

Univerzita Palackého v Olomouci  
Neurochirurgická klinika Fakultní nemocnice Olomouc

## **Radikalita resekce při operacích Glioblastomu**

*Dizertační práce z oboru chirurgie*

**MUDr. Matej Halaj**

Školitel: doc. MUDr. Ondřej Kalita, Ph.D., MBA

Neurochirurgická klinika Fakultní nemocnice Olomouc

Olomouc 2023

## PODĚKOVÁNÍ

V úvodu své práce bych chtěl poděkovat všem členům našeho neuro-onkologického týmu. V první řadě však děkuji svému školiteli, doc. MUDr. Ondřeji Kalitovi, Ph.D., MBA, který je nejen vedoucím mé práce, ale je to člověk, který mě přivedl do svého týmu a dal mi možnost se na léčbě pacientů s nádory mozku podílet. Dále bych chtěl poděkovat přednostovi Neurochirurgické kliniky Fakultní nemocnice Olomouc, prof. MUDr. Lumírovi Hrabálkovi, Ph.D., za vedení naší práce na klinice, primáři kliniky doc. MUDr. Davidu Krahulíkovi, Ph.D., MBA za předávání zkušeností při operacích nejen mozkových nádorů. Rovněž bych chtěl poděkovat svým dalším kolegům, MUDr. et Mgr. T. Wankovi, Ph.D., MUDr. M. Hamplovi Ph.D., MUDr. V. Novákovi, Ph.D., MUDr. P. Stejskalovi, Ph.D., MUDr. J. Jablonskému, MUDr. Š. Trnkovi, MUDr. D. Pohlodkovi, MUDr. M. Šlachtovi a MUDr. F. Blažkovi za jejich každodenní spolupráci, kolegiální a taktéž inspiraci či podporu. V neposlední řadě bych chtěl taktéž poděkovat kolegům z Jednotky intenzivní péče NCH kliniky, kteří odvádí skvělou práci v pooperačním období našich pacientů, MUDr. M. Gabryšovi, MUDr. S. Šoustalovi a MUDr. A. Sváčkové. Mé vřelé poděkování však patří taktéž emeritnímu přednostovi Neurochirurgické kliniky, doc. MUDr. M. Vaverkovi, CSc., který mě přivzal do svého kolektivu a věřil, že budu platným členem týmu. Léčba pacientů s gliomy je práce týmová, a tak bych na tomto místě rád poděkoval i dalším kolegům, zejména z Neurologické kliniky, Radiologické kliniky, Onkologické kliniky a Ústavu molekulární a translační medicíny Fakultní nemocnice Olomouc.

Na úplný závěr bych chtěl speciálně poděkovat své manželce Anetce, která mě intenzivně podporuje celou dobu a za její toleranci a pochopení při této náročné práci.

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem dizertační práci vypracoval samostatně s využitím informačních zdrojů, které jsou v práci citovány.

.....  
MUDr. Matej Halaj

# Obsah

Úvod .....	7
1 Historie .....	8
2 Gliální nádory .....	9
2.1 Úvod .....	9
2.1.1 Astrocyty .....	9
2.1.2 Oligodendrocyty .....	10
2.2 Klasifikace .....	11
2.2.1 Klasifikace WHO z roku 2007 .....	12
2.2.2 Klasifikace WHO z roku 2016 .....	13
2.2.3 Klasifikace WHO z roku 2021 .....	15
2.3 Molekulární biologie .....	18
2.3.1 Izocitrátdehydrogenáza 1 a 2 .....	18
2.3.2 Kodelece 1p/19q .....	19
2.3.3 Metyl-guanin-metyl tranferáza .....	21
2.3.4 ATRX .....	26
2.3.5 TERT .....	28
2.3.6 EGFR a EGFRvIII .....	30
2.3.7 p53, MDM2, CDK2A(p16) .....	34
2.3.8 CCND1 .....	37
2.3.9 BRAF .....	39
3 Diagnostika gliálních nádorů .....	41
3.1 Klinické příznaky .....	41
3.1.1 Epileptické záchvaty .....	41
3.2 Zobrazovací metody .....	42
3.2.1 Difuzní nízkostupňové gliomy .....	42
3.2.2 Vysokostupňové gliomy .....	42

3.2.3	Brain Tumor Imaging Protocol.....	43
3.2.4	Traktografie a funkční magnetická rezonance.....	43
4	Léčba gliálních nádorů .....	46
4.1	Chirurgická resekce .....	46
4.1.1	Neuronavigace.....	46
4.1.2	Intraoperační magnetická rezonance (iMRI).....	47
4.1.3	Intraoperační ultrasonografie.....	47
4.1.4	Fluorescence-guided surgery .....	48
4.1.5	Intraoperační elektrofyziologie .....	49
4.1.6	Awake resekce .....	50
4.2	Onkologická léčba .....	51
4.2.1	Radioterapie.....	52
4.2.2	Chemoterapie.....	52
4.2.3	Konkomitantní radiochemoterapie .....	53
5	Vlastní soubor.....	55
5.1.1	Etické aspekty.....	55
5.2	Volumetricky hodnocená radikalita resekce u pacientů s glioblastomem a její vliv na celkové přežívání .....	55
5.2.1	Soubor pacientů.....	55
5.2.2	Materiál a metodika.....	56
5.3	Vyšetření mutace Izocitrát dehydrogenázy a metylace promotoru O6-methylguanine-DNA methyltransferázy.....	59
5.4	Statistická analýza .....	59
5.4.1	Výsledky.....	59
5.4.2	Diskuse .....	62
5.4.3	Dílčí závěr .....	64
5.5	Délka života pacientů s biopticky verifikovaným glioblastomem .....	68
5.5.1	Soubor pacientů a metodika .....	68

5.5.2	Výsledky .....	69
5.5.3	Diskuse .....	72
5.5.4	Dílčí závěr .....	74
6	Závěr .....	78
7	Seznam obrázků, grafů a tabulek .....	79

# Úvod

Glioblastom (GBM) představuje nejčastější a nej malignější primární mozkový nádor u dospělých, charakterizovaný rychlým růstem a vysokou mírou infiltrace do okolní mozkové tkáně. Jeho léčba zůstává i přes pokroky v neuroonkologii a neurochirurgii velkou výzvou, a to jak z hlediska technického provedení operace, tak i z důvodu zajištění co nejlepší kvality života pro pacienty po operaci.

Operační léčba, představující jeden z hlavních pilířů terapie GBM, se neustále vyvíjí a hledá optimální rovnováhu mezi radikalitou resekce a minimalizací rizika vzniku pooperačního neurologického deficitu. Cílem této dizertační práce je nejprve shrnout současný stav a nejnovější poznatky týkající se radikalit resekce při operačním řešení GBM a její vliv na onkologickou terapii a prognózu pacientů. Ve druhém oddílu bude ukázána aplikace těchto principů na souboru pacientů, které byli podkladem i pro dvě původní práce.

Za účelem uceleného pochopení problematiky bude úvod práce členěn do několika částí. Nejprve bude stručně představena klasifikace gliomů, molekulární biologie, diagnostika. Dále se v textu zaměříme na metody hodnocení extenze resekce, včetně intraoperačního zobrazování a navigace, zároveň budou stručně popsány možnosti léčby.

V praktické části práce budeme věnovat pozornost také komplexnímu přístupu k rozhodování o rozsahu operace, kde se posuzuje mnoho faktorů, a to včetně lokalizace nádoru, věku pacienta, jeho výchozího neurologického stavu a jeho preferencí. Výzkumná část bude dále analyzovat data získaná retrospektivně z archivovaných případů operovaných na Neurochirurgické klinice Fakultní nemocnice Olomouc v letech 2012–2016 s minimálním follow-upem 2 roky, a to na základě předem stanovených kritérií.

Praktická část dizertace si klade za cíl vyhodnotit význam radikalit resekce a spojit chirurgickou léčbu s léčbou onkologickou, která je nedílnou součástí terapie gliomů.

# 1 Historie

První zaznamenané publikace o gliomech byly uvedeny Bernsem v roce 1800 a v roce 1804 Abernetym, přičemž první komplexní histomorfologický popis podal v roce 1865 Rudolf Virchow. V roce 1926 dali Percival Bailey a Harvey Cushing základ pro moderní klasifikaci gliomů. V letech 1934 až 1941 byl nejpłodnějším výzkumníkem ve výzkumu gliomu Hans-Joachim Scherer, který postuloval některé klinicko-morfologické aspekty GBM. Zavedením molekulárních a genetických testů bylo umožněno popsání multifomity GBM s různými genotypy nesoucími stejný histomorfologický a imunohistochemický obraz, stejně jako některé aspekty tumorigeneze.



## 2 Gliální nádory

### 2.1 Úvod

Gliomy patří do skupiny neuroepiteliálních nádorů a jsou nejčastějšími maligními, primárními nádory mozku u dospělých s průměrnou roční, věkově upravenou incidencí 5 na 100 000 obyvatel (1). Jedná se o heterogenní skupinu nádorů vyrůstající z podpůrných gliálních mozkových buněk. Tyto nádory se liší svojí typickou lokalizací, věkovou prevalencí, morfologií, biologickým chováním (stupeň malignity, sklon k maligní transformaci). Jsou to nádory intraaxiální neboli intraparenchymové. Rostou difuzně a infiltrativně, což se odráží v jejich diagnostice a následné léčbě.

Termín „glie“ pochází z řeckého slova „glia“ znamenající „lepidlo“. Poprvé byl použit Rudolfem Virchowem, německým patologem v 19. století, který popsal podpůrnou tkáň v mozku, která vyplňovala prostor mezi nervovými buňkami. V této době nebyly metody pro diagnostiku a léčbu nádorů centrálního nervového systému prakticky žádné.

Neuroglie dělíme na centrální, dále se dělí na makroglie, kam patří astrocyty, oligodendroglie, ependymální buňky, tancyty, Müllerovy buňky, pituicyty a mikroglie. Do druhé skupiny pak patří periferní glie schwannových buněk a satelitových buněk.

Histopatologickým podkladem pro vznik gliomů jsou zejména astrocyty a oligodendrocyty.

#### 2.1.1 Astrocyty

Astrocyty jsou hvězdicovité buňky a v mozcích savců představují astrocyty nejhojnější buněčný typ a tvoří přibližně 20–40 % celkového počtu mozkových buněk (2). Tradičně byly považovány za buňky, které mají čistě podpůrnou roli, poskytují strukturální podporu a výživu neuronům. Nyní je však zřejmé, že astrocyty jsou mnohem víc než pouhé „lepidlo“, které drží mozek pohromadě.

V průběhu let výzkumníci zjistili, že astrocyty mají širokou škálu funkcí kritických pro homeostázu mozku. Aktivně se podílejí na udržování jemné rovnováhy iontů, neurotransmiterů a dalších chemických látek v mozku a zajišťují, že neurony mohou mezi sebou správně komunikovat. Kromě toho hrají astrocyty klíčovou roli při regulaci průtoku krve do různých oblastí mozku, čímž zajišťují dostatečný přísun kyslíku a živin.

Astrocyty také poskytují strukturální podporu neuronů tím, že vytvářejí síť vzájemně propojených buněk, které vytvářejí lešení pro růst a vývoj neuronů. Tato spleť astrocytů, známá jako astrocytické syncytium, funguje jako fyzický podpůrný systém, který pomáhá udržovat strukturální integritu mozku.

Navíc se astrocyty podílejí na regulaci hladin neurotransmiterů. Vychytávají přebytečné neurotransmitery uvolněné neurony, zabraňují jejich hromadění a udržují optimální podmínky pro signalizaci. Tato činnost je zásadní pro normální funkci mozku, protože nerovnováha v hladinách neurotransmiterů může vést k různým neurologickým poruchám.

Protoplazmatické a fibrilární astrocyty jsou dva hlavní astrogliální typy, které se nacházejí v šedé hmotě a bílé hmotě obou a jsou odlišné v morfologii (3, 4, 5, 6). Kromě toho existují některé specializované astrogliální buňky, jako jsou Müllerovy buňky v sítnici a Bergmannovy gliové buňky v mozečku (7).

### **2.1.2 Oligodendrocyty**

Oligodendrocyty jsou myelinizační buňky centrálního nervového systému (CNS). Jsou konečným produktem buněčné linie, která musí podstoupit složitý a přesně načasovaný program proliferace, migrace, diferenciaci a myelinizace, aby se nakonec vytvořila izolační pochva axonů. Díky tomuto komplexnímu diferenciačnímu programu a díky jejich jedinečnému metabolismu/fyziologii patří oligodendrocyty mezi nejzranitelnější buňky CNS. Mají nejvyšší rychlost metabolismu buněk v CNS, produkují myelin až na trojnásobek své hmotnosti za den, každý až pro 50 axonů. Myelinové obaly jsou kriticky důležité pro akční potenciály a je třeba je neustále udržovat (8). Oligodendrocyty navíc poskytují axonům trofickou podporu a jsou klíčové pro funkčnost neuronů (9). Vzhledem k vysokému obrátu myelinu jsou oligodendrocyty citlivé na reaktivní formy kyslíku a oxidační stres (10). Bylo prokázáno, že se složitě účastní imunitně zprostředkovaných procesů produkci imunitních regulačních faktorů a expresí receptorů pro komunikaci s mikroglíemi (11).

### **Literatura**

1. Ostrom QT, Cote DJ, Ascha M, Kruchko C, Barnholtz-Sloan JS. Adult glioma incidence and survival by race or ethnicity in the United States from 2000 to 2014. *JAMA Oncol* 2018;4(9):1254–1262. doi:10.1001/jamaoncol.2018.1789

2. Herculano-Houzel S. The glia/neuron ratio: how it varies uniformly across brain structures and species and what that means for brain physiology and evolution. *Glia*. 2014;62(9):1377-1391.
3. Gallo V, Deneen B. Glial development: the crossroads of regeneration and repair in the CNS. *Neuron*. 2014;83(2):283-308.
4. Colombo JA, Reisin HD. Interlaminar astroglia of the cerebral cortex: a marker of the primate brain. *Brain Res*. 2004;1006(1):126-131.
5. Rodnight RB, Gottfried C. Morphological plasticity of rodent astroglia. *J Neurochem*. 2013;124(3):263-275.
6. Lundgaard I, Osório Mj, Kress Bt, Sanggaard S, Nedergaard M. White matter astrocytes in health and disease. *Neuroscience*. 2014;276:161-173.
7. Ostrom QT, Cioffi G, Waite K, Kruchko C, Barnholtz-Sloan JS. CBTRUS statistical report: primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2014–2018. *Neuro-Oncol* 2021;23(12 Suppl 2) :iii1–iii105. doi:10.1093/neuonc/noab200
8. Emsley JG, Macklis JD. Astroglial heterogeneity closely reflects the neuronal-defined anatomy of the adult murine CNS. *Neuron Glia Biol*. 2006;2(3):175-186.
9. McTigue D.M., Tripathi R.B. The life, death, and replacement of oligodendrocytes in the adult CNS. *J. Neurochem*. 2008;107:1–19. doi: 10.1111/j.1471-4159.2008.05570
10. Gaudet A.D., Fonken L.K. Glial Cells Shape Pathology and Repair After Spinal Cord Injury. *Neurotherapeutics*. 2018;15:554–577. doi: 10.1007/s13311-018-0630-7
11. Patel J., Balabanov R. Molecular mechanisms of oligodendrocyte injury in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *Int. J. Mol. Sci*. 2012;13:10647–10659. doi: 10.3390/ijms130810647

## 2.2 Klasifikace

Klasifikace gliálních nádorů prošla v posledních 30 letech opakovanou novelizací. Na základě přibývajících dat z oblasti cytogenetiky a molekulární biologie se zásadně zlepšilo porozumění jejich biologickému chování. To vše vedlo k postupným změnám.

Základním kamenem byla diagnostika, která rozlišovala gliální nádory na základě jejich histomorfologické charakteristiky. Pro praktické účely se již v Karhanově klasifikaci (1) z roku 1949 objevuje termín gradingu nádorů. Zahrnuje nukleoplasmatický poměr, přítomnost atypie jader, mitotickou aktivitu, buněčnost, míru vaskulární proliferace a četnost nekrózy. Od té doby bylo nejrozšířenější použití dvou systémů: první podle klasifikace WHO z roku 1993 (2) a SAMS klasifikace (St. Anne/Mayo Systém) z roku 1988 vzniklé na základě publikace Daumas-Duportové, který ale platil pouze pro astrocytární řadu gliomů (3). Obě klasifikace dělily nádory do čtyř stupňů (viz tabulka č. 1).

WHO stupeň	WHO název	SAMS název
<b>I</b>	Pilocytární astrocytom	
<b>II</b>	Difuzní astrocytom	Astrocytom, st. 2
<b>III</b>	Anaplastický astrocytom	Astrocytom, st. 3
<b>IV</b>	Glioblastoma multiforme	Astrocytom, st. 4

Tabulka 1: WHO a SAMS klasifikace

Z důvodu zjednodušení a zejména přehlednosti textu uvádíme pouze klasifikaci a její změny u gliálních nádorů mozku.

### 2.2.1 Klasifikace WHO z roku 2007

V roce 2007 vydala Světová zdravotnická organizace čtvrté vydání své klasifikace nádorů centrálního nervového systému, která zavedla, pro gliomy, tři nové kategorie (4). Tyto nové kategorie zahrnovaly astrocytomy, oligodendrogliomy a oligoastrocytomy a byly založeny na identifikaci specifických genetických markerů a molekulárních charakteristik nádorů. Kromě toho klasifikace WHO také zahrnovala klasifikaci gliomů na základě jejich úrovně malignity. Tento klasifikační systém klasifikoval gliomy do čtyř stupňů: stupeň I (pilocytární astrocytom), stupeň II (difuzní astrocytom), stupeň III (anaplastický astrocytom) a stupeň IV (glioblastom). Celkově klasifikace gliomů WHO z roku 2007 způsobila revoluci v oboru začleněním molekulárních a genetických charakteristik do tradiční histologické klasifikace, což umožnilo přesnější diagnostiku a personalizované léčebné strategie pro pacienty s gliomy. Klasifikace gliomů WHO z roku 2007 zavedla nové kategorie založené na genetických markerech a molekulárních charakteristikách, stejně jako systém klasifikace pro stanovení úrovně malignity. Tento

posun směrem k personalizovanějšímu a přesnějšímu klasifikačnímu systému výrazně zlepšil léčbu gliomů.

Mimo WHO klasifikaci byly, z důvodů zjednodušení, gliomy rozděleny na dvě skupiny: gliomy nízkého stupně malignity (LGG: Low Grade Gliomas), kam patřily všechny gliomy WHO gr. I a II a gliomy vysokého stupně malignity (HGG: High Grade Gliomas), kam patřily všechny gliomy WHO gr. III a IV. Tyto dvě skupiny se většinou lišily svými biologickými vlastnostmi, a tím i celkovou prognózou pacienta. Na základě klasifikace z roku 2016, vč. nových znalostí o biologii nádorů, se do skupiny LGG řadí gliomy WHO gr. II s IDH mutací a do skupiny HGG všechny gliomy bez IDH mutace a glioblastomy s IDH mutací. Anaplastické gliomy WHO gr. III s IDH mutací, popř. i s 1p/19q kodelecí, mají natolik specifické vlastnosti, že jsou uváděny zvlášť.

### **1. Astrocytární a oligodendroglální nádory dle WHO 2007:**

- Difuzní Astrocytom (WHO gr. II),
- Anaplastický Astrocytom (WHO gr. III),
- Glioblastom (WHO gr. IV),
- Oligodendrogliom (WHO gr. II),
- Anaplastický Oligodendrogliom (WHO gr. III),
- Oligo-astrocytom (WHO gr. II),
- Anaplastický Oligo-astrocytom (WHO gr. III).

### **2.2.2 Klasifikace WHO z roku 2016**

V roce 2016 došlo k další úpravě klasifikace na základě doporučení Světové zdravotnické organizace. Spočívala v implementaci diagnostiky nejen na základě fenotypu nádorových buněk, ale také i genotypu, což přineslo vytvoření nových podtypů nádoru, a tím k rozšíření klasifikace. Jejím nejvýznamnějším přínosem byla implementace cytogenetických markerů (mutace genu Isocitrát-dehydrogenázy (IDH) a kodelece 1p/19q) do klasifikace. Tyto markery mají mnohem větší prognostickou a prediktivní váhu než původní, histomorfologická charakteristika. Molekulární biologie a cytogenetika se stala tedy zásadním prvkem při stanovování diagnózy pacientů s gliomy a integrace genotypu se stala naprostou nutnou ke správné klasifikaci (5, 6).

Klasifikace nejprve začlenila difuzní infiltrativní gliomy astrocytárního i oligodendroglálního fenotypu do jedné skupiny. Jejich rozdělení v rámci této skupiny se zakládalo na přítomnosti zásadních mutací v genotypu. Mezi nejdůležitější patřila

mutace genu IDH 1/2 a pro diagnostiku oligodendrogliomu byla zcela zásadní přítomnost chromozomální kódelece 1p/19q. Mezi další doplňující mutace patřily mutace genů ATRX, TP53, BRAF a TSC1/TSC2.

Určení jednotlivých typů difuzních gliomů je tak založeno na přítomnosti nebo nepřítomnosti mutací IDH1/2 a/nebo kódelece 1p/19q.

V případě přítomnosti mutace IDH označujeme difuzní astrocytomy jako IDH mutující, v případě nepřítomnosti jako IDH nemutující neboli IDH-wildtype nádory. Pokud nedojde k vyšetření této mutace, tak nádor je zařazen pouze histopatologicky jako difuzní astrocytom bez další specifikace (viz schéma níže). Obdobně to platí i v případě oligodendroglíální řady, při které, kromě histopatologické vyšetření, bylo nutné pro správnou klasifikaci opět vyšetření na přítomnost IDH mutace, ale zároveň současně i vyšetření na určení přítomnosti kódelece 1p/19q. Jinak tento nádor není správně klasifikován a pokud není vyšetřena přítomnost IDH mutace tak je opět označen jako oligodendrogliom bez další specifikace. Rovněž tak vyšší stupeň označovaných jako anaplastický astrocytom a anaplastický oligodendrogliom musí splňovat obě, výše uvedené podmínky.

Z klinického hlediska má toto rozdělení pozitivní vliv a je důležitý pro určení prognostických biomarkerů. Jak mutace IDH, tak přítomnost kódelece 1p/19q je považována za příznivý biomarker a určuje lepší prognózu pacienta, tak i lepší odezvu na onkologickou léčbu.

V případě GBM je klasifikace a zařazení stejné jako u difuzních gliomů, po určení přítomnosti IDH mutace je zařazen jako GBM s IDH mutací, v opačném případě jako GBM bez IDH mutace čili IDH-wildtype. Stejně tak, je popsán jako GBM bez další specifikace, pokud k vyšetření mutace nedojde třeba z technických důvodů.

## **2. Difuzní astrocytární a oligodendroglíální nádory dle WHO 2016:**

- Difuzní Astrocytom s *IDH* mutací (WHO gr. II),
- *Gemistocytární astrocytom s IDH mutací (WHO gr. II)*,
- Difuzní Astrocytom bez *IDH* mutace (WHO gr. II),
- *Difuzní Astrocytom bez další specifikace (WHO gr. II)*,
- Anaplastický Astrocytom s *IDH* mutací (WHO gr. III),
- Anaplastický Astrocytom bez *IDH* mutace (WHO gr. III),
- *Anaplastický Astrocytom bez další specifikace (WHO gr. III)*,

- Glioblastom s *IDH* mutací (WHO gr. IV),
- Glioblastom bez *IDH* mutace (WHO gr. IV),
- *Velkobuněčný glioblastom*,
- *Gliosarkom*,
- *Epiteloidní glioblastom*,
- Glioblastom bez další specifikace (WHO gr. IV),
- *Diffuse midline glioma, H3 K27M-mutant (WHO gr. IV)*,
- Oligodendrogliom s *IDH* mutací a 1p/19q kodeleci (WHO gr. II),
- *Oligodendrogliom bez další specifikace (WHO gr. II)*,
- Anaplastický Oligodendrogliom s *IDH* mutací a 1p/19q kodeleci (WHO gr. III),
- *Anaplastický Oligodendrogliom bez další specifikace (WHO gr. III)*,
- *Oligo-astrocytom bez další specifikace (WHO gr. II)*,
- *Anaplastický Oligo-astrocytom bez další specifikace (WHO gr. III)*.

