mutáció / +7/-10 státusz NEM igazolható	Egyéb	
	H3 p.K28M (K27M) mutáció igazolható középvonali lokalizációban	Diffúz midline glioma, H3 K27-módosult	
H3.3 p.G35R(G34R) / H3.3 p.G35V(G34V) mutáció igazolható hemispheriális lokalizációban	Diffúz hemispheriális glioma, H3.3 G34 mutáns		

2.5.1. *IDH*1/2 (izocitrát-dehidrogenáz) mutáció

A mutáció 2008-as azonosítása jelentős mérföldkövet jelentett a gliómák kutatásában. Elsőként az azóta már nem használt, szekunder glioblasztomák (jelenleg Gr. 4 *IDH*-mutáns asztrocitoma) prognosztikus szempontból is releváns alcsoportját sikerült elkülöníteni[39]. A későbbi vizsgálatokban igazolódott, hogy az elváltozás alacsonyabb grádusú, Gr. 2, valamint Gr. 3 asztrocitomák, oligodendrogliomák jelentős részében is azonosítható[40]. Egyébiránt, az *IDH*1/2

mutációk több más daganat esetében is ismertek, pl. az akut myeloid leukémia, akut limfocitás leukémia, myelofibrosis, vagy a melanoma esetében [41].

Az *IDH1*, illetve *IDH2* enzimek a citromsavciklusban (Szent-Györgyi-Krebs ciklus) az izocitrát alfa-ketoglutaráttá történő átalakulását katalizálják. A katalitikus folyamatban mindkét enzim a nikotinamid adenin dinukleotid foszfátot (NADP⁺) használja kofaktorként, amelynek révén NADPH-t állítanak elő. Az *IDH1* a citoszolban és peroxiszómákban, míg az *IDH2* a mitokondriumban lokalizálódik. Fiziológias körülmények között mindkét enzim az intrinzik és extrinzik faktoroknak köszönhető oxidatív károsodás mérséklésében játszik szerepet. A mutáció vonatkozásában heterozigóta missense mutációkról van szó, amelyek közül leggyakrabban az *IDH1* 132. pozíciójában lévő arginin érintett (arginin – hisztidin csere történik; R132H). Ritkábban ugyanezen aminosav más módosulásai is előfordulhatnak (pl. R132C, R132S), illetve az *IDH2* 172. pozíciójában lévő arginin is érintett lehet. Az érintett aminosav minden esetben egy szubsztrátkötő helyen található, ezzel összefüggésben a mutáció „neo-enzimátikus” aktivitást eredményez. A korábbi magas izocitrát iránti affinitás lecsökken, következésképpen lecsökken az alfa-ketoglutarát (aKG), valamint NADPH szintje és megnő az onkometabolitnak számító 2-hidroxi-glutarát termelése. Ez utóbbi kompetitívan gátolja az aKG-dependens enzimeket, amelyek a hiszton, valamint a DNS demetilációban játszanak szerepet. Az *IDH 1/2* tehát aktivált onkogénként viselkedik. A következményes folyamatok ismertetése kapcsán megemlítendő a DNS metilációs környezet megváltozásának nagy jelentőséggel bíró következménye, a G-CIMP [a glioma citozin-foszfát-guanin (CpG)-sziget metilátor] fenotípus kialakulása[42–44]. A G-CIMP fenotípus kialakulásának keretében valósul meg a prediktív markerként jól ismert, *MGMT* gén promoter régiójának hipermetilációja is (ld. alább). A fentiekből látható, hogy az *IDH1/2* gének mutációiból több, a gliomák onkogeneziséhez kapcsolható folyamat eredeztethető, központi szerepet tölt be diagnosztikus és prognosztikus szempontból egyaránt [45].

Az *IDH* mutáció interpretációjában fontos figyelembe vennünk azt, hogy 2 gén is érintett lehet, ezért a WHO a következő elv követését ajánlja. Amennyiben immunhisztokémiai reakcióval az

IDH1 R132H mutáció negativitása együttesen igazolódik a szekvenálás révén kimutatott *IDH1* 132-es, valamint az *IDH2* 172-es kodonok mutációjának negativitásával, úgy vad típusról beszélünk. Vad típusról beszélünk továbbá abban az esetben is, amennyiben önmagában végzett szekvenálás eredményeképpen a fent említett kodonok a mutációk vonatkozásában negatív eredményeket mutatnak. Következésképpen, negatív R132H mutációt célzó immunhisztokémiai vizsgálat esetén a szekvenálás elvégzése javasolt, különösen 55 év alatti életkorban, ahol az egyéb mutációk gyakorisága sokkal kifejezettebb. 55 év feletti életkorban, amennyiben immunhisztokémiával negatív eredményt kapunk, úgy a szekvenálás elvégzése nem feltétlenül szükséges, az *IDH* vad típusú glioblasztoma diagnózisa önmagában ezen eredmény alapján is felállítható [16].

2.5.2. ATRX mutáció

Funkcióját tekintve az *ATRX* (α -thalassemia/mental-retardation-syndrome-X-linked) fehérje többek között a telomer régiók kromatin állományának remodelációjában vesz részt. A *H3F3A* mutációk előfordulásával is szorosan korrelál diffúz asztrocitómákban, a kódolt H3.3 hisztonfehérje nukleosómába történő inkorporációját segíti, az *ATRX-DAXX* kromatin remodelációs komplex révén [46]. Az *ATRX* funkcióvesztő mutációjának következtében az említett hisztonfehérje inkorporációja elégtelen lesz, amely így a telomer szekvenciák meghosszabbítását eredményezi, az ALT (alternative lengthing of telomerase) mechanizmus révén [47]. Az ALT, a telomeráz enzimek funkciójához hasonlóan, de attól eltérő mechanizmussal képes a telomer szekvenciák elongációjára, a sejtek immortalizációs képességét növelve ezzel. Ezen felül, a gliomákban szerepet játszhat még az invázió gátlásában, az apoptózis elősegítésében és a glioma sejtek proliferációjának gátlásában [48–50].

2.5.3. 1p/19q kodeléción

Háttérben egy kiegyensúlyozatlan, a teljes kromoszóma karokat [1-es kromoszóma rövid karját (1p), valamint a 19-es kromoszóma hosszú karját (19q)] érintő transzlokáció áll [t(1;19)(q10;p10)],

amelynek köszönhetően kialakulnak a komplett deléciók és a del(1;19)(p10;q10) részlet elveszik[51,52]. A pathogenezisben egy korai eseménynek tekinthető, perzisztálása látható azonban a tumor progressziója során is [53]. Az 1p/19q kodeléció több szempontból is fontos molekuláris patológiai alterációnak tekinthető. Már a 2016-os WHO KIR klasszifikáció alapján is, kizárólag azon gliális daganatok diagnosztizálhatóak oligodendrogliomaként, amelyek *IDH* mutációval, valamint 1p/19q kodelécióval egyaránt rendelkeznek. A kodeléció ugyan a hisztológiai jellemvonásokkal jelentős átfedést mutat (perinukleáris háló, „chicken-wire” vaszkuláris mintázat), azonban ezek reprezentációja nem olyan mértékű, hogy egyértelműen kimondható legyen hisztológiai jellemvonások alapján a diagnózis. Használata nagy segítséget nyújt a bizonytalan vagy kevert szövettani eredetű daganatok azonosításában [16]. A WHO ajánlása alapján, amennyiben hisztopatológiai jellemvonások alapján diffúz, infiltráló gliomáról van szó, úgy *IDH1* 132. kodon vagy a *IDH2* 172. kodonjának típusos missense mutációja mellett *IDH*-mutáns asztrocitoma diagnózisa csak a nukleáris ATRX expresszió elvesztése (*ATRX* mutáció) vagy 1p19q kodeléció kizárása esetén történhet meg. Oligodendroglioma esetén pedig a fent említett *IDH* mutációk valamelyike, valamint igazolt 1p19q kodeléció szükséges. Az *IDH* vad típusú tumorok esetében nem javasolt a kodeléciós státusz analízisének elvégzése.

2.5.4. TERTp mutáció

A telomer régiók meghosszabbításában az ALT folyamatán túl a telomeráz enzimek töltnek be fontos szerepet, a *TERT* gén egy telomeráz enzim kódolását végzi. A gén promoter régióját érintő mutációnak köszönhetően fokozódik az enzim aktivitása, ezáltal a telomer szekvenciák elongációja következik be. A két legfontosabb és egyben egymást kölcsönösen kizáró mutációs hotspot az 5-ös kromoszóma C228T, valamint C250T mutációi.

Szerepe jelenleg a diffúz, infiltratív gliomák esetében kettős, (1) az oligodendrogliomák esetében az *IDH* 1/2 gének missense mutációjával és az 1p19q kodelécióval gyakran társul, emiatt ezen

diagnózis megalkotását segíti, valamint (2) *IDH*-, és H3- vad típusú diffúz asztrocitoma esetén a glioblasztoma diagnózis felállítását jelenti.

2.5.5. H3K27-alteráció és H3.3 G34 R/V mutáció

A hiszton metilációban fontos szerepet játszik a *H3F3A* gén, valamint az általa kódolt H3.3 fehérje, amely több, a gliomák onkogenezisében, valamint prognosztikájában is jelentős szerepet játszó pathomechanizmust kapcsol össze. A mutáció esetében a *H3F3A* génben (kisebb mértékben érintett lehetnek a H3.1 fehérjét kódoló *HIST1H3B/C* gének is) bekövetkező funkcionyerő mutációról van szó. Az egyik értelmezés következtében a mutáció következtében egy hipometilációs fenotípus alakul ki, lehetetlenné válik a metionin metilálódása a 27-es pozícióban, amely végeredményben a kromatin állomány csendesítését jelenti (H3K27M). Ezen alterációval rendelkező daganatok esetében minden esetben középilonali érintettségről (agytörzs [korábban: agytörzsi glioma] híd [korábban: DIPG – diffuse intrinsic pontine glioma], talamusz, kisagy, hipotalamusz, gerincvelő) beszélünk. Gyermek-, és kamaszkorban mutat legnagyobb gyakoriságot. Fontos a diffúz, infiltratív természet hisztopatológiai azonosítása és a középilonali lokalizáció, hiszen több, más prognosztikus megítélés alá eső daganat esetében is előfordulhat ezen genetikai alteráció (pl. pilocitás asztrocitoma). A WHO klasszifikáció Gr. 4-be sorolja ezeket a daganatokat, amely több hisztopatológiai alacsony grádusú daganat esetében jelenti azt, hogy a mutáció azonosításával a grádus meghatározása felülbírálandó [54–57]. Megjegyzendő, hogy a legfrissebb klasszifikáció értelmében nem a mutáció, hanem az alteráció a helyes kifejezés, H3K27-alterált formában.

Szintén a H3.3 hisztonfehérjét érinti a G34R/V mutáció is. A G34R/V mutációval bíró daganatok nagyagyféltekei lokalizációval bíró diffúz gliomák, amely elsősorban gyermekek, fiatal felnőttek esetében fordulnak elő [58], grádus szempontjából szintén Gr. 4-nek tekinthetőek. A klasszifikációba mint diffúz, haemispheriális glioma, H3G34-mutáns kerültek integrálásra.

2.5.6. EGFR alterációk

Az *EGFR* (HER1/ERBB1) egy ErbB családba tartozó transzmembrán receptor tirozin kináz, aktivációja a PI3K, AKT, RAS, RAF, és MAPK foszforilációjával jár (*EGFR* lókuszt: 7p12). Egyike az első GBM-specifikus onkogéneknek, a GBM betegek többségében azonosítható bizonyos *EGFR* aberráció, mely lehet amplifikáció (40%), overexpresszió (60%) pontmutáció vagy deléció (24-67%) egyaránt [59].

A leggyakoribb genetikai alteráció az amplifikáció, melynek háttérében a szomatikus gén kópiaszám eltérések (somatic copy number alterations - SCNA) állnak. *EGFR* gént érintő fontos másik kromoszómális átrendeződést az EGFRvIII elnevezéssel illetik. A GBM vonatkozásában is gyakorinak tekinthető, hiszen az esetek ötödében előfordul, legtöbbször az *EGFR* amplifikációval együttesen. Az *EGFR* gén 2-7 exonjainak deléciója áll a háttérben, amelynek köszönhetően 267 aminosav deletálódik a génből, annak az *EGFR* extracelluláris doménját kódoló részéből. Habár a ligand kötődése így lehetetlenné válik, a receptor mégis konstitutív módon aktiválódik, rendkívüli onkogén potenciállal bírva. Összeségében azonosítása releváns információt szolgáltat, azonban ennek inkább diagnosztikus jelentősége van, prognosztikai szerepéről ellentmondásos eredmények születtek eddig.

2.5.7. MGMT promoter hipermetiláció

A hipermetiláció, mint epigenetikai mechanizmus gyakorta fordul elő az onkogenezis során, elsősorban DNS-repair gének, valamint tumor szuppresszor gének vonatkozásában. Az *MGMT* esetében is hasonló mechanizmusról beszélünk, hiszen funkcióját tekintve egy DNS hibajavító enzim (O⁶-metilguanin-DNS metiltransferáz), amely az alkiláló ágensek (pl. temozolomid, procarbazin, nitrozurea származékok) által okozott DNS károsodások kijavításáért is felelős. A kemoterapeutikumok által okozott alkiláció leggyakrabban a guanin O⁶ pozíciójában következik be, amelynek révén a DNS két szála között keresztkötés alakul ki, a sejt apoptotikus folyamatainak elindulását indukálva ezáltal. Az *MGMT* eredendően DNS hibajavító enzimként ezen alkilációs

folyamatok ellenében hat, csökkentve ezzel a malignus KIR daganatok kezelésben használt alkiláló kemoterapeutikumok hatását. A hipermetiláció következményes transzkripció gátló hatásával, azaz a csökkent DNS hibajavító enzimek révén, végeredményben potenciózza ezen kemoterapeutikumok hatékonyságát[60–62].

Az *MGMT* utóbbi időben növekvő jelentősége miatt, szerepét saját beteganyagunkon is igazolni kívántuk, két prognosztikus szempontból eltérő (átlagos teljes túlélési idő alapján különválasztott), *IDH*-vad típusú glioblasztoma alcsoportban[63]. A vizsgálat kapcsán az *MGMT* promoter hipermetilációjának meghatározása metilációs specifikus PCR (MSP), valamint pirosekvánálás (PS) révén történt meg. Mindkét vizsgálati módszer szerint a jobb prognosztikus adatokkal, tehát hosszabb átlagos teljes túlélési idővel rendelkező betegek esetében statisztikailag szignifikáns mértékben magasabb volt a *MGMT* promoter hipermetilált tumorok aránya és a PS alapján a metilációs intenzitás is [63]. Eredményeink révén is alátámasztható azon jelenleg iránymutatásként szolgáló klinikai ajánlás, melynek értelmében az *IDH*-vad típusú glioblasztoma esetében a metilációs státusz prediktív markernek tekinthető alkiláló kemoterapeutikumokkal végzett kezelés kapcsán, valamint ezen alkiláló szerek által kezelt betegek vonatkozásában prognosztikus marker is [64].

2.6. Az extracelluláris mátrix (ECM)

Az ECM a sejteket körülvevő, dinamikus remodelációban álló, komplex környezet, amely a szöveti struktúra kialakításában, valamint a szövet funkcionalitásában is kiemelt szerepet tölt be. Leírására 1898-ban Camillo Golgi és Ramón y Cajal által került sor, mely kutatás révén a macskaagyan sikerült jelenlétét kimutatni. Az ECM egyfajta funkcionális egységként tekintendő, amely a sejtek közötti területet tölti ki. Hozzájárul a sejtek mobilitásához, egyrészt kihorgonyzó funkció és migrációs barrier biztosításával, adott esetben pedig a sejtek migrációjának elősegítésével. Aktív részt vállal a jelátviteli folyamatokban, többek között biomechanikai erő létrehozásával, valamint az ezáltal közvetített szignálok révén. Az ECM közvetítő szerepének

speciális megnyilvánulási formái a perineuronális háló (perineuronal net – PNN), melynek révén az idegrendszeri plaszticitásban is kiemelt szerepet tölt be, továbbá jelentős a neurogenesis folyamatában betöltött szerepe is, hiszen az ECM fontos tényező a neuronális őssejt nichék kialakításában is [65,66].

Más szöveti struktúrák felépítésében is részt vesz, azonban az agy esetében minőségi és mennyiségi összetétele eltérő. Az agy vonatkozásában az ECM alkotóelemei között nem szerepel a kollagén és elasztin, ennek okán, valamint a hialuronán által biztosított magas víztartalma révén konzisztenciájában is jelentősen eltér a legtöbb egyéb szövettípustól. Szerkezete diffúzabb természetű köszönhetően a bazális membránok hiányának (kivéve véredények és őssejt nichék esetében)[67]. Mennyiségi összetétele is releváns, fiziológias körülmények között az ECM állomány az agyszövet térfogatarányának 20 %-a, ezzel szemben primer agyi daganatok esetében ez a térfogatarány az 50%-ot is elérheti [68].

2.6.1. Peritumorális infiltráció

A diffúz, infiltratív gliomák esetében a sebészi eltávolítás korlátja a daganatsejtek peritumorális infiltrációja, mely esetben a daganatsejtek több centiméter távolságban képesek a primer tumormassza helyétől eltávolodni, a normál agyszövetállományt infiltrálni. A jelenség megértésére a Scherer-féle másodlagos struktúrák szolgálnak példaként, mely 1938-ban került leírásra. Ezek a struktúrák illusztrálni képesek, ahogyan a glioma sejtek az központi idegrendszeri agyállományt infiltrálják és azok anatómiai struktúrái mentén terjedni képesek. Ezen hisztológiai

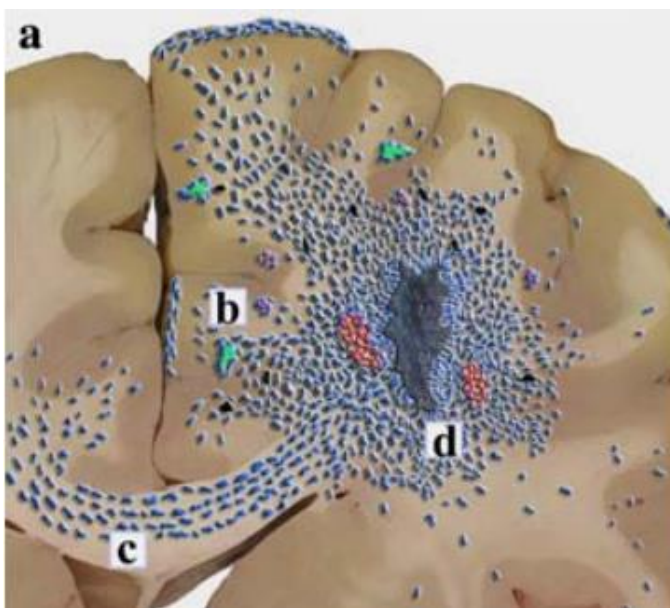
struktúrák a perineuronális és perivaszkuláris szatellózis, valamint a szubpiális, valamint fehérállományi rostkötegek (corpus callosum) mentén mutatott terjedés(4.ÁBRA)[69,70].

4. Ábra

A glioblasztoma infiltrációjának sematikus ábrázolása a Scherer-féle szekunder struktúrák alapján (a).

(b) Perivaszkuláris akkumuláció (kék jelölés: tumorsejtek, piros jelölés: véredények), perineuronális szatellózis (zöld – idegsejtek), valamint szubpiális terjedés képében. (c) Intrafasciculáris terjedés a corpus callosumon keresztül. (d) Központi nekrozis (szürke terület) környezetében pseudo-palliszád elrendeződésű tumorsejtek, glomeruoid mikrovaszkuláris proliferációval

Forrás: Claes, An et al. "Diffuse glioma growth: a guerilla war." *Acta* vol. 114,5 (2007): 443-58. doi:10.1007/s00401-007-0293-7



Mesenchimális típusú invazív jellegről van szó, melynek keretében a daganatos sejtek legtöbbször önállóan, időnként azonban klaszterekben, mesenchimális láncolatokban történő migrációt végeznek [71,72]. Az invázió folyamatához az epitelió-mesenchymális átmenet (epithelial-mesenchymal transition - EMT) is hozzájárul. Az EMT egy biológiai folyamat, amelyben polarizált epiteliális sejtek mesenchymális fenotípusúvá alakulnak át. Normál körülmények között ez a folyamat az embrionális fejlődés (EMT 1. típus) és sebgyógyulás (EMT 2. típus) során játszik szerepet. A daganatos sejtek egy részében (3. típus) azonban az epiteliális sejtek invazív fenotípusúakká válnak, anélkül, hogy életképességük csökkenne. A folyamatban alapvető szerepet játszik a sejtek bazális membránról való leválása. A folyamat lényege, hogy a gliomákban

vagy a környező normál agyállományban jellemzően jelen lévő hipoxiás mikrokörnyezet myeloid sejteket (makrofágok, mikroglia sejtek) vonzanak, amelyek növekedési faktorok (pl. *TGF- β* , *EGF*, *PDGF*) révén triggerelnek epigenetikai módosulásokat így hozzájárulnak az EMT átalakuláshoz [73]. A folyamatban szerepet játszik továbbá az agyi mikrokörnyezet és a gliális sejtek interakciója is. A glioma sejtek képesek az asztociták nyúlványait károsítani, ezáltal befolyásolni a vér-agy gátat, valamint a gliomák által történő glutamát felszabadítással excitotoxikus neuron pusztulás következik be, mely szintén az invázió számára kedvez. Ezen felül, a glutamát autokrin szignálként is funkcionál a glioma sejt migrációhoz[74].

