UNIVERZITET U BANJA LUCI

MEDICINSKI FAKULTET

FATIMA JUKOVIĆ-BIHORAC

EKSPRESIJA B7-H3 I NJENA VEZA SA PATOHISTOLOŠKIM, MORFOMETRIJSKIM I KLINIČKIM KARAKTERISTIKAMA NISKOGRADUSNIH I VISOKOGRADUSNIH TUMORA GLIJALNOG PORIJEKLA

DOKTORSKA DISERTACIJA

BANJA LUKA, 2025.

UNIVERZITET U BANJA LUCI

MEDICINSKI FAKULTET

EKSPRESIJA B7-H3 I NJENA VEZA SA PATOHISTOLOŠKIM, MORFOMETRIJSKIM I KLINIČKIM KARAKTERISTIKAMA NISKOGRADUSNIH I VISOKOGRADUSNIH TUMORA GLIJALNOG PORIJEKLA

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor:

Prof. dr Slaviša Đuričić, dr. med.

Kandidat:

Fatima Juković-Bihorac, dr. med.

Banja Luka, 2025.

EXPRESSION OF B7H3 AND ITS ASSOCIATION WITH HISTOPATHOLOGICAL, MORPHOMETRIC AND CLINICAL CHARACTERISTICS OF LOW-GRADE AND HIGH-GRADE GLIOMAS

Doctoral Dissertation

S A D R Ž A J

SAŽETAK **6**
ABSTRACT **7**
1. UVOD **8**
1. TEORIJSKI OKVIR RADA **9**
1.1. Glijalni tumori 9
1.1.1. Istorijski aspekti glijalnih neoplazmi centralnog nervnog sistema 10
1.1.2. Epidemiologija glijalnih tumora 11
1.1.3. Etiološki faktori kod glijalnih tumora 12
1.1.4. Patogeneza glijalnih tumora 13
1.1.5. Klasifikacija glijalnih tumora 16
1.1.6. Dijagnostičke procedure 19
1.1.7. Terapija glijalnih tumora 23
1.2. B7-H3 kao biomarker kod tumora 26
1.2.1. Struktura B7-H3 26
1.2.2. Imunološke karakteristike B7-H3 27
1.2.3. Uloga B7-H3 kod nemoždanih tumora 29
1.2.4. Pregled literature o ulozi B7-H3 kod tumora mozga 31
1.2.5. B7-H3 kao ciljana terapija 33
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA **36**
3. HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA **37**
4. PACIJENTI I METODE **38**
4.1. Dizajn studije i etički aspekti 38
4.2. Pacijenti 38
4.2.1. Kriteriji uključivanja i neuključivanja 38
4.3. Metode 39
4.3.1. Prikupljanje podataka 39
4.3.2. Principi dijagnostike i liječenja pacijenata sa glijalnim tumorima kod ispitivanog uzorka 39
4.3.3. Imunohistohemijska analiza markera proliferacije Ki67 i semikvantitativna analiza ekspresije B7-H3 40
4.3.4. Procjena težine kliničke slike i praćenje progresije bolesti, ukupnog preživljenja i preživljenja bez progresije 42
4.3.5. Radiološka morfometrijska analiza glijalnih tumora 43
4.4. Statistička analiza podataka 45

5. REZULTATI 46

5.1. Demografske karakteristike ispitanika 46

5.2. Ispitivanje nivoa imunohistohemijske ekspresije B7-H3 kod niskogradusnih i visokogradusnih glijalnih tumora 46

5.2.1. Dijagnostičko-diskriminantne performanse B7-H3 u razlikovanju visokogradusnih od niskogradusnih glijalnih tumora 48

5.3. Ispitivanje povezanosti imunohistohemijske ekspresije B7-H3 sa stepenom diferencijacije i proliferacije neoplastičnih ćelija glijalnog porijekla 50

5.3.1. Patohistološke karkteristike glijalnih tumora 50

5.3.2. Korelacija imunohistohemijske ekspresije B7-H3 i stepena diferecijacije i proliferacije praćenog Ki67 proliferativnim indeksom 51

5.4. Ispitivanje povezanosti imunohistohemijske ekspresije B7-H3 s morfometrijskim karakteristikama tumora evaluiranim magnetnom rezonancom, uključujući volume tumora, volumen peritumoralnog edema i edema indeks 53