### 2.2.3 Klasifikace WHO z roku 2021

V předposlední WHO klasifikaci z roku 2016 byly difuzní gliomy dospělých rozděleny do 15 kategorií. Nová WHO klasifikace však tyto kategorie mění a výrazným způsobem upravuje a zejména zjednodušuje a zavádí tzv. integrovanou diagnostiku. V kategorii difuzních gliomů dospělých najdeme pouze 3 typy nádorů: astrocytom, IDH-mutovaný; oligodendrogliom s IDH mutací a zároveň 1p/19q kodeleci a konečně glioblastom bez IDH mutace. Tímto krokem došlo k maximalizaci přínosu molekulární diagnostiky tak abychom docílili přesnější klasifikaci a zařazení jednotlivých expanzí. Je patrné i zjednodušené použití gradingu čímž se snížil počet jednotlivých podskupin. Pokud bychom měli tyto změny uvést na příkladu tak v klasifikaci WHO z roku 2016 obsahovaly IDH-mutované difúzní astrocytární nádory tři různé typy. V klasifikaci z roku 2021 jsou však všechny IDH-mutované difúzní astrocytární tumory považovány za nádory jediného typu (astrocytom, IDH-mutovaný) a jsou pak klasifikovány jako nádory WHO grade 2, 3 nebo 4.

Pro nádory, dříve klasifikované jako difuzní astrocytom, oligodendrogliom a GBM bez IDH mutace bylo prokázáno, že stačí pouze jeden ze tří genetických parametrů pro splnění podmínky ke klasifikaci GBM wild-type (7, 8). Jedná se o mutaci promotoru genu TERT, ztráta chromozomu 10 a společně získání chromozomu 7 kompletně

a v neposlední řadě amplifikace genu EGFR. V případě splnění této podmínky se již automaticky jedná o nejmalignější formu 4. stupně.

Kromě změny jednotlivých kategorií a variant jednotlivých nádorových afekcí, přináší tato verze klasifikace i změnu v číslování a přidává, již zmíněnou, tzv, takzvanou „integrovanou diagnózu“.

Číslování bylo doposud uváděno u jednotlivých stupňů nádorů a vyjadřovalo míru malignity a bylo vždy uváděno římskými čísly (I.–IV.). Pro možnost chyby a z důvodu zjednodušení se číslování mění za použití arabských čísel (1.–4.), opět informační hodnota spočívá v uvedení malignity nádoru.

Integrovaná diagnóza vznikla jako výsledek narůstající důležitosti molekulární biologie ve vztahu k diagnóze a diagnostice a vyjadřuje taktéž potřebu tyto informace skládat. Vznikla na základě doporučení mezinárodních skupin WHO a c-IMPACT (9, 10, 11). Její výhodou je přehlednost a vrstvení jednotlivých informací které obsahují histologické, molekulární a jiné klíčové informace, což společně vede ke správnému určení nádorové jednotky.

### 3. Dospělý typ difuzních gliomů dle WHO 2021

- a) Astrocytom *s IDH mutací.*
- b) Oligodendrogliom *s IDH mutací a 1p/19q-kodeleci.*
- c) Glioblastom *bez IDH mutace.*

#### **Integrovaná diagnóza** (kombinovaná histopatologická a molekulární diagnostika)

Histologická diagnóza
Stupeň nádoru dle WHO klasifikace
Souhrnná molekulární diagnostika

Tabulka 2: Schéma vrstvené integrované diagnózy dle WHO (20)

#### **Literatura**

1. Peferoen L., Kipp M., van der Valk P., van Noort J.M., Amor S. Oligodendrocyte-microglia cross-talk in the central nervous system. *Immunology*. 2014;141:302–313. doi: 10.1111/imm.12163
2. KERNOHAN JW, MABON RF, et al. A simplified classification of the gliomas. *Proc Staff Meet Mayo Clin*. 1949 Feb 2;24(3):71-5. PMID: 18111063.



3. Kleihues P, Burger PC, Scheithauer BW. The new WHO classification of brain tumours. *Brain Pathol.* 1993 Jul;3(3):255-68. doi: 10.1111/j.1750-3639.1993.tb00752.x. PMID: 8293185.
4. Daumas-Duport C, Scheithauer B, O'Fallon J, Kelly P. Grading of astrocytomas. A simple and reproducible method. *Cancer.* 1988 Nov 15;62(10):2152-65. doi: 10.1002/1097-0142(19881115)62:10<2152::aid-cnrcr2820621015>3.0.co;2-t. PMID: 3179928.
5. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol* 2007;114(2):97–109.
6. Wirsching HG, Weller M. The Role of Molecular Diagnostics in the Management of Patients with Gliomas. *Curr Treat Options Oncol* 2016;17(10):51. doi: 10.1007/s11864-016-0430-4.
7. Louis DN, Perry A, Burger P, et al. International Society Of Neuropathology – Haarlem consensus guidelines for nervous system tumor classification and grading. *Brain Pathol Zurich Switz* 2014;24(5):429–35. doi: 10.1111/bpa.12171
8. Brat DJ, Aldape K, Colman H, 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(5): 805–810.
9. Tesileanu CMS, Dirven L, Wijnenga MMJ, et al. Survival of diffuse astrocytic glioma, IDH1/2-wildtype, with molecular features of glioblastoma, WHO grade IV: a confirmation of the cIMPACT-NOW criteria. *Neuro Oncol* 2020; 22(4): 515–523.
10. WHO Classification of Tumours Editorial Board. World Health Organization Classification of Tumours of the Central Nervous System. 5th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2021.
11. Louis DN, Perry A, Burger P, et al. International Society of Neuropathology--Haarlem consensus guidelines for nervous system tumor classification and grading. *Brain Pathol* 2014; 24(5): 429–435.

## 2.3 Molekulární biologie

Klasifikace gliálních nádorů mozku byla dlouhou dobu založena pouze na morfologickém histopatologickém obraze. V poslední dekádách došlo k masivnímu rozvoji metod, které analyzují molekulárně biologické znaky nádorů. Do popředí se proto dostávají molekulárně genetické markery, jejichž přítomnost či naopak absence zásadně ovlivňuje prognózu, možnosti terapie a celkovou dobu přežití mnohem víc než pouhá histologická diagnóza.

V další podkapitolách stručně popisujeme jednotlivé mutace a jejich vliv na, patogenezi gliomů, jejich vznik a vliv na terapeutické modality.

### 2.3.1 Izocitrátdehydrogenáza 1 a 2

Až do roku 2009 se předpokládalo, že jedinou možností vzniku mozkových nádorů jsou genetické alterace. Jedním z nejdůležitějších nálezů plynoucích z genomických studií, zaměřených na patogenezi gliomů, byla identifikace mutace genů metabolických enzymů izocitrátdehydrogenázy (IDH) 1 a 2. Výsledkem mutace je změna struktury a enzymatické aktivity tohoto enzymu, který v rámci citrátového cyklu katalyzuje konverzi isocitrátu na  $\alpha$ -ketoglutarát. Takto změněná aktivita způsobí, že vzniká jen omezené množství  $\alpha$ -ketoglutarátu a enzym navíc získává novou schopnost katalyzovat  $\alpha$ -ketoglutarát na 2-hydroxyglutarát. Za fyziologických podmínek alfa-ketoglutarát dependentní enzymy regulují množství fyziologických procesů, jako jsou reakce na hypoxii, demetylaci histonů a změny metylace DNA (1). Naopak 2-hydroxyglutarát má toxický účinek na DNA a kompetitivně inhibuje aktivitu  $\alpha$ -ketoglutarát dependentních dioxygenáz, mezi které patří i histon-emetyláza (2, 3). Výsledkem je hypermethylace histonů, která znemožňuje transkripci důležitých tumor-supresorových genů, a tím se spolupodílí na vzniku gliálních nádorů (4, 5, 6).

V lidském těle se nachází celkem tři formy izocitrát dehydrogenázy.

Znalosti o vzniku a důsledcích této mutace se využívají jak diagnostice, tak při stanovování léčebné strategie. Dokonce samotná mutace IDH 1 a 2 se ukazuje jako dobrý cíl pro molekulární terapii (7, 8).

Určitým problémem je identifikace IDH mutace. U 15 % gliomů, u kterých imunohistochemickou cestou (IDHR132H protilátky) nebyla mutace IDH 1 a 2 prokázána, byly nakonec pomocí DNA sekvenování mutace potvrzena (6).

## Literatura

1. Loenarz C, Schofield CJ. Expanding chemical biology of 2-oxoglutarate oxygenases. *Nat Chem Biol* 2008; 4:152–156.
2. Dang L, White DW, Gross S, et al. Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. *Nature* 2009;462:739-44.
3. Krell D, Mulholland P, Frampton AE, et al. IDH mutations in tumorigenesis and their potential role as novel therapeutic targets. *Future Oncol* 2013.9:1923–35.
4. Cohen AL, Holmen SL, Colman H. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 2013;13:345.
5. Schiff D, Purow B. Neuro-oncology. *Neurol. Clin. Pract.* 2013;3:326–33.
6. Megova M, Drabek J, Koudelakova V, et al. Isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations in gliomas. *J. Neurosci. Res.* 2014;92:1611–20.
7. Rohle D, Popovici-Muller J, Palaskas N, et al. An inhibitor of mutant IDH1 delays growth and promotes differentiation of glioma cells. *Science* 2013. 340:626–30.
8. Schumacher T, Bunse L, Pusch S, et al. A vaccine targeting mutant IDH1 induces antitumour immunity. *Nature* 2014. 512:324–327.

### 2.3.2 Kodelece 1p/19q

Ztráta krátkého raménka 1. chromozome a dlouhého raménka 19. chromozomu (kodelece 1p/19q) byla detekována u téměř 90 % oligodendrogliomů, 50–70 % anaplastických oligodendrogliomů (1), u 30–50 % oligoastrocytomů, 20–30 % anaplastických oligoastrocytomů a u méně než 10% difuzních astrocytomů, včetně GBM (2, 3). Kodelece 1p/19 se pojí s lepší prognózou u nádorů s oligodendrogliální komponentou, kdy tato delece prodlužuje PFS, OS a zlepšuje odpověď na chemo a radioterapii. Studie RTOG 9402 a EORTC 26951 prokázaly zlepšení OS u pacientů, s anaplastickým oligodendrogliomem s kodeleci 1p/19q, kteří měli i kombinovanou chemoradioterapii (procarbazine, lomustine, vincristine – PCV) (4). V několika studiích se výskyt kodelece 1p/19q pojil s mutací IDH1 a metylací MGMT (5–6).

Dle posledních genomických studií se u velkého procenta oligodendrogliomů vyskytuje mutace genu CIC (homologue of the *Drosophila* gene *capicua*) nacházející se na 19q

a mutace genu FUBP1 genu (far-upstream element binding protein 1) nacházející se na 1p. Oba geny jsou považovány za genetický podklad efektu kodelece 1p/19 (7).

Po dokončení tří velkých studií zaměřených na anaplastické gliomy, NOA-04 (7), EORTC fáze II- (8) a RTOG studie 9402 (4, 9), byl u anaplastických oligodendrogliomů a oligoastrocytomů WHO stupně III potvrzen pozitivní efekt chemoterapie (PCV, temozolomid) na PFS a OS, jako doplněk resekce a radioterapie. Tento efekt chemoterapie na anaplastické oligogliomy potvrdila i česká studie (10).

## **Literatura**

1. Cairncross G, Jenkins R. Gliomas with 1p/19q codeletion: a.k.a oligodendroglioma. *Cancer J.* 2008; 14:352–7
2. Aldape K, Burger PC, Perry A. Clinicopathologic aspects of 1p/19q loss and the diagnosis of oligodendroglioma. *Arch Pathol Lab Med.* 2007; 131:242–51.
3. Appin CL, Brat FJ. Biomarker-driven diagnosis of diffuse gliomas. *Mol Aspects Med* 2015. 45:87-96.
4. Cairncross G, Wang M, Shaw E, et al. Phase III trial of chemoradiotherapy for anaplastic oligodendroglioma: long-term results of RTOG 9402. *J Clin Oncol* 2013.31:337–43.
5. Boots-Sprenger SHE, Sijben A, Rijntjes J, et a. Significance of complete 1p/19q codeletion, IDH1 mutation and MGMT promoter methylation in gliomas: use with caution. *Mod Pathol* 2013.26:922–9.
6. SongTao Q, Lei Y, Si G, et al. IDH mutations predict longer survival and response to temozolomide in secondary glioblastoma. *Cancer Sci* 2012.103:269–73.
7. Bettegowda C, Agrawal N, Jiao Y, et al. Mutations in CIC and FUBP1 contribute to human oligodendroglioma. *Science.* 2011; 333:1453–5.
8. Van den Bent MJ, Carpentier AF, Brandes AA, et al. Adjuvant procarbazine, lomustine, and vincristine improves progression-free survival but not overall survival in newly diagnosed anaplastic oligodendrogliomas and oligoastrocytomas: a randomized European Organisation for Research and Treatment of Cancer phase III trial. *J Clin Oncol* 2006;24:2715–22.

9. Cairncross G, Berkey B, Shaw E, et al. Phase III trial of chemotherapy plus radiotherapy compared with radiotherapy alone for pure and mixed anaplastic oligodendroglioma: Intergroup Radiation Therapy Oncology Group Trial 9402. *J Clin Oncol* 2006;24:2707–14.
10. Kalita O, Kramář F, Neumann E et al. Současná stav léčby anaplastických gliomů v České republice. *Cesk Slov Neurol N* 2015, 78/111(3): 306-16.

### **2.3.3 Metyl-guanin-metyl tranferáza**

Metylace promotoru genu O6-metylguanin-DNA metyltransferázy (MGMT) je jedním z klinicky nejdůležitější DNA metylačních markerů u GBM. Nachází se přibližně u 40 % primárních a u více než 70 % sekundárních GBM. Výsledkem metylace je transkripční útlum MGMT genu (1, 2, 3). Hypermetylace promotoru MGMT byla potvrzena jako prediktivní faktor efektivity alkylační chemoterapie temozolomidem u GBM (4, 5, 6). MGMT je gen lokalizovaný na 10q26, kódující DNA-reparující enzym, jež je schopen odstranit alkylové skupiny z guaninu (7, 8). Právě navázání alkylové skupiny na guanin a vznik O6-methylguaninu je typem genomické léze indukované alkylačními chemoterapeutiky, vč. temozolomidu. Pokud je enzym afunkční, metylace guaninu zabrání replikaci DNA, a tím i buněčné proliferaci. Mnoho klinických studií prokázalo, že metylace promotoru MGMT genu se pojí s prodloužením PFS a OS u pacientů léčených alkylačními chemoterapeutiky (4, 9, 10, 11, 12). Klíčová studie provedená EORTC hodnotila u nově diagnostikovaných GBM efekt konkomitantní chemoradioterapie a adjuvantní chemoterapií vs. solo radioterapie (13). Výsledky studie ukázaly, že podskupina gliomů s metylovaným MGMT měla benefit z jakékoliv onkologické léčby. Tento pozitivní efekt byl zvýšen přidáním chemoterapie [4]. Studie (14, 15) zaměřené na léčbu GBM u starších pacientů ukázaly, že v této věkové skupině je stav metylace MGMT základním prediktivním markérem určující léčebnou strategii. Starší pacienti jsou rozděleni na skupinu, která by měla být léčena pouze radioterapií, tj. pacienti s nemetylovaným promotorem MGMT a na skupinu, která by měla být léčena solo chemoterapií či chemoradioterapií, tj. pacienti s metylovaným promotorem MGMT (4, 14, 15, 16). Na podkladě výše uvedeného, je nyní zvažována relevance testování metylace MGMT u mladších GBM pacientů, kdy tito pacienti jsou často léčeni temozolomidem bez ohledu na metylační status. Nicméně MGMT status může být např. použitelný k odlišení pseudoprogrese od pravé progrese nádoru (17).

Pseudoprogrese je patologický fenomén u maligních gliomů vznikající po kombinované léčbě radioterapií a temozolomidem. Jde vlastně o vystupňovanou nekrózu nádorové tkáně, která nastupuje během několika měsíců od chemoradioterapie. Incidence tohoto fenoménu dosáhla 30 % během prvních 3 měsíců od zahájení terapie (17, 18, 19, 20). Na MRI se jeví jako zvětšující se, postkontrastně se sytící ložisko v mozkovém parenchymu, které však není doprovázeno zhoršením neurologického stavu. Pseudoprogrese se vyskytuje u 91 % s metylovaným promotorem MGMT a u 41 % pacientů s nemetylovaným promotorem.

Z uvedeného vyplývá, že metylace promotoru MGMT má jak prediktivní, tak prognostický význam. Další práce potvrdily u GBM s wild-typem IDH1 a 2 prediktivní hodnotu metylace promotoru MGMT pro chemoterapii. Naopak u GBM s mutovaným IDH 1 a 2 byla metylace promotoru MGMT prognostickým markérem (21). U dětských gliomů dosahuje frekvence metylace promotoru MGMT 16–50 % (22, 23, 24), přičemž její prognostická a prediktivní hodnota zde zatím nebyla určena (25, 26).

Existuje výrazný překryv mezi metylačním statem MGMT a G-CIMP fenotypem (27, 28, 29). Zatímco metylace MGMT je přítomna jen u části GBM s G-CIMP-negativním fenotypem, je nalézána u všech nádorů s G-CIMP-pozitivním fenotypem (30). U GBM se vyskytuje hypermethylace promotorů tumor supresorových genů, vč. např. inhibitorů cyklin dependentních kináz (CDKN2A, RB1, PTEN a TP53), což má za následek alteraci jejich exprese (31, 32, 33, 34).

## **Literatura**

1. Weller M, Stupp R, Reifenberger G, et al. MGMT promoter methylation in malignant gliomas: ready for personalized medicine? *Nat Rev Neurol*. 2010; 6:39–51.
2. Riemenschneider MJ, Hegi ME, Reifenberger G. MGMT promoter methylation in malignant gliomas. *Target Oncol*. 2010; 5:161–5.
3. Karayan-Tapon L, Quillien V, Guilhot J, et al. Prognostic value of O6-methylguanine DNA methyltransferase status in glioblastoma patients, assessed by five different methods. *J Neurooncol*. 2010; 97:311–22.
4. Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *New Eng J Med* 2005. 352:997–1003.

5. Gorlia T, van den Bent MJ, Hegi ME, et al. Nomograms for predicting survival of patients with newly diagnosed glioblastoma: prognostic factor analysis of EORTC and NCIC trial 26981-22981/CE.3. *Lancet Oncol* 2008. 9:29–38.
6. Wick W, Platten M, Meisner C, et al. Temozolomide chemotherapy alone versus radiotherapy alone for malignant astrocytoma in the elderly: the NOA-08 randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2012. 13:707–15
7. Esteller M, Garcia-Foncillas J, Andion E, et al. Inactivation of the DNA-repair gene MGMT and the clinical response of gliomas to alkylating agents. *N Engl J Med*. 2000; 343:1350–4.
8. von Deimling A, Korshunov A, Hartmann C. The next generation of glioma biomarkers: MGMT methylation, BRAF fusions and IDH1 mutations. *Brain Pathol*. 2011; 21:74–87.
9. Esteller M, Garcia-Foncillas J, Andion E, et al. Inactivation of the DNA-repair gene MGMT and the clinical response of gliomas to alkylating agents. *New Eng J Med* 2000. 343:1350– 1354.
10. Hegi ME, Diserens AC, Godard S, et al. Clinical trial substantiates the predictive value of O- 6-methylguanine-DNA methyltransferase promoter methylation in glioblastoma patients treated with temozolomide. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2004.10:1871–1874.
11. Herrlinger U, Rieger J, Koch D, et al. Phase II trial of lomustine plus temozolomide chemotherapy in addition to radiotherapy in newly diagnosed glioblastoma: UKT-03. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2006. 24:4412–7.
12. Weller M, Felsberg J, Hartmann C, et al. Molecular predictors of progression-free and overall survival in patients with newly diagnosed glioblastoma: a prospective translational study of the German Glioma Network. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2009. 27:5743–50.
13. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *New Eng J Med* 2005. 352:987–96.
14. Malmstrom A, Gronberg BH, Marosi C, et al. Temozolomide versus standard 6-week radiotherapy versus hypofractionated radiotherapy in patients older than 60 years with glioblastoma: the Nordic randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2012. 13:916–26.

15. Wick W, Platten M, Meisner C, et al. Temozolomide chemotherapy alone versus radiotherapy alone for malignant astrocytoma in the elderly: the NOA-08 randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2012. 13:707–15.
16. Olson RA, Brastianos PK, Palma DA. Prognostic and predictive value of epigenetic silencing of MGMT in patients with high grade gliomas: a systematic review and meta-analysis. *J Neurooncol* 2011. 105:325–35.
17. Brandes AA, Franceschi E, Tosoni A, et al. MGMT promoter methylation status can predict the incidence and outcome of pseudoprogression after concomitant radiochemotherapy in newly diagnosed glioblastoma patients. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2008.26:2192–7.
18. de Wit MCY, de Bruin HG, Eijkenboom W, et al. Immediate post-radiotherapy changes in malignant glioma can mimic tumor progression. *Neurology*. 2004; 63:535–7.
19. Gerstner ER, McNamara MB, Norden AD, et al. Effect of adding temozolomide to radiation therapy on the incidence of pseudo-progression. *Journal of neuro-oncology*. 2009;94:97–101.
20. Taal W, Brandsma D, de Bruin HG, et al. Incidence of early pseudo-progression in a cohort of malignant glioma patients treated with chemoradiation with temozolomide. *Cancer*. 2008.113:405–10.
21. van den Bent MJ, Erdem-Eraslan L, Idbaih A, et al. MGMT-STP27 methylation status as predictive marker for response to PCV in anaplastic Oligodendrogliomas and Oligoastrocytomas. A report from EORTC study 26951. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2013. 19:5513–22.
22. Buttarelli FR, Massimino M, Antonelli M, et al. Evaluation status and prognostic significance of O6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) promoter methylation in pediatric high grade gliomas. *Child's Nervous Sys ChNS Off J Int Soc Pediatr Neurosurg* 2010. 26:1051–6.
23. Lee JY, Park CK, Park SH, et al. MGMT promoter gene methylation in pediatric glioblastoma: analysis using MS-MLPA. *Child's nervous system: ChNS. Off J Int Soc Pediatr Neurosurg* 2011. 27:1877–83.



