

**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Marija Bušić, dr.med.**

**PREDIKTIVNA VRIJEDNOST POJAVNOG DIFUZIJSKOG  
KOEFIJENTA U PERITUMORSKOJ REGIJI PACIJENATA S  
GLIOMSKIM NOVOTVORINAMA MOZGA POD UTJECajem  
ONKOLOŠKE TERAPIJE**

**Doktorski rad**

**U Splitu, 2025.**

SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET

**Marija Bušić, dr.med.**

**PREDIKTIVNA VRIJEDNOST POJAVNOG DIFUZIJSKOG  
KOEFIČIJENTA U PERITUMORSKOJ REGIJI PACIJENATA S  
GLIOMSKIM NOVOTVORINAMA MOZGA POD UTJECajem  
ONKOLOŠKE TERAPIJE**

**Doktorski rad**

**Akadska godina: 2024/2025**

**Mentor:**

**izv. prof. dr. sc. Krešimir Dolić, dr. med.**

**U Splitu, 2025.**

Disertacija je izrađena u Kliničkom zavodu za dijagnostičku i intervencijsku radiologiju KBC-a Split.

Voditelj rada: izv. prof. dr. sc. Krešimir Dolić

## POPIS OZNAKA I KRATICA

ADC – pojavni difuzijski koeficijent (engl. *apparent diffusion coefficient*)

ATRX – ATP-ovisna helikaza, X-vezana helikaza II

CT – kompjutorizirana tomografija (engl. *computed tomography*)

DWI – difuzijski mjereno oslikavanje (engl. *diffusion weighted imaging*)

EGFR – receptor epidermalnog čimbenika rasta (engl. *epidermal growth factor receptor*)

FLAIR – engl. *fluid-attenuated inversion recovery*

GBM – glioblastom

GRE – engl. *gradient recalled echo*

Gy - Gray

HGG – gliom visokog gradusa (engl. *high grade glioma*)

IDH1 – izocitrat dehidrogenaza 1

KBC – Klinički bolnički centar

LGG – gliom niskog gradusa (engl. *low grade glioma*)

MGMT – O<sup>6</sup>-metilgvanin-DNA-metiltransferaza

MR – magnetska rezonanca

NAWM – naizgled zdrava bijela tvar (engl. *normal appearing white matter*)

PACS – sustav za pohranu radioloških snimki (engl. *picture archiving and communication system*)

ROI – područje interesa (engl. *region of interest*)

SŽS – središnji živčani sustav

TERT – telomerazna reverzna transkriptaza

TME – tumorski mikrokoliš (engl. *tumor microenvironment*)

TSE – engl. *turbo spin echo*

WHO – Svjetska zdravstvena organizacija (engl. *World Health Organization*)

## Sadržaj

1. UVOD.....	1
1.1. Epidemiologija.....	2
1.2. Patohistologija.....	2
1.3. Klinička prezentacija .....	5
1.4. Dijagnostika .....	6
1.4.1. Difuzijski mjereno oslikavanje i pojavni difuzijski koeficijent .....	6
1.5. Liječenje.....	11
2. HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	14
2.1. Ciljevi istraživanja: .....	15
2.2. Hipoteza ovog istraživanja je:.....	15
4. ISPITANICI I POSTUPCI.....	16
4.1. Ispitanici.....	17
4.2. Postupci.....	18
4.2.1. MR pretrage .....	18
4.2.2. Analiza MR snimaka.....	18
4.3. Etička načela .....	22
4.4. Statistička analiza podataka .....	22
5. REZULTATI.....	23
6. RASPRAVA .....	30
7. ZAKLJUČCI.....	37
8. SAŽETAK .....	39
9. SUMMARY .....	42
10. LITERATURA .....	44
11. ŽIVOTOPIS.....	55

## **1. UVOD**

## **1.1. Epidemiologija**

Tumori središnjeg živčanog sustava (SŽS) su heterogena skupina koja uključuje maligne i benigne neoplastičke procese. Incidencija ovih tumora mijenja se ovisno o dobi pacijenata. Gliomi su najčešći i najagresivniji tumori SŽS. Njihovo nazivlje ovisi o vrsti glija stanica iz kojih nastaju pa tako razlikujemo astroцитome i oligodendrogliome (1). Najčešći maligni tumor SŽS u odraslih je glioblastom, koji ima i najvišu stopu mortaliteta, a pojavljuje se u 14,5% oboljelih s tumorom SŽS (2). Godišnja incidencija glioma je 5,5 na 100 000 ljudi (3). Medijan preživljenja za gliomske tumore je oko 15 mjeseci, dok za glioblastome iznosi svega 8 mjeseci, a petogodišnje preživljenje manje je od 5% (2,3).

Prema biltenu hrvatskog Registra za rak, u Republici Hrvatskoj incidencija malignih tumora mozga je 10,3 na 100 000, odnosno 2%, s 210 oboljelih muškaraca i 208 oboljelih žena u 2020. godini (4).

## **1.2. Patohistologija**

Atroцитomi, oligodendrogliomi i glioblastomi prema petom izdanju klasifikacije tumora SŽS Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) iz 2021. godine spadaju u skupinu difuznih glioma odraslog tipa (5). Ranije klasifikacije WHO uzimale su u obzir histološku građu tumorskog tkiva (nuklearna atipija, mitotički indeks, mikrovaskularna proliferacija i nekroza) pa su gliomi bili dijeljeni na gliome nižeg gradusa (LGG), u koje su spadali gradusi I i II te gliome višeg gradusa (HGG), u koje su spadali gradusi III i IV, ovisno o karakteristikama tkiva (6). U posljednje vrijeme sve važniji su postali molekularni biomarkeri, kako za liječenje, tako i za prognozu oboljelih. Zbog toga su u petom izdanju WHO klasifikacije dodatno ubrojene molekularne karakteristike tkiva u klasifikaciju (tablica 1.) (5).

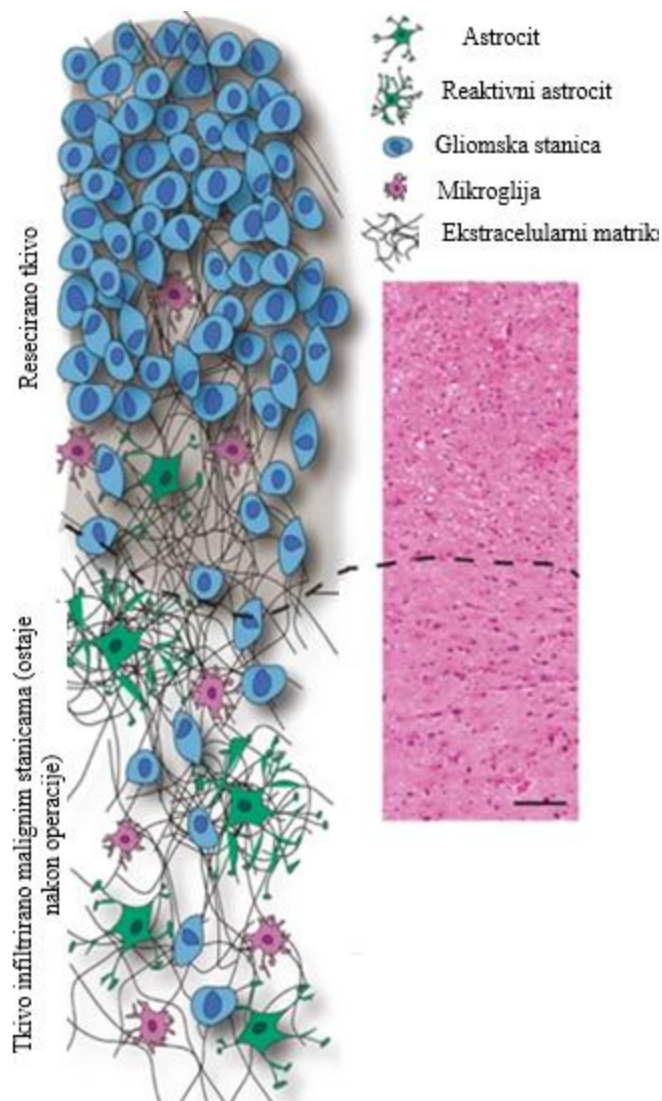


**Tablica 1.** Klasifikacija astrocitoma odrasle dobi (5)

<b>WHO opis</b>	<b>Karakteristike</b>
<b>Astroцитom</b>	IDH-mutiran
<b>Oligodendrogliom</b>	IDH-mutiran, 1p/19q - kodeletiran
<b>Glioblastom</b>	IDH-divlji tip

Tumori mozga nastaju nakupljanjem mutacija u genima zaduženim za regulaciju staničnog ciklusa. Nakupljanjem takvih mutacija stanice izbjegavaju imunološki odgovor, odnosno destrukciju. Mutacije u genima koje reguliraju stanični ciklus mogu biti naslijeđene ili stečene nakon izloženosti kemijskim, fizikalnim i biološkim agensima koji oštećuju DNA (7). Molekularna klasifikacija glioma je pokrenuta otkrićem točkastih mutacija na izocitrat dehidrogenaza 1 i 2 (IDH1/IDH2) genima. Naknadnim praćenjem otkriveno je da pacijenti s mutacijom ovih gena imaju dulje preživljenje nego pacijenti bez mutacija (IDH-divlji tip) (8,9). Također, pacijenti s IDH-mutiranim gliomima u trenutku dijagnoze u prosjeku su mlađi od onih s IDH-divljim tipom, s medijanom dobi od 36 godina (10). Istraživanjem se pokazalo da je kodelecija na kratkom kraku kromosoma 1 i dugom kraku kromosoma 19 (1p/19q) povezana s većom osjetljivošću na pojedine kemoterapijske agense. Uočeno je da i brojni drugi geni, kao što su EGFR, MGMT, ATRX, TERT i drugi imaju važne dijagnostičke, prognostičke i prediktivne vrijednosti (11).

Važna karakteristika glioma je način njihova rasta. Obilježje gliomskih tumora je infiltrativan rast, koji onemogućava potpunu kiruršku resekciju i time otežava liječenje (12). Makroskopski se mogu doimati oštro ograničeni od okolnog tkiva, ali histološkim pregledom najčešće se uočavaju područja invazije okolnog zdravog tkiva (13), kao što je vidljivo na slici 1. Ostalne stanice tumora izvor su recidiva bolesti, koji se kod gotovo svih oboljelih od glioblastoma javi unutar dvije godine od operacije (14).



**Slika 1.** Ilustracija gliomske novotvorine i njene makroskopske granice prema naizgled zdravom tkivu mozga, gdje su mikroskopski vidljive gliomske stanice koje ga infiltriraju. Uz to je prikazan patohistološki preparat glioma s rubnim naizgled zdravim parenhimom mozga, u kojem se također vidi infiltracija moždanog parenhima. Preuzeto iz Cornelison i ostali. A patient-designed tissue-engineered model of the infiltrative glioblastoma microenvironment. *npj Precis. Onc.* 2022;6(1):54. (15). Licencirano pod CC BY 4.0 (<https://doi.org/10.1038/s41698-022-00290-8>).

Tkivo koje okružuje tumor, u kojemu se najčešće nalaz mikroskopski ostatci tumora naziva se tumorski mikrookoliš (TME – engl. *tumor microenvironment*). Unutar tog tkiva nalaze se faktori koji pridonose progresiji osnovne bolesti tako što štite tumor od imunološkog odgovora domaćina

te potpomažu rezistenciju na terapiju (16,17). Kod glioblastoma TME može pomoći umnažanju matičnih stanica tumora i na taj način doprinijeti proliferaciji i invaziji tumorski stanica te otpornosti na lijekove (18). TME u mozgu je specifičan jer sadrži stanice koje su jedinstvene za SŽS, poput astrocita i mikroglije. U istraživanjima je pokazano da se tok intersticijske tekućine pojačava tijekom tumorogeneze, posljedično utječe na migraciju stanica i stimulira invaziju (19,20).

Stanice difuznih glioma infiltriraju zdrava tkiva uz već postojeće “puteve”, tj. postojeće anatomske strukture, a često koriste iste rute za migraciju kao nezreli neuroni (21). One invadiraju zdrava tkiva mozga uz mijelinizirana vlakna unutar bijele tvari (intrafascikularno), a šire se i subpijalno, perivaskularno i perineuralno (13,22). Invazivne tumorske stanice preferiraju rast uz traktove unutar bijele tvari i uz krvne žile. Perivaskularni rast omogućuje pristup kisiku i nutrijentima potrebnima za rast, a uz to endotelne stanice luče tvari koje pospješuju rast gliomskih stanica i matičnih gliomskih stanica uz krvne žile (23,24). Zbog rasta u perivaskularnom prostoru dolazi do odvajanja astrocita od krvnih žila i posljedično do sloma krvno-moždane barijere (25).

### **1.3. Klinička prezentacija**

Gliomski tumori u oko 50% pacijenata prezentiraju se nespecifičnim glavoboljama. Neka od obilježja takvih glavobolja koje se javljaju kod pacijenata s tumorima su progresivni karakter, unilateralna lokalizacija i novonastala glavobolja kod pacijenata starijih od 50 godina (26). Kod izrazitog povišenja intrakranijalnog tlaka može se oftalmološkim pregledom uočiti edem papile optičkog živca te se klinički mogu zamijetiti ataksija i inkontinencija, također simptomi povišenja intrakranijalnog tlaka.