Az ECM több ponton kapcsolódik a peritumorális invázió folyamatához. Egyrészt részt vesz a tumorigenesis egyik kiindulási pontjának tekinthető glioma őssejt niche kialakításában, valamint a daganatsejt migrációjának minden lépését mediálja[75]. Ennek megértéséhez a jelenség sorrendiségét szükséges elsőként részletezni.

Az invázióban 4 jellegzetes lépést különböztethetünk meg.

1. A sejtek leválnak a primeren növekvő tumoros masszáról

A tumorsejtek kadherin-mediált junciók segítségével tartják fent a sejt-sejt közötti kommunikációjukat. Elsőként ezen junciók destabilizálódása jön létre, majd a fent részletezett EMT révén a glioma sejtek adhéziós tulajdonságai megváltoznak, a sejtek motilisabb karaktert nyernek [76].

2. Daganatsejtek kötődése az ECM-hez

A glioma sejtek több különböző módon képesek az ECM-el kapcsolódni. Ezen receptor – ligand kötődési mintázatban a daganatsejtek felszínén lévő receptorok, valamint az ECM különböző ligandjai között valósul meg az interakció. Kiemelt szerep jut ezen folyamatban az integrin receptor molekulacsatládnak, mely a lamininekkel, tenascin molekulákkal, valamint fibronektinnekkel is ezen kötődés létrejöttét szolgálja. Az agyi ECM állományban excesszív mennyiségben lévő

hialuronán kötésére alkalmas CD44 receptor szintén ezen folyamatban játszik döntő szerepet [77].

3. ECM degradációja

Az ECM remodelációja elengedhetetlen része az tumorsejt invázió létrejöttének. Ezen enzimmediált folyamatban szerepet játszanak a mátrix-metalloproteinázok, a hialuronidázok, valamint egyéb katepszin típusú proteázok is [78].

4. Citoszkeletális kontrakció révén megvalósuló mozgás

A sejtek, a tumorsejt – ECM relációban megvalósuló, fokális adhézis kinázok által közvetített jelátvitel révén, a citoszkeletális kontraktilitásnak köszönhetően tudnak mozogni. A sejt polarizálttá válik és membrán protrúziók keletkeznek, amelyek aktin filamentumokat és különböző strukturális és jelátviteli molekulákat tartalmaznak. Az aktin filamentumok és a miozin II molekula izoformáinak bevonásával létrejött citoszkeletális kontrakció folyamata az, amely a sejtek mozgásáért felelős [79].

2.6.2. Az ECM molekulák csoportosítása

Funkcionális csoportosítás

(1) sejtmembrán-asszociált molekulák - receptorok és adhézis molekulák,

(2) a receptorok ligandjai,

(3) ECM komponenseit szintetizáló vagy lizáló enzimek.

Összetétel alapján történő csoportosítás

Az ECM molekulák csoportosítása kémiai összetételük alapján is megtörténhet. A következőkben az ezirányú részletezést a klinikai vizsgálatainkban is szereplő molekulákra szorítkozva kívánom elvégezni.

A központi idegrendszerben az ECM-et legnagyobb mennyiségben képviselő molekula a hialuronsav (HA), amely egy fehérjéhez nem kötött, térkitöltő szénhidrát óriásmolekula, ún.

glükózaminoglikán (GAG). A HA kötésében részt vevő molekulák a CD44, valamint CD168/RHAMM (receptor for hyaluronate mediated motility). A glükózaminoglikánok tulajdonságát az összetételük, a kapcsolódó szulfát-csoportok és szacharidok határozzák meg. A csoport jellemző molekulái: kondroitin-szulfát, keratán-szulfát, dermatán-szulfát, illetve a heparán-szulfát. Legfontosabb szerepüket a proteoglikánok felépítésében játsszák.

A proteoglikánok egy központi fehérjeláncból állnak, ezen fehérjelánchoz pedig különböző számú és minőségű GAG oldallánc csatlakozik. Fontos csoport a hialuronsav kötésére képes hialadherineinek csoportja, melyen belül a kondroitin-szulfát GAG oldalláncokat is kötő lektikánok kiemelt szerepűek. Lektikánnak (kondroitin-szulfát proteoglikánok [CSPG]) tekinthető: brevikán (BEHAB – brain enriched hyaluronan binding), verzikán, neurokán, aggregán. A CSPG csoport jellemzője, hogy tenascin-R, illetve -C kötésére képesek, az agyi ECM alkotásában fontos komplexet létrehozva ezáltal. Továbbá, a brevikán, illetve a neurokán kimondottan neurális szövetre specifikus molekula, a gliomák esetében pedig a fiziológiás állapotokhoz képest többszörös expresszióval rendelkeznek [80].

Az erek, subpiális, subependimális régió bazális membránjában találhatóak legnagyobb mennyiségben a fibrilláris glikoproteinek, az ún. rostos ECM állomány alkotói. Ebbe a csoportba tartoznak a kollagének, a fibronektin, valamint a laminin molekulák is. Kiemelendő, hogy a szervezet más részeiben a szövetek strukturális vázát ezen rostos ECM elemek adják. Az agy ebből a szempontból kivétel, a vázat, összességében az ismert lágy szöveti tulajdonságait, leginkább a hialuronsav határozza meg. Az asztrocitómák esetében a grádus növekedésével fokozódó kollagén, fibronektin és laminin termelés jár, glioma sejtek inváziójában – lokalizációjukból is jól láthatóan – a fibrilláris glikoproteinek jelentős szerepet játszanak [81]. A kollagének közül a legfontosabb az erek bazális membránját, illetve a glia limitans externa képzésében is szerepet játszó I, III, illetve IV. típusú kollagén. A lamininek 3 hosszú polipeptid láncból (α, β, γ) épülnek fel, amelyeket diszulfid hidak kötnek össze, az integrinokkal, mint sejt felszíni receptorokkal képeznek komplexet. A sejtadhézió túl, az invázió, proliferáció, differenciáció folyamataiban vesznek részt

[76]. A glikoproteinek csoportjába tartozik még a tenascin molekulacsalád, amely négy taggal (tenascinR, -C, -X, -W) rendelkezik. A tenascin-C expressziója eredetileg az embrionális fejlődés időszakára lokalizálódik, azonban később a gyógyulási folyamatokban, illetve gliomák esetében újbóli expressziójával találkozhatunk [82].

Az integrinek fehérje természetű transzmembrán-receptorok, dimer szerkezettel rendelkeznek: α - és egy β -alegységből állnak. 8 különböző α - és 18 β -lánc kombinálódhat összesen 24 különböző heterodimerré. A dimer szerkezet meghatározza az adott receptor kötési tulajdonságait. Hatással vannak a sejtmozgás irányára, hiszen ligandjukhoz történő kötődés következtében képesek fokális adhézions klaszterek létrehozására, jellemzően az inváziós irányt meghatározó protrúziók területén [78].

A mátrix metalloproteinázok (MMP), cink-dependens endopeptidázok, a legismertebb ECM bontó proteázok. Fokozott expressziójuk migrációs széleken figyelhető meg, ligandjaik: a lektikánok, valamint a fibrilláris glikoproteinek [82].

2.6.3. Terápiás célpontok

Az invazivitásban betöltött szerepüknek köszönhetően anti – invazív ágensek kutatása kapcsán is felmerült target molekulaként történő alkalmazásuk. Az egyik legismertebb ezen molekulák közül a cilengitid, mely egy intravénás $\alpha\beta3$ és $\alpha\beta5$ integrin inhibitor. Az $\alpha\beta3$ integrin blokkolása gátolja az érépződést, azonban I. – II. – III. fázisú klinikai vizsgálatok elvégzését követően ezidáig nem sikerült egyértelmű túlélésre gyakorolt jótékony hatását igazolni [83]. Ismert készítmény a marimastat, mely egy orálisan aktív gyógyszer, amely képes csökkenteni az MMP-szinteket gliomás betegekben, azonban végül jelentős mellékhatásspektruma, valamint az elégtelen vér-agy gát penetrációja miatt a mindennapi klinikai gyakorlatba nem került be [84].

3. Célkitűzés

Kutatásink révén azon kérdéskörre kívántunk választ kapni, hogy a diffúz, infiltratív asztrocitaer daganatok, valamint a glioblasztoma esetén a peritumorális infiltrációban szerepet játszó releváns extracelluláris mátrix alkotók, illetve ezek sejtfelszíni receptorainak expressziója, valamint ezen molekulák csoportjának (inváziós panelének) expressziós mintázata, az ún. inváziós spektrum korrelációt mutat-e:

- 1) GRADE 2 DIFFÚZ, INFILTRATÍV ASZTROCITOMÁK ELTÉRŐ PROGNÓZISSAL BÍRÓ CSOPORTJAIVAL,
- 2) GRADE 2 ÉS 3 DIFFÚZ, INFILTRATÍV ASZTROCITOMÁK ELTÉRŐ PROGNÓZISSAL BÍRÓ CSOPORTJAIVAL
- 3) GRADE 3 DIFFÚZ, INFILTRATÍV ASZTROCITOMÁK ONKORADIOTERÁPIA ELŐTTI ÉS RECIDÍV, ONKORADIOTERÁPIÁBAN MÁR RÉSZESÜLT BETEGCSOPORTJAIVAL,
- 4) GLIOBLASZTOMÁVAL DIAGNOSZTIZÁLT BETEGEK ELTÉRŐ PROGNÓZISSAL BÍRÓ CSOPORTJAIVAL?

Az adott csoportösszehasonlításban vizsgálatra került ECM molekulák alkották az inváziós panelt. Ezen molekulákat egyedileg gén-, valamint fehérje expressziós szinten is összehasonlítottuk, azzal a céllal, hogy azok specifikus peritumorális infiltrációhoz köthető kontribúcióját értékelni tudjuk. Továbbá, a molekulák expressziójának együttes értékelése is megtörtént (inváziós spektrum), mellyel pedig az adott vizsgálati csoportra jellegzetes expressziós mintázatot kívántuk értékelni és ezáltal az inváziós aktivitás és a prognózis közötti összefüggést feltárni.

4. Módszertan

4.1. Betegek és tumorminták

A vizsgálataink során felhasznált tumormintákat a betegek kezelési tervének részeként indikált idegsebészeti műtéti ellátás során gyűjtöttünk. A mintákat a műtéti eltávolítást követően $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ hőmérsékletű folyékony nitrogén felszínén konzerváltuk, majd $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on ultramélyhűtőben kerültek tárolásra a felhasználásukig. Az immunhisztokémiai vizsgálatokat a Debreceni Egyetem Pathológia, valamint Anatómiai, Szövet-, és Fejlődéstani Intézetében végeztük, a betegekhez tartozó formalin fixált, paraffinba ágyazott szövettani blokkokból készült metszeteken. A betegellátástól teljesen függetlenül futó szövetmintákat tapasztalt neuropatológus elemezte. Az Agydaganatbank a Tudományos és Kutatásetikai Bizottság (TUKEB) engedélyével rendelkezik, és a kutatási célú vizsgálatok minden esetben az érintett betegek írásos beleegyezésével történtek. Engedély száma: 51450/2015/EKU (0411/15)

A követési időszakunk 2003. január és 2020. februárja közé esett, minden vizsgált beteg esetében a kezelés, illetve a követés a DE-KK Idegsebészeti és Onkológiai Klinikán történt. A feldolgozásra kerülő minták minden esetben a DE-KK Idegsebészeti Klinikán működő Agydaganat- és Szövetbankból származtak. Az egyes vizsgálati összehasonlításokba bevont betegszámok 8. táblázatban láthatóak.

8. Táblázat

A különböző vizsgálati csoportokba bevont mintaszámok alcsoport szerinti bontásban

VIZSGÁLATI KÉRDÉS	ALCSOPORT 1. („A” MEGJELÖLÉS)	ALCSOPORT 2. („B” MEGJELÖLÉS)
Eltérő prognózissal rendelkező diffúz, Gr. 2 asztrocitomák	n=8	n=11
Eltérő prognózissal rendelkező diffúz, Gr. 2 és 3 asztrocitomák	n=8	n=7
Onkoradioterápiában részesült recidív, illetve onkoradioterápiában nem részesült Gr. 3 diffúz asztrocitomák	n=7	n=9
Eltérő prognózissal rendelkező glioblasztomás csoportok	n=74	n=58

A vizsgált csoportok esetében hiszto-patológiai értelemben vett asztrocitaer és glioblasztoma típusú daganatok összehasonlítását végeztük, melynek meghatározását képzett neuropatológus végezte a diagnózisalkotás időpontjában érvényben lévő protokollok alapján.

4.1.1. Inváziós panel

Génexpressziós szinten az invázióban szerepet játszó ECM mátrix molekulákból álló inváziós panelünk vizsgálatát végeztük, mely 25 ECM molekulát tartalmazott. Ezen panelből a Gr. 2 asztrocitomák vizsgálatában 22 molekula esetében, a Gr. 3 csoportban 23 molekula esetében, a glioblasztoma csoportban pedig 18 molekula esetében történt értékelhető azonosítás. Az inváziós panel részét képezi, azonban szoros értelemben véve nem invázióhoz kapcsolható ECM molekula a GFAP, valamint MKI67. Előbbit a gliális eredet ellenőrzésének céljából, míg utóbbi a tumorszövet jelenlétének igazolására határoztuk meg. Fehérje expresszió vonatkozásában a Gr. 2 tumorok esetében 10 molekula esetében, míg a glioblasztoma esetében minden vizsgálat molekula esetében történt meghatározás. A Gr. 3 daganatcsoport esetében, valamint a

glioblastoma prognosztikus csoportjaiban a kiemelt szereppel bíró ECM molekulák illusztratív célú immunhisztokémiai festését végeztük (9. TÁBLÁZAT).

9. Táblázat

Az inváziós panelt alkotó ECM molekulák, valamint az egyes vizsgálati csoportokban azonosításra került molekulák

SORSZÁM	INVÁZIÓS PANEL	A 2 - MRNS	A 2 - FEHÉRJE	A 3 - MRNS	A 3 - FEHÉRJE	GBM - MRNS	GBM - FEHÉRJE
1.	Brevikán	+	+	+	+	+	+
2.	CD 44	+	+	+	+	+	+
3.	CSGPG - 5	+	+	+	-	+	+
4.	EGFR	+	-	+	-	+	-
5.	GFAP	+	-	+	-	+	-
6.	HMMR / CD168	+	+	+	-	+	+
7.	IDH - 1	+	-	+	+	+	-
8.	Integrin α - 3	+	-	+	+	-	-
9.	Integrin α - V	+	+	+	-	+	+
10.	Integrin β - 1	+	-	+	-	+	+
11.	Integrin β - 5	+	+	+	-	+	+
12.	Laminin α - 4	+	-	+	-	-	-
13.	Laminin β -1	+	-	+	-	-	-
14.	MDM - 2	+	+	+	+	+	+
15.	MKI - 67	+	-	+	-	+	-
16.	MMP - 2	+	+	+	-	+	+
17.	Neurokán	+	-	+	+	+	-
18.	PDGF - A	+	-	+	-	+	-
19.	Tenascin - C	+	-	+	-	+	-
20.	Versikán	+	+	+	+	+	+
21.	FLT - 4 / VEGF-3	+	+	-	-	+	+
22.	Laminin α -5	+	-	-	-	-	-
23.	HAS-2	-	-	+	-	-	-
24.	MMP - 9	-	-	+	-	-	-
25.	Integrin α - 5	-	-	+	-	-	-

4.1.2. Eltérő prognosztikai csoportú Gr. 2 asztrocitómák

Az alacsony grádusú Gr. 2 diffúz asztrocitómák esetén eltérő prógnózissal bíró betegcsoportokat hasonlítottunk össze. Az alacsony grádusú daganatok esetében a prognosztikai csoportokba történő besorolást a túlélési adatok alapján végeztük el: kedvező prognosztikai csoportba a legalább 40 hónap teljes túlélést mutató betegeket soroltuk (N = 11), míg az ennél hamarabb elhunyt betegek a kedvezőtlen prognosztikai csoportba kerültek (N =8). A csoportok között

összehasonlításra került a klinikai paraméterek tekintetében az életkor, a daganat lokalizációja és oldalisága, valamint a primer műtéti ellátás radikalitásának mértéke. A vizsgált paraméterek vonatkozásában nem igazolódott szignifikáns különbség a két csoport között (10. TÁBLÁZAT). A túlélési idők vonatkozásában az átlagos teljes túlélési idő, valamint a progressziómentes túlélési idők összevetését végeztük. Minden beteg esetében meghatároztuk a kórlefordulás során észlelt különböző progressziómentes túlélési időket (PFS), amelyeket időrendi sorrendiség alapján jelöltünk. Ezen túlélési időket minden esetben további terápiás intervenciót szükségessé tevő, radiológiailag és/vagy klinikailag igazolt progresszió alapján különítettük el. A PFS I. értékek összevetése nem mutatott szignifikáns különbséget.

10. Táblázat

Klinikai adatok összehasonlítása az eltérő prognózissal rendelkező diffúz, infiltratív Gr. 2 asztrocitómák esetében

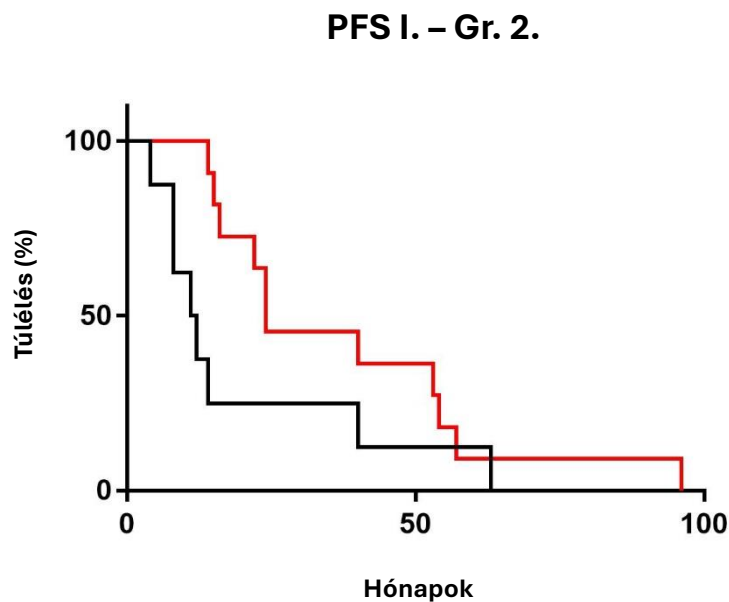
	ÉLETKOR (ÁTLAG ±SD; ÉV)	LOKALIZÁCIÓ (N)	OLDALISÁG (N)	SEBÉSZI RADIKALITÁS MÉRTÉKE (N)	PFS I. (ÁTLAG ±SD; HÓNAP)	PFS I. – MÓD. (ÁTLAG ±SD; HÓNAP)	PFS II. (ÁTLAG ±SD; HÓNAP)	OS (ÁTLAG ±SD; HÓNAP)
Gr 2 – „A - csoport” n=8	32.1 ± 6.96	Frontális: 3 Temporális: 1 Parietális: 0 Többlebenyi: 3 Egyéb: 1	Szub- domináns: 7 Domináns: 1	Makroszkóposan totalis: 6 Parciális: 2	20.0 ± 20.61	20.0 ± 20.61	36.3 ± 34.78	54.6 ± 44.98
Gr 2 – „ B- csoport” n= 11	35.4 ± 10.57	Frontális: 2 Temporális: 5 Parietális: 3 Többlebenyi: 1 Egyéb: 0	Szub- domináns: 5 Domináns: 6	Makroszkóposan totalis: 4 Parciális: 7	32.3 ± 29.34	37.7 ± 25.39	70.9 ± 37.97	85.5 ± 39.24
p-érték	0.67	0.10	0.06	0.11	0.45	0.02*	0.04*	0.18

Megjegyzendő, hogy a jobb prognosztikai csoportba tartozó három eset vonatkozásában a reoperációra elsősorban életminőséget befolyásoló okból (epilepsziás rosszullét) és nem érdemi tumor progresszió miatt került sor. Mindhárom esetben az operációt követő négy hónapon belül történt a reoperáció, amely a PFS vonatkozásában így torzító tényezőnek tekinthető. Ennek

megfelelően ezen betegek esetében a PFS I + II. idők képezték az elsődleges progresszióig eltelt időt számításainkban. A torzító tényező kiküszöbölése révén a két csoport között progressziómentes túlélési idejében szignifikáns különbség igazolható ($p=0.02^*$) (5. ÁBRA). A PFS II. idők összehasonlítására hét esetben volt az egyes csoportok között lehetőség, a két csoport között ezen paraméter tekintetében is szignifikáns különbség igazolható ($p=0.04^*$).