5.4.1. Radiološke i radiološko-morfometrijske karakteristike glijalnih tumora 53

5.4.2. Korelacija imunohistohemijske ekspresije B7-H3 sa volumenom tumora, peritumoralnog edema i edema indeksa 55

5.5. Ispitivanje prediktivne uloge imunohistohemijske ekspresije B7-H3 u kontekstu težine kliničke slike i perioda preživljavanja sa i bez progresije bolesti 60

5.5.1. Težina kliničke slike pacijenata sa glijalnim tumorima i period preživljenja sa i bez progresije bolesti 60

5.5.2. Prediktivna uloge imunohistohemijske ekspresije B7-H3 u kontekstu težine kliničke slike i perioda preživljavanja sa i bez progresije bolesti 63

6. DISKUSIJA 67

7. ZAKLJUČAK 75

8. LITERATURA 76

9. BIOGRAFIJA AUTORA 105

10. POPIS SLIKA, TABELA I GRAFIKONA 108

PRILOZI 111

SAŽETAK

Uvod: Gliomi predstavljaju najčešće primarne tumore centralnog nervnog sistema, sa heterogenom biološkom i kliničkom prezentacijom koja otežava njihovu dijagnostiku i prognozu. Cilj ovog istraživanja je ispitati ekspresiju proteina B7-H3 i njen uticaj na patohistološke, morfometrijske i kliničke karakteristike niskogradusnih i visokogradusnih glioma u pacijenata.

Materijal i metode: U ovu retrospektivnu studiju je uključeno 99 konsekutivnih pacijenata kod kojih je patohistološkom analizom verifikovan niskogradusni ili visokogradusni glijalni tumor mozga, a koji su liječeni na Odjelu za neurohirurgiju Kantonalne bolnice Zenica u periodu od početka 2013. do kraja 2021. godine. Realizovano je imunohistohemijsko bojenje radi određivanja nivoa ekspresije B7-H3 i Ki67 proliferativnog indeksa, kao i gradusa glijalnog tumora. Morfometrijske karakteristike tumora, uključujući volumen tumora (VT), volumen peritumoralnog edema (PTBE) i edema indeks (EI), analizirane su na osnovu snimaka magnetne rezonancije. Klinička evaluacija obuhvatala je praćenje pacijenata minimalno tri godine u zavisnosti od prirodnog toka bolesti, procjenu težine kliničke slike preoperativno pomoću Karnofsky performans skora, kao i poslije operativnog zahvata nakon mjesec dana.

Rezultati: U studiji sa 99 pacijenata (42 LGG, 57 HGG), ekspresija B7-H3 bila je viša kod HGG: intenzitet (medijana 3.0 vs. 2.0; $p < 0.001$), procenat imunoreaktivnih ćelija (3.0 vs. 2.0; $p < 0.001$) i zbirni skor A×B (8.0 vs. 3.0; $p < 0.001$). ROC analiza za A×B ≥5 pokazala je AUC 0.816, senzitivnost 73.14%, specifičnost 80.70% ($p < 0.001$). Visoka ekspresija B7-H3 registrovana je kod 80.7% HGG i 31.0% LGG ($p < 0.001$). HGG su imali viši gradus i Ki67 (35.0% vs. 5.0%; $p < 0.001$). Korelacija između Ki67 i A×B iznosila je $r = 0.646$ ($p < 0.001$). Medijana ukupnog preživljenja je bila 22 mjeseca kod pacijenata sa visokom ekspresijom B7-H3, a 55 mjeseci kod onih sa niskom ekspresijom ($p < 0.001$). Medijana preživljenja bez progresije bolesti iznosila je 16 mjeseci u grupi sa visokom ekspresijom, a 38 mjeseci u grupi sa niskom ekspresijom ($p < 0.001$).

Zaključak: Visoka ekspresija B7-H3 u gliomima povezana je sa višim gradusom, većim proliferativnim indeksom i kraćim preživljenjem sa i bez progresije bolesti.

Ključne riječi: CD276, diferencijalna dijagnoza, gliomi, imunohistohemija, Ki-67 indeks, prognoza.