Drugi simptomi koji se javljaju mogu uključivati kognitivne poteškoće te promjene ponašanja i raspoloženja, koji se mogu interpretirati kao depresija ili drugi psihijatrijski poremećaj, a kod pacijenata više životne dobi mogu se zamijeniti za promjene nastale uslijed starenja.

Žarišni neurološki ispadi relativno se često javljaju i ukazuju na lokalizaciju tumora. Oni uključuju hemiparezu, gubitak osjeta, smetnje govora ili smetnje vida, a kako se ponekad naglo pojave mogu oponašati moždani udar. Oko 20 do 40% pacijenata prezentira se epileptičkim napadajem (27).

## **1.4. Dijagnostika**

Neurooslikavanje ima važnu ulogu u dijagnozi i preoperativnom planiranju, kao i u praćenju pacijenata s gliomskim tumorima. Kompjutorizirana tomografija (CT) je dostupna, brzo i lako se izvodi stoga je najčešće prvi izbor u hitnim stanjima. Također se koristi kao jedina metoda dijagnostike i praćenja kod pacijenata kod kojih se ne može napraviti MR (npr. pacijenti s implantatima koji nisu kompatibilni s MR-om). CT nije idealna metoda za dijagnostiku jer ne može detektirati suptilne promjene u strukturi moždanog parenhima, a koje mogu ukazivati na tumorsku infiltraciju (27,28).

Magnetska rezonanca (MR) s i bez kontrasta je metoda izbora za dijagnostiku i praćenje tumora SŽS jer pruža bolju mekotkivnu rezoluciju u odnosu na CT. Aplikacija paramagnetskog kontrastnog sredstva, gadolinija, pruža mnoštvo dodatnih dijagnostičkih informacija. Zbog sloma krvno-moždane barijere u područjima infiltriranim patološkim procesom dolazi do nakupljanja gadolinija (28).

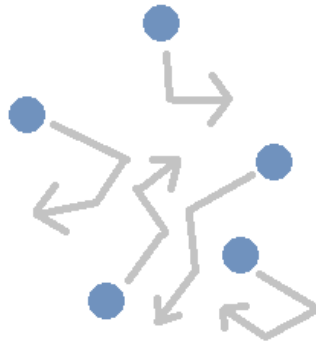
Najčešće korišteni protokoli u dijagnostici tumora mozga uključuju 3D T1 IR-GRE prije i nakon aplikacije kontrasta, transverzalne T2 TSE snimke, transverzalne FLAIR snimke i transverzalne 2D DWI/ADC mape (29). Daljnjim napretkom tehnologije uvedene su novije metode koje pomažu u karakterizaciji tumorskih procesa mozga, kao što su spektroskopija, perfuzija i difuzijske sekvence.

### **1.4.1. Difuzijski mjereno oslikavanje i pojavni difuzijski koeficijent**

Difuzijski mjereno oslikavanje (DWI – engl. *diffusion weighted imaging*) je MR tehnika koja kvantificira difuziju molekula vode, odnosno Brownovo gibanje unutar pojedinog voksel. DWI snimke nastaju zbog atenuacije signala na T2-mjerenim snimkama, što je posljedica difuzije molekula vode unutar tkiva. Molekule vode koje se slobodno kreću uzrokuju izraženije smanjenje inicijalnog T2 signala, dok će one s ograničenim kretanjem uzrokovati manje smanjenje ili čak zadržavanje signala, ovisno o stupnju restrikcije gibanja. Regije tkiva s ograničenom difuzijom, poput područja visoke stanične gustoće, prikazat će se kao zone povišenog intenziteta signala na

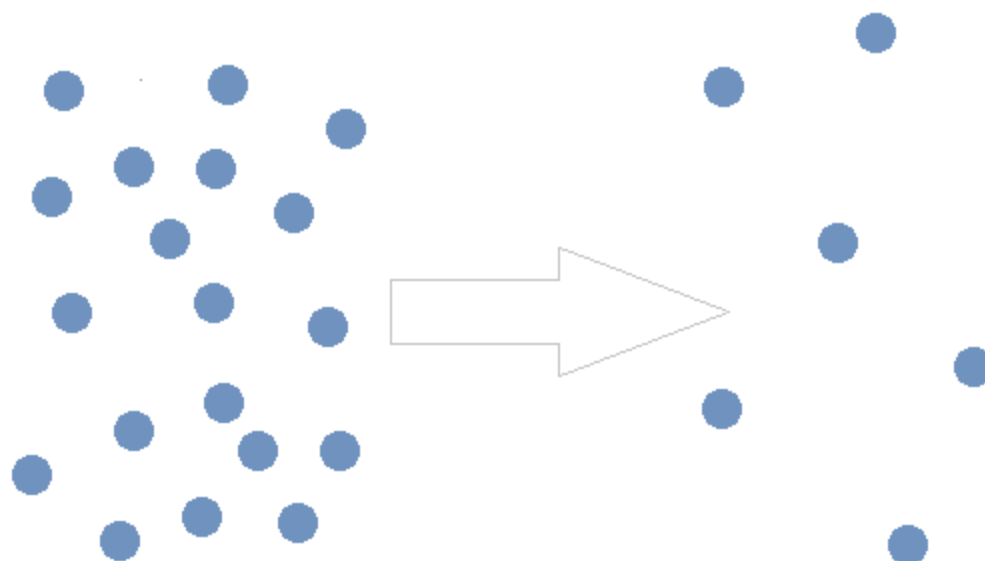
DWI snimkama, dok će se područja gdje je kretanje molekula vode slobodnije prikazati signalom nižeg intenziteta.(30,31).

Difuzija je fizikalni proces premještanja čestica unutar medija, pri čemu se one kreću iz područja više koncentracije prema područjima niže koncentracije, što je posljedica Brownovog gibanja. (slika 2.).



**Slika 2.** Shematski prikaz nasumičnog gibanja molekula vode.

Brownovo gibanje opisuje nasumično kretanje atoma i molekula u tekućinama bez određenog smjera. Međutim, ako unutar medija postoji razlika u koncentraciji između dvaju područja, veća je vjerojatnost da će čestice migrirati iz područja više koncentracije u područje niže koncentracije. (slika 3.).



**Slika 3.** Shematski prikaz difuzije molekula vode.

S vremenom ovaj proces dovodi do izjednačavanja koncentracije čestica. Neto pomak čestica proporcionalan je gradijentu koncentracije, što opisuje Fickov zakon difuzije. Prema tom zakonu, difuzijski koeficijent djeluje kao konstanta proporcionalnosti koja određuje brzinu i intenzitet difuzije kroz medij. Za izračunavanje difuzijskog koeficijenta koriste se različite metode, a u uvjetima karakterističnim za biološka tkiva najčešće se primjenjuje Stokes-Einsteinova jednažba. (32):

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta r}$$

$k$  – Boltzmannova konstanta

$T$  – apsolutna temperatura

$\eta$  – viskoznost

$r$  – radijus čestica

Kada se difuzija odvija u slobodnom mediju, naziva se izotropnom, jer čestice mogu jednoliko migrirati u svim smjerovima. U biološkim tkivima, međutim, kretanje čestica ograničeno je staničnim membranama, gustoćom i brojem stanica, temperaturom, viskoznošću i perfuzijom.

Zbog tih prepreka, čestice se ne mogu potpuno slobodno kretati, već im je difuzija ograničena u određenim smjerovima, što se naziva ograničena ili anizotropna difuzija. U hipercelularnim tkivima, gdje je gustoća stanica visoka, a stanične membrane očuvane, difuzija je značajno ograničena. Nasuprot tome, u tkivima s manjom gustoćom stanica i oštećenim membranama, poput cističnih ili nekrotičnih područja, difuzija je slobodnija. Stoga, analiza ograničenja difuzije može poslužiti kao indirektni pokazatelj mikrostrukture tkiva, pružajući važne informacije o njegovom sastavu i stanju (33).

DWI je inherentno T2-mjerena snimka koja se dobiva primjenom Stejskal-Tannerove spin-echo sekvence, pri čemu se difuzijski gradijenti magnetskog polja primjenjuju prije i nakon 180° radiofrekventnog (RF) pulsa. Cilj difuzijskih gradijenata je atenuacija transverzalne magnetizacije, odnosno smanjenje konačnog intenziteta signala zabilježenog tijekom MR pretrage, što ovisi o slobodi kretanja molekula vode unutar tkiva. Nakon primjene 90° RF pulsa, svi magnetski momenti protona precesiraju u fazi, pri čemu njihova frekvencija ovisi o jačini vanjskog magnetskog polja. Uvođenjem magnetskog gradijenta dolazi do promjene frekvencije precesije protona ovisno o njihovoj poziciji unutar gradijenta. Kada gradijentni impuls prestane djelovati, frekvencije se vraćaju u početno stanje, no protoni više ne precesiraju sinkrono, što uzrokuje fazni pomak (34,35).

Fazni pomak, odnosno defaziranje, dovodi do smanjenja MR signala. Budući da je difuzija nasumičan proces, i fazni pomaci molekula vode također su nasumični, što rezultira značajnim gubitkom MR signala. Stupanj slabljenja ovisi o intenzitetu nasumičnog gibanja molekula vode, koje je određeno difuzijskim koeficijentom, kao i jačinom i trajanjem difuzijskih gradijenata. Što je gibanje molekula vode slobodnije (np. u cerebrospinalnom likvoru), smanjenje signala bit će izraženije, dok će u područjima gdje je kretanje molekula vode ograničeno (npr. talamus, bazalni gangliji i korteks), signal biti manje oslabljeni. Za difuziju vode u homogenom mediju, kao što je cerebrospinalni likvor atenuacija signala može se opisati jednadžbom:

$$S = S_0^{(-bD)}$$

D – difuzijski koeficijent

S<sub>0</sub> – početni signal, bez difuzije

b – vrijednost koja je određena snjagom i trajanjem difuzijskih gradijenata

B-vrijednost ključni je parametar u DWI, koji ovisi o amplitudi i trajanju pulsa, kao i o vremenu između primjene dva pulsa. MR signal slabi s porastom b-vrijednosti. Stopa smanjenja signala ovisi o b-vrijednosti, pri čemu s povećanjem tih vrijednosti dolazi do gubitka signala u kapilarnoj mreži, dok veći dio signala dolazi od difuzijskih procesa. U konačnici veće b-vrijednosti rezultiraju većim kontrastom između tkiva koja imaju različita difuzijska svojstva (36). B-vrijednost određuje se jednadžbom:

$$b = \gamma^2 G^2 \delta^2 \left( \Delta - \frac{\delta}{3} \right)$$

$\gamma$  – žiromagnetski indeks

$G$  – amplituda

$\delta$  – trajanje pulseva

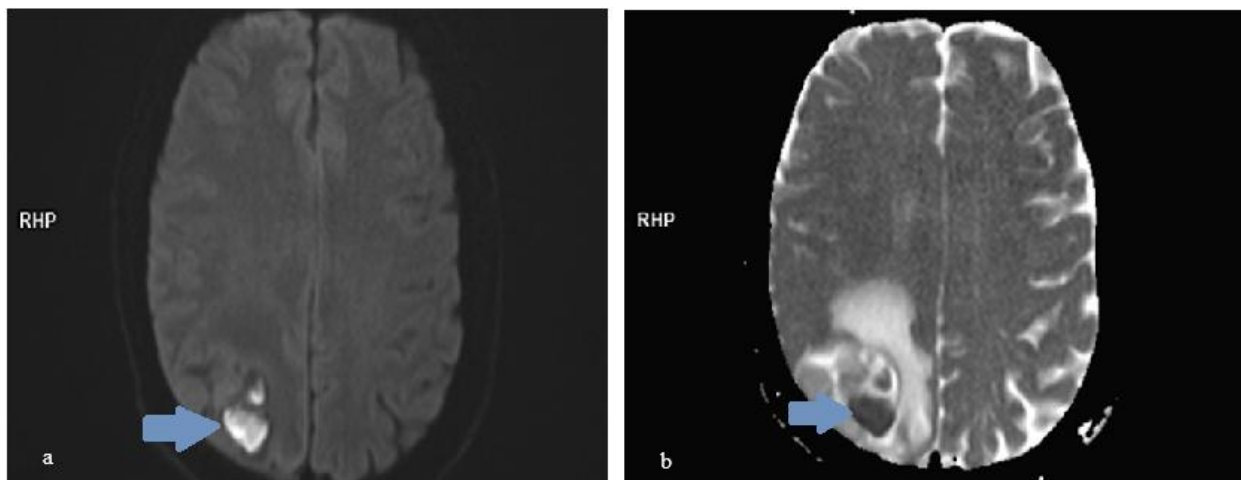
$\Delta$  – vrijeme između dva pulsa

Iz DWI snimki snimljenih s različitim b-vrijednostima, obično s isključenim difuzijskim gradijentom ( $b=0$ ) i s visokom b-vrijednošću (npr.  $b = 1000 \text{ s/mm}^2$ ), softver MR aparata izračunava pojavni difuzijski koeficijent (ADC – engl. *apparent diffusion coefficient*). ADC se koristi kako bi se izbjegla pogrešna interpretacija visokog signala na DWI kao rezultat ograničene difuzije, zbog mogućeg postojanja T2 prosijavanja. ADC vrijednost za svaki vokal može se izračunati pomoću odgovarajuće jednadžbe:

$$ADC = \ln \left( \frac{S_1}{S_2} \right) / (b_1 - b_2)$$

pri čemu  $S_1$  i  $S_2$  označavaju intenzitet signala na DWI pri vrijednostima  $b_1$  i  $b_2$  (32,34,37). Vokseli s najnižom vrijednošću ADC-a prikazuju se crnom bojom, dok oni s najvišom vrijednošću prikazuju bijelom bojom. ADC predstavlja izravnu mjeru difuzivnosti molekula vode u tkivu, pa hipointenzitet signala označava ograničenu difuziju, dok hiperintenzitet signala ukazuje na facilitiranu difuziju. Područja sniženog signala na ADC mapama obično koreliraju s područjima veće stanične gustoće (slika 4.).