5. Ábra

Progressziómentes túlélési (PFS I.) idők összehasonlítása Gr. 2 asztocitómák prognosztikus csoportjai között (fekete vonal – rosszabb prognózissal bíró betegcsoport, piros vonal – kedvezőbb prognózissal bíró betegcsoport)



Az inváziós panelt alkotó 25 molekulából 22 invázióban szerepet játszó ECM molekula mRNS expressziójának egyedi összehasonlítását végeztük el a két prognosztikai csoport között (9. TÁBLÁZAT).

Az inváziós panelünk részét képező 10 ECM molekula esetében azok fehérje expressziós értékeinek megítélésére immunhisztokémiai vizsgálatot végeztünk. A molekulák biológiai funkcióit alapul véve 4 molekula esetében csak az ECM, míg további 6 molekula esetében mind

az ECM állomány, mind a tumorsejtek immunhisztokémiai értékelését is elvégeztük (9. TÁBLÁZAT)[85].

4.1.3. Onkoterápia előtti és utáni Gr. 3 asztrocitómák

A Gr. 3 asztrocitómák esetében „A” csoportba tartoznak azon esetek, ahol a molekuláris biológiai feldolgozásra került tumorminta az első daganatsebészeti beavatkozás kapcsán került eltávolítása, és ezt megelőzően radio-onkoterápiás kezelésre még nem került sor („primer csoport” n=12), míg a „B” csoportba azon esetek tartoznak, ahol a minták eltávolítása tumorprogressziót követően indikált reoperatio kapcsán történt, így megelőző radio-onkoterápiás kezelésben is részesültek („kezelésben részesült csoport”, n=9). A kezelésben részesült csoport esetében 5 esetben csak sugárterápia alkalmazására került sor, 1 esetben csak onkoterápia alkalmazása történt, míg 3 esetben kombinált radio-onkoterápia alkalmazása történt.

A kliniko-patológiai vonatkozásában összehasonlításra került a klinikai paraméterek az életkor, a daganat lokalizációja és oldalisága, a primer műtéti ellátás radikalitásának mértéke, valamint a teljes túlélés. Statisztikailag szignifikáns eltérés egyik vizsgálat paraméter vonatkozásában sem igazolható a két csoport között (11. TÁBLÁZAT).

11. Táblázat

Klinikai adatok összehasonlítása az eltérő kezelési protokollban részesült diffúz, infiltratív Gr. 3 asztrocitómák esetében

CSOPORTOK	ÉLETKOR (ÁTLAG ±SD; ÉV)	LOKALIZÁCIÓ	OLDALISÁG	SEBÉSZI RADIKALITÁS MÉRTÉKE	OS (ÁTLAG ±SD; HÓNAP)
Gr 3 – „A - Primer csoport” n=7	54.4 ± 7.44	Frontális: 2 Temporális: 2 Parietális: 1 Többlebenyi: 2 Egyéb: -	Szub- domináns: 5 Domináns: 2	Makroszkóposan totalis: 4 Parciális: 3 Nem meghatározott: 0	48.9 ± 70.66
Gr 3 – „B - Kezelésben részesült csoport” n= 9	43.0 ± 13.09	Frontális: 2 Temporális: 3 Parietális: 0 Többlebenyi: 4 Egyéb: -	Szub- domináns: 8 Domináns: 1	Makroszkóposan totalis: 3 Parciális: 5 Nem meghatározott: 1	45.8 ± 34.78
p-érték	0.1	0.65	0.37	0.49	0.46

Az inváziós panelt alkotó 25 molekulából 23 invázióban szerepet játszó ECM molekula mRNS expressziójának egyedi és együttes összehasonlítását végeztük el a két csoport között (9. TÁBLÁZAT).

A Gr. 3 asztrocitaer daganatok esetében statisztikailag értékelhető immunhisztokémiai festésre nem volt lehetőségünk, kizárólag illusztratív céllal történt IHC festés.

4.1.4. Gr. 2 és 3 grádusba tartozó gliomák prognosztikus csoportjai

A grádusok közötti összehasonlítás révén a Gr. 2 rosszabb prognosztikai csoportba tartozó betegek, valamint a Gr. 3 betegcsoport vizsgálatát végeztük el. Ezen összehasonlítás jelentősége az inváziós spektrum prognosztikus szempontú vizsgálata az alacsonyabb grádusú gliomák esetében, az inváziós spektrum rizikócsoport meghatározásban történő alkalmazhatóságának értékelésére.

Az összehasonlításra került a klinikai paraméterek az életkor, a daganat lokalizációja és oldalisága, a primer műtéti ellátás radikalitásának mértéke, valamint a teljes túlélés. Statisztikailag szignifikáns eltérés kizárólag a betegek életkorának különbségében mutatkozott ($p=0.003$) (12. TÁBLÁZAT).

12. Táblázat

Klinikai adatok összehasonlítása az alacsonyabb grádusú gliomák esetében

	ÉLETKOR (ÁTLAG \pm SD; ÉV)	LOKALIZÁCIÓ	OLDALISÁG	SEBÉSZI RADIKALITÁS MÉRTÉKE	OS (ÁTLAG \pm SD; HÓNAP)
Gr 2 – „A- Kedvezőtlen prognózis” n=8	32.1 \pm 6.96	Frontális: 3 Temporális: 1 Parietális: 0 Többlebenyi: 3 Egyéb: 1	Szub- domináns: 7 Domináns: 1	Makroszkóposan totalis: 6 Parciális 2	54.63 \pm 44.98
Gr 3 – „Primer csoport A” n= 7	54.4 \pm 7.44	Frontális: 2 Temporális: 2 Parietális: 1 Többlebenyi: 2 Egyéb: -	Szub- domináns: 5 Domináns: 2	Makroszkóposan totalis: 4 Parciális: 3	48.9 \pm 70.66
p-érték	0.003**	0.41	0.73	0.67	0.69

Az inváziós panelt alkotó 25 molekulából 22 invázióban szerepet játszó ECM molekula mRNS expressziójának egyedi és együttes összehasonlítását végeztük el a két csoport között (9. TÁBLÁZAT).

4.1.5. Eltérő prognózissal rendelkező glioblasztomás betegcsoportok

A legnagyobb esetszám bevonásával készült összehasonlításra a glioblasztoma esetében volt lehetőségünk, ezen alcsoport esetében összesen 132 beteg adatát sikerült bevonnunk. A glioblasztomával rendelkező betegeket két prognosztikai csoportra osztottuk a teljes túlélési idő alapján. A 24 hónapnál rövidebb túlélési idejű betegeket „rosszabb prognózisú betegeknél” tekintettük, ők jelentették az A csoportot (n=74), míg azokat a betegeket, akik 24 hónapig vagy tovább éltek, „jobb prognózisú betegeknél” tekintettük, ők képezték a B csoportot (n=58). Az átlagos teljes túlélési idő tekintetében a 24 hónapos küszöbérték választásának indoka, hogy azon betegek akik a Stupp-protokoll szerinti kezelést követően bevacizumabot kapnak, 24 hónapos átlagos teljes túlélési idővel jellemezhetőek. Ezen tény a szakirodalmi adatok, valamint az intézményünk által korábban publikált betegadat elemzés is alátámasztja [86,87].

A betegeket radioterápiával, valamint egyidejű és fenntartó temozolomid kemoterápiával (Stupp-protokoll alapján) kezelték a tumor reszekciója után. A daganat kiújulását követően a betegek bevacizumab monoterápiát kaptak az esetleges ismételt progresszió megjelenéséig.

A betegek klinikai jellemzőit a 13. TÁBLÁZAT foglalja össze. Az A csoportban a betegek medián életkora 61,0 év (CI: 57,97 – 63,28 év), míg a B csoportban 58,5 év (CI: 55,53 – 61,47 év). A statisztikai elemzés szignifikáns különbséget mutatott ki a két csoport között ($p = 0,0293$). A B csoport betegeinek preoperatív és posztoperatív Karnofsky-pontszáma (KPS) ugyan magasabb volt, de a KPS értékek között nem volt szignifikáns eltérés. A daganatok klinikai jellemzői egyéb tekintetben nem különböztek a két csoport között.

13. Táblázat

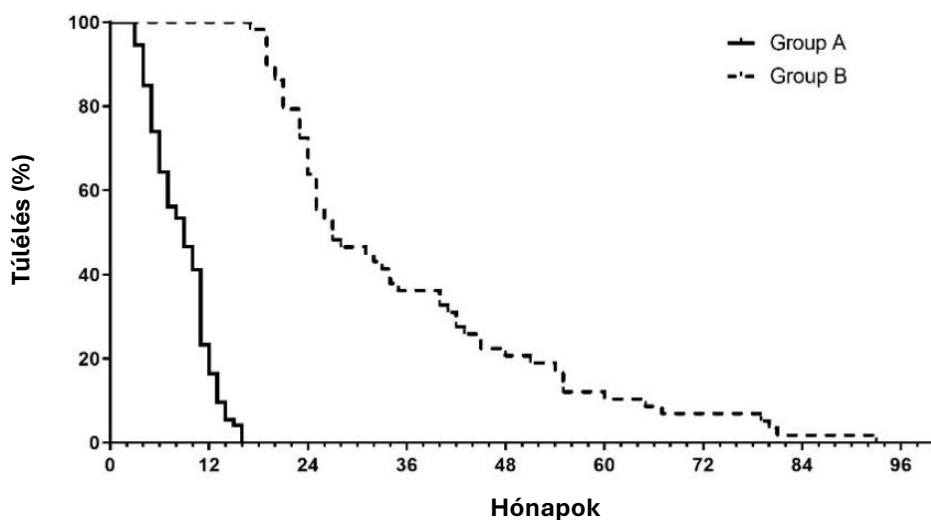
Klinikai adatok összehasonlítása az eltérő prognózissal rendelkező glioblasztómás betegek esetében

	MEDIÁN ÉLETKOR (ÉV, 95 % CI)	MEDIÁN PREOPERATÍV KPS (72.59- 79.74)	MEDIÁN POSTOPERATÍV KPS (77.82- 83.53)	MEDIÁN PFS (HÓNAP,95% CI) (3.79- 7.21)	MEDIÁN OS (HÓNAP,9 5% CI) (8.14- 9.86)	TUMORMÉRET (MM, 95% CI) (41.97- 49.43)	LOKALIZÁCIÓ (N)
GBM – "A - csoport – kedvezőtlen prognózis" n=74	61 (57.97- 63.28)	76.16 (72.59- 79.74)	80.68 (77.82- 83.53)	5.5 (3.79- 7.21)	9.0 (8.14- 9.86)	45.7 (41.97- 49.43)	Frontális: 22, Temporális: 24, Parietális: 3, Occipitális: 3, Többlebenyi: 22
GBM – "B - csoport – kedvező prognózis" n=58	58.5 (55.53- 61.47)	81.05 (76.63- 85.47)	84.74 (81.60- 87.87)	8.5 (4.36- 12.64)	27.0 (22.17- 31.83)	49.16 (44.46- 53.86)	Frontális: 18, Temporális: 12, Parietális: 4, Occipitális: 4, Többlebenyi: 20
p-érték	0.029	0.08	0.057	0.007	<0.0001	0.24	0.67

A Kaplan-Meier elemzések megerősítették a feltételezett különbségeket mind a progressziómentes túlélés (PFS), mind az általános túlélés (OS) tekintetében az A és B csoport betegei között (6. ÁBRA). Az A csoportban a medián túlélés 9,0 hónap (CI: 8,14 – 9,86 hónap) volt, míg a jobb prognózisú betegek medián túlélése 27,0 hónap volt (CI: 22,17 – 31,83 hónap) ($p < 0,0001$). A medián PFS különbségek is statisztikailag szignifikánsak: az A csoportban 5,5 hónap (CI: 3,79 – 7,21 hónap), míg a B csoportban 8,5 hónap (CI: 4,36 – 12,64 hónap) volt ($p = 0,024$).

6. Ábra

Teljes túlélési (OS) idők összehasonlítása glioblasztomás betegek prognosztikus csoportjai között (folytonos vonal – rosszabb prognózissal bíró betegcsoport, szaggatott vonal – kedvezőbb prognózissal bíró betegcsoport)



Az inváziós panelt alkotó 25 molekulából 16 invázióban szerepet játszó ECM molekula mRNS expressziójának egyedi és együttes összehasonlítását végeztük el a két csoport között. A GBM invázióval kapcsolatos 16 ECM molekulájának fehérjeexpresszióját immunhisztokémiai festés segítségével is határoztuk meg (9. TÁBLÁZAT).

4.2. mRNS expresszió meghatározása

Az ECM alkotók transzkripció szintjének meghatározása kvantitatív reverz-transzkriptáz polimeráz láncreakcióval (qRT-PCR) történt[88,89]. A gyorsfagyasztott mintákat első lépésben szétzúztuk, majd TRI reagenst (Invitrogen; Carlsbad, CA, USA) használva homogenizáltuk 25 °C-on. A teljes RNS-t a gyártó protokolljának megfelelően izoláltuk a TriReagent lizátumokból. Az RNS mennyiségét és tisztaságát egy NanoDrop® ND 1000 spektrofotométerrel (NanoDrop Technologies; Thermo Fisher Scientific, Inc., Wilmington, DE, USA) mértük. Ezt követően reverz transzkripciót végeztünk, hogy a teljes RNS-t egyszálú komplementer DNS-sé (cDNS) alakítsuk egy High Capacity cDNA Archive kittel, RNasin jelenlétében (Applied Biosystems; Thermo Fisher Scientific, Inc.). Ezután a cDNS-t egy mikrofluidikai kártyára töltöttük (100 ng teljes RNS-nek

megfelelő cDNS/port). A TaqMan® alacsony denzitású array kísérletek elvégzéséhez egy Applied Biosystems 7900HT valós idejű PCR-rendszert használtunk Micro Fluidic Card frissítéssel (Applied Biosystems; Thermo Fisher Scientific, Inc.). A mikrofluidikai kártyákat az SDS 2.1 szoftverrel (Applied Biosystems; Thermo Fisher Scientific, Inc.) elemeztük relatív kvantifikációs vizsgálatok céljából, és a ciklus küszöb (Cq) értékeket további elemzésre exportáltuk. A β -mikroglobulin, β -actin és a glicerín-aldehid-3-foszfát dehidrogenáz (GAPDH) housekeeping gének mutatták a legkisebb variációt a minták között. A GAPDH-t használtuk referencia génként a Δ Cq érték kiszámításához minden gén esetében. Az expressziós értékeket a korábban leírt komparatív Cq módszerrel ($\Delta\Delta$ Cq) határoztuk meg [90].

4.3. A fehérje expresszió meghatározása

A fehérjeexpressziót szemi-quantitatív immunhisztokémiai (IHC) meghatározással mértük. A friss fagyasztott fagyasztott mintákat egy éjszakán át 4°C-on 4%-os paraformaldehid-oldatba merítettük, majd paraffinba ágyasztuk. Az IHC méréseket a Debreceni Egyetem Patológiai, valamint Anatómiai, Hisztológiai és Embriológiai Tanszék laboratóriumaiban végeztük. A metszeteket először xilol-oldattal eltávolítottuk a paraffinból, majd csökkenő koncentrációjú etanol-oldatokkal rehidratáltuk. Ezt követően hőindukált antigénfeltárást végeztünk citrátpufferben (pH 6,0). Az elsődleges antitesteket a gyártó utasításai szerint hígítottuk, majd 48 órán át inkubáltuk. A glioblasztoma minták esetében a vizualizálást a MACH 4 Universal AP Polymer Kit® (Biocare Medical, CA, USA) és 3,3'-diaminobenzidin (DAB) alkalmazásával végeztük, hematoxilinnal végzett ellenfestéssel. Minden metszetsorozathoz pozitív és negatív kontroll metszeteket is megfestettünk. Az illusztratív céllal készült Gr. 3 minták vizualizációját másodlagos fluoreszcens ellenanyagok 1:500 hígításban történő alkalmazásával végeztük, és egy éjszakán át inkubáltuk. A metszetek festésére 1:2000 hígítású DAPI-t használtunk, majd Hydromount segítségével lezártuk őket. A festés kiértékeléséhez konfokális mikroszkópiát alkalmaztunk.

A glioblasztoma minták IHC festének szemi-kvantitatív értékelése az alábbi módszer szerint történt. A fehérje expressziót három független vizsgáló értékelte, minden metszeten véletlenszerűen kiválasztott 10 nagy nagyítású látótérben, szemi-kvantitatív módon. Az értékelés során figyelembe vettük a festődő sejtek és/vagy extracelluláris tér százalékos arányát, valamint a festődés intenzitását. A festődés százalékos arányát az alábbiak szerint osztályoztuk: negatív vagy <10% festődés (0), 10-25% festődés (1), 25-50% festődés (2), 50-75% festődés (3), >75% festődés (4), a Bondarenko et al. által leírt módszer szerint[91]. Az intenzitást 0-tól 3-ig terjedő skálán értékeltük (negatív: -, gyenge pozitivitás: + (1), közepes pozitivitás: ++ (2), erős pozitivitás: +++(3)). Minden metszet kombinált pontszámát a százalékos és intenzitási pontszámok szorzataként számítottuk ki, majd minden minta esetében egy átlagos pontszámot határoztunk meg.

4.4. Statisztikai módszerek

Az adatok statisztikai elemzését egy biomatematikus segítségével végeztük. A betegek klinikai adatainak összehasonlítására kétmintás t-próbát, Mann-Whitney próbát, valamint χ^2 -próbát használtunk, a különböző prognózisú csoportok túlélésének vizsgálatára Kaplan-Meier túlélési analízis készült.

A teljes inváziós panel csoportok közötti összehasonlítása különböző statisztikai osztályozókkal (lineáris diszkriminancia analízis, legközelebbi szomszéd módszer) történt. A statisztikai osztályozók a Weka v3.6 program (University of Waikato, Hamilton, Új-Zéland) használatával, a többi statisztikai próba a GraphPad Prism v8.01 (GraphPad Software, La Jolla CA, USA) statisztikai programmal készült.

5. Eredmények

5.1. Eltérő prognosztikai csoportú Gr. 2 asztrocitómák

5.1.1. mRNS expresszió eredmények

Az ECM molekulák egyedi összehasonlítása alapján 6 molekula esetében igazolható szignifikáns különbség a génexpresszió vonatkozásában. Ezen molekulák a HMMR /CD168 ($p=0.02^*$); *IDH-1* ($p=0.009^{**}$); Laminin α -5 ($p=0.03^*$); MKI-67 ($p=0.03^*$); PDGFA ($p=0.04^*$), valamint verzikán ($p=0.03^*$) (14.TÁBLÁZAT).

A lineáris diszkriminancia analízis révén ECM molekulák adott prognosztikai csoportra jellemző expressziós mintázata került értékelésre, annak fényében, hogy az adott prognosztikai csoportra jellemző, minden egyes ECM molekulát magába foglaló expressziós mintázatot, az egyedileg értékelt ECM molekula melyik prognosztikus csoport irányába és a többi vizsgált molekula viszonylatában mekkora mértékben befolyásolta.

Sorrendben, a legnagyobb hozzájárulással bíró, ezáltal a differenciálási lehetőséget növelő molekulák: az integrin β – 1, integrin α – V, integrin β – 5, CSPG-5, HMMR/CD168, CD44, EGFR (15. TÁBLÁZAT).

Az ECM molekulák mRNS expressziójának lineáris diszkriminancia analízis statisztikai osztályozóval történt értékelése alapján további származtatott paraméterek meghatározására nyílt lehetőség, így azt mondhatjuk, hogy ezen expressziós mintázaton alapuló prognosztikai csoportosításunk szenzitivitása 87.5 %, míg negatív prediktív értéke 88.9% (16. TÁBLÁZAT).