24. Srivastava A, Jain A, Jha P, et al. MGMT gene promoter methylation in pediatric glioblastomas. *Child's nervous system: ChNS. Off J Int Soc Pediatr Neurosurg* 2010.26:1613–8.
25. Donson AM, Addo-Yobo SO, Handler MH, et al. MGMT promoter methylation correlates with survival benefit and sensitivity to temozolomide in pediatric glioblastoma. *Pediatr Blood Cancer* 2007. 48:403–7.
26. Lee JY, Park CK, Park SH, et al. MGMT promoter gene methylation in pediatric glioblastoma: analysis using MS-MLPA. *Child's nervous system: ChNS. Off J Int Soc Pediatr Neurosurg* 2011.27:1877–83.
27. Noushmehr H, Weisenberger DJ, Diefes K, et al. Identification of a CpG island methylator phenotype that defines a distinct subgroup of glioma. *Cancer Cell* 2010.17:510–522.
28. Sturm D, Witt H, Hovestadt V, et al. Hotspot mutations in H3F3A and IDH1 define distinct epigenetic and biological subgroups of glioblastoma. *Cancer Cell* 2012.22:425–437.
29. von Deimling A, Korshunov A, Hartmann C. The next generation of glioma biomarkers: MGMT methylation, BRAF fusions and IDH1 mutations. *Brain Pathol.* 2011; 21:74–87.
30. Bady P, Sciuscio D, Diserens AC, et al. MGMT methylation analysis of glioblastoma on the Infinium methylation BeadChip identifies two distinct CpG regions associated with gene silencing and outcome, yielding a prediction model for comparisons across datasets, tumor grades, and CIMP-status. *Acta Neuropathol* 2012.124:547–560.
31. Amatya VJ, Naumann U, Weller M, Ohgaki H (2005) TP53 promoter methylation in human gliomas. *Acta Neuropathol* 110:178–84.
32. Baeza N, Weller M, Yonekawa Y, et al. PTEN methylation and expression in glioblastomas. *Acta Neuropathol* 2003.106:479–85.
33. Costello JF, Berger MS, Huang HS, et al. Silencing of p16/CDKN2 expression in human gliomas by methylation and chromatin condensation. *Cancer Res* 1996.56:2405–10.
34. Nakamura M, Yonekawa Y, Kleihues P, et al. Promoter hypermethylation of the RB1 gene in glioblastomas. *Lab Investig J Tech Method Pathol* 2001.81:77–82.

### 2.3.4 ATRX

Mutace genu ATRX ( $\alpha$ -thalassemia/mental retardation syndrome X-linked) byla detekovaná u více typů gliomů (1–8). Gen ATRX se nachází na Xq21.1 a kóduje protein, který patří k H3.3-ATR-X-DAXX chromatin-remodelující dráze. Výsledkem je porucha regulace metylace DNA, poškození chromosomální kongregace a segregace v průběhu mitózy, stejně jako poškození funkce telomer (9). Mutace tohoto genu se pojí např. s vývojovými abnormalitami, jako jsou těžké mentální retardace, faciální dysformismy a alfa-talasemie. ATRX se podílí na inkorporaci histonu varianty H3.3 v pericentrickém heterochromatinu, v telomerách a v dalších transkripčních místech (7). Jedna z prvních prací našla mutaci genu ATRX u malého procenta dospělých a dětských GBM, jakož i u oligodendrogliomů. Mutace se významně pojila s alternativním prodloužením telomer jako prekurzorem genomické nestability (1). Jiná práce odhalila, že mutace H3F3A a ATRX genů se vyskytuje u 30–40 % dětských a u malého procenta dospělých GBM (10). Další práce našla mutaci ATRX u 25,6 % gliomů, z toho u 67 % astrocytomu WHO stupně II, u 73 % astrocytomů WHO stupně III, u 57 % sekundárních GBM, u 4 % primárních GBM, u 20 % pediatrických GBM, u 68 % oligoastrocytomů a u 14 % oligodendrogliálních nádorů (2). Stejná práce potvrdila významnou korelaci mezi mutací ATRX a mutací IDH1 a TP53, naopak jen velmi zřídka se pojila s kódelecí 1p/19q. Na základě kombinace molekulárních změn byly definovány tři skupiny gliomů: 1) skupina I-CF (IDHCIC/FUBP1): nádory s IDH1/2 mutací a 1p/19q kódelecí (CIC, nebo FUBP1 mutacemi), 2) skupina I-A: nádory s IDH1/2 a ATRX mutací, 3) skupina I-X: nádory nepatřící do žádné skupiny. Pacienti s gliomy WHO stupně II – IV, které patřily do skupiny I-A a I-CF přežívaly významně déle než gliomy, které patřily do skupiny I-X (medián byl 51, 96, vs. 13 měsíců).

Prognostický význam ATRX potvrdila i velká celoněmecká studie NCT00717210 vycházející z registru NOA-04 (11). Studie byla zaměřena na detekci mutace IDH, metylace promotoru MGMT, mutace ATRX a kódelece 1p/19q. Ztráta nukleární exprese ATRX, která odpovídá mutaci ATRX (1), byla nalezena u 33 % nádorů, z toho u 45 % anaplastických astrocytomů, u 27 % anaplastických oligoastrocytomů a u 10 % anaplastických oligodendrogliomů. Mutace ATRX se exkluzivně pojí s mutací IDH a téměř nikdy se vyskytuje společně s kódelecí 1p/19q. Nebyla nalezena spojitost mezi mutací ATRX a metylací promotoru MGMT. Obdobné výsledky ukázala i další studie (2),

kdy pacienti s mutací IDH a ATRX byli mladší, než pacienti mutovaným IDH a nepoškozeným ATRX a pacienti s wild-typem IDH (střední věk byl 35,7; 46,8 a 54,1 roků).

V multivariátním Coxově modelu se pouze kombinace mutace ATRX a kodelece 1p/19q významně spojila s prognózou. Na základě uvedených kombinací kodelece 1p/19q (postižení supresorových genů CIC a FUBP1), mutace IDH a mutace ATRX byla vypracována nová klasifikace, která se snaží kopírovat jejich prognózu: 1) molekulární astrocytomy: s mutovaným IDH, bez kodelece 1p/19q; zde patří anaplastické oligoastrocytomy s mutací ATRX a anaplastické astrocytomy s i bez mutace ATRX, 2) molekulární oligodendrogliomy: s mutovaným IDH a nemutovaným ATRX; zde patří oligoastrocytomy s kodelecí 1p/19q a oligodendrogliomy s a bez kodelece 1p/19q, 3) molekulární glioblastomy: charakterizovaný přítomností wild-typu IDH. Molekulární oligodendrogliomy mají lepší prognózu než molekulární astrocytomy; nejhorší prognózu mají molekulární glioblastomy. Molekulární astrocytomy s mutací ATRX mají významně lepší prognózu než bez mutace. Gliomy s wild-typem IDH mají nejhorší prognózu a měly by být považovány za glioblastomy (12).

## **Literatura**

1. Heaphy CM, de Wilde RF, Jiao Y, et al. Altered telomeres in tumors with ATRX and DAXX mutations. *Science*. 2011; 333: 425.
2. Jiao Y, Killela PJ, Reitman ZJ, et al. Frequent ATRX, CIC, FUBP1 and IDH1 mutations refine the classification of malignant gliomas. *Oncotarget*. 2012; 3: 709-22.
3. Kannan K, Inagaki A, Silber J, et al. Whole-exome sequencing identifies ATRX mutation as a key molecular determinant in lower-grade glioma. *Oncotarget*. 2012; 3: 1194-203.
4. Khuong-Quang DA, Buczkowicz P, Rakopoulos P, et al. K27M mutation in histone H3.3 defines clinically and biologically distinct subgroups of pediatric diffuse intrinsic pontine gliomas. *Acta Neuropathol*. 2012; 124: 439-47.
5. Killela PJ, Pirozzi CJ, Reitman ZJ, et al. The genetic landscape of anaplastic astrocytoma. *Oncotarget*. 2014;5(6):1452-7.

6. Liu XY, Gerges N, Korshunov A, et al. Frequent ATRX mutations and loss of expression in adult diffuse astrocytic tumors carrying IDH1/IDH2 and TP53 mutations. *Acta Neuropathol.* 2012; 124: 615-625.
7. Schwartzenuber J, Korshunov A, Liu XY, et al. Driver mutations in histone H3.3 and chromatin remodelling genes in paediatric glioblastoma. *Nature.* 2012; 482: 226-31.
8. Sturm D, Witt H, Hovestadt V, et al. Hotspot mutations in H3F3A and IDH1 define distinct epigenetic and biological subgroups of glioblastoma. *Cancer Cell.* 2012; 22: 425-37.
9. Clynes D, Gibbons RJ. ATRX and the replication of structured DNA. *Curr Opin Genet Dev.* 2013; 23: 289-94.
10. Clynes D, Higgs DR, Gibbons RJ. The chromatin remodeller ATRX: a repeat offender in human disease. *Trends Biochem Sci.* 2013; 38: 461-6.
11. Wiestler B, Capper D, Holland-Letz T, et al. ATRX loss refines the classification of anaplastic gliomas and identifies a subgroup of IDH mutant astrocytic tumors with better prognosis. *Acta Neuropathol.* 2013; 126: 443-51.
12. Haberler C, Wöhrer A. Clinical Neuropathology practice news 2-2014: ATRX, a new candidate biomarker in gliomas. *Clinical Neuropathology* 2014. 33. 108-11.

### **2.3.5 TERT**

Telomeráza je ribonukleoprotein, která reguluje délku telomerické DNA na konci chromosomů, a proto hraje důležitou roli v apoptóze a onkogenezi. Jedním z obecných znaků všech nádorů je deregulace udržování telomeráz. Existence telomeráz je kontrolován enzymem, telomerázová reverzní transkriptáza (TERT), který je aktivní u 90 % všech pokročilých nádorů. TERT je katalytickou podjednotkou telomerázového komplexu a jeho exprese je spojena se špatným výsledkem u většiny nádorů vč. nádorů mozku (1, 2, 3, 4). Genomická analýza gliomů ukázala, že mutace promotoru TERT se vyskytuje u 70–80 % primárních GBM a u více než 70 % oligodendrogliomů. Vzácnější je u difuzních a anaplastických astrocytomů a sekundárních GBM s mutovaným IDH 1 a 2, u kterých je naopak častější mutace ATRX (5, 6). Mutace promotoru TERT je vzácná u dětských GBM, kde se častěji vyskytuje metylace genu histonu H3.3 (H3F3A), mutace TP53 a ATRX/DAXX (7). V studii Killela et al (3) byl hodnocen vztah mezi mutací IDH 1 a 2 a mutací promotoru TERT. Mutace promotoru TERT byla prediktorem

horšího přežívání u GBM bez mutace IDH 1 a 2. V konečném závěru se ukázalo, že mutace promotoru TERT je novým negativním prognostickým faktorem u primárních GBM, a to bez ohledu na mutačním stavu IDH 1 a 2 (8, 9). Na druhé straně, mutace promotoru TERT se mohou asociovat s delším přežíváním u pacientů s nádory s oligodendroglální komponentou, kodelecí 1p/19q a s mutací IDH 1 a 2 (10, 11). Dle nové analýzy se také nabízí jako nový prognostický markér pro primární GBM kombinace mutace promotoru TERT, amplifikace EGFR a mutace IDH 1 a 2 (3). Mutace TERT by také mohl sloužit jako potvrzující markér kodelece 1p/19q, protože obě položky se vysoce korelují. V práci Eckel-Passow JE et al byl zkoumán potenciál tří genetických alterací (mutací IDH, kodelecí 1p/19q a mutací TERT mutace) být prognostickými, či prediktivními faktory a případně i podkladem pro novou klasifikaci gliomů. Tento předpoklad sice u gliomů WHO stupně IV nebyl naplněn, a proto je zvažováno doplnění o analýzu dalších alterací (ATRX, TP53, EGFR, PTEN), aby se tak zlepšila konkordance mezi novými subtypy GBM a jejich klinickými projevy, vč. odpovědi na terapii (12).

## **Literatura**

1. Griewank KG, Murali R, Schilling B, et al. TERT promoter mutations in ocular melanoma distinguish between conjunctival and uveal tumours. *Br J Cancer* 2013.109:497–501.
2. Horn S, Figl A, Rachakonda PS, et al. TERT promoter mutations in familial and sporadic melanoma. *Science* 2013.339:959–61.
3. Killela PJ, Reitman ZJ, Jiao Y, et al. TERT promoter mutations occur frequently in gliomas and a subset of tumors derived from cells with low rates of self-renewal. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013.110:6021–26.
4. Koelsche C, Sahm F, Capper D, et al. Distribution of TERT promoter mutations in pediatric and adult tumors of the nervous system. *Acta Neuropathol* 2013.126:907–15.
5. Baylin SB, Esteller M, Rountree MR, et al. Aberrant patterns of DNA methylation, chromatin formation and gene expression in cancer. *Hum Mol Genet* 2001.10:687–692.
6. Ideraabdullah FY, Vigneau S, Bartolomei MS. Genomic imprinting mechanisms in mammals. *Mutat Res* 2008.647:77–85.

7. Tanwar MK, Gilbert MR, Holland EC. Gene expression microarray analysis reveals YKL-40 to be a potential serum marker for malignant character in human glioma. *Cancer Res* 2002.62:4364–8.
8. Labussiere M, Boisselier B, Mokhtari K, et al. Combined analysis of TERT, EGFR, and IDH status defines distinct prognostic glioblastoma classes. *Neurology* 2014.83:1200–6.
9. Simon M, Hosen I, Gousias K, et al. TERT promoter mutations: a novel independent prognostic factor in primary glioblastomas. *Neuro Oncol.* 2015;17(1):45-52.
10. Assanah M, Lochhead R, Ogden A, et al. Glial progenitors in adult white matter are driven to form malignant gliomas by platelet-derived growth factor-expressing retroviruses. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 2006;26:6781–90.
11. Srivastava A, Jain A, Jha P, et al. MGMT gene promoter methylation in pediatric glioblastomas. *Child's nervous system: ChNS. Off J Int Soc Pediatr Neurosurg* 2010;26:1613–8.
12. Eckel-Passow JE, Lachance DH, Molinaro AM, et al. Glioma Groups Based on 1p/19q, IDH, and TERT Promoter Mutations in Tumors. *Engl J Med.* 2015;372(26):2499-508.

### **2.3.6 EGFR a EGFRvIII**

Gen receptoru epiteliální růstového faktoru (EGFR) kóduje tyrozin-kinázový receptor na povrchu buňky, který patří do drah regulující proces proliferace. Cca 50 % primárních a méně než 10 % sekundárních GBM má mutaci EGFR (1). Dále přibližně 40 % primárních GBM je také nositelem amplifikace EGFR genu a naopak cca 50 % GBM s amplifikací EGFR má mutaci tohoto genu (12, 3, 4). Nadto 10–60 % primárních GBM, především velká část nádorů s EGFR amplifikací, má mutaci EGFR genu varianty III (EGFRvIII), která je typická pro malobuněčný formu GBM. Jde o mutační změnu, která vede ke konstantní autoaktivaci receptoru (5), ale která je však pozdní událostí následující až po amplifikaci EGFR (6). Další možností je, že dlouhodobá exprese EGFRvIII může být spojena s diferenciací nádorových buněk, či s vývojovým stádiem GBM (7). Jak fokální EGFR amplifikace, tak i EGFR mutace (EGFRvIII mutace, missense mutace) postihují extracelulární doménu (8,9). Vlastní EGFRvIII mutace je výsledkem iatrogenní genového přeskupení vznikající delecí vnitřní kostry exonů 2–7, která kóduje část

extracelulární domény tohoto receptorového proteinu (10, 11, 12). U gliomových buněk je ektopická overexprese EGFRvIII schopna autofosforylací aktivovat Shc-Grb2-Ras a fosfatidylinositol 3-kinase/Akt (PI3-K) dráhu (13, 14), zvyšovat tumorogenicitu nádoru (13), indukovat buněčnou proliferaci (14) a blokovat apoptózu cestou modulace genové exprese Bcl-XI (15). Efekt overexprese EGFRvIII a wild-typu EGFR není totožný. Přesto oba proteiny bývají detekovány v buněčném jádře, kde koordinují transkripční a signální dráhy podporující buněčnou proliferaci a opravu genomu DNA (16). EGFRvIII se vyskytuje vždy jen v určité frakci GBM buněk (17) a i malý počet EGFRvIII- pozitivních GBM buněk je schopná ovlivňovat jak nádorové, tak i nenádorové buňky. Jedna studie potvrdila, že EGFRvIII je schopna pomocí parakrinních mechanismů spustit proliferaci buněk s wild-typem EGFR. Gliomové buňky exprimující EGFRvIII produkují cytokiny, jako jsou IL-6 a leukemický inhibiční faktor, které moduluji aktivaci cytokin-koreceptoru gp130, čímž, indukují expresi EGFR wild-typu v sousedních buňkách (18). Právě intratumorózní heterogenita a kooperace mezi nádorovými i nenádorovými buňkami může být klíčem k vysvětlení funkce EGFRvIII.

Prognostický význam EGFR mutace není přesněji určen. Zvýšená EGFR-zprostředkovaná buněčná signalizace se vyskytuje u 30 % gliomů a u 60 % GBM (19, 20). V TCGA projektu identifikovali alteraci a amplifikaci EGFR u 45 % GBM [8]. Některé studie odhalily amplifikaci, či mutaci EGFR, především EGFRvIII, (vč. overexprese) jako negativní prognostický faktor (21), zatímco jiné žádnou korelaci mezi přežíváním a postižením EGFR nenalezly (22, 23, 24). Několik prací ukázalo, že EGFR amplifikace se pojí se zlepšením přežívání u starších pacientů (25, 26). Samotný EGFRvIII je u GBM často považován za prediktor špatné prognózy (11, 27, 28) a zvýšené radio a chemorezistence (29, 30). Zajímavostí je, že při hodnocení GBM pacient pomocí škály RTOG-RAP byl prediktivní efekt EGFRvIII potvrzen (31).

## **Literatura**

1. Wong AJ, Ruppert JM, Bigner SH, et al. Structural alterations of the epidermal growth factor receptor gene in human gliomas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992.89:2965–9.
2. Hurtt MR, Moossy J, Donovan-Peluso M, et al. Amplification of epidermal growth factor receptor gene in gliomas: histopathology and prognosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 1992.51:84–90.

3. Jaros E, Perry RH, Adam L, et al. Prognostic implications of p53 protein, epidermal growth factor receptor, and Ki-67 labelling in brain tumours. *Br J Cancer* 1992. 66:373–85.
4. Schlegel J, Merdes A, Stumm G, et al. Amplification of the epidermal-growthfactor-receptor gene correlates with different growth behaviour in human glioblastoma. *Int J Cancer J Int Cancer* 1994. 56:72–7.
5. Korshunov A, Ryzhova M, Hovestadt V, et al. Integrated analysis of pediatric glioblastoma reveals a subset of biologically favorable tumors with associated molecular prognostic markers. *Acta Neuropathol* 2015.129:669–78.
6. Perry A, Aldape KD, George DH, et al. Small cell astrocytoma: an aggressive variant that is clinicopathologically and genetically distinct from anaplastic oligodendroglioma. *Cancer* 2004.101:2318–26.
7. Stockhausen MT, Broholm H, Villingshoj M, et al. Maintenance of EGFR and EGFRvIII expressions in an in vivo and in vitro model of human glioblastoma multiforme. *Exp Cell Res* 2011.317:1513–26.
8. Cancer Genome Atlas Research N. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. *Nature* 2008.455:1061–8.
9. Lee JC, Vivanco I, Beroukhim R, et al. Epidermal growth factor receptor activation in glioblastoma through novel missense mutations in the extracellular domain. *PLoS Med* 2006 3:e485.
10. Ekstrand AJ, Sugawa N, James CD, et al. Amplified and rearranged epidermal growth factor receptor genes in human glioblastomas reveal deletions of sequences encoding portions of the N- and/or C-terminal tails. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992.89:4309–13.
11. Heimberger AB, Hlatky R, Suki D, et al. Prognostic effect of epidermal growth factor receptor and EGFRvIII in glioblastoma multiforme patients. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2005.11:1462–6.
12. Shinojima N, Tada K, Shiraishi S, et al. Prognostic value of epidermal growth factor receptor in patients with glioblastoma multiforme. *Cancer Res* 2003.63:6962–70.
13. Huang HS, Nagane M, Klingbeil CK, et al. The enhanced tumorigenic activity of a mutant epidermal growth factor receptor common in human cancers is mediated by



threshold levels of constitutive tyrosine phosphorylation and unattenuated signaling. *J Biol Chem* 1997.272:2927–2935.

14. Narita Y, Nagane M, Mishima K, et al. Mutant epidermal growth factor receptor signaling down-regulates p27 through activation of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway in glioblastomas. *Cancer Res* 2002.62:6764–9.
15. Nagane M, Levitzki A, Gazit A, et al. Drug resistance of human glioblastoma cells conferred by a tumor-specific mutant epidermal growth factor receptor through modulation of Bcl-XL and caspase-3-like proteases. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998.95:5724–9.
16. Wang SC, Hung MC. Nuclear translocation of the epidermal growth factor receptor family membrane tyrosine kinase receptors. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2009.15:6484–9.
17. Nishikawa R, Sugiyama T, Narita Y, et al. Immunohistochemical analysis of the mutant epidermal growth factor, deltaEGFR, in glioblastoma. *Brain Tumor Pathol* 2004.21:53–6.
18. Inda MM, Bonavia R, Mukasa A, et al. Tumor heterogeneity is an active process maintained by a mutant EGFR-induced cytokine circuit in glioblastoma. *Genes Dev* 2010.24:1731–45.
19. Humphrey PA, Wong AJ, Vogelstein B, et al. Amplification and expression of the epidermal growth factor receptor gene in human glioma xenografts. *Cancer Res*. 1988; 48:2231–8.
20. Agosti RM, Leuthold M, Gullick WJ, et al. Expression of the epidermal growth factor receptor in astrocytic tumours is specifically associated with glioblastoma multiforme. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*. 1992; 420:321–5.
21. Labussière M, Boisselier B, Mokhtari K, et al. Combined analysis of TERT, EGFR, and IDH status defines distinct prognostic glioblastoma classes. *Neurology* 2014. 83:1200–6.
22. Hartmann C, Hentschel B, Simon M, et al. Long-term survival in primary glioblastoma with versus without isocitrate dehydrogenase mutations. *Clin Cancer Res* 2013. 19:5146–57.

23. Huncharek M, Kupelnick B. Epidermal growth factor receptor gene amplification as a prognostic marker in glioblastoma multiforme: results of a meta-analysis. *Oncol Res.* 2000; 12:107–12;
24. Heimberger AB, Suki D, Yang D, et al. The natural history of EGFR and EGFRvIII in glioblastoma patients. *J Transl Med.* 2005; 3:38.
25. Simmons ML, Lamborn KR, Takahashi M, et al. Analysis of complex relationships between age, p53, epidermal growth factor receptor, and survival in glioblastoma patients. *Cancer Res.* 2001; 61:1122–8.
26. Smith JS, Tachibana I, Passe SM, et al. PTEN mutation, EGFR amplification, and outcome in patients with ana-plastic astrocytoma and glioblastoma multiforme. *J Natl Cancer Inst.* 2001; 93:1246–56.
27. Aldape KD, Ballman K, Furth A, et al. Immunohistochemical detection of EGFRvIII in high malignancy grade astrocytomas and evaluation of prognostic significance. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2004; 63:700–7.
28. Liu L, Backlund LM, Nilsson BR, et al. Clinical significance of EGFR amplification and the aberrant EGFRvIII transcript in conventionally treated astrocytic gliomas. *J Mol Med.* 2005; 83:917–26.
29. Chakravarti A, Chakladar A, Delaney MA, et al. The epidermal growth factor receptor pathway mediates resistance to sequential administration of radiation and chemotherapy in primary human glioblastoma cells in a RAS-dependent manner. *Cancer Res.* 2002; 62:4307–15;
30. Wepler SA, Li Y, Dubois L, et al. Expression of EGFR variant vIII promotes both radiation resistance and hypoxia tolerance. *Radiother Oncol.* 2007; 83:333–9.
31. Pelloski CE, Ballman KV, Furth AF, et al. Epidermal growth factor receptor variant III status defines clinically distinct subtypes of glioblastoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2007.25:2288–94.