**Slika 4.** Novotvorina parijetalnog režnja desno. a) DWI snimka ( $b = 1000 \text{ s/mm}^2$ ) pokazuje visok signal tumorskog procesa (strelica). b) ADC mapa pokazuje nizak intenzitet signala, tj. ograničenu difuzivnost (strelica).

ADC se može izmjeriti na radnoj stanici prilikom pregledavanja snimki postavljanjem područja interesa (ROI – engl. *region of interest*) te se pritom mogu dobiti važne dodatne informacije o mikrostrukturi promatranog tkiva.

## 1.5. Liječenje

Kod pacijenata s gliomskim tumorima liječenje ovisi o patohistološkom nalazu i molekularnoj analizi, koja uključuje i ranije navedene biomarkere, kao što su IDH1 i 1p/19q kodelecija. Zbog toga je prvi korak u liječenju obično kirurška resekcija tumora koja ima terapijsku i dijagnostičku ulogu. Operacijom se prikuplja uzorak tkiva koji analiziraju specijalisti patologije da bi se dobila konačna dijagnoza. Kada kirurška resekcija nije moguća, npr. zbog lokalizacije tumora, provodi se stereotaksijska biopsija lezije. Uzorkovanje pomoću stereotaksijske biopsije je sigurno s niskim morbiditetom i mortalitetom, a pruža vrijednu dijagnostičku informaciju (38,39).

Cilj kirurškog liječenja je da se ukloni što više tumorskog tkiva, bez neuroloških oštećenja, za što se koriste različite tehnike: sustav za navigaciju, intraoperacijski MR, ultrazvuk i bojanje tumorskog tkiva 5-aminolevulinskom kiselinom (40). Kod tumora koji se nalaze u blizini elokventne regije u pojedinim centrima postoji i mogućnost izvođenja operacije u budnom stanju

s praćenjem putem evociranih potencijala, elektromiografije ili mapiranja mozga radi očuvanja funkcija bolesnika (41). Veći volumen ostatnog tumorskog tkiva je negativan prognostički faktor za gliome svih gradusa i podtipova, no ipak pokazano je da je uz elokventne regije bolje napraviti pošteniju resekciju. Veliki neurološki deficit nastao operacijom smanjuje kvalitetu života bolesnika i može stvoriti dodatne komplikacije koje mogu odgoditi daljnje liječenje što u konačnici može dovesti do progresije bolesti (42,43).

Nakon kirurškog liječenja, obično 3-5 tjedana kasnije, započinje se radioterapija. Cilj radioterapije je poboljšati lokalnu kontrolu bolesti. Čak i ako se ukloni makroskopski sav vidljiv tumor obično u okolnom tkivu već postoje tumorske stanice koje ga infiltriraju. Ukupna radioterapijska doza je 50-60 Gy raspoređena u dnevne frakcije od 2 Gy, koja dvostruko produljuje ukupno preživljenje. U postojećim istraživanjima pokazano je da ne postoji dodatna korist od više doze zračenja. Kod pacijenata s lošim prognostičkim faktorima (npr. starija životna dob), može se provesti hipofraktionirana radioterapija, ukupno 40 Gy u 15 dnevnih doza (44–46). Za odabir područja koje će biti ozračeno pregledavaju se T1 i T2 mjerene snimke te FLAIR da bi se utvrdio volumen ostatnog tumora na koji se nadoda 1-2 cm zbog mikroskopske infiltracije. Prilikom planiranja zračenja potrebno je izbjeći osjetljive strukture kao što su optički živci, optička hijazma, retine, očne leće, moždano deblo, hipofiza, pužnice i hipokampusi (47).

Za većinu pacijenata terapijski modalitet je i kemoterapija alkilirajućim sredstvom. Lijek koji se najčešće upotrebljava u tu svrhu je temozolomid. To je lijek koji prolazi kroz krvno-moždanu barijeru, ima dobar antitumorski učinak koji postiže vezivanjem na jedan od enzima za popravak DNA ( $O^6$ -metilgvanin-DNA metiltransferaza – MGMT). Temozolomid ima relativno dobar sigurnosni profil, a najčešća nuspojava mu je mijelosupresija, najčešće s neutropenijom ili trombocitopenijom (48). Druga alkilirajuća sredstva iz skupine nitrozoureja (npr. lomustin, karmustin i nimustin) mogu uzrokovati teže nuspojave i zbog toga zahtijevati smanjenje doze ili prekid i nastavak s drugom vrstom liječenja. Ovi lijekovi mogu se koristiti kod recidiva glioblastoma (49).

**Tablica 2.** Preporuke za liječenje različitih podtipova difuznih glioma odrasle dobi (50).

<b>Tip tumora</b>	<b>Primarno liječenje nakon postavljanja dijagnoze</b>	<b>Liječenje progresije/recidiva</b>
Oligodendrogliom, IDH-mutiran, s 1p/19q kodelecijom, WHO gradus 2	Praćenje; radioterapija (54-60 Gy u frakcijama od 1.8-2 Gy), PCV adjuvantno (prokarbazin, lomustin i vinkristin)	Temozolomid
Astroцитom, IDH-mutiran, WHO gradus 3	Radioterapija (54-60 Gy u frakcijama od 1.8-2 Gy), temozolomid adjuvantno	Nitrozoureja ili temozolomid
Glioblastom, IDH-divlji tip, WHO gradus 4	Konkomitantna kemoradioterapija s temozolomidom (54-60 Gy u frakcijama od 1.8-2 Gy); za starije od 65 godina i MGMT nemetilirane tumore radioterapija (40 Gy u frakcijama od 2.67 Gy); za starije od 65 godina i MGMT metilirane tumore konkomitantna kemoradioterapija s temozolomidom ili samo temozolomid	Nitrozoureja ili temozolomid

## **2. HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

## **2.1. Ciljevi istraživanja:**

1. Istražiti postoje li razlike u ADC vrijednostima peritumorskog tkiva bez jasnih znakova infiltracije istog na standardnim MR sekvencama
2. Utvrditi postoje li razlike u ADC vrijednostima bijele tvari, NAWM (engl. *normal appearing white matter*) u ipsilateralnoj i kontralateralnoj moždanoj hemisferi, prije i nakon provedene onkološke terapije.
3. Utvrditi koreliraju li ADC vrijednosti s odgovorom na onkološku terapiju i preživljenjem.

## **2.2. Hipoteza ovog istraživanja je:**

Pacijenti s agresivnijim gliomskim tumorima i mikroskopskom peritumorskom infiltracijom imaju niže ADC vrijednosti u naizgled zdravom tkivu mozga na standardnim MR sekvencama.

#### **4. ISPITANICI I POSTUPCI**

#### 4.1. Ispitanici

U ovo retrospektivno istraživanje uključeno je 49 pacijenata koji su liječeni u Kliničkom bolničkom centru Split u razdoblju od 2016. do 2021. godine zbog gliomske neoplazme gradusa III i IV po WHO klasifikaciji iz 2016. koja je bila aktualna u trenutku kada je istraživanja osmišljeno i kada su prikupljeni podatci. Ovi tumori odgovaraju difuznim gliomima odrasle dobi po zadnjoj WHO klasifikaciji iz 2021. godine. Svi analizirani tumori bili su smješteni supratentorijalno unilateralno sa samo jednom standardnim MR metodama detektabilnom lezijom.

Dijagnoza je patohistološki potvrđena, bilo nakon maksimalne kirurške resekcije tumora ili nakon stereotaksijske biopsije s Leksilovim okvirom. Stereotaksijska biopsija rađena je kod pacijenata koji su imali tumore nedostupne za resekciju, tumore u elokventnoj regiji ili kod pacijenata lošeg općeg stanja. Adjuvantno liječenje nastavljeno je konkomitantnom kemoradioterapijom. Tijekom kemoterapije pacijenti liječeni su temozolomidom u dozi 75 mg/m<sup>2</sup> svaki dan tijekom radioterapije, a zatim sa 6 ciklusa temozolomida u dozi 150-200 mg/m<sup>2</sup>. Većina pacijenata primila je radioterapiju u ukupnoj dozi od 60 Gy (n=35), a dio je primio ukupnu dozu 42 Gy (n=14). Svi pacijenti primali su antiedemsku terapiju, deksametazon.

Kriteriji uključnja:

- Gliomska novotvorina gradusa III i IV po WHO klasifikaciji iz 2016. godine
- Odrasli, stariji od 18 godina
- Prva MR pretraga učinjeno u KBC-u Split (prije onkološke i/ili kirurške terapije)
- Kontrolna MR pretraga nakon terapije učinjeno u KBC-u Split

Kriteriji isključenja:

- Gliomska novotvorina gradusa I i II po WHO klasifikaciji iz 2016. godine
- Dijagnostika i liječenje prije 2016. godine, pregledi prije digitalizacije, nedostupni u PACS-u
- Nedostatak MR pretrage prije onkološkog i/ili kirurškog liječenja
- Nedostatak MR pretrage nakon onkološkog i/ili kirurškog liječenja

- Nedostatak difuzijskih sekvenci u napravljenim MR pretragama
- Značajni artefakti na difuzijskim sekvencama koji bi otežali mjerenje ADC vrijednosti

## 4.2. Postupci

### 4.2.1. MR pretrage

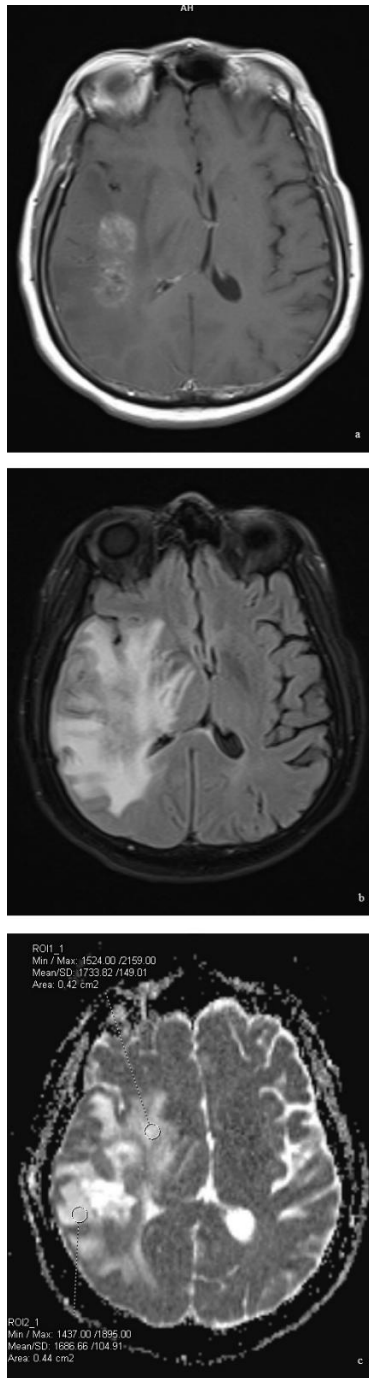
MR pretrage pacijenata napravljene su na Zavodu za dijagnostičku i intervencijsku radiologiju KBC-a Split na MR uređaju jakosti polja 1,5 T (Avanto, Siemens, Erlangen, Njemačka). Tijekom snimanja korištena je zavojnica za glavu. Prilikom snimanja nije bio dostupan alat za automatsko pozicioniranje. U protokolu snimanja korištene su sljedeće sekvence:

- transverzalni i sagitalni T1 SE (engl. *spin-echo*) (TR 550 ms, TE 8.7 ms, FOV 230 mm) ili 3D GRE (engl. *gradient-recall-echo*) (TR 1910 ms, TE 3.53 ms, FOV 256 mm) prije i nakon aplikacije paramagnetskog kontrastnog sredstva
- transverzalni T2 TSE (TR 5000 ms, TE 96 ms, FOV 230 mm)
- transverzalni FLAIR (engl. *fluid attenuated inversion recovery*) (TR 8000 ms, TE 92 ms, FOV 230 mm)
- transverzalni 2D DWI EPI (engl. *echo-planar imaging*) s b vrijednostima 0 s/mm<sup>2</sup> i 1000 s/mm<sup>2</sup> i difuzijskim gradijentima primijenjenim po x, y i z osima
- ADC mape izračunate iz DWI korištenjem standardnog monoeksponencijalnog regresijskog modela primjenom softvera integriranog u MR uređaj