14. Táblázat

ECM molekulák expressziós értékei eltérő prognózissal rendelkező Gr 2 asztrocitómák esetében (A csoport: Rosszabb prognózisú csoport B csoport: Jobb prognózisú csoport (*: p-érték kisebb mint 0,05, **: p-érték kisebb mint 0,01)

ECM MOLEKULA	ÁTLAG ± SD MRNS EXPRESSZIÓ A CSOPORT	ÁTLAG ± SD MRNS EXPRESSZIÓ B CSOPORT	FOLD CHANGE	LDA-ÉRTÉK	A DÖNTÉSI ALGORITMUST MÓDOSÍTÓ SZEREP (X-CSOPORT IRÁNYÁBA)	P-ÉRTÉK
Brevican	0.37 ± 0.46	0.87 ± 0.55	2.35	-0.348	A	0.13
CD 44	0.13 ± 0.07	0.12 ± 0.07	0.92	-3.910	A	0.72
CSGPG - 5	0.07 ± 0.07	0.1 ± 0.07	1.43	-3.995	A	0.49
EGFR	0.08 ± 0.11	0.12 ± 0.08	1.5	3.721	B	0.12
FLT - 4	0.001 ± 0.002	0.0008 ± 0.0005	0.8	-	-	0.56
GFAP	8.63 ± 6.75	11.46 ± 8.72	1.33	-3,375	A	0.35
HMMR	0.0002 ± 0.0001	0.0006 ± 0.0006	3.0	3.910	B	0.02*
IDH - 1	0.003 ± 0.002	0.007 ± 0.0041	2.33	-1.829	A	0.009**
Integrin α - 3	0.007 ± 0.002	0.0059 ± 0.003	0.84	2.250	B	0.78
Integrin α - V	0.06 ± 0.03	0.09 ± 0.04	1.5	7.091	B	0.11
Integrin β - 1	0.04 ± 0.015	0.05 ± 0.03	1.25	-7.396	A	>0.99
Integrin β - 5	0.03 ± 0.02	0.04 ± 0.03	1.33	4.019	B	0.18
Laminin α - 4	0.014 ± 0.011	0.032 ± 0.026	2.29	-1.591	A	0.051
Laminin α -5	0.010 ± 0.006	0.022 ± 0.012	2.2	-	-	0.03*
Laminin β -1	0.006 ± 0.006	0.013 ± 0.012	2.2	2.078	B	0.11
MDM - 2	0.03 ± 0.03	0.027 ± 0.012	0.9	-0.976	A	0.54
MKI - 67	0.0021 ± 0.0032	0.0048 ± 0.0061	2.3	-	-	0.03*
MMP - 2	0.013 ± 0.006	0.017 ± 0.008	1.3	-0.104	A	0.24
Neurocan	0.065 ± 0.06	0.11 ± 0.09	1.7	1.935	B	0.44
PDGF - A	0.017 ± 0.016	0.03 ± 0.018	1.76	0.645	B	0.04*
Tenascin - C	0.1 ± 0.061	0.09 ± 0.05	0.9	-	-	0.84
Versican	0.14 ± 0.18	0.42 ± 0.27	3.0	-	-	0.03*

ECM MOLEKULA	GR. 2 ASZTROCITOMA LDA ÉRTÉK	
1.	Integrin β - 1	-7.396
2.	Integrin α - V	7.091
3.	Integrin β - 5	4.019
4.	CSGPG - 5	-3.995
5.	HMMR / CD168	3.910
6.	CD 44	-3.910
7.	EGFR	3.721
8.	GFAP	-3,375
9.	Integrin α - 3	2.250
10.	Laminin β -1	2.078
11.	Neurocan	1.935
12.	IDH - 1	-1.829
13.	Laminin α - 4	-1.591
14.	MDM - 2	-0.976
15.	PDGF - A	0.645
16.	Brevican	-0.348
17.	MMP - 2	-0.104
18.	MKI - 67	x
19.	Tenascin - C	x
20.	Versican	x
21.	FLT - 4	x
22.	Laminin α -5	x
23.	HAS - 2	x
24.	MMP-9	x
25.	Integrin α - 5	x

15. Táblázat

Egyes ECM molekulák egyedi kontribúciója a prognosztikus csoportok differenciálásához lineáris diszkriminancia analízis segítségével

16. Táblázat

Statisztikai osztályozó algoritmuson alapuló csoportazonosítási effektivitás konfúziós mátrixa

	GR. 2 – A vs. B CSOP.	GR. 3 – A vs. B CSOP.	GR. 2 vs. GR. 3
Szenzitivitás	87.5 %	85.7 %	93.7 %
Specifitás	72.7 %	88.9 %	100 %
Pozitív prediktív érték	70.0 %	85.7 %	100 %
Negatív prediktív érték	88.9 %	88.9 %	95 %

5.1.2. Fehérje expressziós eredmények

Az eredményeink alapján szignifikáns különbség a két prognosztikai csoport között csak az integrin α V tumorsejtek festődési intenzitásában igazolható ($p=0.04^*$). A fehérje expressziós eredményeink konkordáns egyezése figyelhető meg a génexpressziós szinten detektált értékekkel az alábbiak szerint: integrin α V, brevikán, CSPG-5, verzikán, integrin β -5, CD-44, molekulák minden vizsgált paraméterben, míg az MDM2, MMP2, FLT-4 molekulák tumorsejt festődési intenzitásai mutatnak az mRNS expresszióval konkordáns eredményeket (17. TÁBLÁZAT).

17. Táblázat

Gr. 2. diffúz, infiltratív asztocitómák prognosztikus csoportjainak összehasonlítása IHC-val értékelt fehérje expresszió vonatkozásában

NO.	ECM MOLEKULA	ÁTLAG \pm SD FEHÉRJE EXPRESSZIÓ A CSOPORT	ÁTLAG \pm SD FEHÉRJE EXPRESSZIÓ B CSOPORT	P- ÉRTÉK	MRNS ÉRTÉKKEL KONKORDÁNS VÁLTOZÁS
1.	Brevikán – ECM	5.6 \pm 1.1	6.6 \pm 1.0	0.08	Igen
2.	CSPG5 – ECM	5.4 \pm 1.1	5.5 \pm 1.0	0.67	Igen
3.	Versikán – ECM	6.1 \pm 1.4	6.4 \pm 1.4	0.62	Igen
4.	Integrin β -5 – ECM	5.0 \pm 1.3	5.4 \pm 2.0	0.81	Igen
5.	CD-44 – Tumor sejtek	7.3 \pm 2.0	6.8 \pm 1.6	0.62	Igen
	CD-44 – ECM	6.7 \pm 1.4	6.6 \pm 1.4	0.69	Igen
6.	MDM2 – Tumor sejtek	5.4 \pm 3.0	5.2 \pm 2.2	>0.99	Igen
	MDM2 – ECM	4.5 \pm 1.2	4.7 \pm 1.2	0.89	Nem
7.	HMMR – Tumor sejtek	8.1 \pm 2.1	7.6 \pm 2.9	0.91	Nem
	HMMR – ECM	5.3 \pm 1.2	5.2 \pm 1.7	0.91	Nem
8.	Integrin αV – Tumor sejtek	8.0 \pm 1.2	9.0 \pm 1.1	0.04*	Igen
	Integrin αV – ECM	6.6 \pm 0.8	7.5 \pm 0.8	0.06	Igen
9.	MMP-2 – Tumor sejtek	6.5 \pm 1.7	7.6 \pm 1.4	0.14	Igen
	MMP-2 – ECM	5.5 \pm 1.8	5.3 \pm 0.9	0.84	Nem
10.	FLT-4 – Tumor sejtek	5.0 \pm 0.9	4.9 \pm 1.9	0.87	Igen
	FLT-4 – ECM	4.5 \pm 1.7	4.7 \pm 1.6	0.79	Nem

5.2. Onkoterápia előtti és utáni Gr. 3 asztrocitómák

5.2.1. mRNS expressziós eredmények

Az egyedi ECM molekula összehasonlítás következményeként kizárólag az integrin α -3 molekula esetében [$p=0.04^*$] igazolható szignifikáns különbség a génexpresszió vonatkozásában a vizsgálat betegcsoportok között (18. TÁBLÁZAT).

A lineáris diszkriminancia analízis révén végzett statisztikai osztályozás értelmében sorrendben a legnagyobb mértékű differenciálási lehetőséget jelentették a GFAP, HMMR, CD44, integrin α -3, IDH-1, integrin α -V molekulák (19. TÁBLÁZAT). A lineáris diszkriminancia analízis alapján elvégzett csoportazonosítás szenzitivitása 85.7 %, míg negatív prediktív értéke 88.9 %. (6. Táblázat).

5.2.2. Fehérje expressziós eredmények

A Gr. 3 asztrocitaer daganatok esetében statisztikailag értékelhető immunhisztokémiai festésre nem volt lehetőségünk, kizárólag illusztratív céllal történt IHC festés (7. ÁBRA).

18. Táblázat

ECM molekulák expressziós értékei eltérő kezelési protokollban részesült Gr 3 asztrocitómák esetében (A csoport: onkoterápia előtti, primer Gr. 3 folyamatok, B csoport: onkoradioterápiában részesült recidív Gr. 3 folyamatok; (*: p-érték kisebb mint 0,05, **: p-érték kisebb mint 0,01)

ECM MOLECULES	ÁTLAG ± SD MRNS EXPRESSZIÓ A CSOPORT	ÁTLAG ± SD MRNS EXPRESSZIÓ B CSOPORT	FOLD CHANGE	LDA-ÉRTÉK	A DÖNTÉSI ALGORITMUST MÓDOSÍTÓ SZEREP (X-CSOPORT IRÁNYÁBA)	P-ÉRTÉK
Brevikán	1.0712 ± 1.0548	0.7272 ± 0.77	0.68	2.063	A	0.43
CD 44	0.2872 ± 0.2174	0.5433 ± 0.48	1.89	-13.732	B	0.27
CSGPG - 5	0.4502 ± 0.3992	0.2439 ± 0.18	0.54	2.027	A	0.22
EGFR	1.3601 ± 2.9338	0.4111 ± 0.82	0.30	-1.871	B	0.79
GFAP	16.0084 ± 8.0520	27.4170 ± 22.38	1.71	30.709	A	0.56
FLT-4	-	-	-	-	-	-
HAS-2	0.0027 ± 0.0012	0.0030 ± 0.003	1.11	-4.548	B	0.71
HMMR	0.0005 ± 0.00048	0.0004 ± 0.0004	0.80	21.611	A	0.37
IDH - 1	0.0200 ± 0.016	0.0202 ± 0.011	1.01	-8.970	B	0.71
Integrin α - 3	0.0341 ± 0.03	0.0134 ± 0.0057	0.39	10.511	A	0.04*
Integrin α - 5	0.051 ± 0.034	0.027 ± 0.031	0.53	0.704	A	0.15
Integrin α - V	0.0829 ± 0.032	0.1029 ± 0.05	1.24	-8.845	B	0.49
Integrin β - 1	0.0318 ± 0.012	0.0341 ± 0.018	1.07	-7.480	B	0.87
Integrin β - 5	0.0275 ± 0.019	0.0527 ± 0.04	1.92	1.682	A	0.22
Laminin α - 4	0.0086 ± 0.0049	0.0077 ± 0.005	0.90	-	-	0.71
Laminin α - 5	-	-	-	-	-	-
Laminin β - 1	0.0048 ± 0.0025	0.0061 ± 0.004	1.27	-	-	0.79
MDM - 2	0.0102 ± 0.0028	0.0278 ± 0.05	2.73	-6.136	B	0.27
MKI - 67	0.0050 ± 0.003	0.0053 ± 0.006	1.06	-	-	0.49
MMP - 2	0.0177 ± 0.014	0.0177 ± 0.018	1.0	-	-	0.79
MMP - 9	0.0337 ± 0.06	0.0040 ± 0.004	0.12	-	-	0.37
Neurokán	0.1707 ± 0.15	0.2033 ± 0.1	1.19	-	-	0.43
PDGF - A	0.0352 ± 0.038	0.0274 ± 0.017	0.78	-	-	0.96
Tenascin - C	0.1011 ± 0.078	0.1127 ± 0.15	1.11	-	-	0.56
Verzikán	0.2631 ± 0.24	0.2045 ± 0.16	0.78	-	-	0.71

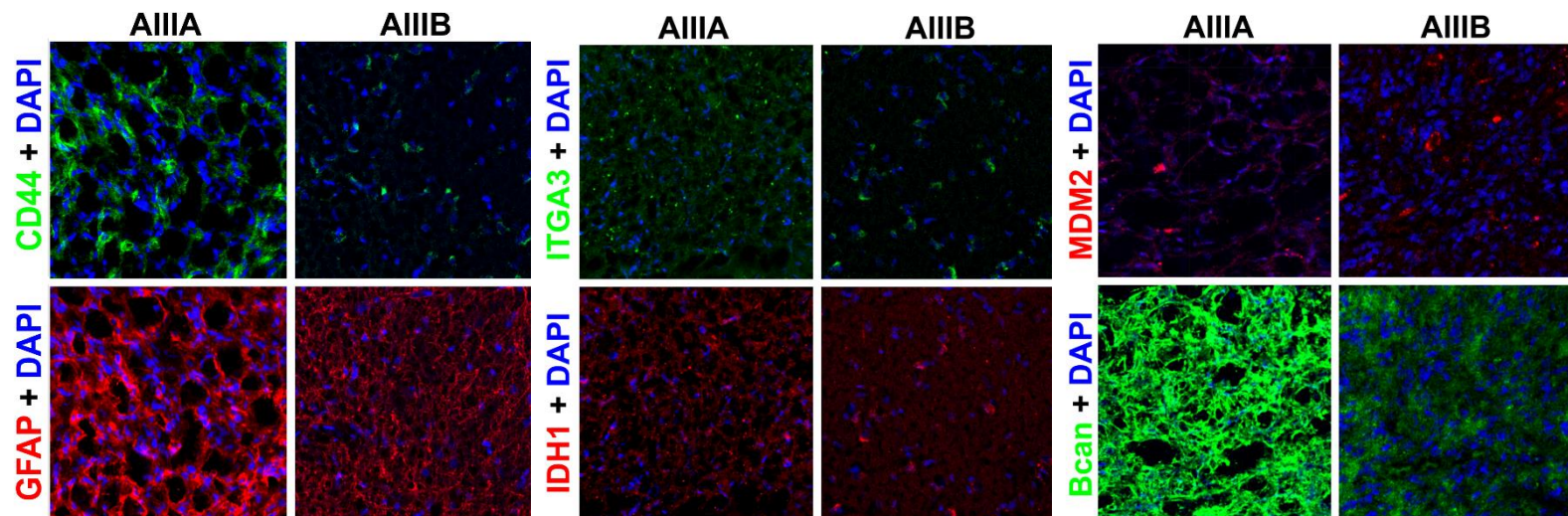
19. Táblázat

Egyes ECM molekulák egyedi kontribúciója a prognosztikus csoportok differenciálásához lineáris diszkriminancia analízis segítségével Gr. 3 asztocitómák vonatkozásában

	ECM MOLEKULA	GR. 3 ASZTROCITOMA LDA ÉRTÉK
1.	GFAP	30,709
2.	HMMR / CD168	21,611
3.	CD 44	-13,732
4.	Integrin α - 3	10,511
5.	IDH - 1	-8,970
6.	Integrin α - V	-8,845
7.	Integrin β - 1	-7,480
8.	MDM - 2	-6,136
9.	HAS-2	-4,548
10.	Brevikán	2,063
11.	CSPG - 5	2,027
12.	EGFR	-1,871
13.	Integrin β - 5	1,682
14.	Integrin α - 5	0,704
15.	MKI - 67	x
16.	MMP - 2	x
17.	Neurokán	x
18.	PDGF - A	x
19.	Tenascin - C	x
20.	Verzikán	x
21.	FLT - 4	x
22.	Laminin α -5	x
23.	MMP - 9	x
24.	Laminin α - 4	x
25.	Laminin β -1	x

7. Ábra

Onkoterápia előtti primer, valamint recidív Gr. 3 asztocitómák esetében végzett illusztratív IHC eredmények (AIIIA: primer csoport, AIIIB: recidív esetek)



5.3. Gr 2 és 3 csoportba tartozó diffúz, infiltratív gliómák prognosztikus csoportjainak összevetése

5.3.1. mRNS expressziós eredmények

mRNS expressziók összehasonlításában a CSPG-5 ($p=0.02^*$), az IDH-1 ($p=0.01^*$) és az integrin α -3 ($p=0.0003^{***}$) esetében igazolható szignifikáns különbség. Mindhárom molekula vonatkozásában a Gr. 3 csoportban igazolható magasabb expresszió. A lineáris diszkriminancia analízis révén végzett statisztikai osztályozás értelmében sorrendben a legnagyobb mértékű differenciálási lehetőséget jelentették az MDM2, HMMR, integrin- β 5 és brevican molekulák (20. TÁBLÁZAT) A különböző grádusú asztrocitómák elkülönítése az inváziós spektrum alkalmazásával nagy pontosságúnak tekinthető, szenzitivitás 93.7 %-nak, specificitás 100%-nak adódott (16. TÁBLÁZAT).

20. Táblázat

ECM molekulák expressziós értékei alacsonyabb grádusú gliomák esetében (Gr. 2. – A csoport: rosszabb prognosztikus csoportú Gr. 2. asztrocitómák csoportja, Gr. 3 – A csoport: korábban kezelésben nem részesült Gr. 3 asztrocitómák; (*: p-érték kisebb mint 0,05, ***: p-érték kisebb mint 0,001)

ECM MOLECULES	ÁTLAG ± SD MRNS EXPRESSZIÓ GR.2 - A CSOPORT	ÁTLAG ± SD MRNS EXPRESSZIÓ GR. 3. - A CSOPORT	FOLD CHANGE	LDA- ÉRTÉK	A DÖNTÉSI ALGORITMUST MÓDOSÍTÓ SZEREP (X-CSOPORT IRÁNYÁBA)	P-ÉRTÉK
Brevikán	0.37 ± 0.46	1.0712 ± 1.0548	2.90	6.81	Gr. 3	0.19
CD 44	0.13 ± 0.07	0.2872 ± 0.2174	2.21	-2.54	Gr. 2	0.34
CSGPG - 5	0.07 ± 0.07	0.4502 ± 0.3992	6.43	1.44	Gr. 3	0.02*
EGFR	0.08 ± 0.11	1.3601 ± 2.9338	17.0	2.7	Gr. 3	0.34
GFAP	8.63 ± 6.75	16.0084 ± 8.0520	1.85	1.11	Gr. 3	0.054
HMMR	0.0002 ± 0.0001	0.0005 ± 0.00048	2.5	-7.39	Gr. 2	0.19
IDH - 1	0.003 ± 0.002	0.0200 ± 0.016	6.67	2.6	Gr. 3	0.01*
Integrin α - 3	0.007 ± 0.002	0.0341 ± 0.03	4.87	3.44	Gr. 3	0.0003***
Integrin α - V	0.06 ± 0.03	0.0829 ± 0.032	1.38	1.47	Gr. 3	0.23
Integrin β - 1	0.04 ± 0.015	0.0318 ± 0.012	0.8	5.02	Gr. 3	0.34
Integrin β - 5	0.03 ± 0.02	0.0275 ± 0.019	0.92	-7.27	Gr. 2	0.87
Laminin α - 4	0.014 ± 0.011	0.0086 ± 0.0049	0.61	7.2	Gr. 3	0.34
Laminin β - 1	0.006 ± 0.006	0.0048 ± 0.0025	0.8	-0.6	Gr. 2	0.78
MDM - 2	0.03 ± 0.03	0.0102 ± 0.0028	0.34	-7.61	Gr. 2	0.12
MKI - 67	0.0021 ± 0.0032	0.0050 ± 0.003	2.38	6.4	Gr. 3	0.02*
MMP - 2	0.013 ± 0.006	0.0177 ± 0.014	1.36	-5.8	Gr. 2	0.46
Neurokán	0.065 ± 0.06	0.1707 ± 0.15	2.63	-	-	0.19
PDGF - A	0.017 ± 0.016	0.0352 ± 0.038	2.07	-	-	0.28
Tenascin - C	0.1 ± 0.061	0.1011 ± 0.078	1.01	-	-	0.99
Verzikán	0.14 ± 0.18	0.2631 ± 0.24	1.88	-	-	0.19

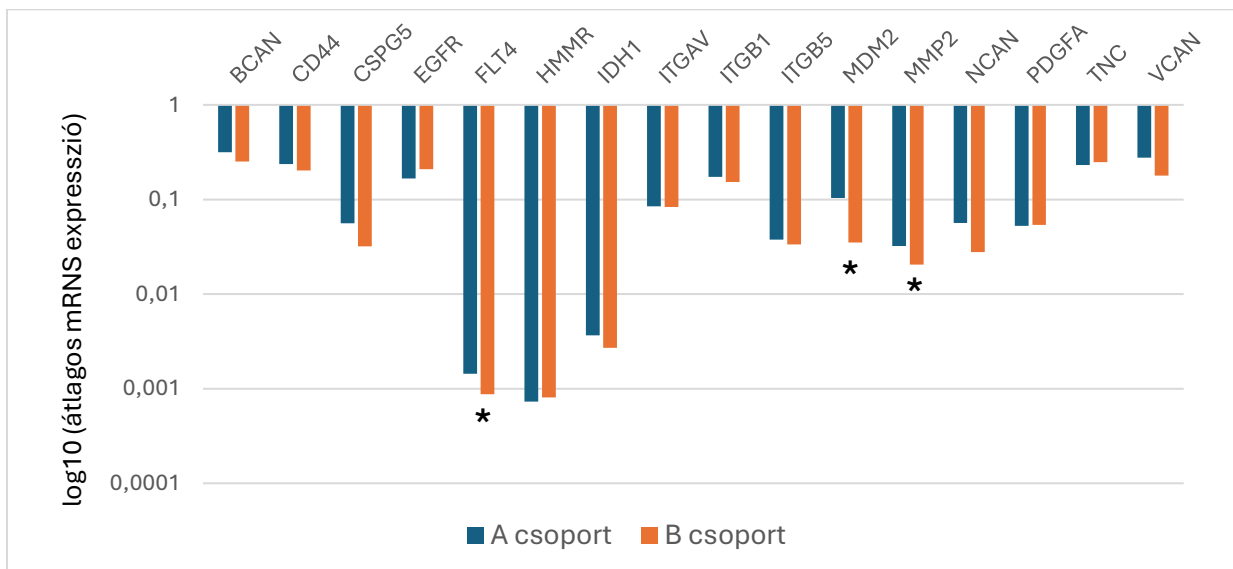
5.4. Eltérő prognózissal rendelkező glioblasztomás betegcsoportok

5.4.1. mRNS expressziós eredmények

A glioblasztoma eltérő prognózissal bíró betegcsoportjainak összehasonlítása jelentős különbségeket mutatott az mRNS expresszió vonatkozásában. Eredményeinket a 8. ÁBRÁN tüntettük fel, ahol az egyes expressziós értékek 10-es alapú logaritmikusskálán kerültek feltüntetésre. A molekulák egyedi összehasonlításában három invázióval kapcsolatos molekula expressziója bizonyult szignifikánsan eltérőnek a két prognosztikai csoportban. Az FLT4/VEGF-3, az MDM2 expressziója, valamint az MMP2 is szignifikánsan magasabb expressziós értéket mutatott a rosszabb prognózisú mintákban ($p = 0,0285$; $p=0,02$ és $p=0,0023$). A 9. ÁBRÁN a szignifikáns különbséget mutató ECM molekulák expressziós értékei láthatóak.