### **2.3.7 p53, MDM2, CDK2A(p16)**

p53 protein je kódován tumor-supresorovým genem TP53 lokalizovaný na 17p13 (1, 2). Protein se podílí na regulaci buněčného cyklu, apoptóze, diferenciaci buněk, obnově buněk a dalších procesech, kterými reagují buňky na poškození DNA (3, 4). TP53 je

nejčastěji mutovaným genem u GBM, nalézaným u 28 % primárních a 65 % sekundárních GBM (5). Existují 3 typy mutací pojící se změnou funkce p53: 1) ztráta funkce, při které je ztracen endogenní růstově inhibiční účinek wild-typu p53; 2) zisk funkce, kdy mutovaný p53 reguluje jiné skupiny genů než původní wild-typ p53; 3) dominantně negativní efekt, kdy se mutovaný p53 vytváří tetramer s wild-typem p53, což vede k útlumu aktivity (6). Mezi další mechanismy vedoucí k inaktivaci p53 patří alterace genů, který i fyziologicky zpětnovazebně ovlivňují jeho funkci, jako je amplifikace a overexprese MDM2, nebo delece p14ARF (7, 8). Z TCGA vyplynulo, že alterace p53 dráhy (ARF/MDM2/MDM4/p53) se nalézá u 78 % GBM (9). Některé studie ukazovaly, že overexprese p53 zlepšuje prognózu (10, 11, 12); jiné práce ukázaly jen omezený vliv p53 statu na klinické výsledky (13, 14, 15). Dle jiné práce, mutovaný p53 zvyšuje rezistenci k radiochemoterapii u mnoha nádorů, včetně GBM (16). Dle jiné experimentální studie, alterace exprese p53 vede ke zvýšení sensitivity k temozolomidu (17). Status p53 se může pojit s dalšími prognostickými markéry; např. mutace TP53 se pojí s nízkou expresí MGMT mRNA (18), přestože nekoreluje s výskytem metylace promotoru MGMT (19). Důvodem nejasností ohledně vlivu p53 statu na prognózu u GBM je mnoho. Jde především o složitost p53 signální a dalších regulačních drah, které mohou být alterovány (Rb, MDM2 apod.), dále i heterogenita mutací u p53, vč. jejich efektů. Tyto skutečnosti velmi limitují výsledky klinické studií zaměřených na funkci p53 u GBM (20).

Gen CDKN2A, lokalizovaný na 9p21 je u GBM je velmi často homozygotně deletován. CDKN2A kóduje jak Ink4A, tak Arf proteiny (např. p16), které jsou kruciálními aktivátory Rb a TP53 (21, 22, 23, 24).

## **Literatura**

1. Louis DN. The p53 gene and protein in human brain tumors. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1994; 53:11–21.
2. Nozaki M, Tada M, Kobayashi H, et al. Roles of the functional loss of p53 and other genes in astrocytoma tumorigenesis and progression. *Neuro Oncol.* 1999; 1:124–37.
3. Vousden KH, Prives C. Blinded by the light: the growing complexity of p53. *Cell.* 2009; 137:413–31.
4. Zhao T, Xu Y. p53 and stem cells: new developments and new concerns. *Trends Cell Biol.* 2010; 20:170–5.

5. Ohgaki H, Kleihues P: Genetic profile of astrocytic and oligodendroglial gliomas. *Brain Tumor Pathol* 2011.28:177–83.
6. England B, Huang T, Karsy M: Current understanding of the role and targeting of tumor suppressor p53 in glioblastoma multiforme. *Tumour Biol* 2013.34:2063–74.
7. Biernat W, Kleihues P, Yonekawa Y, et al. Amplification and overexpression of MDM2 in primary (de novo) glioblastomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 1997.56:180–5.
8. Nakamura M, Watanabe T, Klangby U, et al. p14ARF deletion and methylation in genetic pathways to glioblastomas. *Brain Pathol* 2001.11:159–68.
9. Cancer Genome Atlas Research Network: Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. *Nature* 2008.455:1061–8.
10. Malkoun N, Chargari C, Forest F, et al. Prolonged temozolomide for treatment of glioblastoma: preliminary clinical results and prognostic value of p53 overexpression. *J Neurooncol* 2012.106:127–33.
11. Rich JN, Hans C, Jones B, et al. Gene expression profiling and genetic markers in glioblastoma survival. *Cancer Res* 2005.65:4051–8.
12. Ruano Y, Ribalta T, de Lope AR, et al. Worse outcome in primary glioblastoma multiforme with concurrent epidermal growth factor receptor and p53 alteration. *Am J Clin Pathol* 2009.131:257–63.
13. Felsberg J, Rapp M, Loeser S, et al. Prognostic significance of molecular markers and extent of resection in primary glioblastoma patients. *Clin Cancer Res* 2009.15:6683–93.
14. Houillier C, Lejeune J, Benouaich-Amiel A, et al. Prognostic impact of molecular markers in a series of 220 primary glioblastomas. *Cancer* 2006.106:2218–23.
15. Stancheva G, Goranova T, Laleva M, et al. IDH1/IDH2 but not TP53 mutations predict prognosis in Bulgarian glioblastoma patients. *Biomed Res Int* 2014:654727.
16. Karsy M, Albert L, Murali R, et al. The impact of arsenic trioxide and all-trans retinoic acid on p53 R273H codon mutant glioblastoma. *Tumour Biol* 2014.35:4567–80.
17. Blough MD, Beauchamp DC, Westgate MR, et al. Effect of aberrant p53 function on temozolomide sensitivity of glioma cell lines and brain tumor initiating cells from glioblastoma. *J Neurooncol* 2011.102:1–7.

18. Rolhion C, Penault-Llorca F, Kemeny JL, et al. O(6)-methylguanine-DNA methyltransferase gene (MGMT) expression in human glioblastomas in relation to patient characteristics and p53 accumulation. *Int J Cancer*. 1999; 84:416–20.
19. Criniere E, Kaloshi G, Laigle-Donadey F, et al. MGMT prognostic impact on glioblastoma is dependent on therapeutic modalities. *J Neurooncol*. 2007; 83:173–9.
20. England B, Huang T, Karsy M: Current understanding of the role and targeting of tumor suppressor p53 in glioblastoma multiforme. *Tumour Biol* 2013.34:2063–74.
21. Cairncross JG, Ueki K, Zlatescu MC, et al. Specific genetic predictors of chemotherapeutic response and survival in patients with anaplastic oligodendrogliomas. *J Natl Cancer Inst* 1998. 90:1473–9.
22. Parsons DW, Jones S, Zhang X, et. al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science* 2008.321:1807–12.
23. Paugh BS, Qu C, Jones C, et al. Integrated molecular genetic profiling of pediatric high-grade gliomas reveals key differences with the adult disease. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2010; 28:3061-8.
24. Ueki K, Ono Y, Henson JW, et al. CDKN2/p16 or RB alterations occur in the majority of glioblastomas and are inversely correlated. *Cancer Res* 1996; 56:150–3.
25. Hulleman E, Helin K. Molecular mechanisms in glioma-genesis. *Adv Cancer Res*. 2005; 94:1–27.
26. Furnari FB, Fenton T, Bachoo RM, et al. Malignant astrocytic glioma: genetics, biology, and paths to treatment. *Genes Dev*. 2007; 21:2683–710.
27. Ohgaki H, Kleihues P. Genetic pathways to primary and secondary glioblastoma. *Am J Pathol*. 2007; 170:1445–53.
28. Ang C, Guiot MC, Ramanakumar AV, et al. Clinical significance of molecular biomarkers in glioblastoma. *Can J Neurol Sci*. 2010; 37:625–30.

### **2.3.8 CCND1**

Cyklin D1 je kódován genem CCND1, lokalizovaným na 11q13. Jde o kriticky důležitý regulační protein G1-S fáze buněčného dělení. Cyklin D1 reguluje progresí buněčného cyklu aktivací cyklin dependentní kinázy 4 (CDK4) a cyklin dependentní kinázy 6 (CDK6), u kterých se mění fosforylace retinoblastomovým (Rb) proteinem. Fosforilace

Rb proteinem uvolňuje transkripční faktor E2F, který potom aktivuje mnoho genů potřebných pro spuštění buněčného cyklu. Tato událost vede k progresi buněčného cyklu přes G1/S přechod (1, 2, 3) a ke kumulaci a šíření neopravené DNA a genetických chyb a vytváření selektivní růstové výhod pro takto poškozené buňky (4, 5, 6).

Germinální variabilita cyklinu D1, nejčastěji ve formě nukleotidového polymorfismu (single nucleotide polymorphisms, SNPs) může alterovat funkci i aktivitu genu cyklinu D1. Betticher et al identifikoval G870A polymorfismus na exonu 4 genu CCND1 (7). Tento polymorfismus nezapřičiňuje záměnu aminokyselin, ale CCND1 mRNA je alternativně rozštěpeny, takže produkuje 2 transkripcce. CCND1 G870 alela rozštěpuje transkripci „a“, zatímco CCND1 G870A alela hlavně rozštěpuje transkripci „b“. U proteinů kódovaných transkripcí b (cyklin D1b) chybí degradační signál, kódovaným exonem 5 a proto mají delší poločas a více deregulují buněčné dělení.

Výsledkem alterace CCND1 genu je rozdílná individuální náchylnost k vývoji nádorů (8). Jedna z posledních prací potvrdila výrazně zvýšenou expresi cyklinu D1 u HGG, oproti LGG či normální mozkové tkáni (9). Původně několik prací jednoznačně neprokázalo spojení mezi rizikem vzniku gliomu a CCND1 polymorfismem (10, 11, 12). Nakonec jedna z posledních prací (13) našla u gliomů vyšší frekvenci alely G870A. Nositelé alely A mají 3,926krát vyšší riziko vzniku gliomu, tedy mnohem větší než nositelé jiných alel.

## **Literatura**

1. Knudsen KE. The cyclin D1b splice variant: an old oncogene learns new tricks. *Cell division* 2006; 1: 15.
2. Huang M, Spitz MR, Gu J, et al. Cyclin D1 gene polymorphism as a risk factor for oral premalignant lesions. *Carcinogenesis* 2006; 27: 2034-7.
3. Cortessis VK, Siegmund K, Xue S, et al. A case-control study of cyclin D1 CCND1 870A--> G polymorphism and bladder cancer. *Carcinogenesis* 2003; 24: 1645-50.
4. Akkiz H, Bayram S, Bekar A, et al. Cyclin D1 G870A polymorphism is associated with an increased risk of hepatocellular carcinoma in the Turkish population: case-control study. *Cancer epidemiol* 2010; 34: 298-302.

5. Zheng Y, Shen H, Sturgis EM, et al. Cyclin D1 polymorphism and risk for squamous cell carcinoma of the head and neck: a case-control study. *Carcinogenesis* 2001; 22: 1195-9.
6. Sawa H, Ohshima TA, Ukita H, et al. Alternatively spliced forms of cyclin D1 modulate entry into the cell cycle in an inverse manner. *Oncogene* 1998; 16: 1701-12.
7. Betticher DC, Thatcher N, Altermatt HJ, et al. Alternate splicing produces a novel cyclin D1 transcript. *Oncogene* 1995; 11: 1005-11.
8. Dai J, Zhang PH, Liu PS, et al. Expressions and significance of cyclinD1 in epithelial ovarian cancer cell 3AO. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi. J* 2012; 92: 351-3.
9. Qu DW, Xu HS, Han XJ, et al. Expression of cyclinD1 and Ki-67 proteins in gliomas and its clinical significance. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2014;18(4):516-9.
10. Chen X, Zhao T, Li L, et al. CCND1 G870A polymorphism with altered cyclin D1 transcripts expression is associated with the risk of glioma in a Chinese population. *DNA Cell Biol* 2012.31: 1107-13.
11. Rajaraman P, Wang SS, Rothman N, et al. Polymorphisms in apoptosis and cell cycle control genes and risk of brain tumors in adults. *Cancer Epidemiol Bio Prev* 2007; 16: 1655-61.
12. Zeybek U, Yaylim I, Ozkan NE, et al. Cyclin D1 gene G870A variants and primary brain tumors. *Asian Pac J Cancer prev* 2013; 14: 4101-6.
13. Liu H, Song Z, Liao DG, et al. Cyclin D1 G870A polymorphism and glioma risk in a Chinese population. *Int J Clin Exp Med.* 2015.8(6):9991-5.

### **2.3.9 BRAF**

Gen BRAF se nachází na 7q34. Aktivující missense mutace v BRAF hotspot kodonu 600 (nejčastěji V600E) jsou typické pro některé neuroepiteliální nádory, včetně pilocytárních astrocytomů, pleomorfních xanthoastrocytomu a jedné třetiny gangliogliomů (1). U GBM byla BRAF mutace detekována přibližně v 5 % případů (1, 2). Vyšší frekvence BRAF mutace (~50 %) byla popsána u tzv. epiteloidního GBM, které se vyskytuje především u dětí a mladých dospělých (3).

### **Literatura**

1. Schindler G, Capper D, Meyer J, et al. Analysis of BRAF V600E mutation in 1,320 nervous system tumors reveals high mutation frequencies in pleomorphic xanthoastrocytoma, ganglioglioma and extra-cerebellar pilocytic astrocytoma. *Acta Neuropathol* 2011;121:397–405.
2. Knobbe CB, Reifenberger J, Reifenberger G. Mutation analysis of the Ras pathway genes NRAS, HRAS, KRAS and BRAF in glioblastomas. *Acta Neuropathol* 2004;108:467–70.
3. Kleinschmidt-DeMasters BK, Aisner DL, Birks DK, et al. Epithelioid GBMs show a high percentage of BRAF V600E mutation. *Am J Surg Pathol* 2013;37:685–98.



## **3 Diagnostika gliálních nádorů**

### **3.1 Klinické příznaky**

Přítomnost intrakraniálních afekcí může způsobovat jak systémové, tak lokální symptomy. Nejčastěji se jedná o bolesti hlavy vyvolané buď samotnou nádorovou masou s perifokálním edémem, nebo útlakem likvorových cest za vzniku hydrocefalu. Bolesti hlavy mohou být v akutní fázi doprovázené vegetativními příznaky, nauzeou či zvracením, v případě dramatické progresy až poruchou vědomí. Příznaky systémové mohou být doprovázené lokálními příznaky, projevujícími se na základě lokalizace expanze.

#### **3.1.1 Epileptické záchvaty**

Epileptické záchvaty patří mezi nejčastější první projev difuzních, LGG v porovnání s ostatními mozkovými tumory. Označují se jako epileptické záchvaty asociované s tumorem (BTRE – brain tumour related epilepsy). Mohou být přítomny již ve fázi, kdy lze na MR diferencovat pouze diskrétní patologické změny (1). Výrazně vyšší riziko jejich vzniku je u gliomů, které jsou lokalizované kortikálně a subkortikálně či juxtakortikálně a pravděpodobnost proti gliomům v oblasti centrálních struktur je mnohonásobně vyšší (1). Projevují se jako parciální záchvaty motorické, senzitivní, nebo sensorické. Komplexní záchvaty se projevují alterací vědomí. Jak parciální, tak komplexní záchvaty mohou sekundárně generalizovat. Není taktéž výjimkou, že generalizované tonicko-klonické křeče jsou prvním příznakem intrakraniální expanze (2).

Na vznik záchvatu má vliv nejen věk pacienta, lokalizace či velikost léze ale taktéž histologické vlastnosti a zejména biologické chování tumoru. U pacientů starších 60 let se záchvaty vyskytly v 47 % oproti 85 % v mladší věkové kategorii. Dle publikace Duffaua bylo zjištěno, že LGG větších rozměrů se spíše projevují záchvaty než jinými symptomy, a to zejména proti HGG, kde je to právě naopak (2).

Stejná práce pak popisuje i vyšší četnost vzniku farmako-rezistentních epileptických záchvatů, pokud je expanze lokalizována v oblasti mesiotemporální či v oblasti insulárního laloku.

## **3.2 Zobrazovací metody**

Základními zobrazovacími metodami pro identifikace intrakraniálních lézí jsou již několik dekád počítačová tomografie (computed-tomography, CT) a magnetická rezonance (magnetic resonance imaging, MRI). V případě intraaxiálních nádorů je CT vyšetření pouze orientační, zobrazující expanzi, která je na nativním obraze hypodenzní či izodenzní. Je prováděno na urgentních příjmech, kdy je pacient akutně došetřován pro náhle vzniklý neurologický deficit, nebo pro prvně proběhlý epi-paroxysmus. V ojedinělých případech lze na CT vidět hyperdenzní ložiska signalizující přítomnost kalcifikací typických pro nádory oligodendrogliální řady, či ložiska intratumorózního krvácení. Pro jasnou diferenciaci expanze a její rozlišení na ev. nízkostupňovou či vysokostupňovou lézi je nutné provedení MR s jasně definovanými sekvencemi. Rozlišujeme základní a pokročilé sekvence MR. Mezi základní patří sekvence morfologické neboli anatomické. Podávají informace o morfologii léze a jsou prováděny na počátku vyšetření. Patří zde T1 vážené sekvence (T1W) bez podání a s podáním kontrastní látky (KL), dále T2 vážená sekvence (T2W), T2 vážená sekvence s potlačením signálu vody (fluid attenuated inversion recovery – FLAIR).

### **3.2.1 Difuzní nízkostupňové gliomy**

Na MR se LGG zobrazují jako homogenní léze, bez jasných okrajů. Na T1 vážených skenech se zobrazují jako hyposignální útvary, bez postkontrastního sycení po podání kontrastní látky. Na T2 vážených skenech jsou hypersignální

### **3.2.2 Vysokostupňové gliomy**

V nativním obraze jsou HGG patrné jako izosignální až hyposignální léze v T1 vážených sekvencích bez podání kontrastní látky. Podobně jako u nízkostupňových gliomů, i v případě lézí vyššího stupně se tyto zobrazují v T2 vážených skenech jako léze hypersignální expanze. V okolí se nachází splývavé ložisko perifokálního edému, které je dobře diferencovatelné na FLAIR sekvenci. Zásadní rozdíl proti lézím nižšího stupně nacházíme po podání kontrastní látky, kde dochází k variabilnímu nasycení částí expanze. Typickým je pak pro GBM sycení okraje nádoru, tvořící anulární obraz „ring-sign“. Obraz je daný narušením hematoencefalické bariéry na okraji nádoru.

### 3.2.3 Brain Tumor Imaging Protocol

Pro MRI zobrazení nádorů mozku existuje celá řada doporučení, ale k nejlépe propracovaným algoritmům patří Brain Tumor Imaging Protocol (BTIP). Tento protokol umožňuje porovnávat a hodnotit výsledky mezi různými pracovišti, či dokonce mezi různými studii.

Jako doporučené minimum MRI sekvencí patří:

- 1) předkontrastní a postkontrastní T1 – vážené skeny
- 2) axiální 2D T2 – vážené skeny, získané před a po kontrastním 3D T1–váženým zobrazením ke kontrole načasování snímků po podání kontrastní látky
- 3) předkontrastní, axiální 2D T2– vážené „fluid attenuated inversion recovery“ (FLAIR),
- 4) předkontrastní axiální 2D, 3D difuzně-vážené zobrazení.

Doporučení platí jak pro 1,5 T, tak pro 3 T MRI systémy (3).

### 3.2.4 Traktografie a funkční magnetická rezonance

Patří mezi pokročilé zobrazovací metody, které se používají zejména v předoperačním plánování v neurochirurgii. Využívají se k zobrazení nervových drah bílé hmoty mozku a funkčních částí mozku.

Získ traktografických dat je založený na provedení difuzního zobrazení mozku. Na základě změny difuze a směru difuze vody lze pravděpodobnostně či deterministicky rekonstruovat nervové dráhy. Je nutné si uvědomit, že tato metoda není bezchybná a 100%. V případě neurochirurgických výkonů se využívá deterministická traktografie, a vychází z nutných znalostí anatomie a předpokládaného průběhu jednotlivých drah bílé hmoty mozku (4).

Její praktické využití spočívá v předoperačním plánování a zobrazuje lokalizaci drah vůči nádorové expanzi. Tím umožňuje přípravu operačního výkonu se snížením komplikací. Využívá se také peroperačně, za využití neuronavigace, do které jsou snímky drah nahrány. Je tedy možné využít peroperační zobrazení během operačního výkonu, a tím snížit peroperační komplikace.

Funkční magnetická rezonance umožňuje zobrazení funkčních částí mozku a je založena na poměru mezi oxyhemoglobinem a deoxyhemoglobinem, ke kterému dochází při funkční aktivaci nervové tkáně (5). Signál, který se snímá během vyšetření magnetickou

rezonanci tak nepřináší přímé informace o neuronální aktivitě, nýbrž informaci nepřímou. Nutná je taktéž dostatečná spolupráce pacienta, který během operačního výkonu musí provádět úkony, které odpovídají jednotlivým funkčním zónám, nutným k evaluaci před operačním výkonem.

Níže uvádíme přehledně technická data ohledně traktografie a taktéž návrh úloh, které pacient musí provádět při vyšetření funkční magnetickou rezonancí. Jsou využívány při předoperačním provádění snímků ve Fakultní nemocnici Olomouc (Siemens MAGNETOM Vida 3T, Siemens Healthcare, Erlangen, Germany).

### Traktografie

<b>Sekvence</b>	<b>localizer</b>
	T2 tra FLAIR
	Field maps
	BOLD
	DWI PA (8 b0)
	DWI AP (64 b1000 + 8 b0)
	T1 3D Mprage
	T1 3D Mprage s Gd
<b>DWI</b>	
FOV [mm]	200 x 200
Voxel [mm]	2x2x2
Matrice	100 x 100
Počet řezů	60
TR [ms] (PA/AP)	2500/3700
TE [ms]	92

## Funkční MR

<b>Eprime skript/Stopa</b>	<b>Úloha</b>
5 minut blok 30-30s	VFT
5 minut blok 30-30s	Propoziční řeč/Speech
3 minut blok 30-30s	Poslech příběhu/Story
	DWI
3 minut blok 15-15s	Pohyb PHK
3 minut blok 15-15s	Pohyb PDK
3 minut blok 15-15s	Pohyb jazyka
3 minut blok	Zraková stimulace
3 minut blok 15-15s	“Walking” - memory
5 minut blok	Obrázky/Neobrázky

## Literatura

1. Smits A, Duffau H. Seizures and the natural history of World Health Organization grade II gliomas: a review. *Neurosurgery* 2011; 68 (5): 1326–1333.
2. Ruda R, Bello L, Duffau H et al. Seizures in low-grade gliomas: natural history, pathogenesis, and outcome after treatments. *Neuro Oncol* 2012; 14: 55–64. doi: 10.1093/neuonc/nos199.
3. Ellingson BM, Bendszus M, Boxerman J, et. Consensus recommendations for a standardized Brain Tumor Imaging Protocol in clinical trials. *Neuro Oncol*. 2015 Sep;17(9):1188-98.
4. Basser - Basser PJ, Mattiello J, LeBihan D. MR diffusion tensor spectroscopy and imaging. *Biophys J*. 1994; 1: 259–267.
5. Ogawa - Ogawa S, Lee TM, Kay AR, Tank DW. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1990; 24: 9868–9872.

## **4 Léčba gliálních nádorů**

### **4.1 Chirurgická resekce**

Neurochirurgický výkon je základním léčebným přístupem u všech mozkových nádorů. Radikalita výkonu je rozhodujícím prognostickým faktorem zvl. u gliomů.