### 4.2.2. Analiza MR snimaka

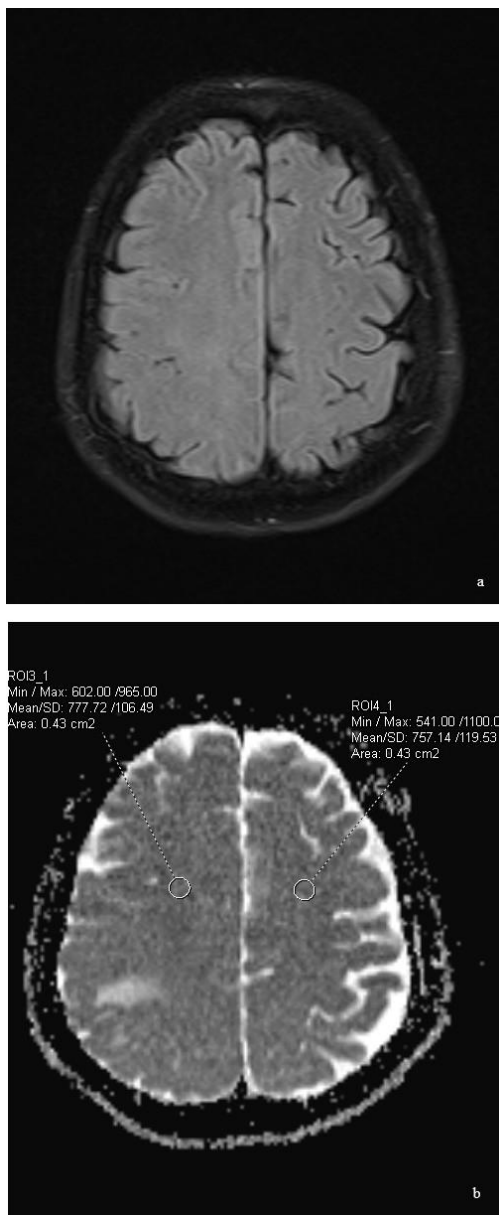
Za analizu podataka je korišten softver proizvođača MR uređaja (Syngo.via; Siemens; München, Njemačka). Uz pomoć alata za slobodno iscrtavanje volumena označen je dio lezije koji je pokazivao postkontrastnu imbibiciju. Uz to područje postavljena su po dva ROI kružića u nasumičnoj distribuciji, 2 mm udaljeno od ruba imbibicije, unutar abnormalnog signala na FLAIR sekvenci, u području povišenog signala na T2/FLAIR koji dijelom odgovara edemu, a dijelom neoplastičnoj infiltraciji (slika 5.).





**Slika 5.** Gliomska novotvorina temporalnog režnja desno, primjer mjerenja. a) T1 mjereno vrijeme pokazuje leziju koja se rubno imbibira. b) FLAIR u istoj razini pokazuje široku zonu povišenog signala koja dijelom odgovara edemu, a dijelom neoplastičnoj infiltraciji. c) ADC mapa u istoj razini pokazuje mjesta na koja su postavljena ROI za mjerenje.

Još je po jedan ROI postavljen unutar iste hemisfere, udaljen oko 4 cm, unutar bijele tvari koja ne pokazuje MR detektabilne abnormalnosti – NAWM (engl. *normal appearing white matter*) te simetrično u kontralateralnu moždanu hemisferu pomoću softverskog alata za zrcaljenje (Slika 6.). Površina ROI kružića je bila 0,4-0,5 cm<sup>2</sup>. Kako su svi analizirani tumori bili su smješteni supratentorijalno, svi ROI kružići također su bili postavljeni supratentorijalno. Na kontrolnoj pretrazi vizualno su se kontrolirali ROI da bi bili što sličnije postavljeni. Vrijednosti ADC je izračunao softver i prikazane su mjernom jedinicom mm<sup>2</sup>/s.



**Slika 6.** Isti bolesnik kao na slici 4., presjeci izvan standardnim tehnikama snimanja zone vidljive infiltracije. a) FLAIR prikazuje uredan signal sive i bijele tvari uz nešto uže sulkuse desne hemisfere, kao posljedica kompresivnog učinka glioma. b) ADC mapa u istoj razini s ROI postavljenim u NAWM hemisfere ipsilateralno kao gliom i simetrično kontralateralno.

### **4.3. Etička načela**

Istraživanje je odobrilo etičko povjerenstvo KBC-a Split (Ur.broj: 2181-147/01-06/LJ.Z.-24-02) i provedeno je u skladu s načelima Helsinške deklaracije, Zakona o zaštiti prava pacijenata (NN 169/04), Zakona o provedbi Opće uredbe o zaštiti podataka (NN52/18) te Hrvatskog kodeksa medicinske etike i deontologije (NN55/08, 139/15).

### **4.4. Statistička analiza podataka**

Za potrebe ovog istraživanja vrijeme preživljenja uzeto je kao vrijeme od dobivanja patohistološke dijagnoze do trenutka posljednje onkološke kontrole dostupne u arhivu Klinike za onkologiju i radioterapiju KBC-a Split. Uočena je bimodalna raspodjela ispitanika s obzirom na dane preživljenja (razlika između dvije grupe je iznosila  $n = 328$  dana) te su s obzirom na to podijeljeni u dvije grupe, grupa s kratkim i grupa s dugim preživljenjem.

Za statističku analizu korišten je MS Excell (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, SAD) i SPSS Statistics software v.20 (SPSS inc., Chicago, SAD).

Kako je u istraživanju prilikom statističke analize korišten t-test, minimalna veličina uzorka dobivena je statističkim izračunom na osnovu vrste korištenog testa (t-test), p vrijednosti (0,05) koja se gledala kao značajna te snage (vjerojatnost  $\beta$ 2 greške 0,92). Dobivena minimalna veličina uzorka bila je je 48 ispitanika.

Razlike u ADC vrijednostima između grupa određene su t-testom. P-vrijednost  $<0,05$  je uzeta kao statistički značajna. Spearmanov rank test je napravljen da bi se odredila korelacija ADC vrijednosti i preživljenja, jer je uočeno da ove varijable ne pokazuju linearan odnos. Chi-kvadrat test korišten je za analizu statusa IDH unutar skupina.

## **5. REZULTATI**

U istraživanje bilo je uključeno ukupno 49 pacijenata s gliomskim novotvorinama koje su po WHO klasifikaciji iz 2016., aktualnoj u vrijeme provođenja istraživanja, odgovarale gliomima visokog gradusa (gradusi III i VI), odnosno anaplastičnim astroцитomima i glioblastomima, a po posljednjoj klasifikaciji iz 2021. odgovaraju difuznim gliomima odrasle dobi. Neoplazme su bile lokalizirane jednostrano, bez MR-om vidljivog širenja na kontralateralnu stranu.

Srednja vrijednost dobi pacijenata bila je 60 godina (raspon 28-78 godina). Srednje vrijeme preživljenja iznosilo je 258 dana (raspon 47-2042 dana).

Utvrđen je IDH1 status za n=39 pacijenata, a od toga ih je n=34 imalo neoplazmu s IDH1-divljim tipom te n=5 neoplazmu s IDH1-mutacijom. Odnos IDH1 statusa s dobi pacijenta prilikom postavljanja dijagnoze, duljinom preživljenja te volumenom tumora prije i nakon terapije prikazana je u tablici 3. Postojala je statistički značajna razlika u dobi pacijenata prilikom dijagnoze (p=0,001) i duljini preživljenja (p=0,045) kod pacijenata s IDH1-mutiranim tumorima i onih s IDH1-divljim tipom tumora.

**Tablica 3.** Odnos IDH1 statusa s dobi pacijenata, duljinom preživljenja i volumenima tumora prije i nakon terapije

	IDH1-wt	IDH1-mut	p-vrijednost
Dob (prosjeak godina $\pm$ SD)	59 $\pm$ 9	43 $\pm$ 12	0,001
Duljina preživljenja (dani $\pm$ SD)	358 $\pm$ 344	1238 $\pm$ 689	0,045
Volumen tumora na inicijalnom MR-u	52 $\pm$ 35	72 $\pm$ 63	>0,05
Volumen tumora na kontrolnom MR-u	37 $\pm$ 46	25 $\pm$ 27	>0,05

Pacijenti su podijeljeni u dvije skupine ovisno o vremenu preživljenja, skupina 1 s kraćim vremenom preživljenja, (medijan preživljenja u danima n=230, raspon 47-596 dana) i skupina 2 s duljim vremenom preživljenja (medijan preživljenja u danima n=1166, raspon 924-2042 dana). Postojala je statistički značajna razlika (p=0,001) IDH1 statusa pacijenata unutar skupina, što je prikazano u tablici 4.

**Tablica 4.** IDH1 status unutar pojedinih skupina.

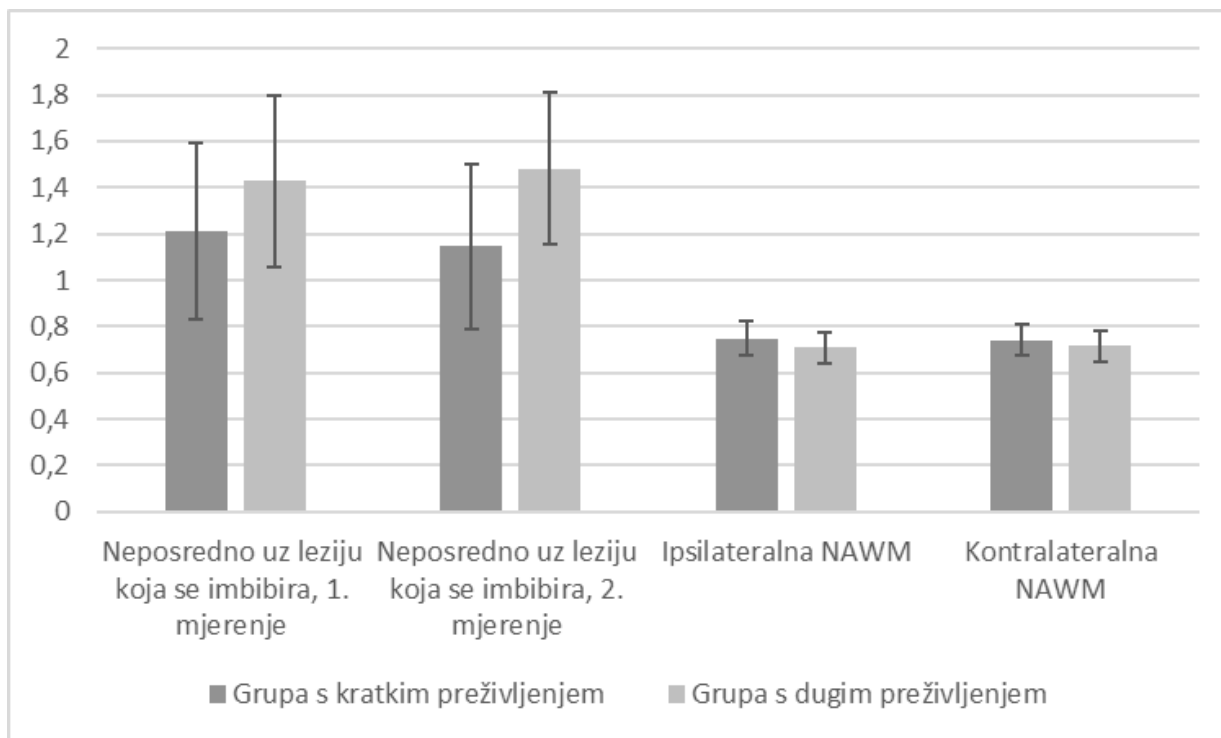
	IDH1-wt	IDH1-mut
Grupa s kratkim preživljenjem (broj pacijenata)	30	1
Grupa s dugim preživljenjem (broj pacijenata)	4	4

Prosječne vrijednosti ADC prije početka liječenja i na kontrolnoj MR pretrazi bile su više uz onaj dio lezije koji pokazuje postkontrastnu imbibiciju, u odnosu na naizgled zdravu bijelu tvar (NAWM - engl. *normal appearing white matter*) što je prikazano u tablici 5.