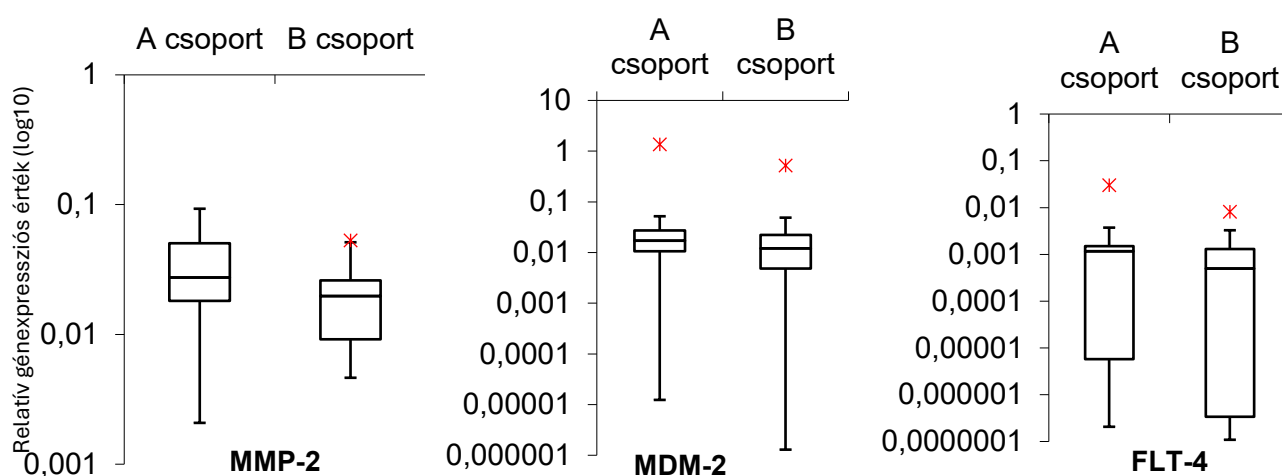
8. Ábra

ECM molekulák átlagos mRNS expressziós értékei 10-es alapú logaritmikusskálán eltérő prognózissal rendelkező glioblasztomás betegcsoportok esetében („A” csoport: rosszabb prognózissal rendelkező glioblasztomás betegcsoport; „B” csoport: jobb prognózissal rendelkező glioblasztomás betegcsoport; a hosszabb oszlopok alacsonyabb expressziós értéket jelölnek, *: szignifikáns különbséget mutató molekulák jelölése)



9. Ábra

Szignifikáns mRNS expressziós különbséget mutató ECM molekulák glioblasztomás betegcsoportok vizsgálatában (piros kereszt: max. outlier érték)



Az egyes ECM komponensek elemzése után a legközelebbi szomszéd statisztikai osztályozási módszert alkalmaztuk (nearest neighbor search) az inváziós panel együttes, átfogó elemzésére.

A statisztikai osztályozó algoritmus a következő molekulákat azonosította legfontosabb befolyásoló tényezőkként: CD44, EGFR, FLT4/VEGF-3, IDH1, MMP2, PDGFA, TNC és VCAN.

Ezen ECM komponensek expressziója kulcsszerepet játszhat a különböző prognózisú tumorok elkülönítésében. Az osztályozó a 132 beteg esetéből 94 esetben helyesen azonosította azt, hogy a beteg legalább 24 hónapot fog-e élni, tehát az osztályozó algoritmus segítségével a beteg prognózisa nagy pontossággal azonosítható.

21. Táblázat

Az osztályozó algoritmus származtatott paraméterei a glioblasztomás betegek eltérő prognózissal rendelkező alcsoportjainak elkülönítésében.

(FP rate: álpozitív arány; MCC: Matthews correlation coefficient, AUC: area under the curve)

	SZENZITIVITÁS	FP RATE	POZITÍV PREDIKTÍV ÉRTÉK	F-1 ÉRTÉK	MCC	AUC
A csoport	0.757	0.345	0.737	0.747	0.414	0.706
B csoport	0.655	0.243	0.679	0.667	0.4144	0.706
Súlyozott átlag	0.712	0.300	0.711	0.712	0.414	0.706

A szenzitivitás és a pozitív prediktív érték magasabb volt a rosszabb prognózisú tumorok esetében. A módszer ROC-értéke 0,706, míg a bináris osztályozás minőségét mérő Matthew's korrelációs együttható (MCC), amely -1 és +1 közötti értékeket vehet fel, 0,414 volt (21. TÁBLÁZAT).

5.4.2. Fehérje expressziós eredmények

Az elemzett invázióval kapcsolatos fehérjék közül a brevican, CD44, HMMR, integrin- α V és - β 1, valamint MDM2 expressziója mutatott szignifikáns különbséget a két csoport között.

Az mRNS- és immunhisztokémiai eltérések iránya összhangban volt, kivéve az integrin- β 1 molekulát. A fehérjeexpresszió összhangja alátámasztja az mRNS-expressziós eredményeink relevanciáját (22.TÁBLÁZAT). Az mRNS expresszió szintjén szignifikáns különbséget mutató molekulák közül az MDM-2 mutatott szignifikáns különbséget fehérje szinten, azonban az eredmények alapján jelentőséggel bíró FLT4/VEGF3, valamint MMP-2 molekulák esetében is jól látszik a festődési intenzitásbeli különbség a 10 – 12. ábrákon, a statisztikai inszignifikancia ellenére is.

22. Táblázat

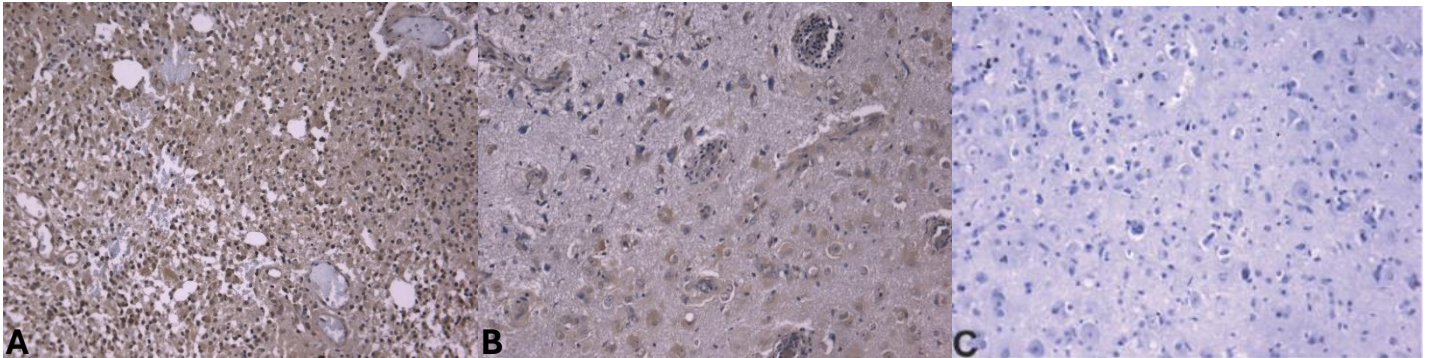
A fehérje expresszióban tapasztalt szignifikáns ECM expressziós különbségek glioblasztómás betegek esetében

	P-ÉRTÉK	KONKORDÁNS MRNS EREDMÉNY	ÁTLAGOS IHC ÉRTÉKEK	
			A CSOPORT	B CSOPORT
Brevikán	0.0002	Igen	6.58	3.40
CD-44	0.02	Igen	4.35	3.69
HMMR	0.002	Igen	5.71	3.58
Integrin- α V	0.02	Igen	4.35	3.69
Integrin- β 1	0.04	Nem	2.69	3.86
MDM-2	0.024	Igen	4.41	2.44

10. ábra

Glioblasztómás szövetek immunhisztokémiai képei FLT4/VEGF-3 festéssel.

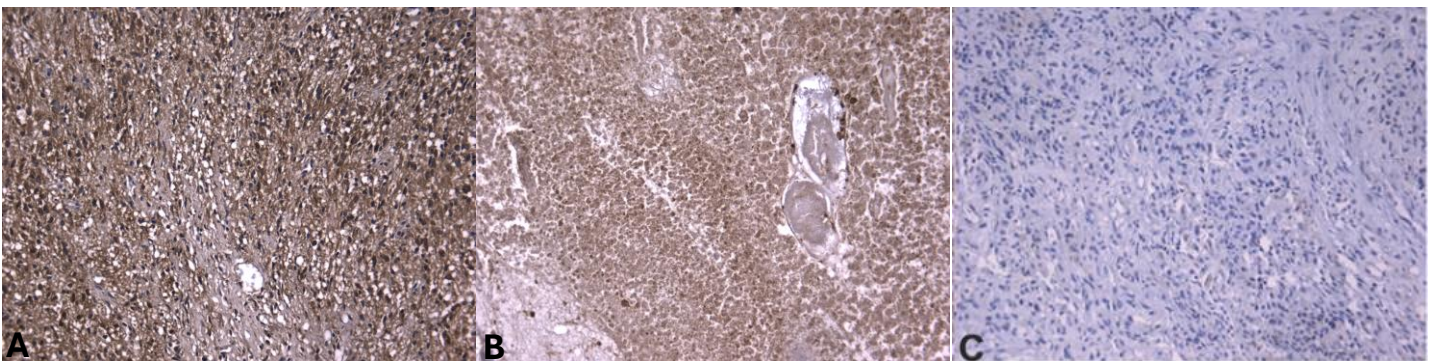
(A) FLT4/VEGF-3 túlzott expressziója rosszabb prognózisú glioblasztómás betegeknél. (B) Mérsékelt pozitívítás jobb prognózisú betegeknél (a festődés jelentősen csökkent a rosszabb prognózisú betegeknél képest). (C) Negatív kontroll. Minden kép 20-szoros nagyítással készült. FLT4: Fms-rokon tirozin-kináz 4; VEGF: érrendszeri endoteliális növekedési faktor.



11. ábra

Glioblasztómás szövetek immunhisztokémiai képei MDM2 festéssel.

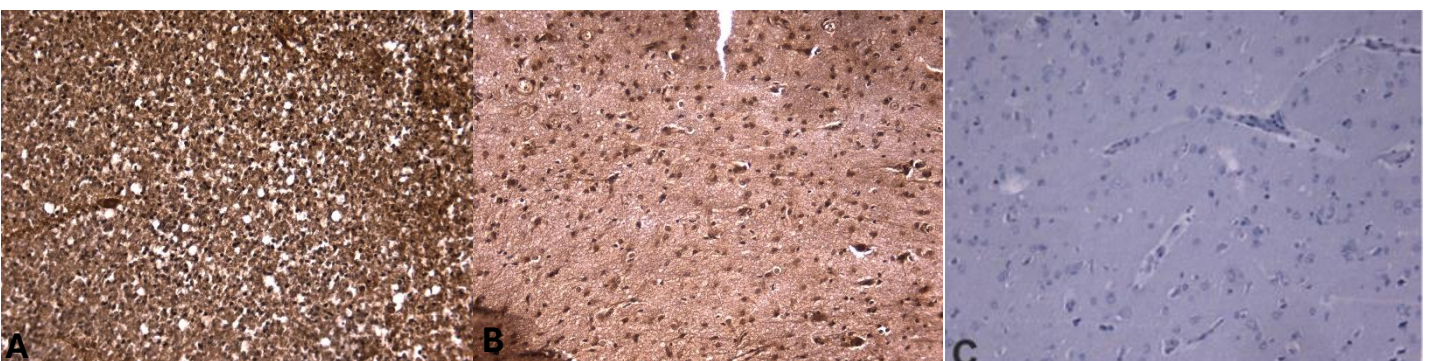
(A) Rosszabb prognózisú betegektől származó szövetek immunhisztokémiai képei szignifikánsan fokozott MDM2 pozitívítást mutattak, szemben (B) a jobb prognózisú betegek mintáival. (C) Negatív kontroll. Minden kép 20-szoros nagyítással készült. MDM2: murin double minute 2.



12. ábra

Glioblasztómás szövetek immunhisztokémiai képei MMP-2 festéssel.

(A) MMP-2 pozitívítás kifejezetten erős volt a rosszabb prognózisú betegek szöveteiben, megerősítve az mRNS expressziós eredményeket. (B) A jobb prognózisú betegek is fokozott MMP-2 expressziót mutattak (ahogy az erős pozitívítás jelzi), de az immunhisztokémiai pontszámok jelentősen alacsonyabbak. (C) Negatív kontroll metszet. Minden kép 20-szoros nagyítással készült. MMP 2: mátrix metalloproteináz 2.



6. Diskusszió

6.1. Általánosságban

A diffúz, infiltratív asztrocitómák a leggyakoribb malignus központi idegrendszeri daganatok. Az *IDH 1/2* gének mutációs státuszától függően felosztásukban megkülönböztetünk Gr. 2,3 csoportba sorolandó alacsonyabb grádusú asztrocitómákat, valamint a korábban szekunder glioblasztómának tekintett, ún. high-grade Gr. 4 asztrocitómát. Glioblasztómáról kizárólag *IDH 1/2* vad típusú esetekben beszélünk. A daganatokat jellemző peritumorális infiltráció egyrészt diagnosztikus kritériumnak tekinthető, másrészt pedig meghatározó a daganatok kezelése kapcsán is. A daganatsebészeti szempontból kívánatos teljes eltávolítás a daganatsejt eredeti tumormasszához vonatkoztatott több centiméterre történő migrációja miatt nem lehetséges, recidíva kialakulása minden esetben bekövetkezik. Az infiltráció egy több lépésből álló aktív, a sejtközötti állományt kitöltő ECM komponensek aktív közreműködése mellett megvalósuló dinamikus folyamat. Az ECM molekulák mennyiségi és minőségi meghatározása az eltérő prognózisú, valamint más-más kezelési algoritmusban részesült betegcsoportokban mutatott expressziós mintázata alapján prognosztikus, valamint terápiás előnyt is biztosíthat a neuro-onkológusok számára. Tekintve mind az alacsonyabb grádusú daganatok között ismeretes eltérő növekedési potenciált mutató alcsoportokat, mind a glioblasztoma esetében ismeretes hosszú túlélési idővel jellemezhető betegalcsoportot rizikócsoportokat definiáló prognosztikus markerek meghatározása jelentős klinikai segítség. A glioblasztoma a legagresszívabb humán malignus megbetegedés. A vér-agy gát által is privilégizált intrakraniális lokalizáció miatt mind a lokális, mind a szisztémás kezelési lehetőségek is korlátozott effektivitásúak. Továbbá, a kifejezett intratumorális heterogenitás, valamint a klonális evolúció révén a terápia-rezisztens sejtcsoportok kiszelektálódása is aggasztó mértékű [92]. A jelenleg alkalmazott kemoterápiás ágensek leginkább anti-proliferatív hatásmechanizmust képviselnek, az ezidáig vizsgálat tárgyát képező inváziót gátló gyógyszerkészítmények számottevő eredményt nem mutattak sem a

progressziómentes-, sem a teljes túlélés vonatkozásában[93–95]. Kutatócsoportunk a fent említett problémakörök mentén vizsgálta az alacsonyabb grádusú asztrocitómák, valamint a glioblastoma vonatkozásában a peritumorális infiltrációban szerepet játszó ECM molekulák szerepét eltérő prognosztikus, valamint kezelési algoritmusban részesült betegcsoportok esetében, az ECM molekulák egyedi hozzájárulásának, valamint expressziós mintázatának prognosztikus célú felhasználásának céljából.

6.2. A Gr. 2 asztocitómák prognosztikus csoportjai az inváziós spektrum alapján elkülöníthetők

Újabban a Gr. 2, valamint Gr. 3 csoportba sorolható gliomákat, így az asztrocitaer folyamatokat is az alacsonyabb grádusú gliomák terminusa szerint említik[12]. A klasszikus hiszto-patológiai jellemvonásokon, továbbá a sejtek mitotikus aktivitásán alapuló elkülönítés hátrányait jól példázza ezen betegcsoport, hiszen jelentősen különböző lehet a terápiás ellátási algoritmus, végsősoron eltérő prognosztikus várakozásokkal bírnak a korábban Gr. 2 diffúz asztrocitómáknak nevezett csoportba sorolható diffúz gliomák[11,13]. A molekuláris markerek fontosságát hangsúlyozza, hogy azonos szövettani csoportba sorolható alacsonyabb grádusú gliomák a megegyező terápia ellenére is igen eltérő progresszió mentes (PFS) és teljes túlélési adatokat (OS) mutatnak. Ennek megfelelően ma már a korábban homogénnek tekintett alacsonyabb grádusú gliomák csoportján belül a különböző terápia meghatározásának elősegítésére alacsony és magas rizikójú alcsoportokról beszélhetünk[14,15,96]. Az alacsony grádusú asztrocitaer daganatok esetében a rizikócsoportok meghatározása a posztoperatív onkológiai ellátást befolyásolja. Jelenleg sem egyértelmű a tudományos állásfoglalás, miszerint az alacsony grádusú gliális daganatok esetében pontosan milyen feltételek teljesülése mellett szükséges közvetlenül posztoperatíván radio-, és/vagy onkoterápia alkalmazása. Megfordítva a kérdést, egyértelműen nem határozható meg azon alacsony növekedési potenciállal bíró, alacsonyabb rizikóval bíró betegek köre, akiknél csak a szoros követés, az ún. watchful waiting stratégia alkalmazása elegendő [94,97,98]. Jelen vizsgálatunkban a Gr. 2 asztrocitómák prognosztikai csoportjainak

összehasonlításában az expressziós mintázaton alapuló prognosztikai csoportosításunk szenzitivitása 87.5 %, míg negatív prediktív értéke 88.9% a lineáris diszkriminancia analízis alapján (6. Táblázat). Összeségében tehát elmondható, hogy az inváziós spektrum a rossz prognosztikai csoportba tartozó grade 2 astrocytomák kiválasztásához megfelelő eszköznek bizonyulhat, rutinszerű felhasználásával ezen rizikócsoportok elkülönítésében kiegészítő eszközként funkcionálhat.

A prognosztikus csoportok között egyébiránt több molekula is szignifikáns különbséget mutatott mind transzkripció (HMMR, vezikán, PDGF-A Laminin α -5), mind transzlációs szinten (integrin α V) igazolva. Eredményeink között jelentős konkordancia figyelhető meg, mely a molekula egyedi szignifikáns szerepére hívja fel a figyelmet a peritumorális infiltráció folyamatában. (Ild. Infiltrációban kiemelt szerepet játszó ECM molekulák alfejezet).

6.3. A diffúz, infiltratív gliómák esetében alkalmazott kezelési stratégia korlátozott anti-invazív potenciállal bír

A diffúz gliómák esetében alkalmazott kezelési stratégia jellegét, a terápiás targetek jellemzőit, valamint a túlélési mutatókra és életminőségére gyakorolt hatását tekintve elmondható, hogy a gliális daganatok terápiájában érdemi áttörés a temozolomid, valamint a bevacizumab bevezetése óta nem történt. Ennek okaként a központi idegrendszer privilégizált helyzete jelölhető meg elsődleges okként. A radioterápia vonatkozásában nehéz a megfelelő céltér fogat meghatározása, hiszen az infiltráló sejtcsoportok a standard radiográfiás módszerekkel csak korlátozottan, vagy egyáltalán nem mutathatóak ki. A sugárterápia dózismennyiségének és eloszlásának meghatározásakor, főként a kedvezőbb túlélési mutatókkal rendelkező alacsonyabb gradusú gliómák vonatkozásában figyelembe kell venni a sugárterápia kognitív és egyéb magasabb rendű agyi funkcióra gyakorolt hosszútávú hatását is. Az onkoterápia esetében pedig a központi idegrendszeri penetráció, valamint a terápia rezisztens mutációk által kisselektálódó gliomasejtcsoportok jelentik a legnagyobb kihívást [99].

A Gr. 3 asztocitómák vonatkozásában végzett vizsgálatunk eredményei alapján jól látható, hogy az ECM molekulák expressziós mintázatán alapuló elkülönítés a két csoport között ugyan jó hatásfokú, azonban az eredmények teljes körű értékelése alapján szembeűnő, hogy az integrin α -3 az egyedűli molekula, mely szignifikáns eltérést mutatott a két betegcsoport között. Ezen felűl, a nem szignifikáns expressziós értékek eltéréseit jelző fold change változások sem utalnak számottevő expressziós különbségekre, valamint a molekulák többsége esetében a kezelésben részesűlt betegcsoport esetében mutatható ki magasabb expressziós érték. Eredményeink azt a feltételezést erűsítik, hogy a sugárterápia és az antiproliferatív kemoterápia a gliómák invaziósi potenciáljára számottevő hatással nem bír[100].