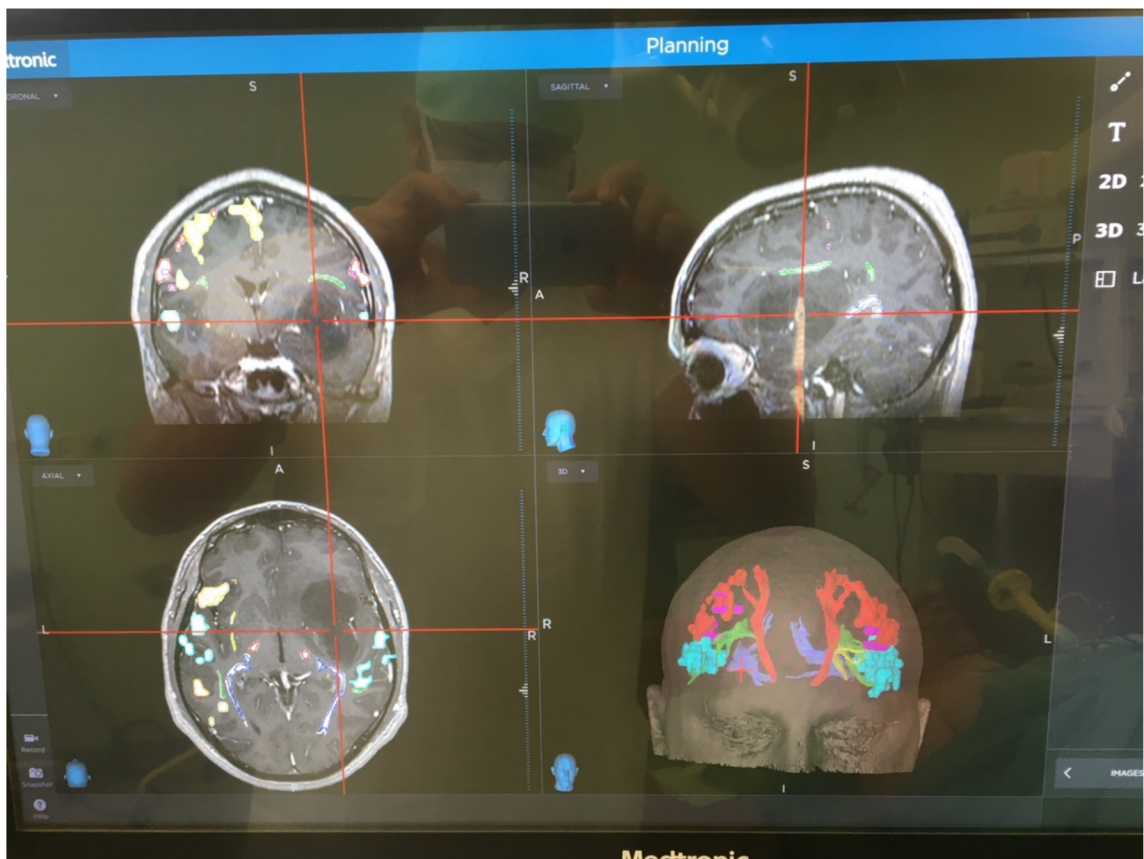
Chirurgický výkon je nezbytný pro získání tkáně k histologické a molekulárně genetické analýze. Některé záněty, infekce a demyelinizační onemocnění lze obtížně odlišit od difuzních gliomů a histologická verifikace je zde nezastupitelná. Benefity chirurgické terapie oproti aktivnímu sledování jsou v současnosti již jasně literárně doloženy. Podrobněji se tomu věnujeme v praktické části dizertační práce na vlastním souboru pacientů včetně diskuse.

V podkapitolách uvádíme technologické možnosti, které v dnešní době výrazným způsobem usnadňují chirurgickou resekci a zlepšují její rozsah.

Pozn.: Obrazový materiál je z archivu autora.

#### **4.1.1 Neuronavigace**

System využíváný neurochirurgy v běžné praxi a spočívá v peroperačním zobrazení struktur na obrazovce, na základě před operací pořízeného MR snímku. Umožňuje orientaci v prostoru, při hledání menších lézí, nebo při plánování kraniotomie či operačního přístupu a umožňuje minimalizaci invazivity při provádění kraniotomie. Její zásadní nevýhodou je tzv. „shift“ mozkové tkáně, po provedené durotomii, díky úniku mozkomíšního moku. I tak je neocenitelným pomocníkem a je rutinně využívána. Existují však zobrazovací vyšetření, které jsme schopni využít a kompenzovat tímto posun mozkové tkáně „real-time“.



Obrázek 1: Snímek z peroperační neuronavigace u pacienta s low grade gliomem insuly

#### 4.1.2 Intraoperační magnetická rezonance (iMRI)

Vyšetření magnetickou rezonancí je v dnešní době považováno za zlatý standard diagnostiky gliálních nádorů mozku. Její intraoperační varianta umožňuje kompenzaci a zejména aktualizaci navigačních dat, v případě užití peroperační neuronavigace. Jejím hlavním přínosem je však peroperační zhodnocení přítomného rezidua GBM umožňující tak výrazně zvýšit celkovou radikalitu resekce. Její nevýhodou jsou vysoké nároky stavební a finanční.

#### 4.1.3 Intraoperační ultrasonografie

Je to levná a bezpečná metoda k upřesnění anatomické lokalizace během operačního výkonu. Podobně jako iMR umožňuje zohlednění kompenzace shiftu mozkové tkáně a aktualizaci dat v neuronavigaci. Na rozdíl od rezonance zde však hrají poměrně zásadní roli „learning curve“ neurochirurga a jeho zkušenosti s vyhodnocením obrazu.

V roce 2010 Solheim et al. (1) prezentoval jednu z největších studií využití UZ při peroperační resekci u HGG. Gross total resection (GTR) bylo dosaženo u 63 % pacientů. Studie ukázala, že stupeň rozsahu resekce byl velmi závislý na zkušenostech

operátora. V roce 2012 Saether CA et al. se stejnou pracovní skupinou prokázal prodloužení OS u GBM pacientů operovaných s pomocí 3D US techniky (2). Intraoperační ultrasonografie je považována za srovnatelnou s peroperačním MR vyšetřením (3).



Obrázek 2: Intraoperační ultrasonografie při operaci multiformního glioblastomu před resekci

#### 4.1.4 Fluorescence-guided surgery

Využívá se při operacích vysokostupňových gliomů. Spočívá v podání kyseliny 5-aminolevulové (5-ALA) v perorální formě 2,5 až 4 hodiny před operačním výkonem. 5-ALA je vstřebávána buňkami, kde ji enzymy přeměňují na fluorescenční protoporfyrin IX (PPIX). Vzhledem k exogennímu perorálnímu podání a ke zvýšenému vychytávání v buňkách glioblastomu dochází k intracelulární kumulaci protoporfyrinu a emisi fluorescenčního záření v přítomnosti modrého záření mikroskopu v rozmezí 375–475 nm světelného spektra. Průkopníkem ALA řízené resekce je Stummer, který v roce 2009

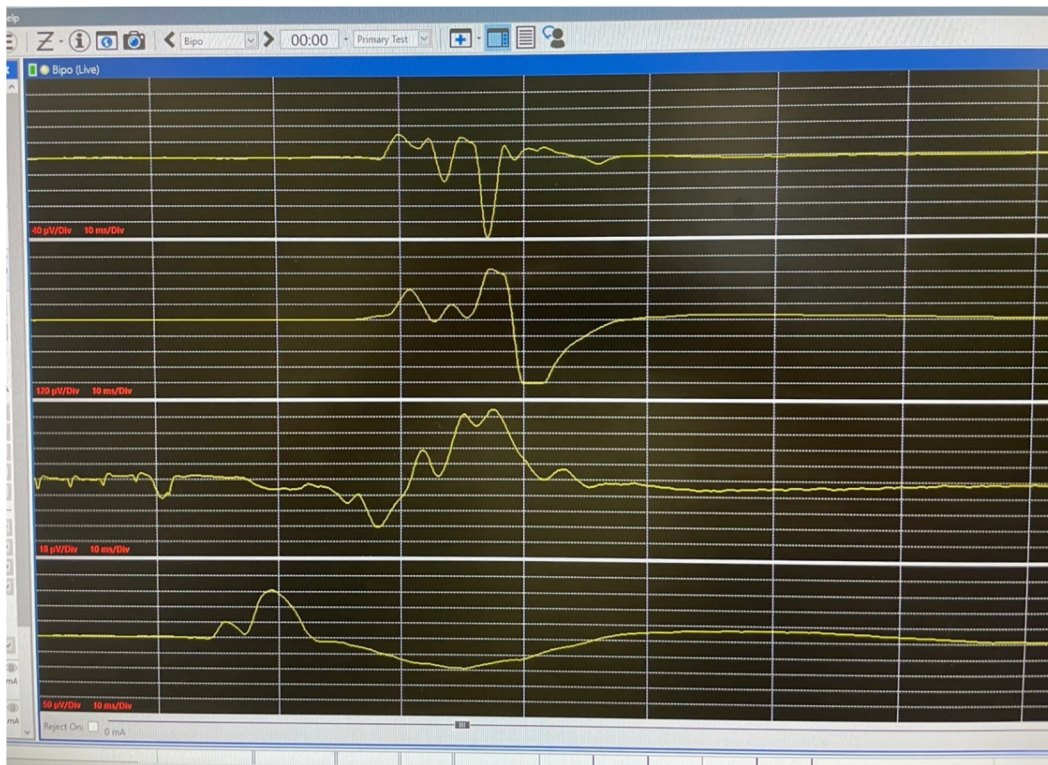


publikoval randomizovanou multicentrickou studii, která porovnávala 5-ALA-řízenou resekci se standardní mikrochirurgií s ohledem na radikalitu resekce. Ve skupině s 5-ALA byla kompletní resekce postkontrastně se sytících nádorů dosaženo v 65 %, proti 36 % ve skupině se standardní mikrochirurgií ( $p < 0.0001$ ) (4).

#### 4.1.5 Intraoperační elektrofyziologie

V dnešní době jeden ze základních pilířů bezpečné resekce, kdy během operačního výkonu provádíme kortikální či subkortikální stimulaci mozkového parenchymu. Využívá se monopolární či bipolární stimulace (obrázek č. 3). Metaanalýza publikovaná De Witt Hamer et al. [DeWITT] hodnotila 8091 pacientů se supratentorialními, infiltrativními gliomy, kteří podstoupili resekci s a bez intraoperačního mapování. Pooperační neurologický deficit se vyskytl dvakrát častěji u pacientů, kteří podstoupili resekci bez intraoperačního mapování (8,2 % (95 % CI, 5,7 to 11,4 %) vs. 3,4 % (95 % CI, 2,3 to 4,8 %)). Nadto intraoperační mapování se pojí s vyšším procentem GTR (75 % (95 % CI, 66–82 %) vs. 58 % (95 % CI, 48–69 %)).

Další možností mapování je taktéž provedení tzv. AWAKE resekce, při kterém je pacient vyveden z celkové anestezie a extubován a provádí se obdobné mapování obnaženého kortexu.



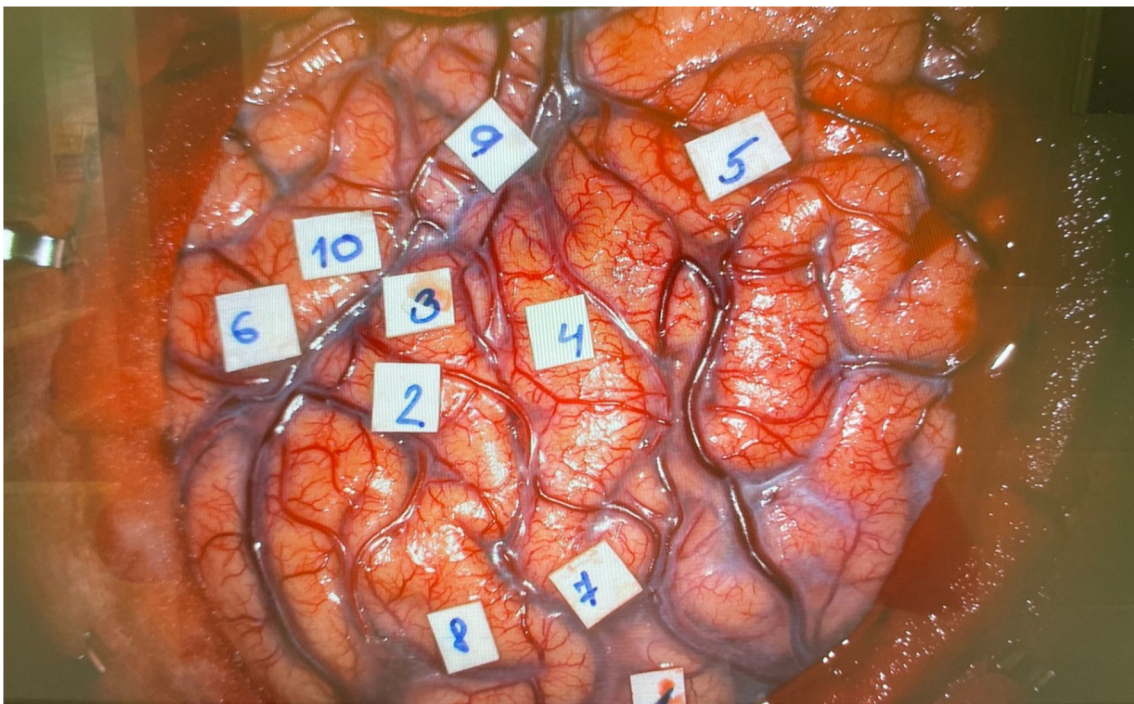
Obrázek 3: Záznam odpovědi intraoperační elektrofyziologie ze svalů horní končetiny

#### 4.1.6 Awake resekce

Operace při vědomí, neboli awake resekce, je považována za jednu z nejspolehlivějších metod monitorování mozkových funkcí během operačního výkonu. První awake resekci vykonal Penfield, při epileptochirurgickém výkonu, dle publikace z roku 1947. (Penfield). Poté docházelo k rozvoji stimulačních technik nejen Penfieldem. Koncem osmdesátých let se zájem o awake kraniotomii opět obnovil a k rozvoji došlo nejdříve v USA zásluhou George Ojemana a Mitchela Bergera a vzápětí pak i v Evropě, kde především Hugues Duffau vypracoval awake kraniotomii do podoby, ve které ji známe dnes.

Během operačního výkonu provádíme kraniotomii, a poté je pacient vyveden z celkové anestezie. Po dostatečném „probrání“ a stabilizaci stavu pacienta nejen stran vědomí ale i kognitivních funkcí následuje vlastní monitorace. Provádíme kompletní stimulaci obnaženého kortexu bipolární stimulací s vyhledáním pozitivní odpovědi (patologický pohyb, změna tonu končetiny, záraz, afázie, sémantická parafázie). Tyto oblasti jsou peroperačně označeny a další resekce probíhá striktně mimo tyto zóny (viz obrázek č. 4).

Během probíhající resekce může být pacient uveden opět do celkové anestezie, anebo jak to využíváme na našem pracovišti, zůstává až do konce operačního výkonu v bdělé fázi.



Obrázek 4: Peroperační fotografie po stimulaci kortexu během AWAKE resekce

## Literatura

1. Solheim O, Selbekk T, Jakola AS, et al. Ultrasound-guided operations in unselected high-grade gliomas--overall results, impact of image quality and patient selection. *Acta Neurochir (Wien)*. 2010 Nov;152(11):1873-86.
2. Sæther CA, Torsteinsen M, Torp SH, Sundstrøm S, Unsgård G, Solheim O. Did survival improve after the implementation of intraoperative neuronavigation and 3D ultrasound in glioblastoma surgery? A retrospective analysis of 192 primary operations. *J Neurol Surg A Cent Eur Neurosurg*. 2012 Mar;73(2):73-8. doi: 10.1055/s-0031-1297247. Epub 2012 Mar 30. PMID: 22467479.
3. Bø HK, Solheim O, Kvistad KA, et al. Intraoperative 3D ultrasound-guided resection of diffuse low-grade gliomas: radiological and clinical results. *J Neurosurg* 2019; 132(2): 518–529. doi: 10.3171/2018.10.JNS181290.
4. Stummer W, Novotny A, Stepp H, et al. Fluorescence-guided resection of glioblastoma multiforme by using 5-aminolevulinic acid-induced porphyrins: a prospective study in 52 consecutive patients. *J Neurosurg*. 2000;93(6):1003–13.

## 4.2 Onkologická léčba

Onkologická léčba gliálních nádorů mozku signifikantně prodlužuje délku přežití pacientů po chirurgické resekci. V případě nízkostupňových nádorů je její indikace i v dnešní době kontroverzní, a ne každé pracoviště ji v tomto případě využívá. Naopak v případě lézi vysokostupňových je adjuvantní chemoradioterapie plně indikována a na základě rozsáhlých studií využíváme tzv. Stuppův protokol.

Při plánování léčby je třeba brát v úvahu řadu faktorů, včetně věku pacienta, celkového zdravotního stavu a specifických charakteristik nádoru, jako je genetický profil, což může ovlivnit citlivost nádoru na určité léčebné strategie.

Je důležité poznamenat, že onkologická léčba gliálních nádorů je velice rychle se vyvíjejícím oborem a aktuální informace o nových léčebných strategiích a klinických studiích by měly být konzultovány s lékařskými odborníky ve specializovaných centrech.

V rámci onkologické léčby využíváme radioterapii, chemoterapii anebo konkomitantní radiochemoterapii. Onkologická léčba v případě gliomů je složitá, zejména v případě LGG a patří do rukou lékařů z Komplexní onkologických center a její použití je nad

rámec tohoto textu, proto níže pouze zmiňujeme základní informace ohledně onkologické léčby.

#### **4.2.1 Radioterapie**

Radioterapie má v léčbě nádorů centrální nervové soustavy již několik desetiletí nezastupitelnou roli. Zvláště v případě nemožnosti provedení bezpečné totální resekce významně zlepšuje léčebné výsledky, a to zejména u high-grade gliomů (1). K standardní metodě ozáření dnes patří 3D-konformní radioterapie při které je ozařovaný objem přizpůsobený nepravidelnému 3D tvaru cílového objemu (3D-CRT) a radioterapie s modulovanou intenzitou (IMRT) při které kromě modifikace tvaru cílového objemu upravujeme i intenzitu záření. Speciálním typem radioterapie je stereotaktická radioterapie a radiochirurgie. Ozáření vychází z principu stereotaxe a dochází pomocí trojrozměrného koordinačního systému a zobrazovací metody k přesné aplikaci záření. Stereotaxe se rutinně v léčbě gliomů nevyužívá.

V případě HGG je celková dávka 60 Gy je podávána v režimu 2Gy/den, 5 dní v týdnu, pod dobu 6 týdnů, respektive 45–54 Gy v režimu 1,5-1,8 Gy/den u LGG. Celkovou dávku záření je nutno upravit s ohledem na velikost ozařovaného objemu (plánovací cílový objem, PTV) a podle dávek v oblasti kritických orgánů. (3).

#### **4.2.2 Chemoterapie**

Použití chemoterapie u nádorů mozku je komplikované z několika důvodů. Významným faktorem je hematoencefalická bariéra, která brání u většiny používaných cytostatik dostatečnému průniku do nádorové tkáně. Dalším faktorem je rozdílná senzitivita k chemoterapii.

Bohužel u většiny primárních nádorů mozku (gliomy) je účinnost chemoterapie omezená. V případě LGG bylo její použití kontroverzní a byla vyhrazena pro případy recidivy nebo výrazné progresse nádoru, a to v případě vyčerpání chirurgické terapie. V praxi se využívá nejvíce PCV (lomustin – CCNU, prokarbazin a vinkristin), v České republice není jeho použití pořád rutinní. V případě léčby HGG se v praxi používá alkylační chemoterapeutikum temozolomoid, pokud to klinický stav pacienta dovolí tak v kombinaci s radioterapií (viz níže). Chemoterapii u většiny mozkových nádorů podáváme po resekčním výkonu.

### 4.2.3 Konkomitantní radiochemoterapie

Konkomitantní adjuvantní radiochemoterapie je základem dnešní onkologické léčby u GBM.

Pokud to umožňuje klinický stav pacienta tak následuje vždy po radikální resekci.

V současnosti je podávána zevní frakcionované radioterapie, ve formě 3D-CRT nebo IMRT, zaměřená na postresekční kavitu s lemem 2 cm (popř. 3 cm) okolní mozkové tkáně.

Celková dávka 60 Gy je podávána v režimu 2Gy/den, 5 dní v týdnu, po dobu 6 týdnů (4).

V rámci chemoterapie je standardně podáván temozolomid. Nejprve je toto chemoterapeutikum podáváno konkomitantně, společně s radioterapií, po dobu 6 týdnů v dávce 75 mg/m<sup>2</sup> /den. Poté je v odstupu 3–5 týdnů aplikována pokračovací chemoterapie temozolomidem v režimu 150 mg/m<sup>2</sup> /den, po dobu 5 dní, každých 28 dní, v 6 cyklech [5,6].

V roce 2005 Stupp et al publikoval svoji práci s kombinovanou chemoradioterapií u GBM s využitím temozolomidu a poprvé prokázal efekt jakékoliv chemoterapie u tohoto nádoru (5).

Tak byl vytvořen Stuppův protokol a začala tzv. „temozolomidová éra“.

### Literatura

1. Halaj M, Kalita O, Tuckova L, et al. Life expectancy in glioblastoma patients who had undergone stereotactic biopsy: a retrospective single-center study. Biomed Pap Med FacUniv Palacky Olomouc Czech Repub. 2023; Jul 10. doi: 10.5507/bp.2023.030. Epub ahead of print. PMID: 37431620
2. Wang TJC, Mehta MP. Low-Grade Glioma Radiotherapy Treatment and Trials. Neurosurg Clin N Am, 2019; 30(1): 111–118.
3. Shaw E, et al. Prospective randomized trial of low – versus high-dose radiation therapy in adults with supratentorial low-grade glioma: initial report of a North Central Cancer Treatment Group/Radiation Therapy Oncology Group/ Eastern Cooperative Oncology Group study. J Clin Oncol, 2002; 20(9): 2267–76.

4. Shapiro WR, Green SB, Burger PC, et al. Randomized trial of three chemotherapy regimens and two radiotherapy regimens and two radiotherapy regimens in postoperative treatment of malignant glioma. Brain Tumor Cooperative Group Trial 8001. *J Neurosurg.* 1989;71:1–9.
5. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med.* 2005;352:987–96.
6. Stupp R, Hegi ME, Mason WP, et al. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol.* 2009;10:459–66.

## **5 Vlastní soubor**

Praktická část dizertační práce se skládá ze dvou kapitol. První z nich se týká volumetricky hodnocené radikality resekce u pacientů s histologicky verifikovaným GBM. Je v ní popisován soubor pacientů s metodikou měření objemu tkáně na základě 3D vytvořeného modelu nádoru ze zdrojových dat předoperačního MR vyšetření. V diskusi se zaměřujeme na vliv radikality na celkovou dobu přežívání, která poměrně úzce souvisí s navazující onkologickou léčbou.

V druhé kapitole se zaměřujeme na předpoklad délky života u pacientů s GBM, kteří podstoupili pouze biopsii nádorového procesu. Ta je až poslední variantou léčebného procesu a nabízíme ji pouze pacientům s inoperabilní lokalizací nádorové expanze, nebo pak pacientům s nepříznivým klinickým stavem. V diskusi se zaměřujeme na možnosti navazující léčby, a je opět vyzdvižen přínos onkologické léčby na délku života.

### **5.1.1 Etické aspekty**

Studie byla provedena ve shodě s Helsinskou deklarácí z roku 1975 (a jejími revizemi z let 2004 a 2008). Studie nepodléhá schválení etickou komisí. Všichni pacienti podepsali informovaný souhlas s anonymizovanou analýzou získaných dat a souhlas s diagnostickým a léčebným procesem.

## **5.2 Volumetricky hodnocená radikalita resekce u pacientů s glioblastomem a její vliv na celkové přežívání**

Cílem práce je ukázat technické možnosti volumetrického hodnocení objemu rezidua a zhodnotit vliv přesně definovaného objemu reziduálního nádoru na celkové přežívání u pacientů s glioblastomem.