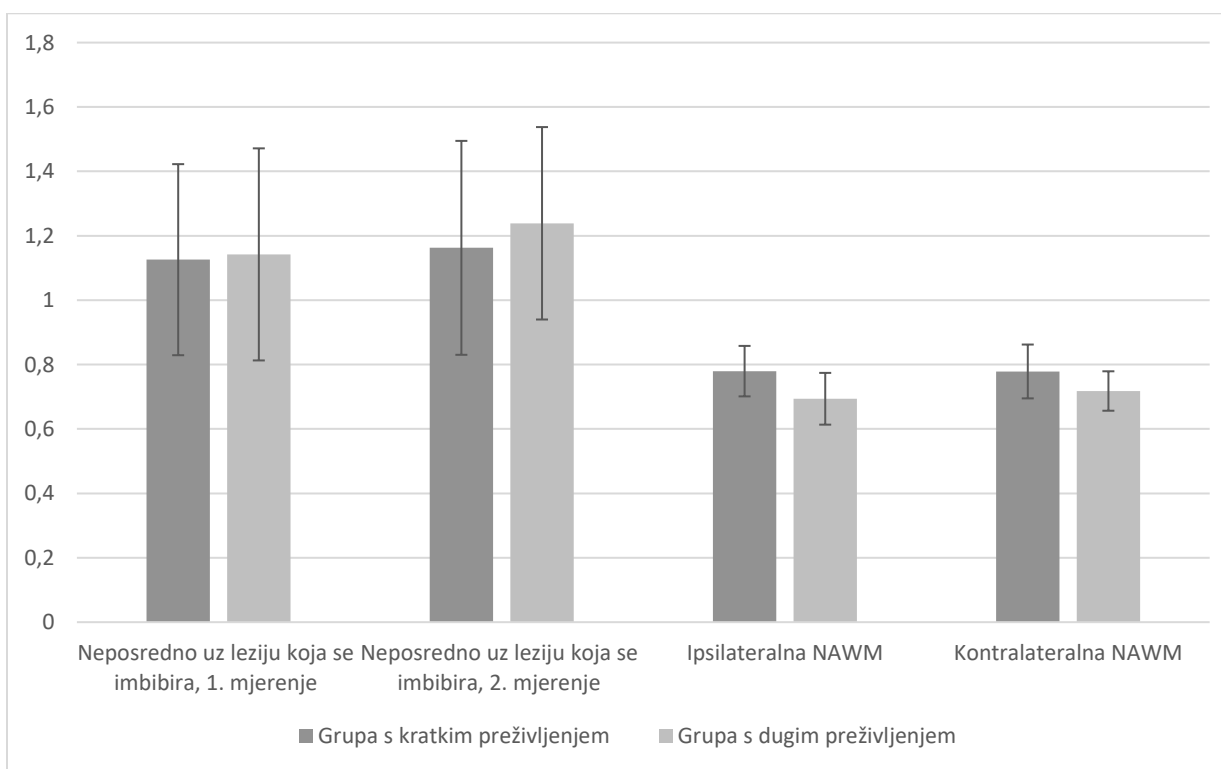
**Tablica 5.** Prosječne vrijednosti pojavnog difuzijskog koeficijenta (ADC) za sve pacijente.

	MR prije početka liječenja (prosječna vrijednost $\pm$ SD, $10^{-3}$ mm <sup>2</sup> /s)	Kontrolna MR (prosječna vrijednost $\pm$ SD, $10^{-3}$ mm <sup>2</sup> /s)
Neposredno uz leziju koja se imbibira, 1. mjerenje	1,2504 $\pm$ 0,3843	1,1292 $\pm$ 0,3001
Neposredno uz leziju koja se imbibira, 2. mjerenje	1,2089 $\pm$ 0,3720	1,1781 $\pm$ 0,3242
Ipsilateralna NAWM	0,7407 $\pm$ 0,0738	0,7621 $\pm$ 0,0854
Kontralateralna NAWM	0,7358 $\pm$ 0,0663	0,7662 $\pm$ 0,0827

Pacijenti u grupi s kratkim preživljenjem imali su niže prosječne ADC vrijednosti uz leziju koja se imbibira u usporedbi s grupom s duljim preživljenjem na MR pretrazi prije početka liječenja, kao i na kontrolnom MR snimanju (slika 7. i slika 8.).



**Slika 7.** Prosječne ADC vrijednosti za obe grupe na MR pretrazi prije početka liječenja.



**Slika 8.** Prosječne ADC vrijednosti za obje grupe na kontrolnoj MR pretrazi.



Pokazalo se da postoji statistički značajna razlika u jednom od dva mjerenja ADC vrijednosti neposredno uz leziju koja se imbibira između prve i druge grupe, razlika je bila 0,3348 ( $p=0,013$ ), dok je drugo mjerenje također pokazalo razliku koja nije bila statistički značajna, što je prikazano u tablici 6.

**Tablica 6.** Razlike u ADC vrijednostima između dvije grupe na MR pretrazi prije početka terapije.

	<b>Grupa s kratkim preživljenjem</b> (prosječna vrijednost, $10^{-3}$ $\text{mm}^2/\text{s}$ )	<b>Grupa s dugim preživljenjem</b> (prosječna vrijednost, $10^{-3}$ $\text{mm}^2/\text{s}$ )	<b>p-vrijednost</b>
Neposredno uz leziju koja se imbibira, 1. mjerenje	1,2095	1,4726	0,1260
Neposredno uz leziju koja se imbibira, 2. mjerenje	1,1461	1,4809	0,0130
Ipsilateralna NAWM	0,7482	0,7078	0,1400
Kontralateralna NAWM	0,7408	0,7140	0,2790

Nije postojala statistički značajna razlika u ADC vrijednostima u ipsilateralnoj i kontralateralnoj NAWM na MR pretrazi prije početka terapije između grupa. Razlike su iznosile -0,0404 ( $p=0,14$ ) i -0,0268 ( $p=0,279$ ).

Na kontrolnom MR pretrazi pokazalo se da postoji statistički značajna razlika u ADC vrijednostima u ipsilateralnoj NAWM (-0,0857,  $p = 0,004$ ), kao i u kontralateralnoj NAWM (-0,0607,  $p=0,037$ ) između grupa. Nije postojala statistički značajna razlika u ni jednoj od ADC vrijednosti neposredno uz leziju koja se imbibira (Tablica 7.).

**Tablica 7.** Razlike u ADC vrijednostima između dvije grupe na kontrolnoj MR pretrazi

	Grupa s kratkim preživljenjem (prosječna vrijednost, $10^{-3}$ $\text{mm}^2/\text{s}$ )	Grupa s dugim preživljenjem (prosječna vrijednost, $10^{-3}$ $\text{mm}^2/\text{s}$ )	p-vrijednost
Neposredno uz leziju koja se imbibira, 1. mjerenje	1,1258	1,1422	0,8800
Neposredno uz leziju koja se imbibira, 2. mjerenje	1,6252	1,2388	0,5130
Ipsilateralna NAWM	0,7796	0,6938	0,0040
Kontralateralna NAWM	0,7786	0,7179	0,0370

U rezultatima je pokazano da nema korelacije između vremena preživljenja i ADC vrijednosti neposredno uz leziju koja se imbibira na MR pretrazi prije početka terapije, kao niti na kontrolnoj MR pretrazi. Spearman rank testom se pokazalo da postoji slaba negativna korelacija između preživljenja i ADC vrijednosti u ipsilateralnoj i kontralateralnoj NAWM na MR pretrazi prije početka terapije, korelacijski koeficijent iznosio je -0,328 ( $p=0,02$ ) i -0,302 ( $p=0,04$ ), kako je prikazano u tablici 8.

**Tablica 8.** Korelacija vremena preživljenja i ADC vrijednosti na MR pretrazi prije početka terapije.

	Koeficijent korelacije	p-vrijednost
Neposredno uz leziju koja se imbibira, 1. mjerenje	0,1740	0,2360
Neposredno uz leziju koja se imbibira, 2. mjerenje	0,1690	0,2500
Ipsilateralna NAWM	-0,3280	0,0230
Kontralateralna NAWM	-0,3020	0,0370

Korelacija je bila jača na kontrolnoj MR pretrazi s korelacijskim koeficijentima -0,575 ( $p=0$ ) za ipsilateralnu NAWM i -0,605 ( $p=0$ ) za kontralateralnu NAWM, kako je prikazano u tablici 9.

**Tablica 9.** Korelacija vremena preživljenja i ADC vrijednosti na kontrolnoj MR pretrazi

	<b>Koeficijent korelacije</b>	<b>p-vrijednost</b>
Neposredno uz leziju koja se imbibira, 1. mjerenje	-0,0030	0,9860
Neposredno uz leziju koja se imbibira, 2. mjerenje	0,0800	0,5840
Ipsilateralna NAWM	-0,5750	0,0000
Kontralateralna NAWM	-0,6050	0,0000

## **6. RASPRAVA**

U ovom istraživanju testirane su ADC vrijednosti i njihove promjene da bi se istražio njihov potencijal kao prognostički biomarker kod bolesnika oboljelih od gliomskih novotvorina.

Naše istraživanje pokazalo je statistički značajne razlike u ADC vrijednostima u naizgled zdravoj bijeloj tvari (NAWM) između grupe pacijenata s dugim preživljenjem i grupe s kratkim preživljenjem. ADC vrijednosti bile su više u grupi s kratkim preživljenjem u odnosu na grupu s dugim preživljenjem na MR pretrazi prije početka liječenja, kao i na kontrolnoj MR pretrazi nakon završetka liječenja. Također, rezultati su pokazali i da postoji negativna korelacija ADC vrijednosti u NAWM ipsilateralne i kontralateralne strane u odnosu na gliomsku novotvorinu i vremena preživljenja. Ta korelacija je dokazana i na MR pretrazi prije početka liječenja, a bila još jača na kontrolnoj MR pretrazi. Povišenje ADC vrijednosti u NAWM kod pacijenata s kraćim vremenom preživljenja odraz su promjena u mikrookolišu koje nastaju zbog rasta tumorskih stanica. Od ranije je poznato da gliomi pokazuju sklonost za infiltrativan rast, te se šire na udaljena mjesta perivaskularno i perineuralno kroz bijelu tvar, često bez sloma krvno-moždane barijere zbog čega nedostatak postkontrastne imbibicije ne znači da ne postoji infiltracija (22,51,52). Gliomske stanice u početku se šire mikroinvazijom i migracijom uz neurone i neuronske puteve što u početku dovodi do povišenja celularnosti tkiva, s razmicanjem tkiva, ali bez destrukcije neurona (53,54). Prilikom rasta tumorske stanice otpuštaju različite citokine, proteaze i druge signalne molekule koje dovode do promjena u zdravom tkivu mozga, što dovodi do pojave vazogenog edema i daljnjih strukturnih promjena u ekstracelularnom matriksu. Vazogeni edem nastaje kao posljedica različitih patoloških procesa koji uključuju rast i infiltraciju malignih stanica, s posljedičnim slomom krvno-moždane barijere. Odgovara poručju u kojem se tekućina nakuplja u ekstracelularnim prostorima unutar mozga. Zbog nastalog edema mijenja se mobilnost protona u zahvaćenom tkivu i posljedično dolazi do promjene ADC vrijednosti, kao što je pokazalo i naše istraživanje (55,56). Promjene ADC vrijednosti indikator su ovih promjena mikrostrukture (57–59). Bieksponencijalna analiza ADC vrijednosti u NAWM koju su proveli Horváth i suradnici pokazala je također povišenje ADC vrijednosti u kontralateralnoj hemisferi kod pacijenata s gliomskim novotvorinama što ukazuje na to da je vazogeni edem prisutan čak i u regijama udaljenim od tumora. Eventualno bi se ove promjene mogle objasniti i gubitkom neurona zbog invazivnog rasta gliomskih stanica te toksičnim učincima citokina, kao što su interleukin-6 (IL-6)

i čimbenik nekroze tumora alfa (TNF- $\alpha$ ). Također pokazano je da postoje i razlike među različitim regijama kontralateralne hemisfere, no te razlike potvrđene su i kod zdravih pacijenata, što ukazuje na to da su poremećaji difuzije ipak globalni pa slijednom navedenog zahvaćaju i cijelu kontralateralnu hemisferu. Slične promjene difuzivnosti dokazane su i ipsilateralnoj hemisferi (60–63). Značajno povišenje vrijednosti ADC u grupi bolesnika s kraćim vremenom preživljenja na kontrolnoj MR pretrazi moglo bi se objasniti većim stupnjem invazije, odnosno agresivnijim ponašanjem novotvorine, zbog čega postoji vazogeni edem i u naizgled zdravoj bijeloj tvari.

Istraživanja koja su koristila in-vivo spektroskopiju u NAWM kontralateralne hemisfere pacijenata oboljelih od glioblastoma pokazala su da postoje povišene koncentracije mio-inozitola i glutamina. Glutamin je indikator metabolizma malignih stanica i njegove vrijednosti više su u gliomima u odnosu na zdravo tkivo mozga. Mio-inozitol je marker rasta astrocita u moždanom parenhimu odraslih osoba. Promjene koncentracije tih metabolita konzistentne su s promjenama u mikrookolišu u vidu povećanja gustoće astrocita unutar još uvijek normalnog moždanog parenhima i ukazuju na rane infiltrativne promjene (64–66). Povišenje vrijednosti ADC-a u NAWM pacijenata s kraćim vremenom preživljenja moglo bi se objasniti većom količinom infiltrativnih malignih stanica kao što je pokazano u Kallenbergovom istraživanju (65).