ABSTRACT

Introduction: Gliomas are the most common primary tumors of the central nervous system, characterized by heterogeneous biological and clinical presentation, which complicates their diagnosis and prognosis. The aim of this study is to examine the expression of the B7-H3 protein and its impact on histopathological, morphometric, and clinical characteristics of low-grade and high-grade gliomas in patients.

Materials and Methods: This retrospective study included 99 consecutive patients with histopathologically confirmed low-grade or high-grade brain gliomas, treated at the Department of Neurosurgery, Cantonal Hospital Zenica, between early 2013 and the end of 2021. Immunohistochemical staining was performed to determine the expression levels of B7-H3 and the Ki-67 proliferation index, as well as the tumor grade. Morphometric tumor characteristics, including tumor volume (TV), peritumoral brain edema volume (PTBE), and edema index (EI), were analyzed based on MRI scans. Clinical evaluation involved a minimum of three years of patient follow-up depending on the natural course of the disease, assessment of preoperative clinical status using the Karnofsky Performance Scale, and postoperative evaluation one month after surgery.

Results: In a study of 99 patients (42 LGG, 57 HGG), B7-H3 expression was higher in HGG: intensity (median 3.0 vs. 2.0; $p < 0.001$), percentage of immunoreactive cells (3.0 vs. 2.0; $p < 0.001$), and immunoreactive score (8.0 vs. 3.0; $p < 0.001$). ROC analysis for A×B ≥5 yielded an AUC of 0.816, sensitivity of 73.14%, and specificity of 80.70% ($p < 0.001$). High B7-H3 expression was recorded in 80.7% of HGG and 31.0% of LGG cases ($p < 0.001$). HGG showed higher grade and Ki-67 index (35.0% vs. 5.0%; $p < 0.001$). The correlation between Ki-67 and A×B was $r = 0.646$ ($p < 0.001$). The median overall survival was 22 months in patients with high B7-H3 expression and 55 months in those with low expression ($p < 0.001$). The median progression-free survival was 16 months in the high expression group and 38 months in the low expression group ($p < 0.001$).

Conclusion: High B7-H3 expression in gliomas is associated with higher tumor grade, increased proliferative index, and shorter overall and progression-free survival.

Keywords: CD276, differential diagnosis, gliomas, immunohistochemistry, Ki-67 index, prognosis.

1. UVOD

Centralni nervni sistem (CNS) sastoji se od dviju osnovnih vrsta ćelija: neurona i glijalnih ćelija. Neuroni su specijalizovani za prenos i obradu informacija unutar nervnog sistema putem sinapsi, koje omogućavaju brzu i efikasnu komunikaciju između različitih dijelova CNS-a. Nasuprot tome, glijalne ćelije pružaju osnovnu podršku i zaštitu neuronima, kao i održavaju homeostazu unutar CNS-a (1, 2). Glijalne ćelije obuhvataju oligodendrocite, koji formiraju mijelinski omotač oko aksoma neurona i omogućavaju brzu provodljivost nervnih impulsa; astrocite, koji podržavaju neurone, reguliraju hemijsko okruženje oko njih, održavaju krvno-moždanu barijeru i pružaju nutritivne supstance neuronima; ependimalne ćelije, koje oblažu komore mozga i proizvode cerebrospinalnu tečnost koja amortizuje mozak i kičmenu moždinu; te mikrogliju, koja djeluje kao imunološke ćelije CNS-a, pomažući u uklanjanju mrtvih ćelija i patogena, te održavanju zdravlja neuronskog tkiva (3, 4).