### **5.2.1 Soubor pacientů**

Retrospektivně byli vybíráni dospělí pacienti, kteří podstoupili resekční výkon GBM ve Fakultní nemocnici Olomouc od roku 2012 do roku 2016. Vyloučeny byly rekurentní GBM a nádory diagnostikované pomocí jehlové biopsie. Cílem chirurgické léčby byla maximálně radikální bezpečná resekce, následovaná, pokud to bylo možné, standardní agresivní onkoterapií podle Stuppova protokolu [5]. Všichni pacienti absolvovali časnou

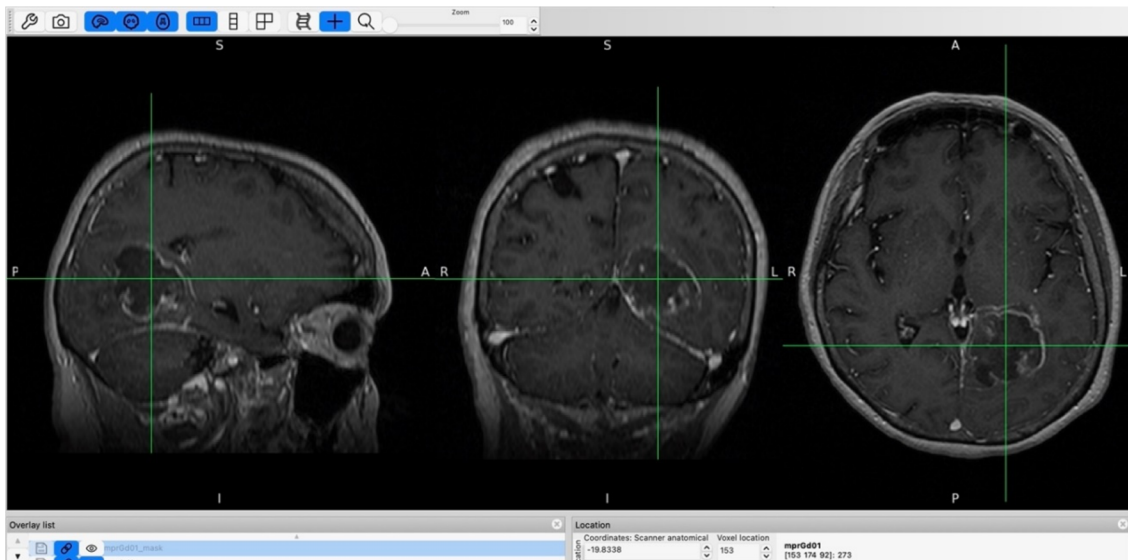
pooperační MR do 72 hodin od operace k posouzení radikality zákroku. Nádorová tkáň byla ve všech případech hodnocena lokálním patologem jako glioblastom podle WHO klasifikace z roku 2016 [1]. Následně pacienti docházeli pravidelně až do úmrtí, a to každé 3 měsíce, na klinické a MR kontroly. Vzorky nádorové tkáně byly uchovávány jednak jako formalinem fixované a v parafínu zalité bločky, tak i jako nefixované, hluboko zmražené vzorky skladované v tekutém dusíku.

### **5.2.2 Materiál a metodika**

Všem pacientům s histologickým potvrzeným GBM a doplněným molekulárně-biologickým vyšetřením mutace Izocitrát dehydrogenázy (IDH) a metylace promotoru O6-methylguanine-DNA methyltransferázy (MGMT) v daném období bylo uděláno dostupné předoperační a pooperační MR vyšetření na 1,5T MR přístroji (Siemens MAGNETOM SYMPHONY nebo Siemens MAGNETOM AVANTO). Pooperační MRI kontrola byla provedena nejpozději do 48 hodin od operačního výkonu. Jak předoperační, tak pooperační vyšetření zahrnovalo FLAIR (Fluid Attenuated Inversion Recovery) sekvence a postkontrastní T1 – vážené sekvence (velikost voxelu od  $0.4 \times 0.4 \times 6 \text{ mm}^3$  až  $0.7 \times 0.7 \times 6.5 \text{ mm}^3$ ) tak, abychom byli schopni od sebe diferencovat pooperační edém od postkontrastně se sytícího možného rezidua nádoru. Přítomnost pooperačního rezidua byla nezávisle hodnocena radiologem a dvěma neurochirurgy, kteří provedli operační výkon.

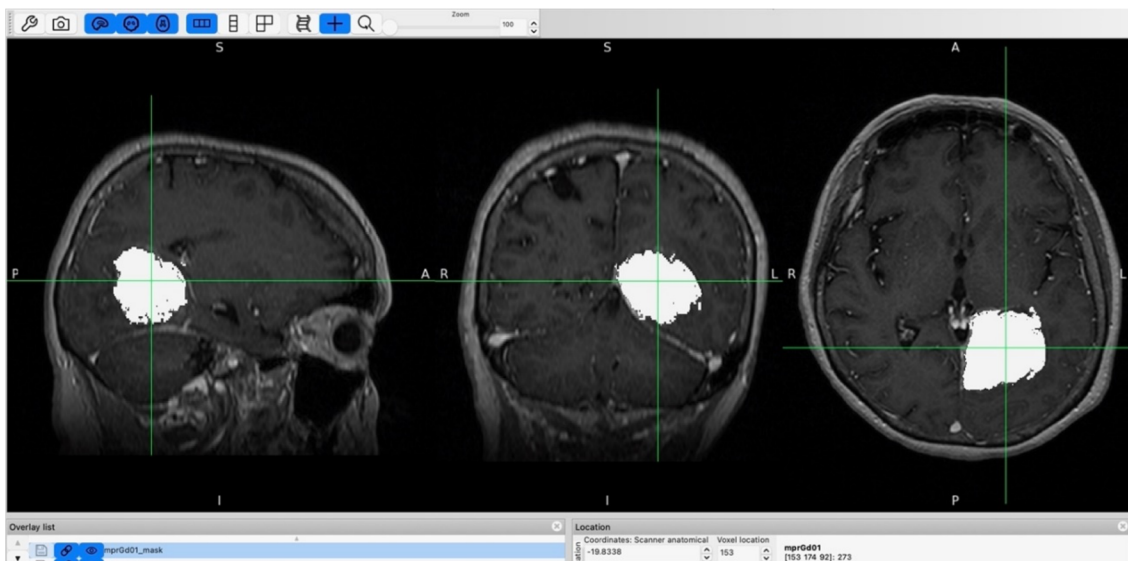
U každého pacienta bylo provedeno segmentování nádorového procesu s následným vytvořením 3D modelu a výpočet jeho objemu ve třech rovinách na základě semiautomatického hodnocení. Jako zdroj byly použity postkontrastní T1 – vážené snímky, které byly extrahovány z prohlížeče nemocničního systému a poté konvertovány z formátu DICOM do formátu NIFTI. Tyto snímky byly následně vloženy do softwaru FSLeves, což je multiplatformní nástroj (Wellcome Center for Integrative Neuroimaging (FMRIB), University of Oxford) [14] (obr. 1).





Obrázek 5: Zdrojová data nádoru v T1 vážených sekvencích po konverzi do formátu NIFTI

Z těchto sekvencí byly neurochirurgem pomocí zmíněného softwaru vytvořeny masky obsahující nádor ve třech na sebe kolmých rovinách a následně zkontrolovány dalším neurochirurgem, který posuzoval komplexnost vytvořených masek (obr. 2).



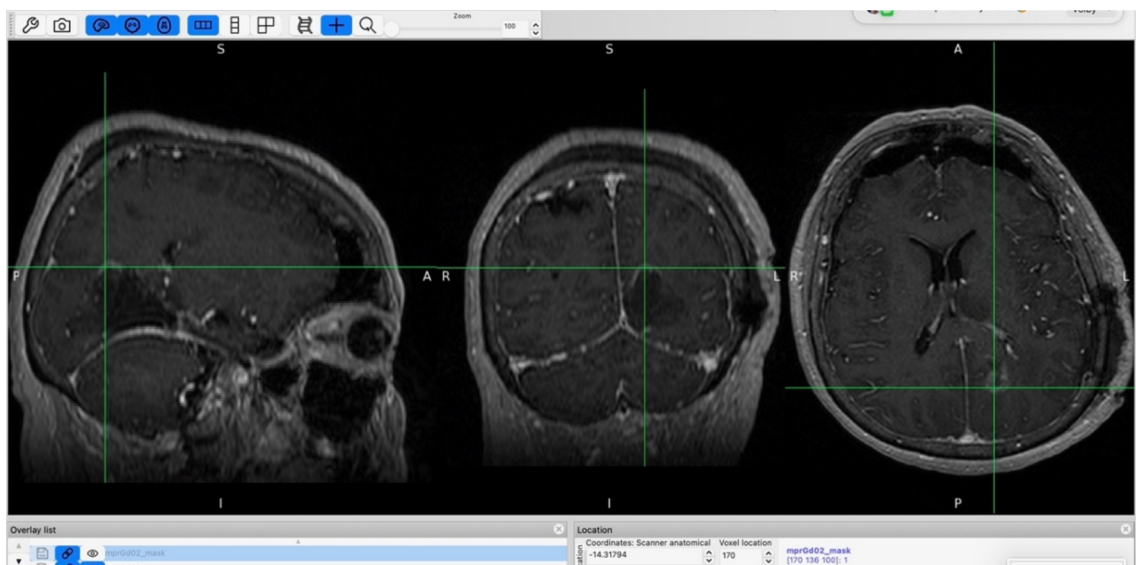
Obrázek 6: Vytvoření masek v programu FSLEyes

Pomocí softwaru ITK-SNAP se z těchto masek podařilo poloautomaticky vytvořit 3D model nádoru [15] (obr. 3).

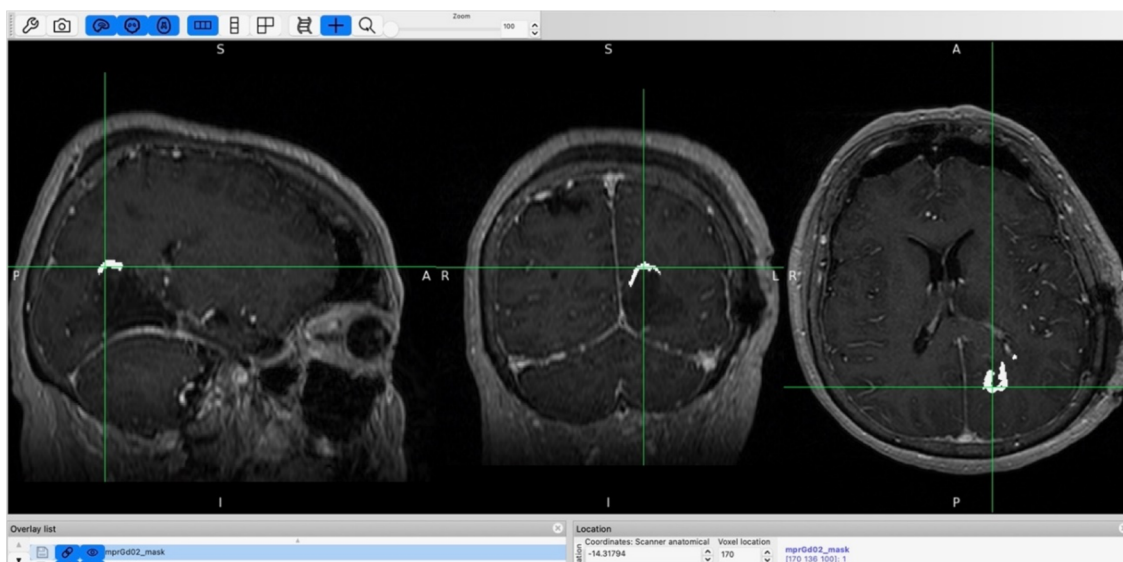


Obrázek 7: vytvoření 3D modelu nádoru (vlevo dole) v programu ITK-SNAP

Následně byl vypočten objem nádoru ve 3D rozměru na tři desetinná místa. Pooperačně, pokud bylo identifikováno a popsáno pooperační reziduum, byl použit stejný postup výpočtu jeho objemu na základě vytvořených masek. I v tomto případě byly masky rezidua nezávisle kontrolovány neurochirurgy (obr. 4 a 5). Poměr vypočteného objemu pooperačního rezidua k objemu nálezů na MR před operací udává procentuální operační radikalitu chirurgické resekce.



Obrázek 8: Pooperační nález zdrojových dat s drobným reziduem



Obrázek 9: Semiautomatické vytvoření masek pooperačního rezidua

### 5.3 Vyšetření mutace Izocitrát dehydrogenázy a metylace promotoru O6-methylguanine-DNA methyltransferázy

Vyšetření mutace Izocitrát dehydrogenázy (IDH) a metylace promotoru MGMT bylo prováděno standardní technikou v olomouckém onkocentru [16–18]. Prvním krokem bylo imunohistochemické vyšetření kánonické mutace IDH (anti-IDH1R132H), doplněné o genotypizaci IDH pomocí Next-Generation Sequencing (Nextera XT kit, Illumina, San Diego, CA, USA) a vyšetření metylace promotoru MGMT pomocí Real-time methylation-specific PCR.

### 5.4 Statistická analýza

Popis sledovaných parametrů byl proveden pomocí frekvenčních tabulek a popisných statistik (průměr, medián, minimum, maximum). Pro zobrazení přežití pacientů byly použity Kaplanovy-Meierovy křivky. Všechny analýzy a grafické výstupy byly provedeny ve statistických softwarech R, ver. 3.5.2 (Core Team, 2018).

#### 5.4.1 Výsledky

Pro retrospektivní analýzu byly dostupné výsledky 50 pacientů, 32 mužů a 18 žen, jejichž věk se pohyboval mezi 33 a 82 lety s mediánem 62 let. Doba sledování variovala od 37 do 2 804 dnů, průměrná doba byla 401 dní a medián byl 243 dní. Všichni pacienti byli operováni s histologickou diagnózou GBM, doplněnou, v dostupných případech,

o imunohistochemickou a molekulárně genetickou analýzu. GBM bez IDH mutací byl potvrzen u 41 pacientů, GBM s IDH mutací u 4 pacientů. V 5 případech nebylo možné vyšetřit IDH mutaci z důvodu nedostatečné kvality odebraného vzorku. U 12 pacientů byla potvrzena metylace promotoru MGMT. Z technických důvodů nebyla metylace promotoru MGMT vyšetřena u 19 pacientů.

Celkem 13 pacientů podstoupilo izolovanou radioterapii v celkové dávce (60 Gy/30 Gy), a to buď ve formě intenzivně modulované radioterapie (iMRT), nebo 3D konformní radioterapie. Dalších 23 pacientů absolvovalo kompletní konkomitantní chemoradioterapii podle Stuppova protokolu. Pouze u 3 z těchto pacientů byla nutná redukce dávky pokračovací chemoterapie z důvodu hematotoxicity. Na začátku analýzy bylo stanoveno, že aplikace více než 40 Gy radioterapie v normofrakcionaci bude považována za provedenou onkotereapii. Nakonec však žádný pacient nedostal dávku radioterapie mezi 40 a 59 Gy. Celkem 14 pacientů nedokončilo nebo nepodstoupilo onkologickou léčbu z důvodu neuspokojivého klinického stavu.

Operovaní pacienti byli na základě zjištěného pooperačního rezidua rozděleni podle reziduálního objemu do skupin (tab. 1). Byla přidána i skupina 1 s pacienty s tzv. „supramaximální“ resekci [11], která byla definována kompletním odstraněním jak postkontrastně se sytící porce nádoru, tak i resekci nekontrastně se sytící tkáně (MR/T1hyposignální, MR/T2/FLAIR/hypersignální) s reziduem pod 5ml. Skupina 2A obsahovala pacienty s kompletní resekci charakterizovanou úplným odstraněním postkontrastně se sytící složky nádoru. Skupina 2B byla definována objemem reziduálního nádoru  $\leq 1$  ml. Skupina 3A byla charakterizována reziduálním objemem postkontrastně se sytící tkáně  $\leq 5$  ml. Skupina 3B byla charakterizována reziduem postkontrastní tkáně větším než 5ml. U jednoho pacienta ve skupině 4 byl resekční výkon předčasně ukončen pro kardiovaskulární nestabilitu. Výsledná radikalita resekce odpovídala spíše rozšířené biopsii.

Kategorie	1	2A	2B	3A	3B	4
Počet pacientů (%)	6 (12 %)	22 (44 %)	8 (16 %)	9 (18 %)	4 (8 %)	1 (2 %)

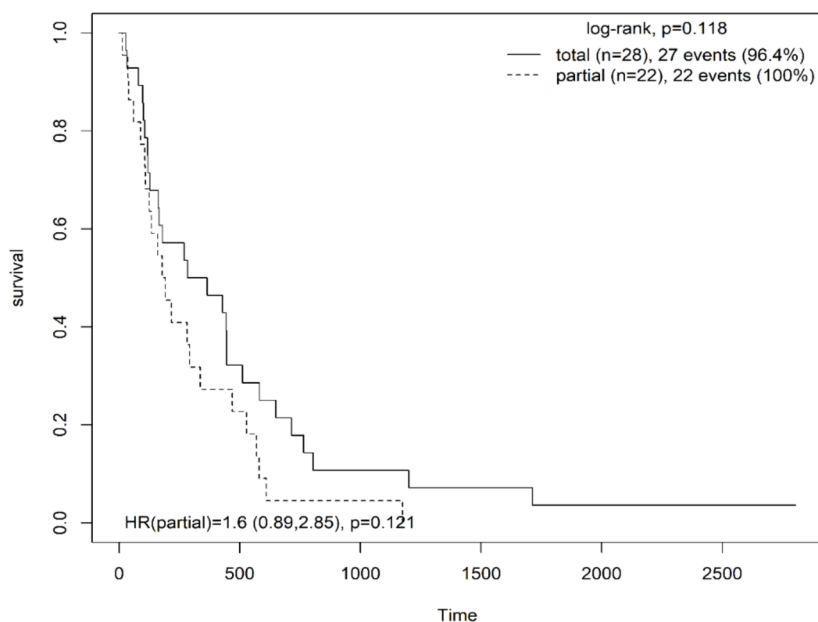
Tabulka č. 1 Skupiny pacientů podle radicality resekce

Rozsah provedené resekce se v případě parciální resekce pohyboval od 15 %, což je na úrovni spíše provedené biopsie, až po resekci 99 % objemu, včetně postkontrastně

nesytící složky nádoru. Největší předoperační objem měl nádor o objemu 117,744 ml, nejmenší pak o objemu 10,762 ml (medián 22,231 ml a průměr 29,491 ml). Průměrná radikalita resekce ze všech operovaných pacientů činila 92 %.

Statisticky signifikantní efekt radicality resekce na prodloužení OS byl nalezen pouze u skupiny pacientů 1 a 2A, tedy ve skupině bez nálezu postkontrastně se sytícího rezidua GBM, popř. doplněné i o resekci postkontrastně se nesytící části nádoru (viz graf č. 1). Jednalo se o skupinu 6 pacientů se supramaximální resekci, s OS mezi 512 až 2804 dny, s průměrem 1083,3 dní a mediánem 547 dní. Do skupiny 2A patřilo celkem 23 pacientů s OS mezi 140 a 1201 dny, s průměrem 329,5 dní a mediánem 173 dní. Po spojení obou skupin byl průměrný OS 491 dní, medián pak 324,5 dní.

Ve skupině 2B bylo 7 pacientů s OS mezi 40 a 1175 dny, s průměrem 402,5 dní a mediánem 282 dní, nejkratší 14 dní, nejdelší 1175 dní. Ve skupině 3A bylo 5 pacientů s OS mezi 60 a 580 dny, s průměrným OS 325,6 dní a mediánem 292 dní. Ve skupině 3B se nacházelo 8 pacientů s OS mezi 40 a 528 dny, s průměrem OS 203,8 dní a mediánem 147 dní. Do skupiny číslo 4 byl zařazen pouze 1 pacient s OS 37 dní. Ve společné skupině 2B, 3A, 3B a 4 hodnocené jako parciální resekce byl průměrný OS 291 dní s mediánem 179 dní.

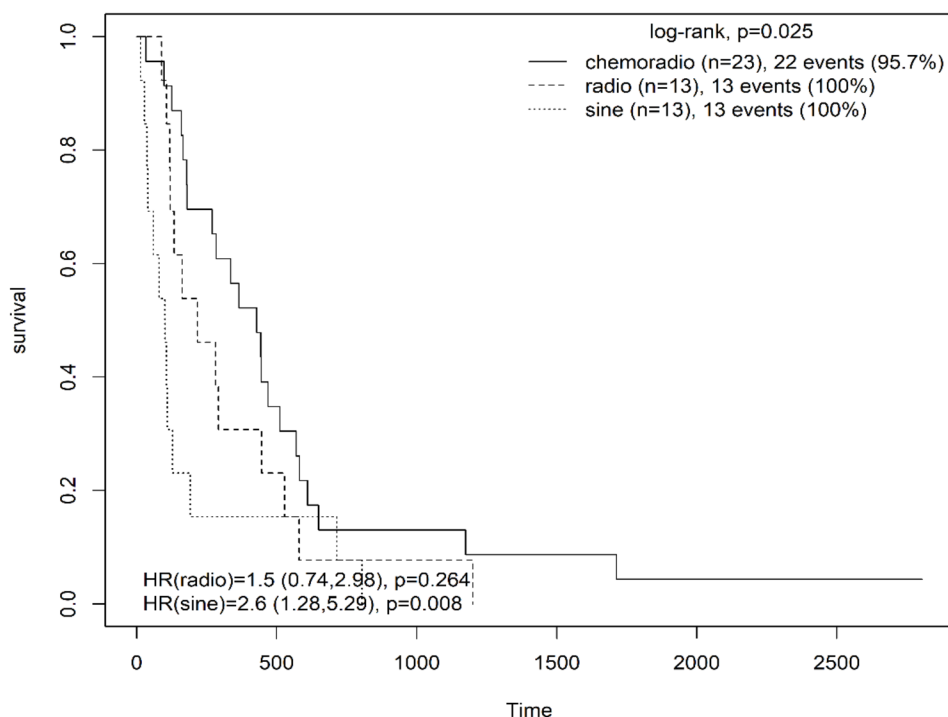


Graf 1: Srovnání OS mezi pacienty totální a parciální resekci

Při hodnocení vlivu onkoterapie pacienti s lepší resekci, dobrým pooperačním klinickým stavem a schopností absolvovat kompletní onkologickou léčbu (Stuppův protokol) dosáhli jednoznačně lepšího OS (viz graf č. 2). Ve skupinách 1 a 2A s kompletní resekci

(celkem 29 pacientů) absolvovalo Stuppův protokol 15 pacientů s průměrným OS 598,3 dne a mediánem 429 dní. Pooperační radioterapii absolvovalo 5 pacientů s průměrným OS 409,6 dní a mediánem 163 dní. Bez onkologické léčby zůstalo 9 pacientů s průměrným OS 340,8 dní a mediánem 117 dní.

Ve zbylých skupinách s parciální resekci (celkem 21 pacientů) podstoupilo Stuppův protokol 8 pacientů s průměrným OS 453 dní a mediánem 402 dní. Radioterapii podstoupilo 8 pacientů s průměrným OS 278,6 dní a mediánem 249,5 dní. Bez onkologické léčby bylo 5 pacientů s průměrným OS 52 dní a mediánem 40 dní.



Graf 2: Porovnání OS pacientů dle typu onkoterapie

#### 5.4.2 Diskuse

Chirurgická resekce nádoru je základní součástí léčby gliomů. Radikalita resekce byla opakovaně potvrzena jako pozitivní prognostický faktor ovlivňující OS [6–13]. Na základě pooperačního MR vyšetření, provedeného nejpozději do 72 hodin od operačního výkonu, byla radikalita resekce hodnocena několika způsoby [9, 10]. Jednou z možností je dělení podle radiologického MR postkontrastního obrazu reziduální nádoru: „Gross Total Resection“ (GTR) = úplné odstranění postkontrastně se sytící složky nádoru, „Near Total Resection“ (NTR) = postkontrastně se sytící tenký okrsek nádoru na stěně resekční dutiny, „Subtotal Resection“ (STR) = postkontrastně se sytící drobné

nodulace na stěně resekcí dutiny a “Partial Resection“ (PR) = přítomnost velkého, postkontrastně se sytícího rezidua nádoru.