6.4. A Gr. 2 és Gr. 3 diffúz, infiltratív asztrocitómák csoportjai egymással átfedést mutatnak – a jelenlegi grádusmeghatározás önmagában nem biztosít teljeskörű prognosztikus információt

Az alacsonyabb grádusú gliomák relevanciája a korábbiakban részletezésre került. Ezen fogalom megalkotásával kívánták egy platformra hozni azon korábban külön besorolásba eső (Gr. 2 és Gr. 3) daganatokat, melyek habár hiszto-morfológiailag különbözőek, de biológiai és klinikai viselkedés szempontjából összetartozó entitásoknak tekinthetők, ezáltal a kezelési stratégiájuk együttesen határozandó meg [101]. A különböző grádusú daganatok összehasonlítását célzó vizsgálati csoportjaink ezen elv mentén kerültek meghatározásra. Megjegyzendő, hogy a két vizsgálati csoport egyértelmű homogenitása az inváziós spektrum alapján nem igazolható, azonban kiemelendő, hogy az egyedi molekuláris összehasonlításban, az egyedi szignifikancia szintjét a mitotikus aktivitást jelző MKI67 molekulán túl leginkább a markáns invazív potenciált jelző, valamint grádusértékekkel összefüggésbe hozható expressziós szint emelkedést mutató CSPG-5, valamint integrin α -3 molekulák mutattak. Vizsgálatunkban ezen molekulák a magasabb grádusú minták esetében mutattak magasabb expressziós értékeket. Egyebiránt, számottevő egyedi különbség nem igazolható az általunk végzett összehasonlításokban.

6.5. Az inváziós spektrum hatékony prognosztikus marker glioblasztomás betegek esetében

Megállapításra került, hogy az extracelluláris mátrix komponensei glioblasztoma esetében is, transzkripciós és transzlációs szinten is eltérő expressziót mutatnak. Az FLT4, MDM2 és MMP-2 gének mRNS-expressziója szignifikánsan különbözött a két csoport között, továbbá az MDM2 esetében fehérje expressziós szinten is szignifikáns különbség volt igazolható. Az FLT4 és az MMP-2 esetében pedig elmondható, hogy a statisztikai osztályozó által kulcsmolekulaként kerültek kiválasztásra a különböző prognosztikai csoportok elkülönítésében.

A legközelebbi szomszéd módszer elvén alapuló statisztikai osztályozó algoritmus képes volt az inváziós spektrum alapján azonosítani az egyes minták prognosztikai csoportjait. A módszer nagy pontossággal meghatározta, hogy a beteg a rosszabb vagy a jobb prognózisú csoportba tartozik-e. Klinikai szempontból ez kiemelt jelentőségű, hiszen ezáltal gyakorlatilag a szövettani meghatározással egyidejűleg van mód az egyéni beteg túlélésére vonatkozó információt nyerni. A rosszabb prognózisú betegek esetében mutatott magasabb pozitív prediktív érték segít azon betegek azonosításában, akik kezelését intenzívebbé szükséges tenni a rendelkezésünkre álló módszerek mellett. Eredményeink továbbá kiegészítő információt biztosítanak a glioblasztomák molekuláris összetételéről is, így a jövőben lehetővé válhat a megfelelő anti-invazív terápiás szer kiválasztása.

6.6. Az infiltrációban kiemelt jelentőségű, terápia target molekulaként szerepeltethető ECM molekulák és azok jellemzői

Az invazivitás kérdéskörének vizsgálata, valamint az egyes ECM molekulák vonatkozásában elérhető információk a legtöbb esetben a glioblasztomára vonatkoztathatóan elérhetőek[102,103]. Eredményeink révén az egyes karakterisztikus molekulákról rendelkezésünkre álló információmennyiséget kívántuk bővíteni az alacsonyabb grádusú gliomák kérdéskörén belül, esetleges terápiai targetként való felhasználásuk megjelölésével együttesen.

Az alábbiakban a vizsgált csoportokban konzekvensen releváns molekulaként megjelölt ECM molekulák szerepét kívánjuk kifejteni:

Az integrin molekulacsalád szerepe a peritumorális invázióban régóta a tudományos érdeklődés középpontjában áll. Az integrinek heterodimer szerkezetű, a glikoproteinek családjába tartozó, sejtfelszíni transzmembrán receptorok, melyek alpha-, valamint béta-alegységekből épülnek fel, mely alegységek a receptor ligand iránti specificitását is meghatározzák. Ligandok alapján történő csoportosítás szerint megkülönböztethetőek kollagén-, laminin-, RGD [arginin-glicin-aszpartát) aminosav szekvencia segítségével demerizációra képes integrinek, valamint leukocita receptorok. Intrinzik aktivitással nem rendelkeznek, fokális adhézis kinázok (FAK) segítségével képesek a downstream jelátviteli útvonalak aktiválására. [104] Az invázió részjelensége a tumorsejt, valamint a tumor mikrokörnyezet, és az ECM strómális állománya közötti interakció, melyet az integrin molekulák több vonatkozásban is segítenek. Jelátviteli útvonalak aktiválása révén angiogenetikus, valamint proliferatív jeleket is közvetítenek, valamint kihorgonyzást biztosító, fizikális tényezőként is szolgálnak[78].

A béta-1 alegység a nyolc béta alegység közül az egyik legfontosabbnak tekinthető, több alpha-alegységgel képes heterodimer formációt kialakítani a perivaszkuláris térben. Ezen alegység ellen használt neutralizáló antitest in vitro kísérletek alapján önmagában is képes az inváziós potenciál

csökkenését előidézni, azonban, a klinikai gyakorlatban használt érújdonképződés gátló kezelés (bevacizumab) hatását is potenciózni képes [105–108]. Vizsgálatunk egyértelműen megerősítette ezen molekula prognosztikus szerepét, az eredményeink alapján a rosszabb prognosztikus csoport azonosítását segítette elsősorban.

Az integrin αV a RGD-szekvencia felismerésével dimerizációra képes integrin alegységnek tekinthető. Ligandjai közé tartozik többek között a fibronectin, fibrinogén, valamint tenascin. Az αV alegység szerepe elsősorban magas grádusú gliális folyamatokban került részletezésre [109]. Szerepét mutatja, hogy cilengitid néven az $\alpha\beta 3$ és $\alpha\beta 5$ alegységek elleni specifikus neutralizáló antitest több vizsgálat tárgyát is képezte. Az eddigi eredmények alapján a mindennapi gyakorlatba nem került be, azonban továbbra is kifejezett tudományos érdeklődésre tart számot ezen alegység neutralizálása [83, 110–112]. Jelen vizsgálatunkban az αV alegység szerepe mindhárom vizsgálati csoportban jelentős hozzájáruló tényező volt a csoportok közötti elkülönítésben. Eredményeink az alacsonyabb grádusú gliomák esetében az integrin αV peritumorális infiltrációt befolyásoló jelentős szerepét erősítették meg, ígéretes prognosztikus, valamint anti-invazív molekuláris targetnek is tekinthető ezen, a molekula szempontjából kevésbé vizsgált betegcsoport vonatkozásában is [113].

Az integrin családból kiemelendő továbbá az integrin $\alpha 3$ (ITGA3) molekula, melynek invázióban betöltött szerepét igazolja, hogy fokozott expressziója glioma őssejt típusú sejtek esetében (glioma stem-like cell [GSC]) került azonosításra. Az glioblasztoma sejtvonalakon végzett tanulmány alapján ITGA3 pozitív sejtek a vérerek körüli őssejt nichének tekintett területen mutattak fokozott megjelenést, továbbá az infiltratív sejtek esetében is felülreprezentált volt jelenlétük, valamint Az ITGA3 expressziója korrelációt mutatott a sejtek inváziós potenciáljával is [114].

A gliális eredetű daganatok vonatkozásában a glükózaminoglikánok csoportjába tartozó hialuronsav szerepe az invázió folyamatában jelentős. Neoplasztikus esetekben mennyisége a

normál agyi ECM állományhoz képest fokozott, valamint expressziója a grádus értékkel is arányosságot mutat [115]. A hialuronsav kötése a HMMR (CD 168), valamint a CD 44 molekulák képesek. Az elérhető vizsgálatok döntő többsége szintén a magasabb grádusú gliális folyamatok esetében történt, azonban grádustól független jelentős esetszámot magában foglaló adatbázisok (the Cancer Genome Atlas – TCGA) értékelésével véghez vitt vizsgálatok a CD 168 és CD44 prognosztikus szerepét erősítették meg [116–118]. Saját eredményeink megerősítették ezen molekulák kiemelt szerepét az infiltratív folyamatokban az alacsonyabb grádusú gliális folyamatok esetében is.

Eredményeink alapján említésre okot adó, a peritumorális infiltráció szempontjából kiemelt jelentőségű molekula az FLT4, az MDM2, valamint az MMP2.

Az FLT4 a „C” és „D” típusú vaszkuláris endoteliális növekedési faktor (VEGF) receptora. Normálisan nem expresszálódik az emberi agy endotéliumában, viszont kimutatták, hogy a glioblasztomában található vérerek endotéliumában expresszálódik. Ez többek között hozzájárulhat a bevacizumabbal kezelt betegek escape jelenségéhez, amely egy másodlagos neovaszkularizációt jelent az antiangiogén bevacizumab-terápia ellenére [119]. Az MDM2 a p53 fehérje gátlója. A megnövekedett MDM2-szint az egyik lehetséges mechanizmusnak tekinthető a p53 kapuőrfunkciójának megkerülésére, *TP53* vad típusú glioblasztomákban. Ezen túlmenően, az MDM2 p53-független szerepekkel is rendelkezik. Az MDM2 genomikus instabilitást idéz elő, valószínűleg a DNS-károsodás javításának gátlásán és a sejtciklus leállításának elnyomásán keresztül. Emellett bizonyítottan elősegíti az EMT folyamatát, ezáltal fokozza a sejtek mozgékonyágát és a tumor invazivitását [120,121]. Az MMP-2 jól ismert szerepet játszik a tumor ECM dinamikus átalakításában, valamint egyéb onkogén funkciókban, amelyek elősegítik a glioma sejtek agyi parenchymába való invázióját[122–125].

7. Összefoglalás

Az asztrocitaer daganatok a központi idegrendszer malignus daganatainak leggyakoribb képviselői. Kuratív kezelésük sem a komplett sebészi eltávolítást nehezítő peritumorális infiltráció miatt, sem a jelenleg több szempontól csak korlátozott effektivitású sugár-, és kemoterápiás kezelés miatt nem kivitelezhető. Az újabban elérhető molekuláris genetikai alapon történő diagnosztika prognosztikus, valamint prediktív előnyöket szolgáltat a neuro-onkológusok számára, azonban továbbra is nehezen meghatározhatóak az egyes, eltérő ellátási protokollba tartozó rizikócsoportok.

Munkacsoportunk a fenti problémaköröket összekapcsolva a peritumorális infiltráció jelenségében szerepet játszó ECM molekulák expressziós mintázatának értékelésével kívánta a rizikócsoportok azonosítását segíteni, oly módon, hogy az eltérő agresszivitású, prognózisú, valamint megelőző terápiás ellátási protokollban részesült asztrocitaer daganatcsoportok ezirányú molekuláris összetételét vizsgáltuk.

Eredményeink alapján elmondható, hogy adott ECM molekulák expressziós értékeinek figyelembevételével a glioblasztoma, valamint a Gr. 2 diffúz, infiltratív asztocitómák csoportján belül a prognosztikus alcsoportok elkülönítése jó hatásfokú. Megállapítható továbbá, hogy az alacsonyabb grádusú gliomák csoportján belül a jelenleg alkalmazott grádusmeghatározás nem kellően reprezentálja a Gr. 2 és Gr. 3 asztrocitaer daganatok közötti különbséget, továbbá, hogy a jelenleg alkalmazott kezelési protokoll számottevő anti – invazív potenciállal nem rendelkezik.

8. Summary

Astrocytic tumors are the most common malignant tumors of the central nervous system. Their curative treatment is not feasible due to peritumoral infiltration, which complicates complete surgical removal, as well as the currently available radiation and chemotherapy treatments, which have only limited effectiveness from multiple perspectives. The recently available molecular genetic-based diagnostics provide prognostic and predictive advantages for neuro-oncologists; however, the identification of risk groups within different treatment protocols remains challenging.

Our research group aimed to identify risk groups by linking the aforementioned issues and evaluating the expression patterns of ECM molecules involved in the phenomenon of peritumoral infiltration. To achieve this, we analyzed the molecular composition related to this process in astrocytic tumor groups with different levels of aggressiveness, prognosis, and prior therapeutic protocols.

Based on our results, it can be stated that considering the expression values of specific ECM molecules allows for an efficient distinction of prognostic subgroups within glioblastoma and Grade 2 diffuse, infiltrative astrocytomas. Furthermore, it has been determined that the currently applied grading system does not sufficiently represent the differences between Grade 2 and Grade 3 astrocytic tumors within lower-grade gliomas. Additionally, our findings suggest that the currently applied treatment protocols do not possess significant anti-invasive potential.

9. Új tudományos eredmények

1. A Gr. 2 asztrocitomák eltérő prognózissal rendelkező alcsoportjai az extracelluláris mátrix molekulák inváziós spektruma alapján elkülöníthetők. Az inváziós spektrum értékelése a gráduson belüli rizikócsoportok azonosítását segíti.
2. A diffúz, infiltratív gliomák esetében alkalmazott kezelési stratégia az extracelluláris mátrix molekulák expressziójára érdemi hatást nem gyakorol, a kezelés korlátozott anti – invazív potenciállal bír.
3. A Gr.2 és Gr. 3 diffúz infiltratív csoportjai egymással átfedést mutatnak. A jelenleg alkalmazott grádusmeghatározás önmagában nem biztosít teljeskörű prognosztikus információt, az alacsonyabb grádusú glioma fogalm napi gyakorlatba való vezetése javasolt.
4. Az inváziós spektrum hatékony prognosztikus marker glioblasztomás betegek esetében, alkalmazása a hosszabb túlélési mutatókkal rendelkező glioblasztoma alcsoport kisselektálását segítheti.
5. Az inváziós panelbe tartozó extracelluláris mátrix molekulák -a magasabb grádusú gliomákon túl-, az alacsonyabb grádusú gliomák esetében is kulcsfontosságú szerepet játszanak a peritumorális infiltráció folyamatában (pl. integrin $\alpha3, \alphaV, \beta1$, MMP2).

10. Novel scientific findings

1. Grade 2 astrocytomas can be stratified into subgroups with distinct prognoses based on the invasion spectrum of extracellular matrix molecules. Evaluating this invasion spectrum aids in identifying risk groups within the same histological grade.
2. Treatment strategies currently employed for diffuse, infiltrative gliomas exert minimal influence on the expression of ECM molecules, indicating a limited anti-invasive potential of these therapies.
3. Grade 2 and Grade 3 diffuse infiltrative gliomas exhibit overlapping characteristics. The existing grading system alone does not provide comprehensive prognostic information, suggesting that incorporating the concept of lower-grade glioma into routine clinical practice could enhance prognostic accuracy.
4. The invasion spectrum serves as an effective prognostic marker in glioblastoma patients, facilitating the identification of subgroups with longer survival outcomes.
5. Extracellular matrix molecules belonging to the invasion panel play a crucial role in the process of peritumoral infiltration not only in higher-grade gliomas but also in lower-grade gliomas (e.g., integrin $\alpha 3$, αV , $\beta 1$, MMP2).

11. Irodalomjegyzék

1. Verkhratsky, A.; Ho, M.S.; Zorec, R.; Parpura, V. The Concept of Neuroglia. *Adv. Exp. Med. Biol.* **2019**, *1175*, 1–13, doi:10.1007/978-981-13-9913-8_1.
2. Adamson, C.; Kanu, O.O.; Mehta, A.I.; Di, C.; Lin, N.; Mattox, A.K.; Bigner, D.D. Glioblastoma Multiforme: A Review of Where We Have Been and Where We Are Going. *Expert Opin. Investig. Drugs* **2009**, *18*, 1061–1083, doi:10.1517/13543780903052764.
3. Müller, J. Über Den Feinern Bau Und Die Formen Der Krankhaften Geschwülste. (No Title) **1838**.
4. Bailey, P.; Cushing, H. *A Classification of the Tumors of the Glioma Group on a Histogenetic Basis with a Correlated Study of Prognosis*; JB Lippincott Company, 1926; ISBN 0598475036.
5. KERNOHAN, J.W.; MABON, R.F. A Simplified Classification of the Gliomas. *Proc. Staff Meet. Mayo Clin.* **1949**, *24*, 71–75.
6. Daumas-Duport, C.; Scheithauer, B.; O’Fallon, J.; Kelly, P. Grading of Astrocytomas: A Simple and Reproducible Method. *Cancer* **1988**, doi:10.1002/1097-0142(19881115)62:10<2152::AID-CNCR2820621015>3.0.CO;2-T.
7. Daumas-Duport, C.; Varlet, P. [Dysembryoplastic neuroepithelial tumors]. *Rev. Neurol. (Paris)*. **2003**, *159*, 622–636.
8. Louis, D.N. The next Step in Brain Tumor Classification: “Let Us Now Praise Famous Men”... or Molecules? *Acta Neuropathol.* **2012**, *124*, 761–762.
9. Louis, D.N.; Ohgaki, H.; Wiestler, O.D.; Cavenee, W.K.; Burger, P.C.; Jouvett, A.; Scheithauer, B.W.; Kleihues, P. The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. *Acta Neuropathol.* **2007**, *114*, 97–109, doi:10.1007/s00401-007-0243-4.
10. Louis, D.N.; Perry, A.; Burger, P.; Ellison, D.W.; Reifenberger, G.; von Deimling, A.; Aldape, K.; Brat, D.; Collins, V.P.; Eberhart, C.; et al. International Society Of Neuropathology--Haarlem Consensus Guidelines for Nervous System Tumor Classification and Grading. *Brain Pathol.* **2014**, *24*, 429–435, doi:10.1111/bpa.12171.
11. Olar, A.; Wani, K.M.; Alfaro-Munoz, K.D.; Heathcock, L.E.; van Thuijl, H.F.; Gilbert, M.R.; Armstrong, T.S.; Sulman, E.P.; Cahill, D.P.; Vera-Bolanos, E.; et al. IDH Mutation Status and Role of WHO Grade and Mitotic Index in Overall Survival in Grade II–III Diffuse Gliomas. *Acta Neuropathol.* **2015**, doi:10.1007/s00401-015-1398-z.
12. Schiff, D.; Van den Bent, M.; Vogelbaum, M.A.; Wick, W.; Miller, C.R.; Taphoorn, M.; Pope, W.; Brown, P.D.; Platten, M.; Jalali, R.; et al. Recent Developments and Future Directions in Adult Lower-Grade Gliomas: Society for Neuro-Oncology (SNO) and European

- Association of Neuro-Oncology (EANO) Consensus. *Neuro. Oncol.* **2019**, doi:10.1093/neuonc/noz033.
13. Reuss, D.E.; Mamatjan, Y.; Schrimpf, D.; Capper, D.; Hovestadt, V.; Kratz, A.; Sahm, F.; Koelsche, C.; Korshunov, A.; Olar, A.; et al. IDH Mutant Diffuse and Anaplastic Astrocytomas Have Similar Age at Presentation and Little Difference in Survival: A Grading Problem for WHO. *Acta Neuropathol.* **2015**, doi:10.1007/s00401-015-1438-8.
 14. Picca, A.; Berzero, G.; Sanson, M. Current Therapeutic Approaches to Diffuse Grade II and III Gliomas. *Ther. Adv. Neurol. Disord.* **2018**, *11*, 1756285617752039–1756285617752039, doi:10.1177/1756285617752039.
 15. Le Rhun, E.; Taillibert, S.; Chamberlain, M.C. Current Management of Adult Diffuse Infiltrative Low Grade Gliomas. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 2016.
 16. Louis, D.N.; Perry, A.; Reifenberger, G.; von Deimling, A.; Figarella-Branger, D.; Cavenee, W.K.; Ohgaki, H.; Wiestler, O.D.; Kleihues, P.; Ellison, D.W. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: A Summary. *Acta Neuropathol.* 2016, *131*, 803–820.
 17. Louis, D.N.; Wesseling, P.; Paulus, W.; Giannini, C.; Batchelor, T.T.; Cairncross, J.G.; Capper, D.; Figarella-Branger, D.; Lopes, M.B.; Wick, W.; et al. CIMPACT-NOW Update 1: Not Otherwise Specified (NOS) and Not Elsewhere Classified (NEC). *Acta Neuropathol.* 2018, *135*, 481–484.
 18. Louis, D.N.; Giannini, C.; Capper, D.; Paulus, W.; Figarella-Branger, D.; Lopes, M.B.; Batchelor, T.T.; Cairncross, J.G.; van den Bent, M.; Wick, W.; et al. CIMPACT-NOW Update 2: Diagnostic Clarifications for Diffuse Midline Glioma, H3 K27M-Mutant and Diffuse Astrocytoma/Anaplastic Astrocytoma, IDH-Mutant. *Acta Neuropathol.* **2018**, doi:10.1007/s00401-018-1826-y.
 19. Brat, D.J.; Aldape, K.; Colman, H.; Holland, E.C.; Louis, D.N.; Jenkins, R.B.; Kleinschmidt-DeMasters, B.K.; Perry, A.; Reifenberger, G.; Stupp, R.; et al. CIMPACT-NOW Update 3: Recommended Diagnostic Criteria for “Diffuse Astrocytic Glioma, IDH-Wildtype, with Molecular Features of Glioblastoma, WHO Grade IV”. *Acta Neuropathol.* 2018, *136*, 805–810.
 20. Louis, D.N.; Perry, A.; Wesseling, P.; Brat, D.J.; Cree, I.A.; Figarella-Branger, D.; Hawkins, C.; Ng, H.K.; Pfister, S.M.; Reifenberger, G.; et al. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: A Summary. *Neuro. Oncol.* **2021**, *23*, 1231–1251, doi:10.1093/neuonc/noab106.
 21. Ostrom, Q.T.; Price, M.; Neff, C.; Cioffi, G.; Waite, K.A.; Kruchko, C.; Barnholtz-Sloan, J.S. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors