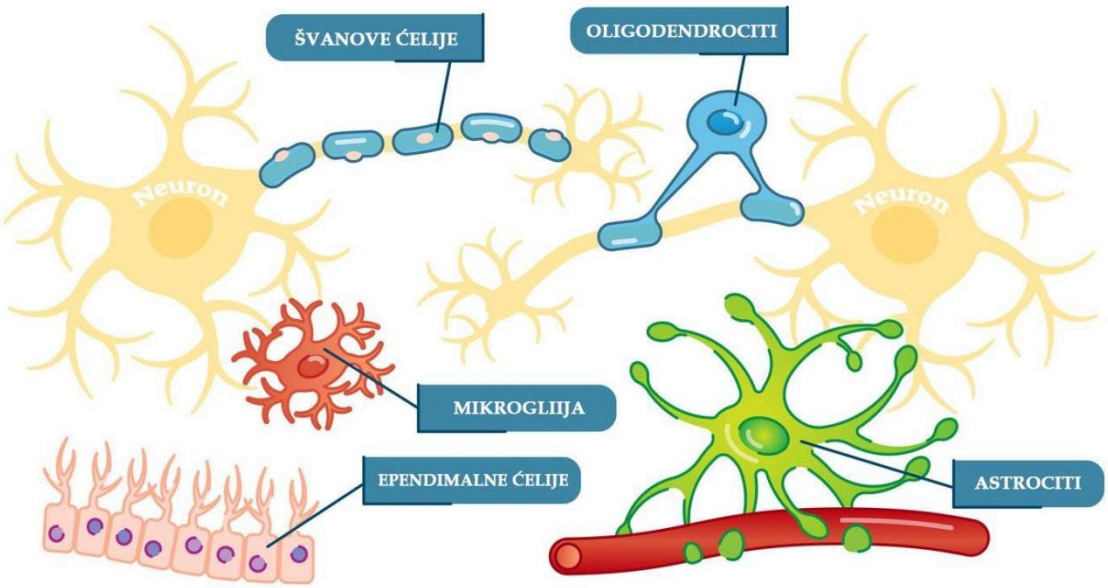
Tumori CNS-a mogu se klasifikovati prema svom porijeklu na tumore glijalnog porijekla, poznate kao gliomi, i tumore koji nisu gliomi. Gliomi nastaju iz glijalnih ćelija i predstavljaju značajnu kategoriju tumora unutar CNS-a, sa različitim karakteristikama koje zavise od tipa glijalnih ćelija iz kojih potiču (5). Ovi tumori mogu se razlikovati u smislu morfoloških osobina, brzine rasta i stepena maligniteta. Karakteristike glijalnih tumora uključuju intenzivnu ćelijsku proliferaciju koja može dovesti do agresivnog rasta i invazije u okolno tkivo, različite histološke osobine kao što su prisustvo različitih vrsta glijalnih ćelija, abnormalna arhitektonika tkiva i nekroze, kao i morfometrijske karakteristike koje uključuju veličinu i oblik tumora, distribuciju ćelija unutar tumora i prisustvo područja s abnormalnim promjenama u strukturi (6). Kliničke karakteristike ovih tumora variraju ovisno o tipu tumora i mogu uključivati neurološke deficite, promjene u mentalnom statusu i druge simptome povezane sa lokalizacijom tumora u CNS-u (7).

Cilj ovog istraživanja je ispitati ekspresiju proteina B7-H3 i njen uticaj na patohistološke, morfometrijske i kliničke karakteristike niskogradusnih i visokogradusnih glioma. Protein B7-H3, poznat po svojoj ulozi u regulaciji imunološkog odgovora, može imati značajan uticaj na razvoj i progresiju ovih tumora. Analizom ekspresije B7-H3 moguće je otkriti nove mehanizme u patogenezi glioma, što može doprinijeti unapređenju dijagnostičkih metoda i terapijskih pristupa, te poboljšanju prognoze i kvaliteta života pacijenata s ovim malignim tumorima.

1. TEORIJSKI OKVIR RADA

1.1. Glijalni tumori

Glijalni tumori, poznati i kao gliomi, predstavljaju najčešći oblik neoplazmi CNS-a koje potiču od glijalnih ćelija. Ovi tumori su karakteristični po svojoj širokoj infiltrativnoj prirodi, što znači da se šire u okolno moždano tkivo, otežavajući tako njihovo precizno uklanjanje i liječenje. Najmaligniji oblik glijalnog tumora je glioblastom, dok pilocitni astrocitomi imaju najniži stepen maligniteta među oblicima moždanih tumora.