Ranije su uspoređivanje promjene u ADC vrijednostima kontralateralne NAWM kod pacijenata oboljelih od meningeoma, što je novotvorina koja ne infiltrira moždani parenhim, i glioma te je pokazano da obje skupine bolesnika imaju povišene ADC vrijednosti (67). Iz toga proizlazi da se ove promjene ADC vrijednosti moraju moći barem dijelom objasniti nekim mehanizmom koji postoji i događa se i kod infiltrativnih tumora i kod onih koji ne pokazuju sklonost infiltrativnom rastu. Prilikom rasta gliomi imaju i kompresivni učinak na moždani parenhim, najčešće obje hemisfere. Kompresivni učinak može dovesti do venske kongestije i poremećaja u mikrocirkulaciji cijelog mozga (68). Globalni učinak rasta glioma dijelom je potaknut i disrupcijom aksona, poremećajima mijelinskih ovojnica, toksičnim učinkom glutamata i oksidativnim stresom. Kako se narušava integritet aksona dolazi do širenja ekstracelularnog prostora, što se može očitovati povišenjem ADC vrijednosti i u NAWM (54,69). Promjene u ekstracelularnom matriksu dodatno su potaknute ekspresijom matriks metaloproteinaza (MMP) i vaskularnim endotelnim čimbenikom rasta (VEGF), čija ekspresija korelira sa stupnjem invazije glioma (70,71). U našem istraživanju

pokazano je da su ADC vrijednosti više u NAWM kod bolesnika s kraćim preživljenjem što ukazuje na agresivnije ponašanje glioma u ovih pacijenata

Yazdani i suradnici su uspoređivali ADC vrijednosti u različitim regijama mozga u ipsilateralnoj hemisferi u odnosu na gliom i dobili su povišenje ADC vrijednosti u svim mjerenim područjima kod pacijenata s gliomima nižeg gradusa u odnosu na one s gliomima višeg gradusa (72). Iako su svi bolesnici uključeni u naše istraživanje imali gliome visokog gradusa, ove razlike koje se nalaze u okolnom tkivu uz leziju koja se imbibira mogle bi se objasniti većim brojem stanica kod agresivnijih novotvorina kakve imaju bolesnici s kraćim vremenom preživljenja,

Naše istraživanje pokazalo je da su ADC vrijednosti mjerene neposredno uz zonu imbibicije niže kod pacijenata koje su imali kraće vrijeme preživljenja. Zona visokog T2 i FLAIR signala kod većine bolesnika dosta je šira od samog dijela lezije koji pokazuje postkontrastnu imbibiciju na T1 mjerenim snimkama. U ovom području obično se nalaze tumorske stanice, a standardnim metodama snimanja teško je razlikovati tumorsku infiltraciju i edem (73,74). Mehanizmi stvaranja edema uz gliomske novotvorine nisu do kraja razjašnjeni unatoč brojnim istraživanjima. Moguće je da se radi o kombinaciji intersticijskih, citotoksičnih i vazogenih učinaka (75–77). Slom krvno-moždane barijere dovodi do nakupljanja tekućine u ekstracelularnom prostoru unutar bijele tvari zbog čega nastaje vazogeni edem, no dok god je očuvan ekstracelularni matriks difuzija molekula vode ostaje unutar prostora matriksa. Kako je ranije navedeno, gliomske stanice migriraju uz traktove unutar bijele tvari i narušavaju strukturu ekstracelularnog matriksa. Ovo je posebno izraženo kod HGG glioma gdje uz vazogeni edem zasigurno postoji i infiltracija malignim stanicama koje destruiraju ekstracelularni matriks (78,79). U istraživanjima koje su proveli Castillo i Catalaa pokazano je da se mjerenje ADC vrijednosti može koristiti za razlikovanje HGG od normalnog parenhima mozga, ali da se ne može koristiti za razlikovanje tumorske infiltracije od edema (74,80). Naše istraživanje u skladu je s drugima u kojima se pokazalo da HGG imaju niže ADC vrijednosti u peritumorskoj regiji u odnosu na LGG (79,81–84). Iako su svi naši bolesnici imali gliome visokog gradusa pacijenti s kraćim preživljenjem imali su niže vrijednosti ADC-a što ukazuje na veći maligni potencijal čak i unutar skupine HGG-a. Iz toga proizlazi da bolesnici koji imaju kraće vrijeme preživljenja vjerojatno imaju viši stupanj infiltracije gliomskih stanica u peritumorskoj regiji. Ovome u prilog govore i dvije meta analize čiji je cilj bio utvrditi povezanost broja stanica i ADC vrijednosti. Njima je potvrđeno da celularnost tkiva i ADC imaju

negativnu korelaciju kod različitih vrsta neoplazmi, kao i da je ta korelacija izražena u gliomskim novotvorinama (85,86).

Unatoč tome što su ADC vrijednosti mjerene u peritumorskoj regiji uz područje imbibicije bile niže kod pacijenata s kraćim vremenom preživljenja na oba mjerena mjesta, samo je jedno od tih mjerenja pokazalo statistički značajne razlike. ROI su postavljeni nasumično unutar zone T2 i FLAIR hiperintenziteta signala uzimajući u obzir nepredvidivu distribuciju zona infiltracije u peritumorskoj regiji. Ovime smo htjeli vidjeti mogu li se dobivene vrijednosti generalizirati te smo htjeli smanjiti eventualnu pristranost kod uzorkovanja (engl. *sampling bias*). Dobiveni rezultati mogu biti posljedica relativno malog uzorka te bi se možda većim uzorkom postigla bolja stratifikacija rezultata. Drugi uzrok je vjerojatno sama heterogenost strukture peritumorske regije, koja kako je ranije objašnjeno sadrži područja nakupljanja tekućine u ekstracelularnom prostoru, kao i područja infiltrirana malignim stanicama. S obzirom na to da je peritumorska regija izvor malignih stanica koje uzrokuju recidiv bolesti dijagnostika usmjerena na otkrivanje njezinih strukturnih i molekularnih promjena može otkriti i potencijalne terapijske ciljeve (87,88).

Pokazano je da različiti molekularni markeri, kao što su IDH1, MGMT, TP53 i EGFR, imaju značajnu ulogu u prognozi i odgovoru na liječenje kod bolesnika s gliomima. Posebno se ističe IDH1/IDH2 status, koji je u različitim istraživanjima prepoznat kao jedan od najvažnijih prognostičkih i prediktivnih faktora kod bolesnika s gliomima. Pacijenti s IDH-divljim tipom glioma imaju značajno lošiju prognozu u usporedbi s onima koji imaju IDH-mutirane gliome. Brojne studije su pokazale da je status IDH1 važniji prognostički marker čak i od patohistološke dijagnoze, koja prema tadašnjim kriterijima WHO klasifikacije (prije 2016. godine) nije uključivala molekularne podatke poput IDH1/IDH2 statusa. Prema istraživanjima, IDH1 mutacija djeluje kao tumor-supresor putem kaskade unutarstanične signalizacije, čime značajno utječe na biologiju tumora, njegovo ponašanje i odgovor na terapiju (89,90). U našem istraživanju, iako je uzorak bio relativno malen, potvrđeno je da pacijenti bez IDH1 mutacije imaju statistički značajno kraće vrijeme preživljenja u usporedbi s pacijentima koji imaju IDH-mutirane tumore. Ovo je u skladu s literaturom koja pokazuje da IDH-divlji gliomi predstavljaju biološki agresivniji podtip bolesti, često povezan s većim stupnjem malignosti i lošijim odgovorom na terapiju. Također, uočili smo da bolesnici s IDH-divljim tipom glioma u prosjeku imaju višu dob prilikom postavljanja dijagnoze, što dodatno može doprinijeti nepovoljnijoj prognozi. S druge strane, IDH-



mutirane gliome karakterizira manje agresivan fenotip, bolji odgovor na standardne terapije poput radioterapije i temozolomida, dulje vrijeme preživljenja i u prosjeku niža dob prilikom postavljanja dijagnoze. Ova razlika u ponašanju između IDH-mutiranih i IDH-divljih glioma odražava se i na molekularnoj razini. IDH-mutirani gliomi proizvode onkometabolit  $\alpha$ -ketoglutarat ( $\alpha$ -KG), koji utječe na epigenetske modifikacije tumorskih stanica, ali istovremeno doprinosi i usporavanju rasta tumora (91–93).

Naše istraživanje pruža vrijedan uvid u povezanost ADC vrijednosti u peritumorskoj regiji pacijenata oboljelih od gliomskih novotvorina, kao i u NAWM ipsilateralne i kontralateralne hemisfere. Rezultati pokazuju da su ADC vrijednosti u NAWM, kako ipsilateralne tako i kontralateralne hemisfere, značajno više kod pacijenata s kraćim preživljenjem, što upućuje na difuzne promjene u mikrostrukтури mozga uzrokovane infiltracijom tumorskih stanica, edemom i sistemskim učincima tumora. Nadalje, niže ADC vrijednosti u peritumorskoj regiji kod pacijenata s kraćim preživljenjem odražavaju visoku staničnost i agresivniju biologiju tumora.

Iako je potrebno dodatno istraživanje, naši rezultati sugeriraju da bi ADC vrijednosti u NAWM i peritumorskoj regiji mogle poslužiti kao korisni prognostički biomarkeri u bolesnika s gliomima. Buduća istraživanja s većim brojem pacijenata, uz detaljniju molekularnu karakterizaciju tumora, ključna su za potvrdu ovih nalaza i dublje razumijevanje rasta glioma. Takav pristup mogao bi unaprijediti stratifikaciju pacijenata, praćenje tijeka bolesti i donošenje terapijskih odluka, s krajnjim ciljem pružanja boljeg liječenja i skrbi za oboljele.

Važno je istaknuti nekoliko ograničenja našeg istraživanja. Prvenstveno, uzorak je bio relativno malen, a molekularna karakterizacija glioma nije bila dostupna za sve pacijente. Također, nisu svi pacijenti bili podvrgnuti maksimalnoj kirurškoj resekciji, što može utjecati na ukupne ishode preživljenja. Veći broj mjerenja s različitim veličinama ROI (region of interest), kao i primjena automatiziranih metoda za definiranje ROI, mogli bi pružiti preciznije informacije o difuzivnosti. Nadalje, MR spektroskopija i perfuzija nisu provedene kod svih pacijenata jer te tehnike nisu bile uključene u standardni MR protokol, što je dodatno ograničilo veličinu uzorka.

Dodatna istraživanja trebala bi se usmjeriti na korelaciju ADC vrijednosti s perfuzijskim i spektroskopskim parametrima u NAWM, budući da ove tehnike mogu pomoći u diferencijaciji agresivnijih tumora. Također, različite genetske mutacije i epigenetske promjene mogu utjecati na obrasce rasta glioma te posljedično na vrijednosti ADC-a. Osim toga, budući da analiza indeksa

proliferacije Ki-67 nije provedena jer takva analiza nije bila standardno rađena u vrijeme obrade uzoraka, buduća istraživanja trebala bi uključiti i ovu varijablu kako bi se dodatno istražila njena moguća povezanost s ADC vrijednostima. Nadalje, na većem uzorku pacijenata bilo bi korisno ispitati postoje li razlike u ADC vrijednostima NAWM-a ovisno o lokalizaciji glioma u različitim režnjevima mozga. Razumijevanje ovih kompleksnih odnosa ključno je za razvoj novih dijagnostičkih i terapijskih pristupa kod pacijenata s gliomima.

## **7. ZAKLJUČCI**

1. Pacijenti s kraćim vremenom preživljenja imaju više ADC vrijednosti u NAWM ipsilateralne i kontralateralne hemisfere u odnosu na gliom. Ova razlika bila je statistički značajna na kontrolnoj MR pretrazi nakon onkološkog liječenja.
2. ADC vrijednosti bile su niže u peritumorskoj regiji bolesnika koji su imali kraće vrijeme preživljenja u odnosu na bolesnike s duljim vremenom preživljenja, no razlika je bila statistički značajna samo u jednom području mjerenja.
3. Postoji slaba negativna korelacija ADC vrijednosti u NAWM prije početka liječenja i vremena preživljenja, koja je još izraženija na kontrolnoj MR pretrazi.
4. IDH1-divlji tip glioma povezan je s kraćim vremenom preživljenja i višom životnom dobi prilikom postavljanja dijagnoze.

## **8. SAŽETAK**

## **Prediktivna vrijednost pojavnog difuzijskog koeficijenta u peritumorskoj regiji pacijenata s gliomskim novotvorinama mozga pod utjecajem onkološke terapije**

**Ciljevi:** Cilj ovog istraživanja bio je procijeniti postoje li promjene pojavnog difuzijskog koeficijenta (engl. *apparent diffusion coefficient*, ADC) uz područje imbibicije gliomske lezije koje bi mogle odgovarati zonama infiltracije nevidljivima standardnim metodama MR snimanja. Također, istražene su promjene ADC vrijednosti u izgledom normalnoj bijeloj tvari mozga na standardnim MR sekvencama (engl. *normal appearing white matter*, NAWM) ipsilateralne i kontralateralne hemisfere kod bolesnika s gliomskim novotvorinama. Dodatni cilj bio je istražiti postoji li korelacija ADC vrijednosti i vremena preživljenja.