- Diagnosed in the United States in 2016-2020. *Neuro. Oncol.* **2023**, *25*, iv1–iv99, doi:10.1093/neuonc/noad149.
22. Bray, F.; Ferlay, J.; Soerjomataram, I.; Siegel, R.L.; Torre, L.A.; Jemal, A. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA. Cancer J. Clin.* **2018**, doi:10.3322/caac.21492.
 23. Leece, R.; Xu, J.; Ostrom, Q.T.; Chen, Y.; Kruchko, C.; Barnholtz-Sloan, J.S. Global Incidence of Malignant Brain and Other Central Nervous System Tumors by Histology, 2003-2007. *Neuro. Oncol.* **2017**, *19*, 1553–1564, doi:10.1093/neuonc/nox091.
 24. Wrensch, M.; Lee, M.; Miike, R.; Newman, B.; Barger, G.; Davis, R.; Wiencke, J.; Neuhaus, J. Familial and Personal Medical History of Cancer and Nervous System Conditions among Adults with Glioma and Controls. *Am. J. Epidemiol.* **1997**, *145*, 581–593, doi:10.1093/oxfordjournals.aje.a009154.
 25. Sadetzki, S.; Chetrit, A.; Freedman, L.; Stovall, M.; Modan, B.; Novikov, I. Long-Term Follow-up for Brain Tumor Development after Childhood Exposure to Ionizing Radiation for Tinea Capitis. *Radiat. Res.* **2005**, *163*, 424–432, doi:10.1667/rr3329.
 26. Pearce, M.S.; Salotti, J.A.; Little, M.P.; McHugh, K.; Lee, C.; Kim, K.P.; Howe, N.L.; Ronckers, C.M.; Rajaraman, P.; Sir Craft, A.W.; et al. Radiation Exposure from CT Scans in Childhood and Subsequent Risk of Leukaemia and Brain Tumours: A Retrospective Cohort Study. *Lancet (London, England)* **2012**, *380*, 499–505, doi:10.1016/S0140-6736(12)60815-0.
 27. Deltour, I.; Poulsen, A.H.; Johansen, C.; Feychting, M.; Johannesen, T.B.; Auvinen, A.; Schüz, J. Time Trends in Mobile Phone Use and Glioma Incidence among Males in the Nordic Countries, 1979-2016. *Environ. Int.* **2022**, *168*, 107487, doi:10.1016/j.envint.2022.107487.
 28. Amirian, E.S.; Zhou, R.; Wrensch, M.R.; Olson, S.H.; Scheurer, M.E.; Il'yasova, D.; Lachance, D.; Armstrong, G.N.; McCoy, L.S.; Lau, C.C.; et al. Approaching a Scientific Consensus on the Association between Allergies and Glioma Risk: A Report from the Glioma International Case-Control Study. *Cancer Epidemiol. biomarkers Prev. a Publ. Am. Assoc. Cancer Res. cosponsored by Am. Soc. Prev. Oncol.* **2016**, *25*, 282–290, doi:10.1158/1055-9965.EPI-15-0847.
 29. Cini, N.T.; Pennisi, M.; Genc, S.; Spandidos, D.A.; Falzone, L.; Mitsias, P.D.; Tsatsakis, A.; Taghizadehghalehjoughi, A. Glioma Lateralization: Focus on the Anatomical Localization and the Distribution of Molecular Alterations (Review). *Oncol. Rep.* **2024**, *52*, doi:10.3892/or.2024.8798.
 30. Urbańska, K.; Sokółowska, J.; Szmids, M.; Sysa, P. Glioblastoma Multiforme - an

- Overview. *Contemp. Oncol. (Poznań, Poland)* **2014**, *18*, 307–312, doi:10.5114/wo.2014.40559.
31. Gilard, V.; Tebani, A.; Dabaj, I.; Laquerrière, A.; Fontanilles, M.; Derrey, S.; Marret, S.; Bekri, S. Diagnosis and Management of Glioblastoma: A Comprehensive Perspective. *J. Pers. Med.* **2021**, *11*, doi:10.3390/jpm11040258.
 32. Verburg, N.; de Witt Hamer, P.C. State-of-the-Art Imaging for Glioma Surgery. *Neurosurg. Rev.* **2021**, *44*, 1331–1343, doi:10.1007/s10143-020-01337-9.
 33. Karschnia, P.; Young, J.S.; Dono, A.; Häni, L.; Sciortino, T.; Bruno, F.; Juenger, S.T.; Teske, N.; Morshed, R.A.; Haddad, A.F.; et al. Prognostic Validation of a New Classification System for Extent of Resection in Glioblastoma: A Report of the RANO Resect Group. *Neuro. Oncol.* **2023**, *25*, 940–954, doi:10.1093/neuonc/noac193.
 34. Hervey-Jumper, S.L.; Berger, M.S. Maximizing Safe Resection of Low- and High-Grade Glioma. *J. Neurooncol.* 2016.
 35. Brown, T.J.; Brennan, M.C.; Li, M.; Church, E.W.; Brandmeir, N.J.; Rakszawski, K.L.; Patel, A.S.; Rizk, E.B.; Suki, D.; Sawaya, R.; et al. Association of the Extent of Resection With Survival in Glioblastoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *JAMA Oncol.* **2016**, *2*, 1460–1469, doi:10.1001/jamaoncol.2016.1373.
 36. Kis, D.; Szivos, L.; Rekecki, M.; Shukir, B.S.; Mate, A.; Hideghety, K.; Barzo, P. Predicting the True Extent of Glioblastoma Based on Probabilistic Tractography. *Front. Neurosci.* **2022**, *16*, 886465, doi:10.3389/fnins.2022.886465.
 37. Mellinghoff, I.K.; van den Bent, M.J.; Blumenthal, D.T.; Touat, M.; Peters, K.B.; Clarke, J.; Mendez, J.; Yust-Katz, S.; Welsh, L.; Mason, W.P.; et al. Vorasidenib in IDH1- or IDH2-Mutant Low-Grade Glioma. *N. Engl. J. Med.* **2023**, *389*, 589–601, doi:10.1056/NEJMoa2304194.
 38. Szivos, L.; Virga, J.; Klekner, Á.; Árkosy, P. [The role of low grade glioma prognostic factors in therapeutic choices - summary of international literature and recommendations with conclusions]. *Magy. Onkol.* **2021**, *65*, 59–70.
 39. Parsons, D.W.; Jones, S.; Zhang, X.; Lin, J.C.H.; Leary, R.J.; Angenendt, P.; Mankoo, P.; Carter, H.; Siu, I.M.; Gallia, G.L.; et al. An Integrated Genomic Analysis of Human Glioblastoma Multiforme. *Science (80-)*. **2008**, doi:10.1126/science.1164382.
 40. Hartmann, C.; Meyer, J.; Balss, J.; Capper, D.; Mueller, W.; Christians, A.; Felsberg, J.; Wolter, M.; Mawrin, C.; Wick, W.; et al. Type and Frequency of IDH1 and IDH2 Mutations Are Related to Astrocytic and Oligodendroglial Differentiation and Age: A Study of 1,010 Diffuse Gliomas. *Acta Neuropathol.* **2009**, doi:10.1007/s00401-009-0561-9.
 41. Dang, L.; Jin, S.; Su, S.M. IDH Mutations in Glioma and Acute Myeloid Leukemia. *Trends*

- Mol. Med.* 2010.
42. Malta, T.M.; De Souza, C.F.; Sabedot, T.S.; Silva, T.C.; Mosella, M.S.; Kalkanis, S.N.; Snyder, J.; Castro, A.V.B.; Noushmehr, H. Glioma CpG Island Methylator Phenotype (G-CIMP): Biological and Clinical Implications. *Neuro. Oncol.* **2018**, doi:10.1093/neuonc/nox183.
 43. Ceccarelli, M.; Barthel, F.P.; Malta, T.M.; Sabedot, T.S.; Salama, S.R.; Murray, B.A.; Morozova, O.; Newton, Y.; Radenbaugh, A.; Pagnotta, S.M.; et al. Molecular Profiling Reveals Biologically Discrete Subsets and Pathways of Progression in Diffuse Glioma. *Cell* **2016**, doi:10.1016/j.cell.2015.12.028.
 44. Aquilanti, E.; Miller, J.; Santagata, S.; Cahill, D.P.; Brastianos, P.K. Updates in Prognostic Markers for Gliomas. *Neuro. Oncol.* **2018**, doi:10.1093/neuonc/noy158.
 45. Turcan, S.; Rohle, D.; Goenka, A.; Walsh, L.A.; Fang, F.; Yilmaz, E.; Campos, C.; Fabius, A.W.M.; Lu, C.; Ward, P.S.; et al. IDH1 Mutation Is Sufficient to Establish the Glioma Hypermethylator Phenotype. *Nature* **2012**, doi:10.1038/nature10866.
 46. Wong, L.H.; McGhie, J.D.; Sim, M.; Anderson, M.A.; Ahn, S.; Hannan, R.D.; George, A.J.; Morgan, K.A.; Mann, J.R.; Choo, K.H.A. ATRX Interacts with H3.3 in Maintaining Telomere Structural Integrity in Pluripotent Embryonic Stem Cells. *Genome Res.* **2010**, doi:10.1101/gr.101477.109.
 47. Kannan, K.; Inagaki, A.; Silber, J.; Gorovets, D.; Zhang, J.; Kasthuber, E.R.; Heguy, A.; Petrini, J.H.; Chan, T.A.; Huse, J.T. Whole-Exome Sequencing Identifies ATRX Mutation as a Key Molecular Determinant in Lower-Grade Glioma. *Oncotarget* **2012**, doi:10.18632/oncotarget.689.
 48. Min, J.; Wright, W.E.; Shay, J.W. Alternative Lengthening of Telomeres Can Be Maintained by Preferential Elongation of Lagging Strands. *Nucleic Acids Res.* **2017**, doi:10.1093/nar/gkw1295.
 49. Cai, J.; Zhu, P.; Zhang, C.; Li, Q.; Wang, Z.; Li, G.; Wang, G.; Yang, P.; Li, J.; Han, B.; et al. Detection of ATRX and IDH1-R132H Immunohistochemistry in the Progression of 211 Paired Gliomas. *Oncotarget* **2016**, doi:10.18632/oncotarget.7650.
 50. Velázquez Vega, J.E.; Brat, D.J. Incorporating Advances in Molecular Pathology into Brain Tumor Diagnostics. *Adv. Anat. Pathol.* 2018.
 51. Jenkins, R.B.; Blair, H.; Ballman, K. V; Giannini, C.; Arusell, R.M.; Law, M.E.; Flynn, H.; Passe, S.; Felten, S.; Brown, P.D.; et al. A t(1;19)(Q10;P10) Mediates the Combined Deletions of 1p and 19q and Predicts a Better Prognosis of Patients with Oligodendroglioma. *Cancer Res.* **2006**, doi:66/20/9852 [pii]r10.1158/0008-5472.CAN-06-1796.

52. Reifenberger, J.; Reifenberger, G.; Liu, L.; James, C.D.; Wechsler, W.; Collins, V.P. Molecular Genetic Analysis of Oligodendroglial Tumors Shows Preferential Allelic Deletions on 19q and 1p. *Am. J. Pathol.* **1994**.
53. Fallon, K.B.; Palmer, C.A.; Roth, K.A.; Nabors, L.B.; Wang, W.; Carpenter, M.; Banerjee, R.; Forsyth, P.; Rich, K.; Perry, A. Prognostic Value of 1p, 19q, 9p, 10q, and EGFR-FISH Analyses in Recurrent Oligodendrogliomas. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **2004**, doi:10.1093/jnen/63.4.314.
54. Bower, M.; Waxman, J. NCCN Guidelines, Central Nervous System Cancers. *Natl. Compr. Cancer Netw.* **2018**.
55. Meyronet, D.; Esteban-Mader, M.; Bonnet, C.; Joly, M.O.; Uro-Coste, E.; Amiel-Benouaich, A.; Forest, F.; Rousselot-Denis, C.; Burel-Vandenbos, F.; Bourg, V.; et al. Characteristics of H3 K27M-Mutant Gliomas in Adults. *Neuro. Oncol.* **2017**, doi:10.1093/neuonc/now274.
56. López, G.; Oberheim Bush, N.A.; Berger, M.S.; Perry, A.; Solomon, D.A. Diffuse Non-Midline Glioma with H3F3A K27M Mutation: A Prognostic and Treatment Dilemma. *Acta Neuropathol. Commun.* **2017**, doi:10.1186/s40478-017-0440-x.
57. Feng, J.; Hao, S.; Pan, C.; Wang, Y.; Wu, Z.; Zhang, J.; Yan, H.; Zhang, L.; Wan, H. The H3.3 K27M Mutation Results in a Poorer Prognosis in Brainstem Gliomas than Thalamic Gliomas in Adults. *Hum. Pathol.* **2015**, doi:10.1016/j.humpath.2015.07.002.
58. Lee, J.; Solomon, D.A.; Tihan, T. The Role of Histone Modifications and Telomere Alterations in the Pathogenesis of Diffuse Gliomas in Adults and Children. *J. Neurooncol.* **2017**.
59. Tanboon, J.; Williams, E.A.; Louis, D.N. The Diagnostic Use of Immunohistochemical Surrogates for Signature Molecular Genetic Alterations in Gliomas. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **2016**.
60. Hegi, M.E.; Diserens, A.-C.; Gorlia, T.; Hamou, M.-F.; de Tribolet, N.; Weller, M.; Kros, J.M.; Hainfellner, J.A.; Mason, W.; Mariani, L.; et al. *MGMT* Gene Silencing and Benefit from Temozolomide in Glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* **2005**, *352*, 997–1003, doi:10.1056/NEJMoa043331.
61. Esteller, M.; Garcia-Foncillas, J.; Andion, E.; Goodman, S.N.; Hidalgo, O.F.; Vanaclocha, V.; Baylin, S.B.; Herman, J.G. Inactivation of the DNA-Repair Gene *MGMT* and the Clinical Response of Gliomas to Alkylating Agents. *N. Engl. J. Med.* **2000**, *343*, 1350–1354, doi:10.1056/NEJM200011093431901.
62. Baylin, S.B.; Herman, J.G. DNA Hypermethylation in Tumorigenesis: Epigenetics Joins Genetics. *Trends Genet.* **2000**.

63. Szivós, L.; Virga, J.; Hortobágyi, T.; Zahuczky, G.; Uray, I.; Jenei, A.; Bognár, L.; Árkosy, P.; Klekner, Á. [Prognostic significance of invasion in glioblastoma]. *Idegyogy. Sz.* **2020**, *73*, 317–325, doi:10.18071/isz.73.0317.
64. Sahm, F.; Brandner, S.; Bertero, L.; Capper, D.; French, P.J.; Figarella-Branger, D.; Giangaspero, F.; Haberler, C.; Hegi, M.E.; Kristensen, B.W.; et al. Molecular Diagnostic Tools for the World Health Organization (WHO) 2021 Classification of Gliomas, Glioneuronal and Neuronal Tumors; an EANO Guideline. *Neuro. Oncol.* **2023**, *25*, 1731–1749, doi:10.1093/neuonc/noad100.
65. Jakovljević, A.; Tucić, M.; Blažiková, M.; Korenić, A.; Missirlis, Y.; Stamenković, V.; Andjus, P. Structural and Functional Modulation of Perineuronal Nets: In Search of Important Players with Highlight on Tenascins. *Cells* **2021**, *10*, doi:10.3390/cells10061345.
66. Kjell, J.; Fischer-Sternjak, J.; Thompson, A.J.; Friess, C.; Sticco, M.J.; Salinas, F.; Cox, J.; Martinelli, D.C.; Ninkovic, J.; Franze, K.; et al. Defining the Adult Neural Stem Cell Niche Proteome Identifies Key Regulators of Adult Neurogenesis. *Cell Stem Cell* **2020**, *26*, 277–293.e8, doi:10.1016/j.stem.2020.01.002.
67. Bonneh-Barkay, D.; Wiley, C.A. Brain Extracellular Matrix in Neurodegeneration. *Brain Pathol.* **2009**, *19*, 573–585, doi:10.1111/j.1750-3639.2008.00195.x.
68. Klekner, A.; Virga, J.; Toth, J.; Hortobágyi, T.; Der, A.; Szemcsak, C.; Bognar, L. [The Role of Extracellular Matrix Components in the Invasion of Intracranial Malignancies]. *Magy. Onkol.* **2013**, *57*, 222–231, doi:MagyOnkol.2013.57.4.222.
69. Scherer, H.J. Structural Development in Gliomas. *Am. J. Cancer* **1938**, *34*, 333–351.
70. de Gooijer, M.C.; Guillén Navarro, M.; Bernards, R.; Wurdinger, T.; van Tellingen, O. An Experimenter’s Guide to Glioblastoma Invasion Pathways. *Trends Mol. Med.* **2018**, *24*, 763–780, doi:10.1016/j.molmed.2018.07.003.
71. Zhong, J.; Paul, A.; Kellie, S.J.; O’Neill, G.M. Mesenchymal Migration as a Therapeutic Target in Glioblastoma. *J. Oncol.* **2010**, *2010*, 430142, doi:10.1155/2010/430142.
72. Cha, J.; Kang, S.-G.; Kim, P. Strategies of Mesenchymal Invasion of Patient-Derived Brain Tumors: Microenvironmental Adaptation. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 24912, doi:10.1038/srep24912.
73. Iwadate, Y. Epithelial-Mesenchymal Transition in Glioblastoma Progression. *Oncol. Lett.* **2016**, *11*, 1615–1620.
74. Cuddapah, V.A.; Robel, S.; Watkins, S.; Sontheimer, H. A Neurocentric Perspective on Glioma Invasion. *Nat. Rev. Neurosci.* **2014**, *15*, 455–465, doi:10.1038/nrn3765.
75. Reinhard, J.; Brösicke, N.; Theocharidis, U.; Faissner, A. The Extracellular Matrix Niche Microenvironment of Neural and Cancer Stem Cells in the Brain. *Int. J. Biochem. Cell*