Další možností je hodnocení rozsahu resekce porovnáním předoperačního a pooperačního objemu a stanovení procentuální redukce původního objemu nádoru: GTR = úplné odstranění postkontrastně se sytící složky nádoru, NTR = více než 90% redukce původního objemu nádoru, STR = odstranění 51–90 % objemu původní nádorové expanze a PR = s exstirpací méně než 50 % původního nádorového objemu. V případě exstirpace méně než 10 % původního objemu nádoru je tato operace považována za pouhou biopsii. Oba zmíněné postupy hodnocení pooperačního rezidua však mají své nedostatky. První systém, rozdělující pooperační MR nález podle radiologických stupňů radikality, je zatížen značnou subjektivitou, systém využívající procentuální hodnocení radikality resekce je pak zatížen bias vycházejícím z rozdílného předoperačního objemu jednotlivých nádorů.

Jednou z prvních zásadních prací byla práce autorů Sanaie a Bergera z roku 2011 [10], která byla zaměřená na volumetrickou analýzu rozsahu resekce u 500 pacientů s nově diagnostikovanými supratentoriálními GBM. Medián pooperačního reziduálního objemu nádoru byl 2,3 ml a střední rozsah resekce byl 96 %. Tato práce prokázala signifikantní prodloužení přežívání při redukci více jak 78 % původního objemu nádoru.

V retrospektivní studii Orringer a Lau [13] použili semiautomatickou techniku hodnocení rozsahu resekce u GBM. Střední rozsah resekce byl 91 %. I zde se rozsah resekce poжил se signifikantně delším přežíváním (76,5 %), a to v případě resekce vyšší než 90 %, oproti resekci menší než 90 %.

Další práce z roku 2014, Grabowski a spol. [18], ukázala, že objem reziduálního, postkontrastně sytícího GBM je mnohem signifikantnějším prediktorem prodloužení OS než procentuální rozsah resekce. Jako hraniční objem pro signifikantní dopad resekce na prodloužení OS byl určen objem 2 ml reziduálního nádoru.

V roce 2023 byly publikovány práce [12, 20, 21], které ukázaly dopad úplné exstirpace postkontrastně se sytící tkáně GBM na výrazné prodloužení OS. Úsilí o zjištění objemu reziduálního nádoru, který ještě signifikantně prodlouží OS, vedlo až ke studii organizované EANO [12], která potvrdila výše zmíněné závěry a posunula hranici na 1 ml reziduálního nádoru.

Na základě našich zkušeností jsme k původním radiologickým stupňům radicality přiřadili i námi zjištěné hraniční objemy reziduálního nádoru; supramaximální resekce, GTR: bez postkontrastně se sytícího rezidua, NTR:  $\leq 1$  ml rezidua, STR:  $> 1$  ml a  $\leq 5$  ml a PR:  $> 5$  ml. Naše práce ukázala jasně signifikantní prodloužení OS pouze u skupin bez postkontrastně se sytícího rezidua (medián OS = 491 dní versus 191 dní). Ve skupině s reziduálním objemem nádoru do 1 ml se již objevila redukce prodloužení OS (medián OS = 324,5 dní). Naše studie prokázala, že reálná velikost reziduálního nádoru je významnějším prognostickým faktorem pro OS než procentuálně vyjádřený rozsah resekce.

Opakovaně probíraným tématem v literatuře je otázka tzv. supramaximální resekce MR/T1 hyposignální oblasti v okolí postkontrastně se sytícího nádoru [11]. Tuto zónu tvoří peritumorózní, infiltrační zóna [22], která vzniká při průniku migrujících nádorových buněk do mozkového parenchymu a je patobiologickým podkladem reziduálního nádorového onemocnění u GBM [23]. Ze závěrů plyne, že efekt úplné exstirpace postkontrastně se sytící tkáně GBM na prodloužení OS může být dále navýšen při alespoň 50% redukci postkontrastně se nesytící části nádoru [11, 24]. I naše studie prokázala pozitivní prognostický efekt resekce peritumorózní, infiltrační zóny, kde medián OS u těchto pacientů dosáhl 547 dní.

Vzrůstající radicalita resekce se nutně pojí se vzrůstajícím rizikem permanentního, neurologického deficitu, který kompromituje aplikaci standardní onkologické terapie [25] a v konečném důsledku zkracuje OS [26]. Naopak bylo prokázáno, že pozitivní prognostický efekt onkoterapie v Stuppově režimu je znásoben radikální resekci GBM [5]. I v našem souboru dosáhli pacienti s radikální resekci a s onkoterapií v Stuppově režimu nejlepšího výsledku s průměrnou OS 598,3 dne a mediánem 429 dní. Omezené procento pacientů, kteří nakonec byli schopni absolvovat standardní chemoradioterapii, odpovídá údajům publikovaným i v české literatuře [27].

### **5.4.3 Dílčí závěr**

Dle závěrů naší studie signifikantně nejlepších výsledků dosáhli pacienti s úplným odstraněním postkontrastně se sytící části GBM, doplněnou o co nejradiálněji resekci postkontrastně se nesytící části nádoru. Na základě získaných dat o objemech reziduálního nádoru jsme mohli přesně definovat stupně radicality. U GBM existuje jen několik kontrolovatelných faktorů, u kterých bylo prokázáno, že jsou schopny ovlivňovat



léčebné výsledky, a maximálně radikální bezpečná resekce mezi ně patří. Naopak pooperační klinický stav pacienta může tento efekt minimalizovat. Proto nalezení rovnováhy mezi radikalitou resekce a pooperační kvalitou života musí být nedílnou součástí na pacienta orientované, individualizované, chirurgické, léčebné strategie.

5. Lakomy R, Kazda T, Selingerova I, et al. Real-World Evidence in Glioblastoma: Stupps Regimen After a Decade. *Front Oncol.* 2020 Jul 3;10:840. doi: 10.3389/fonc.2020.00840. PMID: 32719739; PMCID: PMC7348058.
6. Di L, Heath RN, Shah AH, et al. Resection versus biopsy in the treatment of multifocal glioblastoma: a weighted survival analysis. *J Neurooncol*, 148(1), 155–164. doi: 10.1007/s11060-020-03508-6.
- Ushio Y, Kochi M, Hamada J, Kai Y, Nakamura H. Effect of surgical removal on survival and quality of life in patients with supratentorial glioblastoma. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 2005; 45(9): 454–460; discussion 460–1. doi: 10.2176/nmc.45.454. PMID: 16195644.
7. Halaj M, Kalita O, Tuckova L, et al. Life expectancy in glioblastoma patients who had undergone stereotactic biopsy: a retrospective single-center study. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2023; Jul 10. doi: 10.5507/bp.2023.030. Epub ahead of print. PMID: 37431620.
8. Ushio Y, Kochi M, Hamada J, et al. Effect of surgical removal on survival and quality of life in patients with supratentorial glioblastoma. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 2005. Sep;45(9):454-60; discussion 460–1. doi: 10.2176/nmc.45.454. PMID: 16195644.
9. McGirt MJ, Chaichana KL, Gathinji M, et al. Independent association of extent of resection with survival in patients with malignant brain astrocytoma. *J Neurosurg* 2009; 110(1): 156–162. doi: 10.3171/2008.4.17536. PMID: 18847342.
10. Sanai N, Berger MS. Extent of resection influences outcomes for patients with gliomas. *Rev Neurol (Paris)* 2011; 167(10): 648–654.
11. Que T, Huang G, Tan JE, et al. Supramaximal resection based on en-bloc technique reduces tumor burden and prolongs survival in primary supratentorial lobar glioblastoma. *J Neurooncol* 2023; 164(3): 557–568. doi: 10.1007/s11060-023-04399-z. Epub 2023 Oct 2. PMID: 37783878.

12. Karschnia P, Young JS, Dono A, 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(5): 940–954. doi: 10.1093/neuonc/noac193. PMID: 35961053; PMCID: PMC10158281.
13. Orringer D, Lau D, Khatri S, et al. Extent of resection in patients with glioblastoma: limiting factors, perception of resectability, and effect on survival. *J Neurosurg* 2012; 117(5): 851–859. doi: 10.3171/2012.8.JNS12234. Epub 2012 Sep 14. PMID: 22978537.
14. McCarthy P. Source code for: FSLeys Zenodo, <https://doi.org/10.5281/zenodo.1470761>.
15. Yushkevich PA, Piven J, Hazlett HC, et al. User-guided 3D active contour segmentation of anatomical structures: Significantly improved efficiency and reliability. *Neuroimage*. 2006 Nov 1;31(3):1116-28. doi: 10.1016/j.neuroimage.2006.01.015. Epub 2006 Mar 20. PMID: 16545965.
16. Sporikova Z, Slavkovsky R, Tuckova L, et al. IDH1/2 Mutations in Patients With Diffuse Gliomas: A Single Centre Retrospective Massively Parallel Sequencing Analysis. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2022 Jan;30(1):178-183. doi: 10.1097/PAI.0000000000000997. PMID: 33443957.
17. Urbanovska I, Megova MH, Dwight Z, et al. IDH Mutation Analysis in Glioma Patients by CADMA Compared with SNaPshot Assay and two Immunohistochemical Methods. *Pathol Oncol Res*. 2019 Oct;25(4):971-978. doi: 10.1007/s12253-018-0413-9. Epub 2018. Dec 17. PMID: 30560316.
18. Kalita O, Sporikova Z, Hajduch M, et al. The Influence of Gene Aberrations on Survival in Resected IDH Wildtype Glioblastoma Patients: A Single-Institution Study. *Curr Oncol*. 2021 Apr;28(2):1280-1293. doi: 10.3390/curroncol28020122. PMID: 33922808; PMCID: PMC8078345.
19. Grabowski MM, Recinos PF, Nowacki AS, et al. Vogelbaum MA. Residual tumor volume versus extent of resection: predictors of survival after surgery for glioblastoma. *J Neurosurg*. 2014 Nov;121(5):1115-23. doi: 10.3171/2014.7.JNS132449. Epub 2014 Sep 5. PMID: 25192475.

20. Bjorland LS, Mahesparan R, Fluge Ø, et al. Impact of extent of resection on outcome from glioblastoma using the RANO resect group classification system: a retrospective, population-based cohort study. *Neurooncol Adv.* 2023;5(1):vdad126. doi: 10.1093/noajnl/vdad126. Erratum in: *Neurooncol Adv.* 2023 Dec 08;5(1):vdad155. PMID: 37868696; PMCID: PMC10590175.
21. Mendoza Mireles EE, Skaga E, Server A, et al. The benefit of complete resection of contrast enhancing tumor in glioblastoma patients: A population-based study. *Neurooncol Pract.* 2023;10(6):555-564. doi: 10.1093/nop/npad037. PMID: 38026582; PMCID: PMC10666813.
22. Giambra M, Di Cristofori A, Valtorta S, et al. The peritumoral brain zone in glioblastoma: where we are and where we are going. *J Neurosci Res.* 2023;101(2):199–216. doi: 10.1002/jnr.25134. Epub 2022 Oct 27. PMID: 36300592; PMCID: PMC10091804.
23. Zarkoob H, Taube JH, Singh SK, et al. Investigating the link between molecular subtypes of glioblastoma, epithelial-mesenchymal transition, and CD133 cell surface protein. *PLoS One.* 2013;8(5):e64169. doi: 10.1371/journal.pone.0064169. PMID: 23734191; PMCID: PMC3667082.
24. Karschnia P, Dietrich J, Bruno F, et al. Surgical management and outcome of newly diagnosed glioblastoma without contrast enhancement ('low grade appearance') - a report of the RANO resect group. *Neuro Oncol.* 2023; noad160. doi: 10.1093/neuonc/noad160. Epub ahead of print. PMID: 37665776.
25. Young JS, Morshed RA, Hervey-Jumper SL, et al. The surgical management of diffuse gliomas: Current state of neurosurgical management and future directions. *Neuro Oncol.* 2023;25(12):2117–2133. doi: 10.1093/neuonc/noad133. PMID: 37499054; PMCID: PMC10708937.
26. Rahman M, Abbatematteo J, De Leo EK, et al. The effects of new or worsened postoperative neurological deficits on survival of patients with glioblastoma. *J Neurosurg.* 2017;127(1):123–131. doi: 10.3171/2016.7.JNS16396. Epub 2016 Sep 30. PMID: 27689459.
27. Bartos R, Ospalik D, Malucelli A, et al. Retrospective autoevaluation of the results of intrinsic brain tumor surgeries – consecutive cohort of 270 surgeries within one

neurosurgical center of the NOS ČOS (Neurooncological section of the Czech Oncology Society) from 2015–2017. *Cesk Slov Neurol N.* 2019;82/115(4):401–409.

## **5.5 Délka života pacientů s biopticky verifikovaným glioblastomem**

Cílem práce je zhodnotit délku života u pacientů, kterým byl diagnostikován GBM na základě provedené jehlové biopsie. Hodnotíme i efekt adjuvantní onkologické léčby a její význam na délku přežití těchto pacientů.

### **5.5.1 Soubor pacientů a metodika**

Z období od 1. června 2006 do 31. prosince roku 2016 byli retrospektivně vybráni pacienti, kteří podstoupili stereotaktickou frame, or frame-less navigovanou biopsii ložiska mozku, u kterých byla potvrzena histologie GBM.

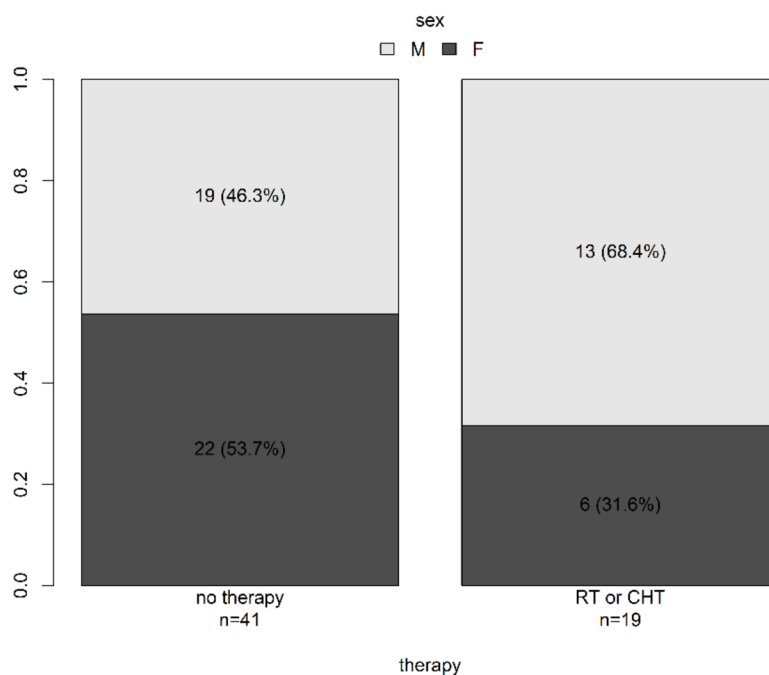
V případě podezření na nádor mozku každý z pacientů absolvoval CT, následně i MR vyšetření v T2 a T1 vážených sekvencích bez a s kontrastní látkou. U pacientů s postkontrastně se MRI nesytícím tumorem, ale s atypickými znaky několika z nich, bylo doplněno PET/CT vyšetření k určení tzv. metabolic hotspots, a tím bylo lokalizováno místo pro biopsii (Albert NL et al., 2016). Ve všech případech šlo o pacienty, kteří nebyli schopni podstoupit mikrochirurgickou resekci, a to z důvodu lokalizace, nebo na základě nepříznivého klinického stavu, kdy Karnofsky skóre bylo pod 60 a Performance status byl vyšší než 2. Věk pacientů byl zohledněn spíše jako doplňující faktor s přihlédnutím k celkovému stavu pacienta a jeho komorbiditám. Indikace k navigované biopsii byla stanovena buď atestovaným neurochirurgem, nebo na pravidelných mezioborových neuro-onkologických seminářích.

Před vlastní biopsií je na postkontrastních snímcích nalezeno jak místo odběru histologického vzorku, tak entry point bioptické jehly. Neméně důležité je naplánovat trajektorii odběru tak, aby se vyhnula cévním strukturám. Biopsie byla provedena stereotakticky, v lokální anestezii, za využití Leksellova stereotaktického rámu, kdy bylo plánování prováděno na základě peroperačně provedeného CT vyšetření. Stereotaktický výkon, vč. nasazení referenčního rámu v lokálním znecitlivění a následného lokalizačního grafického vyšetření, je však časově náročnou a pro pacienta nepříjemnou procedurou (Lobao 2009). Postupně jsme na našem pracovišti zcela přešli na navigovanou biopsii za využití navigačního systému Stealth S7/8 (Medtronic, USA), a to v krátké celkové anestezii. Navigovaná biopsie je mnohem kratší, pro pacienta

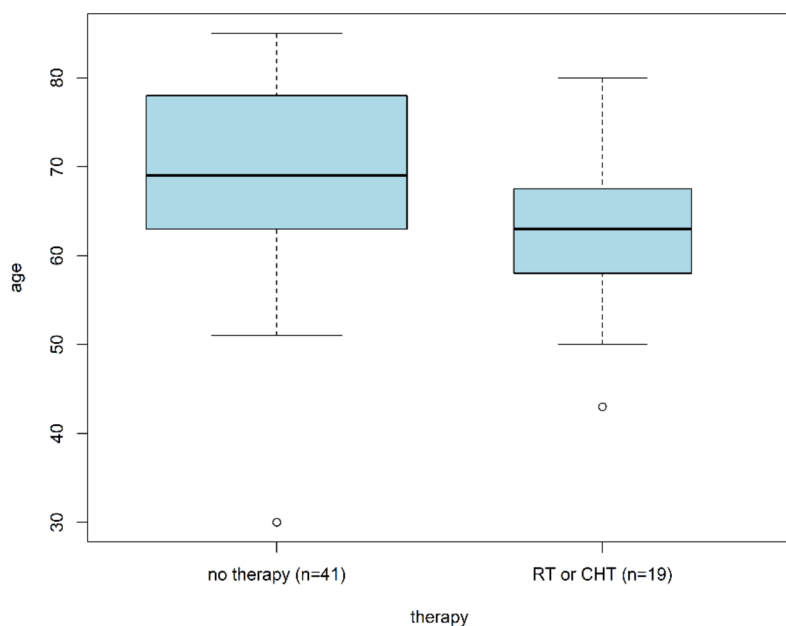
i pro operátora pohodlnější, a v neposlední řadě i stejně přesná jako rámová biopsie (Bradáč 2020). Po uvedení pacienta do celkové anestezie a upnutí hlavy do 3bodové Mayfieldové svorky je provedena registrace pacienta v navigačním systému Stealth S7/S8 a naplánován entry point, cíl biopsie a trajektorie jehly. Předkalibrovaná bioptická jehla se dvěma reflexními body je uchycena do stereotaktického ramena se třemi klouby, které slouží jako vodítko pro trajektorii. Navigační systém poskytuje obrazovou zpětnou vazbu v reálném čase. Poté byla bioptická jehla zavedena do cílového bodu přes trepanační návrť a bylo odebráno několik vzorků nádorové tkáně. Po provedení biopsie došlo k finální histopatologické verifikaci vzorků. Tak byli získáni pacienti s potvrzeným GBM, bez zohlednění mutace IDH, která v roce 2006 ještě nepatřila k základním parametrům histopatologického vyšetření. Každému pacientovi byla doporučena adjuvantní, konkomitantní chemoradioterapie (Stupp protokol) (Stupp 2009). Pacienti, kteří nebyli schopni absolvovat onkologickou léčbu z důvodu peroperačních komplikací biopsie, byli ze studie vyřazeni.

### 5.5.2 Výsledky

Uvedeným způsobem bylo vybráno 60 pacientů (27 žen a 33 mužů) s věkovým rozmezím 58 až 78 let, s mediánem 67 let. Vzhledem k nepříznivému klinickému stavu pak 41 pacientů (69 %) (22 žen a 19 mužů) nepodstoupilo následnou onkologickou léčbu a byli indikováni k symptomatické terapii (graf 1 a 2).



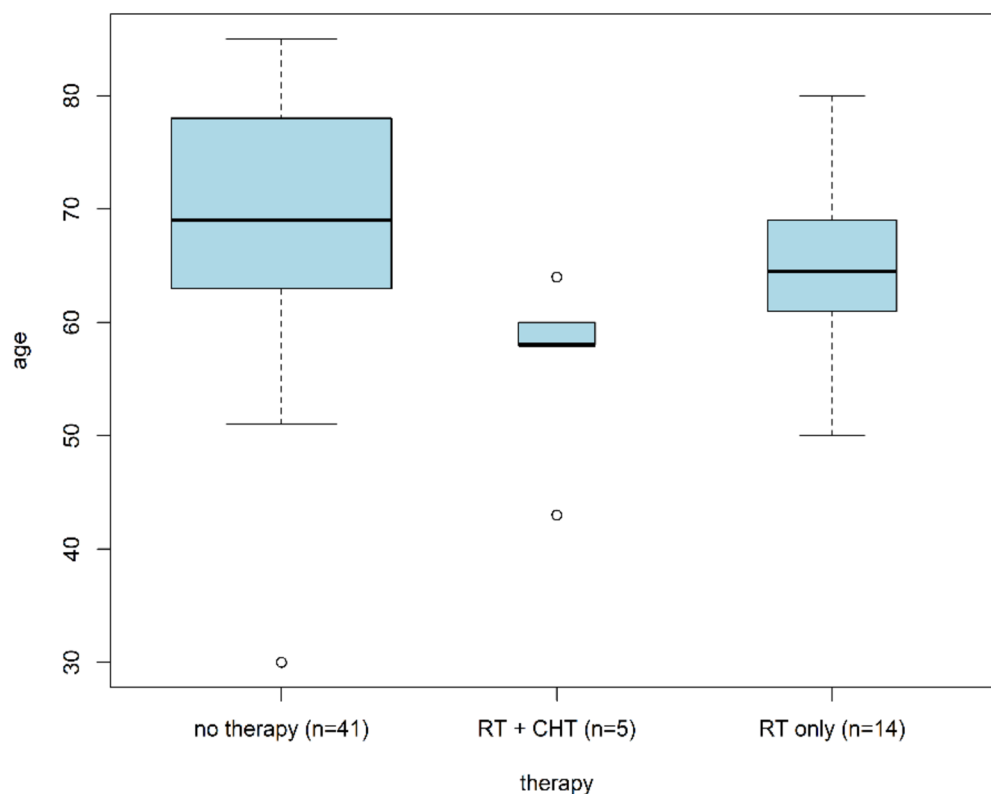
Graf 3: Rozdělení pacientů podle pohlaví a onkologické léčby



Graf 4: Věkové rozložení pacientů bez léčby a s onkologickou léčbou

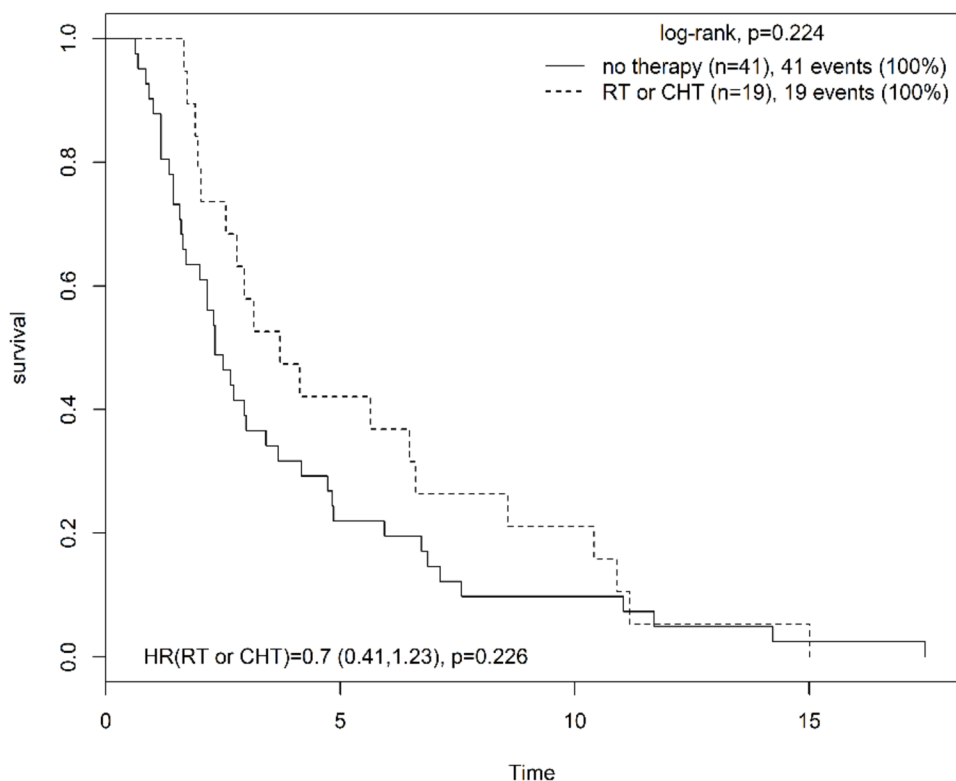
Izolovanou radioterapii nádoru absolvovalo 14 pacientů (23 %).