**Materijali i metode:** U istraživanje je uključeno ukupno 49 pacijenata liječenih u KBC-u Split u razdoblju od 2016. do 2021. godine zbog glioma visokog gradusa. Analizirane su MR pretrage prije početka liječenja te kontrolne MR pretrage nakon završetka terapije. ROI (engl. *region of interest*) su postavljani u peritumorsku regiju, uz leziju koja je pokazivala imbibiciju kontrastom (dvije zone) te u ipsilateralnu i simetrično u kontralateralnu NAWM.

**Rezultati:** Analiza je pokazala povišene ADC vrijednosti u NAWM kod bolesnika s kraćim vremenom preživljenja u odnosu na one s duljim preživljenjem u obje moždane hemisfere. Na početnom MR-u prije terapije ova razlika nije bila statistički značajna, no na kontrolnoj MR pretrazi nakon liječenja postala je značajna. Također je uočena negativna korelacija između ADC vrijednosti u NAWM i preživljenja, pri čemu su viši ADC bili povezani s lošijim ishodom. ADC vrijednosti u peritumorskoj regiji bile su niže kod pacijenata s kraćim vremenom preživljenja, no razlike nisu bile statistički značajne na oba mjerenja.

**Zaključak:** Naše istraživanje sugerira da ADC vrijednosti u NAWM mogu imati prognostičku vrijednost kod pacijenata s gliomima. Također, iako nisu statistički značajne u svim mjerenjima, ADC vrijednosti u peritumorskoj regiji pokazuju trend prema nižim vrijednostima kod pacijenata s lošijim ishodom, što može ukazivati na višu celularnost i agresivniji tumorski fenotip. Dodatna istraživanja s većim brojem ispitanika, standardiziranim metodologijama i multimodalnim

pristupima, uključujući MR spektroskopiju i perfuziju, mogla bi pomoći u boljem razumijevanju prognostičkog potencijala ADC mapa u gliomima.

## **9. SUMMARY**



## **Prognostic Value of Apparent Diffusion Coefficient (ADC) in Patients with Diffuse Gliomas**

**Objectives:** The aim of this study was to evaluate whether changes in the apparent diffusion coefficient (ADC) values in the region adjacent to contrast enhanced glioma lesions could correspond to infiltration zones that are not visible using standard MR imaging techniques. Additionally, we aimed to assess changes in ADC values in the normal-appearing white matter (NAWM) of the ipsilateral and contralateral hemispheres in glioma patients. Another objective was to explore the correlation between ADC values and overall survival.

**Materials and Methods:** The study included 49 patients treated at the University Hospital Center Split between 2016 and 2021 for high-grade gliomas. MR imaging was analyzed before treatment initiation and after the completion of treatment. Regions of interest (ROI) were placed in the peritumoral region adjacent to the contrast-enhancing lesion (two zones) and in the ipsilateral and symmetrically contralateral NAWM.

**Results:** The analysis revealed higher ADC values in the NAWM of patients with shorter survival compared to those with longer survival in both hemispheres. Although this difference was not statistically significant on pre-treatment MR imaging, it became significant on post-treatment control MR imaging. A negative correlation was observed between ADC values in the NAWM and survival, with higher ADC values associated with worse outcomes. ADC values in the peritumoral region were lower in patients with shorter survival compared to those with longer survival, but these differences were not statistically significant in one of the measurements.

**Conclusion:** Our findings suggest that ADC values in the NAWM may have prognostic value for glioma patients. While not statistically significant in all measurements, ADC values in the peritumoral region showed a trend toward lower values in patients with worse outcomes, potentially indicating higher cellularity and a more aggressive tumor phenotype. Further research with larger sample sizes, standardized methodologies, and multimodal approaches, including MR spectroscopy and perfusion, could enhance our understanding of the prognostic potential of ADC analysis in gliomas.

## **10. LITERATURA**

1. Hirtz A, Rech F, Dubois-Pot-Schneider H, Dumond H. Astrocytoma: A Hormone-Sensitive Tumor? *Int J Mol Sci.* 2020;21(23):9114.
2. Ostrom QT, Patil N, 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 2013-2017. *Neuro Oncol.* 2020;22(Suppl 2):iv1–96.
3. Salari N, Ghasemi H, Fatahian R, Mansouri K, Dokaneheifard S, Shiri MH, i ostali. The global prevalence of primary central nervous system tumors: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Med Res.* 2023;28:39.
4. Registar za rak. Icidencija raka u Hrvatskoj. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Bilten br. 45 [Internet]. Zagreb; 2022. Dostupno na: <https://www.hzjz.hr/sluzba-epidemiologija-prevencija-nezaraznih-bolesti/odjel-za-maligne-bolesti/>
5. Louis DN, Perry A, Wesseling P, Brat DJ, Cree IA, Figarella-Branger D, i ostali. The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: A summary. *Neuro Oncol.* 2021;23(8):1231–51.
6. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, i ostali. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol.* 2016;131(6):803–20.
7. Wrensch M, Minn Y, Chew T, Bondy M, Berger MS. Epidemiology of primary brain tumors: Current concepts and review of the literature. *Neuro Oncol.* 2002;4(4):278–99.
8. Yan H, Williams D, Jin G, Mclendon R, Rasheed BA, Yuan W, i ostali. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *New England Journal of Medicine.* 2009;360(8):765–73.
9. Noushmehr H, Weisenberger DJ, Diefes K, Phillips HS, Pujara K, Berman BP, i ostali. Identification of a CpG island methylator phenotype that defines a distinct subgroup of glioma. *Cancer Cell.* 2010;17(5):510–22.
10. Zheng S, Rammohan N, Sita T, Teo PT, Wu Y, Lesniak M, i ostali. GlioPredictor: a deep learning model for identification of high-risk adult IDH-mutant glioma towards adjuvant treatment planning. *Sci Rep.* 2024;14(1):2126.

11. Kristensen BW, Priesterbach-Ackley LP, Petersen JK, Wesseling P. Molecular pathology of tumors of the central nervous system. *Annals of Oncology*. 2019;30(8):1265–78.
12. Gilard V, Tebani A, Dabaj I, Laquerrière A, Fontanilles M, Derrey S, i ostali. Diagnosis and Management of Glioblastoma: A Comprehensive Perspective. *J Pers Med*. 2021;11(4).
13. Giese A, Westphal M. Glioma invasion in the central nervous system. *Neurosurgery*. 1996;39(2):235–52.
14. Seker-Polat F, Degirmenci NP, Solaroglu I, Bagci-Onder T. Tumor Cell Infiltration into the Brain in Glioblastoma: From Mechanisms to Clinical Perspectives. *Cancers*. 2022;14(2):443.
15. Cornelison RC, Yuan JX, Tate KM, Petrosky A, Beeghly GF, Bloomfield M, i ostali. A patient-designed tissue-engineered model of the infiltrative glioblastoma microenvironment. *NPJ Precis Oncol*. 2022;6(1):54.
16. Calabrese C, Poppleton H, Kocak M, Hogg TL, Fuller C, Hamner B, i ostali. A perivascular niche for brain tumor stem cells. *Cancer Cell*. 2007;11(1):69–82.
17. Swartz MA, Iida N, Roberts EW, Sangaletti S, Wong MH, Yull FE, i ostali. Tumor microenvironment complexity: Emerging roles in cancer therapy. *Cancer Res*. 2012;72(10):2473–80.
18. Cornelison RC, Yuan JX, Tate KM, Petrosky A, Beeghly GF, Bloomfield M, i ostali. A patient-designed tissue-engineered model of the infiltrative glioblastoma microenvironment. *NPJ Precis Oncol*. 2022;6(1):54.
19. Polacheck WJ, Charest JL, Kamm RD. Interstitial flow influences direction of tumor cell migration through competing mechanisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011;108(27):11115–20.
20. Kingsmore KM, Logsdon DK, Floyd DH, Peirce SM, Purow BW, Munson JM. Interstitial flow differentially increases patient-derived glioblastoma stem cell invasion via CXCR4, CXCL12, and CD44-mediated mechanisms. *Integrative Biology*. 2016;8(12):1246–60.
21. Cuddapah VA, Robel S, Watkins S, Sontheimer H. A neurocentric perspective on glioma invasion. *Nat Rev Neurosci*. 2014;15(7):455–65.

22. Claes A, Idema AJ, Wesseling P. Diffuse glioma growth: A guerilla war. *Acta Neuropathol.* 2007;114(5):443–58.
23. Montana V, Sontheimer H. Bradykinin promotes the Chemotactic invasion of primary brain tumors. *Journal of Neuroscience.* 2011;31(13):4858–67.
24. Diksin M, Smith SJ, Rahman R. The molecular and phenotypic basis of the glioma invasive perivascular niche. *Int J Mol Sci.* 2017;18(11):2342.
25. Watkins S, Robel S, Kimbrough IF, Robert SM, Ellis-Davies G, Sontheimer H. Disruption of astrocyte-vascular coupling and the blood-brain barrier by invading glioma cells. *Nat Commun.* 2014;5:4196.
26. Forsyth PA, Posner JB. Headaches in patients with brain tumors. *Neurology.* 1993;43(9):1678–83.
27. Omuro A, DeAngelis LM. Glioblastoma and other malignant gliomas: A clinical review. *JAMA.* 2013;310(17):1842–50.
28. Cha S. Neuroimaging in Neuro-Oncology. *Neurotherapeutics.* 2009;6(3):465–77.
29. Ellingson BM, Wen PY, Cloughesy TF. Modified Criteria for Radiographic Response Assessment in Glioblastoma Clinical Trials. *Neurotherapeutics.* 2017;14(2):307–20.
30. Hagmann P, Jonasson L, Maeder P, Thiran JP, Wedeen J Van, Meuli R. Understanding diffusion MR imaging techniques: From scalar diffusion-weighted imaging to diffusion tensor imaging and beyond. *Radiographics.* 2006;26 Suppl 1:S205-23.
31. Romano A, Palizzi S, Romano A, Moltoni G, Di Napoli A, Maccioni F, et al. Diffusion Weighted Imaging in Neuro-Oncology: Diagnosis, Post-Treatment Changes, and Advanced Sequences—An Updated Review. *Cancers.* 2023;15(3):618.
32. Hori M, Kamiya K, Murata K. Technical Basics of Diffusion-Weighted Imaging. *Magnetic Resonance Imaging Clinics of North America.* 2021;29(2):129–36.
33. Baliyan V, Das CJ, Sharma R, Gupta AK. Diffusion weighted imaging: Technique and applications. *World J Radiol.* 2016;8(9):785.

34. McNab JA, Miller KL. Steady-state diffusion-weighted imaging: Theory, acquisition and analysis. *NMR in Biomedicine*. 2010;23(7):781–93.
35. Stejskal EO, Tanner JE. Spin diffusion measurements: Spin echoes in the presence of a time-dependent field gradient. *J Chem Phys*. 1965;42(1):288–92.
36. Huisman TAGM. Diffusion-weighted imaging: Basic concepts and application in cerebral stroke and head trauma. *Eur Radiol*. 2003;13(10):2283–97.
37. Karaarslan E, Arslan A. Diffusion weighted MR imaging in non-infarct lesions of the brain. *European Journal of Radiology*. 2008;65(3):402–16.
38. Eigenbrod S, Trabold R, Brucker D, Erös C, Egensperger R, La Fougere C, i ostali. Molecular stereotactic biopsy technique improves diagnostic accuracy and enables personalized treatment strategies in glioma patients. *Acta Neurochir*. 2014;156(8):1427–40.
39. Hamisch CA, Minartz J, Blau T, Hafkemeyer V, Rueß D, Hellerbach A, i ostali. Frame-based stereotactic biopsy of deep-seated and midline structures in 511 procedures: feasibility, risk profile, and diagnostic yield. *Acta Neurochir*. 2019;161(10):2065–71.
40. Klinik N, Stummer W, Pichlmeier U, Meinel T, Wiestler D, Zanella F, i ostali. Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial. *Lancet Oncol*. 2006;7:392–401.
41. De Witt Hamer PC, Robles SG, Zwinderman AH, Duffau H, Berger MS. Impact of intraoperative stimulation brain mapping on glioma surgery outcome: a meta-analysis. *Journal of Clinical Oncology*. 2012;30(20):2559–65.
42. Gulati S, Jakola AS, Nerland US, Weber C, Solheim O. The risk of getting worse: surgically acquired deficits, perioperative complications, and functional outcomes after primary resection of glioblastoma. *World Neurosurg*. 2011;76(6):572–9.
43. Grabowski MM, Recinos PF, Nowacki AS, Schroeder JL, Angelov L, Barnett GH, i ostali. Residual tumor volume versus extent of resection: predictors of survival after surgery for glioblastoma. *J Neurosurg*. 2014;121(5):1115–23.