- Biol.* **2016**, *81*, 174–183, doi:10.1016/j.biocel.2016.05.002.
76. Demuth, T.; Berens, M.E. Molecular Mechanisms of Glioma Cell Migration and Invasion. *J. Neurooncol.* **2004**, *70*, 217–228, doi:10.1007/s11060-004-2751-6.
 77. Paulus, W.; Baur, I.; Schuppan, D.; Roggendorf, W. Characterization of Integrin Receptors in Normal and Neoplastic Human Brain. *Am J Pathol* **1993**.
 78. Goldbrunner, R.H.; Bernstein, J.J.; Tonn, J.C. Cell-Extracellular Matrix Interaction in Glioma Invasion. *Acta Neurochir. (Wien)*. 1999, *141*, 295–305.
 79. Onishi, M.; Ichikawa, T.; Kurozumi, K.; Date, I. Angiogenesis and Invasion in Glioma. *Brain Tumor Pathol.* **2011**, *28*, 13–24, doi:10.1007/s10014-010-0007-z.
 80. Yamaguchi, Y. Lecticans: Organizers of the Brain Extracellular Matrix. *Cell. Mol. Life Sci.* **2000**, *57*, 276–289, doi:10.1007/PL00000690.
 81. Mahesparan, R.; Read, T.-A.; Lund-Johansen, M.; Skaftnesmo, K.O.; Bjerkvig, R.; Engebraaten, O. Expression of Extracellular Matrix Components in a Highly Infiltrative in Vivo Glioma Model. *Acta Neuropathol.* **2003**, *105*, 49–57, doi:10.1007/s00401-002-0610-0.
 82. Paw, I.; Carpenter, R.C.; Watabe, K.; Debinski, W.; Lo, H.W. Mechanisms Regulating Glioma Invasion. *Cancer Lett.* 2015, *362*, 1–7.
 83. Chinot, O.L. Cilengitide in Glioblastoma: When Did It Fail? *Lancet. Oncol.* **2014**, *15*, 1044–1045, doi:10.1016/S1470-2045(14)70403-6.
 84. Sparano, J.A.; Bernardo, P.; Stephenson, P.; Gradishar, W.J.; Ingle, J.N.; Zucker, S.; Davidson, N.E. Randomized Phase III Trial of Marimastat versus Placebo in Patients with Metastatic Breast Cancer Who Have Responding or Stable Disease after First-Line Chemotherapy: Eastern Cooperative Oncology Group Trial E2196. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **2004**, *22*, 4683–4690, doi:10.1200/JCO.2004.08.054.
 85. Sjöstedt, E.; Zhong, W.; Fagerberg, L.; Karlsson, M.; Mitsios, N.; Adori, C.; Oksvold, P.; Edfors, F.; Limiszewska, A.; Hikmet, F.; et al. An Atlas of the Protein-Coding Genes in the Human, Pig, and Mouse Brain. *Science* **2020**, *367*, doi:10.1126/science.aay5947.
 86. Krex, D.; Klink, B.; Hartmann, C.; Von Deimling, A.; Pietsch, T.; Simon, M.; Sabel, M.; Steinbach, J.P.; Heese, O.; Reifenberger, G.; et al. Long-Term Survival with Glioblastoma Multiforme. *Brain* **2007**, *130*, 2596–2606, doi:10.1093/brain/awm204.
 87. Gerber, N.K.; Goenka, A.; Turcan, S.; Reingold, M.; Makarov, V.; Kannan, K.; Beal, K.; Omuro, A.; Yamada, Y.; Gutin, P.; et al. Transcriptional Diversity of Long-Term Glioblastoma Survivors. *Neuro. Oncol.* **2014**, *16*, 1186–1195, doi:10.1093/neuonc/nou043.
 88. Varga, I.; Hutóczy, G.; Petrás, M.; Scholtz, B.; Mikó, E.; Kenyeres, A.; Tóth, J.; Zahuczky,

- G.; Bognár, L.; Hanzély, Z.; et al. Expression of Invasion-Related Extracellular Matrix Molecules in Human Glioblastoma versus Intracerebral Lung Adenocarcinoma Metastasis. *Zentralbl. Neurochir.* **2010**, doi:10.1055/s-0030-1249698.
89. Petrás, M.; Hutóczki, G.; Varga, I.; Vereb, G.; Szöllősi, J.; Bognár, L.; Ruzsithi, P.; Kenyeres, A.; Tóth, J.; Hanzély, Z.; et al. Expression Pattern of Invasion-Related Molecules in Cerebral Tumors of Different Origin. *Magy. Onkológia* 2009, *53*, 253–258.
90. Livak, K.J.; Schmittgen, T.D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2^{(-Delta Delta C(T))} Method. *Methods* **2001**, doi:10.1006/meth.2001.1262.
91. Bondarenko, G.; Sorden, S.D.; Christian, B.J.; Webster, S.; Sharma, A.K. Semiquantitative Methods for GFP Immunohistochemistry and In Situ Hybridization to Evaluate AAV Transduction of Mouse Retinal Cells Following Subretinal Injection. *Toxicol. Pathol.* **2021**, *49*, 537–543, doi:10.1177/0192623320964804.
92. Wang, J.; Cazzato, E.; Ladewig, E.; Frattini, V.; Rosenbloom, D.I.S.; Zairis, S.; Abate, F.; Liu, Z.; Elliott, O.; Shin, Y.-J.; et al. Clonal Evolution of Glioblastoma under Therapy. *Nat. Genet.* **2016**, *48*, 768–776, doi:10.1038/ng.3590.
93. van den Bent, M.J.; Tesileanu, C.M.S.; Wick, W.; Sanson, M.; Brandes, A.A.; Clement, P.M.; Erridge, S.; Vogelbaum, M.A.; Nowak, A.K.; Baurain, J.F.; et al. Adjuvant and Concurrent Temozolomide for 1p/19q Non-Co-Deleted Anaplastic Glioma (CATNON; EORTC Study 26053-22054): Second Interim Analysis of a Randomised, Open-Label, Phase 3 Study. *Lancet. Oncol.* **2021**, *22*, 813–823, doi:10.1016/S1470-2045(21)00090-5.
94. Baumert, B.G.; Hegi, M.E.; van den Bent, M.J.; von Deimling, A.; Gorlia, T.; Hoang-Xuan, K.; Brandes, A.A.; Kantor, G.; Taphoorn, M.J.B.; Hassel, M. Ben; et al. Temozolomide Chemotherapy versus Radiotherapy in High-Risk Low-Grade Glioma (EORTC 22033-26033): A Randomised, Open-Label, Phase 3 Intergroup Study. *Lancet Oncol.* **2016**, doi:10.1016/S1470-2045(16)30313-8.
95. Wick, W.; Roth, P.; Hartmann, C.; Hau, P.; Nakamura, M.; Stockhammer, F.; Sabel, M.C.; Wick, A.; Koeppen, S.; Ketter, R.; et al. Long-Term Analysis of the NOA-04 Randomized Phase III Trial of Sequential Radiochemotherapy of Anaplastic Glioma with PCV or Temozolomide. *Neuro. Oncol.* **2016**, doi:10.1093/neuonc/now133.
96. Oberheim Bush, N.A.; Chang, S. Treatment Strategies for Low-Grade Glioma in Adults. *J. Oncol. Pract.* **2017**, doi:10.1200/jop.2016.018622.
97. Bell, E.H.; Zhang, P.; Shaw, E.G.; Buckner, J.C.; Barger, G.R.; Bullard, D.E.; Mehta, M.P.; Gilbert, M.R.; Brown, P.D.; Stelzer, K.J.; et al. Comprehensive Genomic Analysis in NRG Oncology/RTOG 9802: A Phase III Trial of Radiation Versus Radiation Plus Procarbazine,

- Lomustine (CCNU), and Vincristine in High-Risk Low-Grade Glioma. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **2020**, *38*, 3407–3417, doi:10.1200/JCO.19.02983.
98. Fisher, B.J.; Hu, C.; Macdonald, D.R.; Lesser, G.J.; Coons, S.W.; Brachman, D.G.; Ryu, S.; Werner-Wasik, M.; Bahary, J.P.; Liu, J.; et al. Phase 2 Study of Temozolomide-Based Chemoradiation Therapy for High-Risk Low-Grade Gliomas: Preliminary Results of Radiation Therapy Oncology Group 0424. In Proceedings of the International Journal of Radiation Oncology Biology Physics; 2015.
 99. Weller, M.; Le Rhun, E.; Van den Bent, M.; Chang, S.M.; Cloughesy, T.F.; Goldbrunner, R.; Hong, Y.-K.; Jalali, R.; Jenkinson, M.D.; Minniti, G.; et al. Diagnosis and Management of Complications from the Treatment of Primary Central Nervous System Tumors in Adults. *Neuro. Oncol.* **2023**, *25*, 1200–1224, doi:10.1093/neuonc/noad038.
 100. Sarkaria, J.N.; Kitange, G.J.; James, C.D.; Plummer, R.; Calvert, H.; Weller, M.; Wick, W. Mechanisms of Chemoresistance to Alkylating Agents in Malignant Glioma. *Clin. Cancer Res. an Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **2008**, *14*, 2900–2908, doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-1719.
 101. Gittleman, H.; Sloan, A.E.; Barnholtz-Sloan, J.S. An Independently Validated Survival Nomogram for Lower-Grade Glioma. *Neuro. Oncol.* **2020**, *22*, 665–674, doi:10.1093/neuonc/noz191.
 102. Mohiuddin, E.; Wakimoto, H. Extracellular Matrix in Glioblastoma: Opportunities for Emerging Therapeutic Approaches. *Am. J. Cancer Res.* **2021**, *11*, 3742–3754.
 103. So, J.-S.; Kim, H.; Han, K.-S. Mechanisms of Invasion in Glioblastoma: Extracellular Matrix, Ca(2+) Signaling, and Glutamate. *Front. Cell. Neurosci.* **2021**, *15*, 663092, doi:10.3389/fncel.2021.663092.
 104. Ellert-Miklaszewska, A.; Poleszak, K.; Pasierbinska, M.; Kaminska, B. Integrin Signaling in Glioma Pathogenesis: From Biology to Therapy. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, doi:10.3390/ijms21030888.
 105. Friedlander, D.R.; Zagzag, D.; Shiff, B.; Cohen, H.; Allen, J.C.; Kelly, P.J.; Grumet, M. Migration of Brain Tumor Cells on Extracellular Matrix Proteins in Vitro Correlates with Tumor Type and Grade and Involves AlphaV and Beta1 Integrins. *Cancer Res.* **1996**, *56*, 1939–1947.
 106. Min, W.; Zou, C.; Dai, D.; Zuo, Q.; Chen, C.; Xu, J.; Li, Y.; Yue, Z. Integrin Beta 1 Promotes Glioma Cell Proliferation by Negatively Regulating the Notch Pathway. *J. Oncol.* **2020**, *2020*, 8297017, doi:10.1155/2020/8297017.
 107. D’Abaco, G.M.; Kaye, A.H. Integrins: Molecular Determinants of Glioma Invasion. *J. Clin. Neurosci.* 2007.

108. Carbonell, W.S.; DeLay, M.; Jahangiri, A.; Park, C.C.; Aghi, M.K. B1 Integrin Targeting Potentiates Antiangiogenic Therapy and Inhibits the Growth of Bevacizumab-Resistant Glioblastoma. *Cancer Res.* **2013**, *73*, 3145–3154, doi:10.1158/0008-5472.CAN-13-0011.
109. Schittenhelm, J.; Schwab, E.I.; Sperveslage, J.; Tatagiba, M.; Meyermann, R.; Fend, F.; Goodman, S.L.; Sipos, B. Longitudinal Expression Analysis of Av Integrins in Human Gliomas Reveals Upregulation of Integrin Av β 3 as a Negative Prognostic Factor. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **2013**, *72*, 194–210, doi:10.1097/NEN.0b013e3182851019.
110. Nabors, L.B.; Mikkelsen, T.; Hegi, M.E.; Ye, X.; Batchelor, T.; Lesser, G.; Peereboom, D.; Rosenfeld, M.R.; Olsen, J.; Brem, S.; et al. A Safety Run-in and Randomized Phase 2 Study of Cilengitide Combined with Chemoradiation for Newly Diagnosed Glioblastoma (NABTT 0306). *Cancer* **2012**, *118*, 5601–5607, doi:10.1002/cncr.27585.
111. Echavidre, W.; Picco, V.; Faraggi, M.; Montemagno, C. Integrin-Av β 3 as a Therapeutic Target in Glioblastoma: Back to the Future? *Pharmaceutics* **2022**, *14*, doi:10.3390/pharmaceutics14051053.
112. Cobb, D.A.; de Rossi, J.; Liu, L.; An, E.; Lee, D.W. Targeting of the Alpha(v) Beta(3) Integrin Complex by CAR-T Cells Leads to Rapid Regression of Diffuse Intrinsic Pontine Glioma and Glioblastoma. *J. Immunother. cancer* **2022**, *10*, doi:10.1136/jitc-2021-003816.
113. Tan, Z.; Zhang, Z.; Yu, K.; Yang, H.; Liang, H.; Lu, T.; Ji, Y.; Chen, J.; He, W.; Chen, Z.; et al. Integrin Subunit Alpha V Is a Potent Prognostic Biomarker Associated with Immune Infiltration in Lower-Grade Glioma. *Front. Neurol.* **2022**, *13*, 964590, doi:10.3389/fneur.2022.964590.
114. Nakada, M.; Nambu, E.; Furuyama, N.; Yoshida, Y.; Takino, T.; Hayashi, Y.; Sato, H.; Sai, Y.; Tsuji, T.; Miyamoto, K.; et al. Integrin A3 Is Overexpressed in Glioma Stem-like Cells and Promotes Invasion. *Br. J. Cancer* **2013**, *108*, 2516–2524, doi:10.1038/bjc.2013.218.
115. Park, J.B.; Kwak, H.-J.; Lee, S.-H. Role of Hyaluronan in Glioma Invasion. *Cell Adh. Migr.* **2008**, *2*, 202–207, doi:10.4161/cam.2.3.6320.
116. Tilghman, J.; Wu, H.; Sang, Y.; Shi, X.; Guerrero-Cazares, H.; Quinones-Hinojosa, A.; Eberhart, C.G.; Laterra, J.; Ying, M. HMMR Maintains the Stemness and Tumorigenicity of Glioblastoma Stem-like Cells. *Cancer Res.* **2014**, *74*, 3168–3179, doi:10.1158/0008-5472.CAN-13-2103.
117. Zhu, H.; Tan, J.; Pan, X.; Ouyang, H.; Zhang, Z.; Li, M.; Zhao, Y. HELLPAR/RRM2 Axis Related to HMMR as Novel Prognostic Biomarker in Gliomas. *BMC Cancer* **2023**, *23*, 125, doi:10.1186/s12885-023-10596-w.
118. Xiao, Y.; Yang, K.; Wang, Z.; Zhao, M.; Deng, Y.; Ji, W.; Zou, Y.; Qian, C.; Liu, Y.; Xiao, H.; et al. CD44-Mediated Poor Prognosis in Glioma Is Associated With M2-Polarization of

- Tumor-Associated Macrophages and Immunosuppression. *Front. Surg.* **2021**, *8*, 775194, doi:10.3389/fsurg.2021.775194.
119. Grau, S.J.; Trillsch, F.; Herms, J.; Thon, N.; Nelson, P.J.; Tonn, J.C.; Goldbrunner, R. Expression of VEGFR3 in Glioma Endothelium Correlates with Tumor Grade. *J. Neurooncol.* **2007**, doi:10.1007/s11060-006-9272-4.
 120. Li, Q.; Lozano, G. Molecular Pathways: Targeting Mdm2 and Mdm4 in Cancer Therapy. *Clin. Cancer Res.* **2013**, *19*, 34–41, doi:10.1158/1078-0432.CCR-12-0053.
 121. Hientz, K.; Mohr, A.; Bhakta-Guha, D.; Efferth, T. The Role of P53 in Cancer Drug Resistance and Targeted Chemotherapy. *Oncotarget* **2017**, *8*, 8921–8946, doi:10.18632/oncotarget.13475.
 122. Kesanakurti, D.; Chetty, C.; Dinh, D.H.; Gujrati, M.; Rao, J.S. Role of MMP-2 in the Regulation of IL-6/Stat3 Survival Signaling via Interaction with A5 β 1 Integrin in Glioma. *Oncogene* **2013**, *32*, 327–340, doi:10.1038/onc.2012.52.
 123. Deryugina, E.I.; Bourdon, M.A.; Reisfeld, R.A.; Strongin, A. Remodeling of Collagen Matrix by Human Tumor Cells Requires Activation and Cell Surface Association of Matrix Metalloproteinase-2. *Cancer Res.* **1998**, *58*, 3743–3750.
 124. Deryugina, E.I.; Bourdon, M.A.; Luo, G.X.; Reisfeld, R.A.; Strongin, A. Matrix Metalloproteinase-2 Activation Modulates Glioma Cell Migration. *J. Cell Sci.* **1997**, *110*, 2473–2482.
 125. Egeblad, M.; Werb, Z. New Functions for the Matrix Metalloproteinases in Cancer Progression. *Nat. Rev. Cancer* **2002**, *2*, 161–174.

12. Tárgyszavak

Alacsonyabb grádusú glioma, asztrocitoma, glioblasztoma, prognózis, rizikó csoportok, peritumorális infiltráció, extracelluláris mátrix, inváziós spektrum

Lower grade glioma, astrocytoma, glioblastoma, prognosis, risk groups, peritumoral infiltration, extracellular matrix, invasion spectrum

13. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném megköszönni témavezetőm Klekner Álmos Tanár Úr számára témavezetőként nyújtott segítségét. Koordinálása, szakmai és emberi támogatása mellett sajátíthattam el a tudományos módszertant, valamint lehetőségem nyílt a központi idegrendszer mélyrehatóbb megismerésére. Szakmaisága, precizitása, valamint emberi hozzáállása példaértékű számomra.

Hálás köszönettel tartozom Bognár László Professor Úrnak, hogy lehetőséget biztosított az Intézetben történő tudományos kutatómunka folytatásához. Köszönet illeti meg a Neuro-onkológiai Laboratórium korábbi dolgozóit, Reményi – Puskár Juditot, valamint Jenei Adrienn, akik a minta-, és adatgyűjtésben mindig megbízható segítséggel szolgáltak. Köszönöm a Neuropathológiai Laboratórium munkatársainak segítségét, akik türelemmel és nagy gondossággal segítettek az vizsgálómódszerek részleteinek elsajátítását, a vizsgálatok kivitelezését. Köszönöm a szerzőtársaimnak az együttműködés lehetőségét, valamint a számolatlan hasznos tanácsot a munkám során. Külön köszönet illeti meg Virga Józsefet, szerző-, és harcostársamat, akivel az elmúlt 10 évben közösen dolgozhattam, segítsége elengedhetetlen volt a disszertáció elkészítéséhez.

Hálásan köszönöm Barzó Pál Professor Úrnak, aki a mindennapi klinikai munka mellett ösztönzött és támogatott a tudományos munkavégzésben, továbbá a kutatásaimhoz tartozó klinikai és sebésztechnikai vonatkozásokat páratlan profizmussal számomra átadni igyekezett.

Szívem teljes szeretetével köszönöm feleségemnek, valamint kisfiamnak a sokszor embert próbáló időszakokban nyújtott támogatásukat, türelmüket. Számomra Ti jelentitek a mindent. Nagyon köszönöm édesanyámnak, édesapámnak, testvéremnek és nagymamámnak, akik hitet, célt és lehetőséget biztosítottak számomra.



Nyilvántartási szám: DEENK/66/2025.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Szivos László
Doktori Iskola: Idegtudományi Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Szivos, L.**, Virga, J., Mészár, Z. M., Rostás, M., Bakó, A., Zahuczky, G. J., Hortobágyi, T., Klekner, Á.: Prognostic Role of Invasion-Related Extracellular Matrix Molecules in Diffusely Infiltrating Grade 2 and 3 Astrocytomas.
Brain Sci. 14 (11), 1-17, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/brainsci14111157>
IF: 2.7 (2023)
2. Virga, J., **Szivos, L.**, Hortobágyi, T., Kouhsari, M. C., Zahuczky, G., Steiner, L., Tóth, J., Reményi-Puskár, J., Bognár, L., Klekner, Á.: Extracellular matrix differences in glioblastoma patients with different prognoses.
Oncol. Lett. 17 (1), 797-806, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3892/ol.2018.9649>
IF: 2.311

További közlemények

3. Horváth, Z., Lukács, M., **Szivos, L.**, Barzó, P.: Localization of macroscopically undetectable intramedullary hematoma by intraoperative epidural motor evoked potential.
Clinical Neurophysiology Practice. 7, 129-134, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cnp.2022.04.001>
IF: 1.7
4. Kis, D., **Szivos, L.**, Rekecki, M., Shukir, B. S., Máté, A., Hideghéty, K., Barzó, P.: Predicting the true extent of glioblastoma based on probabilistic tractography.
Front. Neurosci. 16, 1-14, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fnins.2022.886465>
IF: 4.3





5. **Szivos, L.,** Virga, J., Klekner, Á., Árkosy, P.: Az alacsony grádusú gliómák prognosztikai faktorainak szerepe a terápia megválasztásában - a nemzetközi irodalom és ajánlások összefoglalása konklúziókkal.
Magy Onkol. 65 (1), 59-70, 2021.
6. **Szivos, L.,** Virga, J., Hortobágyi, T., Zahuczky, G., Uray, I. P., Jenei, A., Bognár, L., Árkosy, P., Klekner, Á.: Az inváziós spektrum prognosztikai jelentősége glioblastomában.
Ideggyogy. Szle. 73 (9-10), 317-325, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.18071/ISZ.73.0317>
IF: 0.427
7. Árkosy, P., Tóth, J., Béres, E., Tóth, D., **Szivos, L.,** Nagy, J., Klekner, Á., Virga, J.: Prognosis and Treatment Outcomes of Patients Undergoing Resection of Brain Metastases from Breast Cancer.
Anticancer Res. 40 (3), 1759-1770, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.21873/anticancer.14130>
IF: 2.48
8. Klekner, Á., **Szivos, L.,** Virga, J., Árkosy, P., Bognár, L., Hádáné Birkó, Z., Nagy, B.: Significance of liquid biopsy in glioblastoma: a review.
J. Biotechnol. 298, 82-87, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.04.011>
IF: 3.503
9. Virga, J., Szemcsák, C. D., Reményi-Puskár, J., Tóth, J., Hortobágyi, T., Csósz, É., Zahuczky, G., **Szivos, L.,** Bognár, L., Klekner, Á.: Differences in Extracellular Matrix Composition and its Role in Invasion in Primary and Secondary Intracerebral Malignancies.
Anticancer Res. 37 (8), 4119-4126, 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.21873/anticancer.11799>
IF: 1.865

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 19,286

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 5,011

A DEENK a Jelölt által a Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudánymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2025.02.20.