Kompletní konkomitantní chemoradioterapii s adjuvantní chemoterapií podstoupilo pouze 5 pacientů. Nutno podotknout, že pacienti, kteří klinicky dosáhli na kompletní onkologickou léčbu, byli mladší a v nejlepším klinickém stavu (graf č. 3).



Graf 5: Věkové rozložení pacientů podle absolvované onkologické léčby

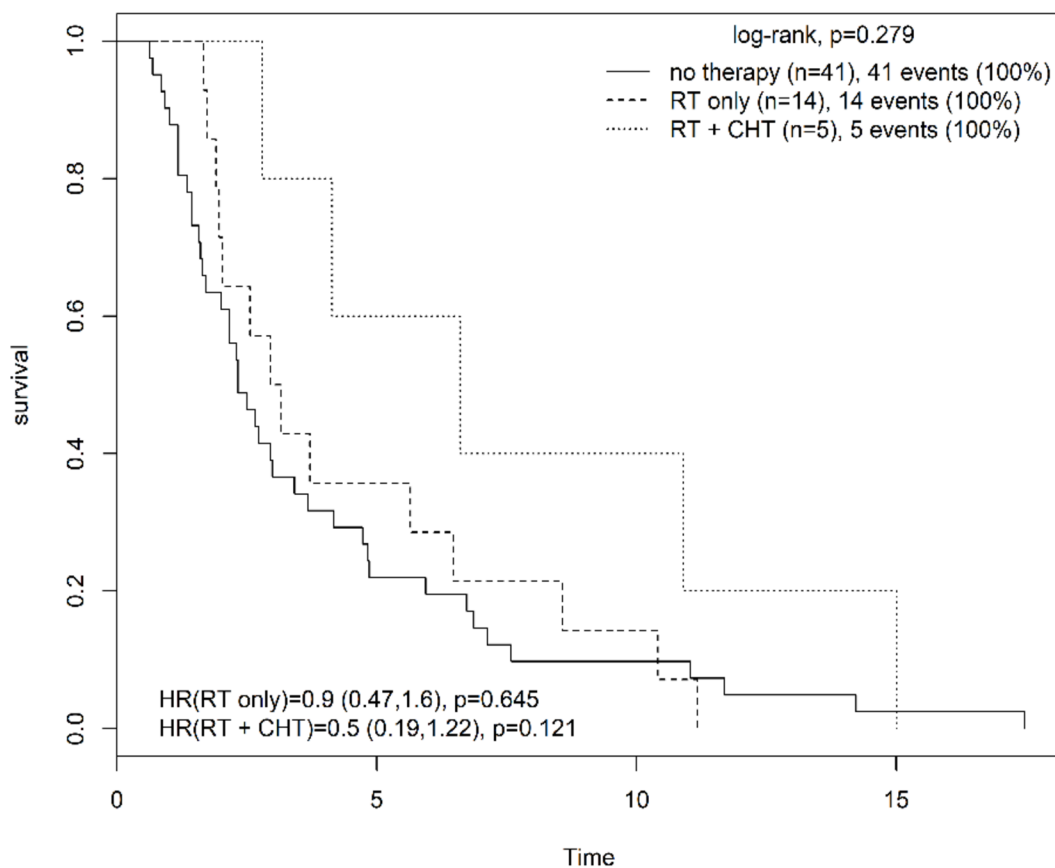
Průměrná doba přežití v celém souboru bioptovaných pacientů, bez ohledu na terapii, činila 2,8 měsíců. U pacientů bez jakékoliv terapie, a tedy i obecně s horší prognózou, dosáhla doba přežití v průměru 2,3 měsíců (graf č. 4).



Graf 6: Porovnání délky přežití u pacientů bez onkologické léčby a s nespecifikovanou onkologickou léčbou.

U pacientů, kteří byli schopni podstoupit onkoterapii, došlo k prodloužení OS. Ve skupině s jakoukoliv onkologickou léčbou, ať už radioterapií či radiochemoterapií, byla průměrná doba přežití 3,7 měsíce (Graf č. 4). Z toho ve skupině pouze s radioterapií měli pacienti průměrnou délku přežití 3,1 měsíce (6 pacientek a 8 pacientů). Radioterapie spočívala v aplikaci od 36Gy v šesti frakcích po 44Gy v deseti frakcích. Podle literatury toto schéma poskytuje podobnou účinnost jako konvenční radioterapie. (12, 13)

Pacienti, kteří absolvovali kompletní onkologickou terapii v Stuppově režimu, měli dobu přežití 6,6 měsíce. Tuto skupinu tvořilo 5 mužů mladšího věku, s primárně dobrým klinickým stavem (graf č. 5).



Graf 7: Porovnání délky přežívání u pacientů bez onkologické léčby, po radioterapii a po konkomitantní chemoradioterapii

### 5.5.3 Diskuse

Dle EANO doporučení z roku 2021 je standardní léčebnou strategií u pacientů s GBM mladších 70 let a Karnofsky performance status nad 70 resekce, nebo pak biopsie nádoru následovaná konkomitantní adjuvantní chemoradioterapií dle Stuppova protokolu (Weller, 2021). Prognostické faktory u pacientů s glioblastomem zahrnují věk, předoperační neurologický nálezn, lokalizaci tumoru v elokventní zóně a předpoklad dosáhnout radikální resekce (Chaichana 2011). Resekce nádoru má tedy jak léčebný, tak diagnostický charakter. Rozvoj diagnostických a operačních technik v léčbě GBM v posledních desetiletích umožnil provádět bezpečné, ale zároveň radikální resekce i v elokventních oblastech mozku (Hrabalek L et al., 2015, Gallet C et al., 2022). Pokud nejsme schopni resekci pacientovi nabídnout, dochází tak ke značné redukci délky přežití. Stereotaktická biopsie je minimálně invazivní výkon k určení patologické léze nacházející se v oblasti centrálního nervového systému. V současné době se dává přednost bezrámové navigované biopsii, která je pacienty lépe tolerována a akceptována.



Na základě recentní prospektivní a randomizované studie nebyla přesnost trajektorie, míra komplikací a diagnostické výsledky potvrzena ve prospěch rámové biopsie proti metodě bezrámové. (10)

V případě, že pacientovi nemůžeme nabídnout mikrochirurgickou resekci, je biopsie jasnou metodou volby. Na základě našich zkušeností je navigovaná či rámová biopsie v diagnosticko-terapeutickém procesu na posledním místě. Cílem výkonu je pouze potvrzení diagnózy intrakraniální léze, a nemůže tedy dojít k redukci masy nádoru či vymizení perifokálního edému. Jehlová biopsie je tak rezervována pro polymorbidní pacienty, anebo pro ty, kteří se nenachází v uspokojivém klinickém stavu, a konečně pro pacienty s lézí uloženou hluboko v mozku s infiltrací centrálních struktur (corpus callosum, thalamus, bazální ganglia), či v případě multilokulárních expanzí.

Účelem provedení jehlové biopsie u inoperabilních lézí je prevence chybné diagnostiky, zároveň pak také sběr dat pro určení biomarkerů, což umožňuje výběr nejvhodnější léčebné strategie.

V této studii pacienti, kteří byli schopni absolvovat onkologickou léčbu, měli mírně vyšší délku přežití. Pacienti bez navazující onkologické léčby měli průměrnou dobu přežití 2,3 měsíce. Průměrná doba přežití u pacientů s jakoukoliv absolvovanou onkologickou léčbou byla 3,7 měsíce. Ve skupině pacientů s izolovanou radioterapií bylo průměrné přežívání 3,1 měsíce. Efekt této léčby byl ještě navíc zlepšen dobrým klinickým stavem jako nižší věk či Karnofsky skóre. Pacienti, kteří byli mladší (graf č. 3 a 5) a byli v lepším klinickém stavu (Karnofsky skóre >70), měli průměrnou délku přežití 6,6 měsíce.

Nicméně biopsie poskytuje pouze malé množství vzorků nádorové tkáně, což limituje možnosti pro komplexní cytogenetické a molekulárně biologické vyšetření (17). Na druhou stranu však obdržení histopatologické diagnózy umožňuje onkologům ukončit aktivní léčbu a přejít na symptomatickou či paliativní terapii.

Jak už bylo zmíněno, agresivní chemoradioterapie podle Stuppova protokolu dosahuje nejlepších výsledků. Na základě špatného klinického stavu pacientů s diagnostikovaným GBM jehlovou biopsií bývá onkologická léčba modifikována. Retrospektivní studie poukazují na stejnou efektivitu hypofrakcionované radioterapie u starších pacientů, nebo u pacientů se špatným klinickým stavem. Pro zachování kvality života pacientů je zásadní otázka kontroly progresu a eliminace nežádoucích účinků radioterapie (12).

Obecně je nutno zmínit, že rozhodnutí o převedení na paliativní léčbu pacienta bez histologické diagnózy bychom se měli vyhnout. Důvody k neprovedení biopsie jsou vysoká rizika komplikací spojená s jehlovou biopsií, zejména u pacientů ve špatném klinickém stavu, či u pacientů s rychlou deteriorací stavu navzdory zavedené terapii. Pokročilé metody vyšetření MR, jako jsou difuzní MR, relaxometrie, MR fingerprinting, MR spektroskopie nebo MRI-PET, jsou velmi nápomocné při identifikaci okraje nebo infiltrativní zóny nádoru a odlišují nádorovou tkáň od tkáně nenádorové. Pokud pacienti nejsou schopni ani provedení jehlové biopsie, některé z těchto výše uvedených metod (difuzní MR, MR spektroskopie, MRI-PET) můžou zlepšit diagnostiku, ale díky strukturální a metabolické heterogenitě nádorů nejsou všechny výsledky jednoznačné (18,19). FDG-PET má omezenější využití při zobrazování gliálních nádorů vzhledem ke zvýšenému fyziologickému vychytávání fludeoxyglukózy v normální šedé hmotě mozku (19).

#### **5.5.4 Dílčí závěr**

Radikální resekce je v současnosti hlavní strategií u všech pacientů se suspekci na GBM. Pacienti diagnostikovaní pomocí jehlové biopsie tak tvoří velmi malou a značně selektovanou skupinu pacientů s obecně velmi nepříznivou prognózou. I z tohoto důvodu nedoporučujeme zahrnovat tyto pacienty do souhrnných studií zabývajících se léčbou GBM. V našem souboru jsme potvrdili data z jiných studií. Provedení izolované radioterapie mírně zvyšuje délku přežití ve srovnání s paliativní a se symptomatickou léčbou u pacientů po stereotaktické biopsii. Tato skupina pacientů se obvykle skládá ze starších pacientů s nepříznivým klinickým nálezem. Na druhou stranu považujeme jehlovou biopsii za standardní léčebnou možnost u mladších pacientů v lepším klinickém stavu s neoperovatelnými GBM, kteří jsou schopni absolvovat kompletní konkomitantní chemoradioterapii dle Stuppova protokolu.

#### **Literatura**

1. Louis DN; Perry A; Reifenberger G; von Deimling A; Figarella-Branger D; Cavenee WK; Ohgaki H; Wiestler OD; Kleihues P; Ellison DW. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol.* 2016 Jun;131(6):803-20. doi: 10.1007/s00401-016-1545-1. Epub 2016 May 9. PMID: 27157931.

2. Louis DN; Perry A; Wesseling P; Brat DJ; Cree IA; Figarella-Branger D; Hawkins C; Ng HK; Pfister SM; Reifenberger G; Soffietti R; von Deimling A; Ellison DW. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro Oncol.* 2021 Aug 2;23(8):1231-1251. doi: 10.1093/neuonc/noab106. PMID: 34185076; PMCID: PMC8328013.
3. Hamisch CA, Minartz J, Blau T, Hafkemeyer V, Rueß D, Hellerbach A, Grau SJ, Ruge MI. Frame-based stereotactic biopsy of deep-seated and midline structures in 511 procedures: feasibility, risk profile, and diagnostic yield. *Acta Neurochir (Wien).* 2019 Oct;161(10):2065-2071. doi: 10.1007/s00701-019-04020-1. Epub 2019 Jul 29. PMID: 31359191.
4. Callovini GM, Telera S, Sherkat S, Sperduti I, Callovini T, Carapella CM. How is stereotactic brain biopsy evolving? A multicentric analysis of a series of 421 cases treated in Rome over the last sixteen years. *Clin Neurol Neurosurg.* 2018 Nov;174:101-107. doi: 10.1016/j.clineuro.2018.09.020. Epub 2018 Sep 13. PMID: 30227295.
5. Sciortino T, Fernandes B, Conti Nibali M, Gay LG, Rossi M, Lopci E, Colombo AE, Elefante MG, Pessina F, Bello L, Riva M. Frameless stereotactic biopsy for precision neurosurgery: diagnostic value, safety, and accuracy. *Acta Neurochir (Wien).* 2019 May;161(5):967-974. doi: 10.1007/s00701-019-03873-w. Epub 2019 Mar 20. PMID: 30895395.
6. Weller M, van den Bent M, Preusser M, Le Rhun E, Tonn JC, Minniti G, Bendszus M, Balana C, Chinot O, Dirven L, French P, Hegi ME, Jakola AS, Platten M, Roth P, Rudà R, Short S, Smits M, Taphoorn MJB, von Deimling A, Westphal M, Soffietti R, Reifenberger G, Wick W. EANO guidelines on the diagnosis and treatment of diffuse gliomas of adulthood. *Nat Rev Clin Oncol.* 2021 Mar;18(3):170-186. doi: 10.1038/s41571-020-00447-z. Epub 2020 Dec 8. Erratum in: *Nat Rev Clin Oncol.* 2022 May;19(5):357-358. PMID: 33293629; PMCID: PMC7904519.
7. Albert NL, Weller M, Suchorska B, et al. Response assessment in Neuro-Oncology working group and European Association for Neuro-Oncology recommendations for the clinical use of PET imaging in gliomas. *Neuro Oncol* 2016; 18: 1199–208.

8. Burkoň P, Lakomý R, Burkoňová D, et al. Konkomitantní chemoradioterapie a cílená bio-logická léčba u glioblastoma multiforme. *Cesk Slov Neurol N* 2010; 73/106 (5): 503–509.
9. Di L, Heath RN, Shah AH, Sanjurjo AD, Eichberg DG, Luther EM, de la Fuente MI, Komotar RJ, Ivan ME. Resection versus biopsy in the treatment of multifocal glioblastoma: a weighted survival analysis. *J Neurooncol.* 2020 May;148(1):155-164. doi: 10.1007/s11060-020-03508-6. Epub 2020 May 11. PMID: 32394325.
10. Stupp R, Hegi ME, Mason WP, van den Bent MJ, Taphoorn MJ, Janzer RC, Ludwin SK, Allgeier A, Fisher B, Belanger K, Hau P, Brandes AA, Gijtenbeek J, Marosi C, Vecht CJ, Mokhtari K, Wesseling P, Villa S, Eisenhauer E, Gorlia T, Weller M, Lacombe D, Cairncross JG, Mirimanoff RO; European Organisation for Research and Treatment of Cancer Brain Tumour and Radiation Oncology Groups; National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol.* 2009 May;10(5):459-66. doi: 10.1016/S1470-2045(09)70025-7. Epub 2009 Mar 9. PMID: 19269895.
11. Lobao CA, Nogueira J, Souto AA, et al. Cerebral biopsy: comparison between frame-based stereotaxy and neuronavigation in an oncology center. *Arq Neuropsiquiatr* 2009; 67 (3B): 876–81.
12. Bradac O, Steklacova A, Nebrenska K, Vrana J, de Lacy P, Benes V. Accuracy of VarioGuide Frameless Stereotactic System Against Frame-Based Stereotaxy: Prospective, Randomized, Single-Center Study. *World Neurosurg.* 2017 Aug;104:831-840. doi: 10.1016/j.wneu.2017.04.104. Epub 2017 Apr 25. PMID: 28454992.
13. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK (Eds.): WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. IARC: Lyon 2007.
14. Chaichana KL, Garzon-Muvdi T, Parker S, Weingart JD, Olivi A, Bennet R, Brem H, Quinones-Hinojosa A. Supratentorial glioblastoma mul-tiforme: the role of surgical resection versus biopsy among older patients. *Ann Surg Oncol* 2011;18(1):239-45.
15. Hrabalek L, Kalita O, Vaverka M, Zlevorova M, Ehrmann J Jr, Cechakova E, Adamus M, Novak V, Langova K. Resection versus biopsy of glioblastomas in eloquent brain

- areas. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2015 Mar;159(1):150-5. doi: 10.5507/bp.2013.052. Epub 2013 Jul 29. PMID: 23945847.
16. Gallet C, Clavreul A, Morandi X, Delion M, Madec N, Menei P, Lemée JM. What surgical approach for left-sided eloquent glioblastoma: biopsy, resection under general anesthesia or awake craniotomy? *J Neurooncol.* 2022 Nov;160(2):445-454. doi: 10.1007/s11060-022-04163-9. Epub 2022 Nov 3. PMID: 36326944.
17. Vuorinen V, Hinkka S, Färkkilä M, Jääskeläinen J. Debulking or biopsy of malignant glioma in elderly people - a randomised study. *Acta Neurochir (Wien).* 2003 Jan;145(1):5-10. doi: 10.1007/s00701-002-1030-6. PMID: 12545256.
18. Hirschler L, Sollmann N, Schmitz-Abecassis B, Pinto J, Arzanforoosh F, Barkhof F, Booth T, Calvo-Imirizaldu M, Cassia G, Chmelik M, Clement P, Ercan E, Fernández-Seara MA, Furtner J, Fuster-Garcia E, Grech-Sollars M, Guven NT, Hatay GH, Karami G, Keil VC, Kim M, Koekkoek JAF, Kukran S, Mancini L, Nechifor RE, Özcan A, Ozturk-Isik E, Piskin S, Schmainda K, Svensson SF, Tseng CH, Unnikrishnan S, Vos F, Warnert E, Zhao MY, Jancalek R, Nunes T, Emblem KE, Smits M, Petr J, Hangel G. Advanced MR Techniques for Preoperative Glioma Characterization: Part 1. *Magn Reson Imaging* 2023;57(6):1655-75. doi: 10.1002/jmri.28662
19. Hangel G, Schmitz-Abecassis B, Sollmann N, Pinto J, Arzanforoosh F, Barkhof F, Booth T, Calvo-Imirizaldu M, Cassia G, Chmelik M, Clement P, Ercan E, Fernández-Seara MA, Furtner J, Fuster-Garcia E, Grech-Sollars M, Guven NT, Hatay GH, Karami G, Keil VC, Kim M, Koekkoek JAF, Kukran S, Mancini L, Nechifor RE, Özcan A, Ozturk-Isik E, Piskin S, Schmainda KM, Svensson SF, Tseng CH, Unnikrishnan S, Vos F, Warnert E, Zhao MY, Jancalek R, Nunes T, Hirschler L, Smits M, Petr J, Emblem KE. Advanced MR Techniques for Preoperative Glioma Characterization: Part 2. *J Magn Reson Imaging* 2023;57(6):1676-95. doi: 10.1002/jmri.28663

## 6 Závěr

Dizertační práce systematicky předkládá výsledky dvou prací zabývajících se vlivem resekce na prognózu a přežití pacientů s glioblastomem. Předložené výsledky ukázaly, že maximalizace rozsahu resekce nádoru, pokud je to proveditelné s minimálním rizikem pro neurologickou funkci, má statisticky významný pozitivní účinek na celkové přežití pacientů.

V této práci jsme taktéž potvrdili zásadní vliv adjuvantní onkologické léčby na celkové přežití pacientů.

Význam těchto zjištění spočívá ve zlepšení chirurgických protokolů a v individuální adaptaci léčebných strategií, které by měly být vždy založeny na pečlivém posouzení rizik a přínosů dané léčby. Budoucí směry výzkumu by se měly zaměřit na zlepšení předoperačních diagnostických modalit, včetně využití umělé inteligence a pokročilých algoritmů pro přesnější odhad možností resekce a postoperativní sledování pacientových neurologických funkcí.

V úplném závěru je třeba zdůraznit multidisciplinární charakter problematiky, sahající od neurochirurgie, přes neurologii a neuroradiologii, až po onkologii a rehabilitační medicínu. Tímto přístupem chceme jako pracovníci Neurochirurgické kliniky přispět k lepšímu pochopení dynamické rovnováhy mezi maximalizací resekce a zachováním či zlepšením kvality života pacientů s GBM.

## 7 Seznam obrázků, grafů a tabulek

### Seznam obrázků

Obrázek 1: Snímek z peroperační neuronavigace u pacienta s low grade gliomem insuly ..47	
Obrázek 2: Intraoperační ultrasonografie při operaci multiformního glioblastomu před resekci .....	48
Obrázek 3: Záznam odpovědi intraoperační elektrofyziologie ze svalů horní končetiny .....	49
Obrázek 4: Peroperační fotografie po stimulaci kortexu během AWAKE resekce .....	50
Obrázek 5: Zdrojová data nádoru v T1 vážených sekvencích po konverzi do formátu NIFTI .....	57
Obrázek 6: Vytvoření masek v programu FSLEyes.....	57
Obrázek 7: vytvoření 3D modelu nádoru (vlevo dole) v programu ITK-SNAP .....	58
Obrázek 8: Pooperační nález zdrojových dat s drobným reziduem.....	58
Obrázek 9: Semiautomatické vytvoření masek pooperačního rezidua.....	59

### Seznam grafů

Graf 1: Srovnání OS mezi pacienty totální a parciální resekci.....	61
Graf 2: Porovnání OS pacientů dle typu onkoterapie .....	62
Graf 3: Rozdělení pacientů podle pohlaví a onkologické léčby .....	69
Graf 4: Věkové rozložení pacientů bez léčby a s onkologickou léčbou .....	70
Graf 5: Věkové rozložení pacientů podle absolvované onkologické léčby .....	70
Graf 6: Porovnání délky přežití u pacientů bez onkologické léčby a s nespecifikovanou onkologickou léčbou.....	71
Graf 7: Porovnání délky přežívání u pacientů bez onkologické léčby, po radioterapii a po konkomitantní chemoradioterapii .....	72

### Seznam tabulek

Tabulka 1: WHO a SAMS klasifikace .....	12
Tabulka 2: Schéma vrstvené integrované diagnózy dle WHO (20).....	16