44. Breen WG, Anderson SK, Carrero XW, Brown PD, Ballman K V, O’neill BP, i ostali. Final report from Intergroup NCCTG 86-72-51 (Alliance): a phase 3 randomized clinical trial of high dose versus low dose radiation for adult low-grade glioma. *Neuro Oncol.* 2020;22(6):830–7.
45. Walker MD, Alexander E, Hunt WE, Maccarty C, Mahaley MS, Mealey J, i ostali. Evaluation of BCNU and/or radiotherapy in the treatment of anaplastic gliomas A cooperative clinical trial. *J Neurosurg.* 1978;49(3):333–43.
46. Press RH, Shafer SL, Jiang R, Buchwald ZS, Abugideiri M, Tian S, i ostali. Optimal timing of chemoradiotherapy after surgical resection of glioblastoma: Stratification by validated prognostic classification. *Cancer.* 2020;126(14):3255–64.
47. Niyazi M, Brada M, Chalmers AJ, Combs SE, Erridge SC, Fiorentino A, i ostali. ESTRO-ACROP guideline „target delineation of glioblastomas“. *Radiotherapy and Oncology.* 2016;118(1):35–42.
48. Stupp R, Mason WP, Van Den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJB, i ostali. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *New England Journal of Medicine.* 2005;352(10):987–96.
49. Weller M, Le Rhun E. How did lomustine become standard of care in recurrent glioblastoma? *Cancer Treat Rev.* 2020;87:102029.
50. Weller M, van den Bent M, Preusser M, Le Rhun E, Tonn JC, Minniti G, i ostali. EANO guidelines on the diagnosis and treatment of diffuse gliomas of adulthood. *Nat Rev Clin Oncol.* 2021;18(3):170–86.
51. Latini F, Fahlström M, Beháňová A, Sintorn IM, Hodik M, Staxäng K, i ostali. The link between gliomas infiltration and white matter architecture investigated with electron microscopy and diffusion tensor imaging. *Neuroimage Clin.* 2021;31:102735.
52. Menna G, Marinno S, Valeri F, Mahadevan S, Mattogno PP, Gaudino S, i ostali. Diffusion tensor imaging in detecting gliomas sub-regions of infiltration, local and remote recurrences: a systematic review. *Neurosurg Rev.* 2024;47(1):301.

53. Kallenberg K, Goldmann T, Menke J, Strik H, Bock HC, Mohr A, i ostali. Abnormalities in the normal appearing white matter of the cerebral hemisphere contralateral to a malignant brain tumor detected by diffusion tensor imaging. *Folia Neuropathol.* 2014;52(3):226–33.
54. Price SJ, Burnet NG, Donovan T, Green HAL, Peña A, Antoun NM, i ostali. Diffusion tensor imaging of brain tumours at 3 T: A potential tool for assessing white matter tract invasion? *Clin Radiol.* 2003.;58(6):455–62.
55. Schaefer PW, Buonanno FS, Gonzalez RG, Schwamm LH. Diffusion-Weighted Imaging Discriminates Between Cytotoxic and Vasogenic Edema in a Patient With Eclampsia. *Stroke.* 1997;28(5):1082–5.
56. Ho ML, Rojas R, Eisenberg RL. Cerebral edema. *American Journal of Roentgenology.* 2012;199(3):W258-73.
57. Tysnes BB, Mahesparan R. Biological mechanisms of glioma invasion and potential therapeutic targets. *Journal of Neuro-Oncology.* 2001;53(2):129-47.
58. Uhm JH. The role of integrins in the malignant phenotype of gliomas. *Frontiers in Bioscience.* 1999;4:D188-99.
59. Rutka JT, Apodaca G, Stern R, Rosenblum M. The extracellular matrix of the central and peripheral nervous systems: structure and function. *J Neurosurg.* 1988;69(2):155–70.
60. Horváth A, Perlaki G, Tóth A, Orsi G, Nagy S, Dóczi T, i ostali. Biexponential diffusion alterations in the normal-appearing white matter of glioma patients might indicate the presence of global vasogenic edema. *Journal of Magnetic Resonance Imaging.* 2016;44(3):633–41.
61. Zhai G, Lin W, Wilber KP, Gerig G, Gilmore JH. Comparisons of Regional White Matter Diffusion in Healthy Neonates and Adults Performed with a 3.0-T Head-only MR Imaging Unit. *Radiology.* 2003;229(3):673–81.
62. Yoshiura T, Noguchi T, Hiwatashi A, Togao O, Yamashita K, Nagao E, i ostali. Intra- and interhemispheric variations of diffusivity in subcortical white matter in normal human brain. *Eur Radiol.* 2010;20(1):227–33.



63. Inglese M, Brown S, Johnson G, Law M, Knopp E, Gonen O. Whole-Brain N-Acetylaspartate Spectroscopy and Diffusion Tensor Imaging in Patients with Newly Diagnosed Gliomas: A Preliminary Study. *American Journal of Neuroradiology*. 2006;(27):2137–40.
64. Peeling J, Sutherland G. High-Resolution <sup>1</sup>H NMR Spectroscopy Studies of Extracts of Human Cerebral Neoplasms. *Magn Reson Med*. 1992;24:123–36.
65. Kallenberg K, Bock HC, Helms G, Jung K, Wrede A, Buhk JH, i ostali. Untreated glioblastoma multiforme: Increased myo-inositol and glutamine levels in the contralateral cerebral hemisphere at proton MR spectroscopy. *Radiology*. 2009;253(3):805–12.
66. Howe FA, Opstad KS. <sup>1</sup>H MR spectroscopy of brain tumours and masses. *NMR in Biomedicine*. 2003;16(3):123–31.
67. Horváth A, Perlaki G, Tóth A, Orsi G, Nagy S, Dóczy T, i ostali. Increased diffusion in the normal appearing white matter of brain tumor patients: is this just tumor infiltration? *J Neurooncol*. 2016;127(1):83–90.
68. Toh CH, Wong AMC, Wei KC, Ng SH, Wong HF, Wan YL. Peritumoral edema of meningiomas and metastatic brain tumors: Differences in diffusion characteristics evaluated with diffusion-tensor MR imaging. *Neuroradiology*. 2007;49(6):489–94.
69. Khayal IS, Vandenberg SR, Smith KJ, Cloyd CP, Chang SM, Cha S, i ostali. MRI apparent diffusion coefficient reflects histopathologic subtype, axonal disruption, and tumor fraction in diffuse-type grade II gliomas. *Neuro Oncol*. 2011;13(11):1192–201.
70. Hagemann C. A complete compilation of matrix metalloproteinase expression in human malignant gliomas. *World J Clin Oncol*. 2012;3(5):67.
71. Liu Y, Zhou Y, Zhang XS, Shen BZ. Expression of VEGF and MMP-9 and MRI imaging changes in cerebral glioma. *Oncol Lett*. 2011;2(6):1171–5.
72. Yazdani M, Rumboldt Z, Tabesh A, Giglio P, Schiarelli C, Morgan PS, i ostali. Perilesional apparent diffusion coefficient in the preoperative evaluation of glioma grade. *Clin Imaging*. 2018;52:88–94.

73. Kelly FI, Kelly PJ, Scheithauer BW, Kall BA, Cascino TL, Ehmman RL, i ostali. Cerebral astrocytomas: histopathologic correlation of MR and CT contrast enhancement with stereotactic biopsy. *Radiology*. 1988;166(3):823–7.
74. Catalaa I, Henry R, Dillon WP, Graves EE, McKnight TR, Lu Y, i ostali. Perfusion, diffusion and spectroscopy values in newly diagnosed cerebral gliomas. *NMR Biomed*. 2006;19(4):463–75.
75. Bastin ME, Sinha S, Whittle IR, Wardlaw JM. Measurements of water diffusion and T1 values in peritumoural oedematous brain. *Neuroreport*. 2002;13(10):1335–40.
76. Bodsch W, Rommel T, Ophoff BG, Menzel J. Factors responsible for the retention of fluid in human tumor edema and the effect of dexamethasone. *J Neurosurg*. 1987;67(2):250–7.
77. Fillmore HL, VanMeter TE, Broaddus WC. Membrane-type matrix metalloproteinases (MT-MMPs): expression and function during glioma invasion. *J Neurooncol*. 2001;53(2):187–202.
78. Tropine A, Vucurevic G, Delani P, Boor S, Hopf N, Bohl J, i ostali. Contribution of diffusion tensor imaging to delineation of gliomas and glioblastomas. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2004;20(6):905–12.
79. Morita K ichi, Matsuzawa H, Fujii Y, Tanaka R, Kwee IL, Nakada T. Diffusion tensor analysis of peritumoral edema using lambda chart analysis indicative of the heterogeneity of the microstructure within edema. *J Neurosurg*. 2005;102(2):336–41.
80. Castillo M, Smith JK, Kwock L, Wilber K. Apparent Diffusion Coefficients in the Evaluation of High-grade Cerebral Gliomas. *American Journal of Neuroradiology*. 2001;22(1):60–4.
81. Bulakbasi N, Kocaoglu M, Tayfun C. Combination of single-voxel proton MR spectroscopy and apparent diffusion coefficient calculation in the evaluation of common brain tumors. *American Journal of Neuroradiology*. 2003;24(2):225–33.
82. Murakami R, Sugahara T, Nakamura H, Hirai T, Kitajima M, Hayashida Y, i ostali. Malignant supratentorial astrocytoma treated with postoperative radiation therapy: prognostic

- value of pretreatment quantitative diffusion-weighted MR imaging. *Radiology*. 2007;243(2):493–9.
83. Guo AC, Cummings TJ, Dash RC, Provenzale JM. Lymphomas and high-grade astrocytomas: Comparison of water diffusibility and histologic characteristics. *Radiology*. 2002;224(1):177–83.
84. Momeni F, Abedi-Firouzjah R, Farshidfar Z, Taleinezhad N, Ansari L, Razmkon A, i ostali. Differentiating Between Low- and High-grade Glioma Tumors Measuring Apparent Diffusion Coefficient Values in Various Regions of the Brain. *Oman Med J*. 2021;36(2):e251.
85. Surov A, Meyer HJ, Wienke A. Correlation between apparent diffusion coefficient (ADC) and cellularity is different in several tumors: a meta-analysis. *Oncotarget*. 2017;8(35):59492–9.
86. Chen L, Liu M, Bao J, Xia Y, Zhang J, Zhang L, i ostali. The correlation between apparent diffusion coefficient and tumor cellularity in patients: A meta-analysis. *PLoS One*. 2013;8(11):e79008.
87. Lemée JM, Clavreul A, Menei P. Intratumoral heterogeneity in glioblastoma: don't forget the peritumoral brain zone. *Neuro Oncol*. 2015;17(10):1322–32.
88. Giambra M, Di Cristofori A, Valtorta S, Manfrellotti R, Bigiogera V, Basso G, i ostali. The peritumoral brain zone in glioblastoma: where we are and where we are going. *J Neurosci Res*. 2023;101(2):199–216.
89. Hartmann C, Hentschel B, Wick W, Capper D, Felsberg J, Simon M, i ostali. Patients with IDH1 wild type anaplastic astrocytomas exhibit worse prognosis than IDH1-mutated glioblastomas, and IDH1 mutation status accounts for the unfavorable prognostic effect of higher age: implications for classification of gliomas. *Acta Neuropathol*. 2010;120(6):707–18.
90. Nobusawa S, Watanabe T, Kleihues P, Ohgaki H. IDH1 mutations as molecular signature and predictive factor of secondary glioblastomas. *Clinical Cancer Research*. 2009;15(19):6002–7.
91. Pirozzi CJ, Yan H. The implications of IDH mutations for cancer development and therapy. *Nat Rev Clin Oncol*. 2021;18(10):645–61.

92. Yan H, Parsons DW, Jin G, McLendon R, Rasheed BA, Yuan W, et al. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *New England Journal of Medicine*. 2009;360(8):765–73.
93. Zhao S, Lin Y, Xu W, Jiang W, Zha Z, Wang P, et al. Glioma-derived mutations in IDH1 dominantly inhibit IDH1 catalytic activity and induce HIF-1 $\alpha$ . *Science*. 2009;324(5924):261–5.

## **11. ŽIVOTOPIS**

Marija Bušić rođena je 1992. godine u Splitu. Osnovnu i srednju školu završila je u Splitu. Diplomirala je na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Splitu 2017.godine. U razdoblju od 2018. do 2019. godine radila je kao liječnik u Zavodu za hitnu medicinu Splitsko-dalmatinske županije. 2019. godine započela je specijalističko usavršavanje iz Kliničke radiologije na Kliničkom zavodu za dijagnostičku i intervencijsku radiologiju KBC-a Split. U svibnju 2024. godine položila je Europski radiološki ispit (engl. *European Diploma in Radiology* – EDiR) te postala specijalist Kliničke radiologije. Suradnica je u istraživanjima vezanim za multiplu sklerozu koje provodi Buffalo Neuroimaging Analysis Center (BNAC) unutar kojeg sudjeluje u analizi demijelinizirajućih promjena na MR snimkama mozga. Suradnica je na projektu koji financira Hrvatska zaklada za znanost naziva Istraživanje subkliničkih markera multiple skleroze.

Autorica je znanstvenog članka iz kojeg je proizašla tema ove doktorske disertacije. Članica je Hrvatskog radiološkog društva (HDR), Europskog radiološkog društva (ESR) i Europskog neuroradiološkog društva (ESNR) te je aktivno sudjelovala u nizu znanstvenih skupova. Polaznica je neuroradioloških tečajeva u organizaciji ESNR.