Slika 1. Ćelije centralnog nervnog sistema
(Izvor: https://www.vectorstock.com/royalty-free-vector/glial-cell-anatomy-diagram-vector-19591887)

U prošlosti su se ovi difuzni gliomi klasifikovali prema histopatološkim karakteristikama kao što su difuzni astrocitomi, oligodendrogliomi ili mješoviti gliomi/oligoastrocitomi. Ova klasifikacija je bazirana na morfološkim osobinama tumora, poput vrste glijalnih ćelija koje su prisutne i stepena njihova maligniteta. Međutim, u novije vrijeme, klasifikacija glioma se sve više temelji na molekularnim i genetskim markerima. Ova moderna klasifikacija omogućava preciznije prognoze i ciljanje terapija za pacijente sa gliomima, čime se poboljšava tretman i upravljanje ovim tumorima. Pored molekularnih i genetskih markera, gliomi se i dalje klasifikuju prema stepenima maligniteta od I do IV. Ova klasifikacija se temelji na stepenu proliferacije, koji se određuje pomoću mitotskog indeksa, kao i prisutnosti ili odsutnosti nekroze.

1.1.1. Istorijski aspekti glijalnih neoplazmi centralnog nervnog sistema

Prvi sveobuhvatan opis histomorfoloških karakteristika glijalnih tumora dao je njemački patolog Rudolf Virchow 1865. godine (8). Virchow je prepoznao glijalne tumore kao maligne formacije koje potiču iz glijalnih ćelija CNS i koje su se odlikovale izrazitim histološkim kontrastom u odnosu na zdravo moždano tkivo, te su napadale okolne strukture (9). On je prvi upotrijebio termin "gliom" za ove lezije. Zbog velike histološke razlike između nekih tumora, Virchow je klasifikovao gliome u dvije grupe na osnovu njihove celularnosti i stepena odstupanja u građi u odnosu na normalno moždano tkivo: niskogradusni i visokogradusni. Ovakva podjela je poznata i danas (10, 11).

Ove klasifikacije i opisi nastali su skoro desetljeće nakon što je Virchow, u predavanju održanom 3. aprila 1858. godine, prvi put opisao glijalne ćelije, koje su tada viđene kao homogene ćelijske populacije (12). Termin "glija", izveden iz grčke riječi za ljepilo, korišten je da označi ove ćelije koje su smatrane kao matrica izvan ćelija CNS-a – neurocement (13). Otkrivanje i opis glijalnih ćelija i tumora koji iz njih potiču predstavljaju ključne trenutke u promjeni paradigme nervnog sistema tokom 19. vijeka (14). Ostali značajni trenuci u ovoj promjeni uključuju otkriće i opis prvih neurona 1837. godine od strane češkog anatoma i fiziologa Jana Purkinjea u korteksu malog mozga, te razvoj specijalnih srebrnih boja od strane Camila Golgija 1873. godine i Santiaga Ramona y Kahala 1887. godine (15-18). Sva ova otkrića poslužila su kao osnova za neuronalnu doktrinu i kao kontrapunkt zastarjelom retikularnom modelu u vezi sa strukturom i funkcionalnošću CNS-a. Tokom kasnijeg dijela 19. vijeka i prvih nekoliko decenija 20. vijeka, pojedinačne frakcije glijalnih ćelija su opisane i njihove funkcionalnosti utvrđene. Mađarski histolog Mihalj von Lenosec prvi je opisao astrocite 1893 (19). godine, dok je Španac Pio del Rio Hortega opisao oligodendrocite i mikroglijalne ćelije 1919. godine, postavljajući osnovne funkcije ovih frakcija u svojoj neuroglijalnoj teoriji, koja se uklopila u već dominantnu neuronalnu doktrinu (19).

Zlatno doba u istraživanju glioma nastupilo je 1926. godine, gotovo 100 godina nakon što su gliomi prvi put opisani i više od 50 godina nakon opisa prekursorskih ćelija i prvih predloženih klasifikacija od strane Virchowa (20). Američki neuropatolog Percival Bailey i otac moderne neurohirurgije Harvey Cushing postavili su temelje za savremenu klasifikaciju glioma, na kojoj se temelji trenutna klasifikacija iz 2016. godine. Bailey i Cushing su nazvali maligne i histološki atipične forme glioma "spongioblastoma multiforme" (21), zbog multiformnog izgleda ćelija unutar istih uzoraka tkiva. Smatrali su da ovaj tip tumora ima različito ćelijsko

porijeklo u odnosu na druge gliome zbog atipičnih i polimorfnih monstruoznih ćelija, koje su se značajno razlikovale od zdravih glijalnih ćelija (22, 23). S vremenom je termin spongioblastoma zamijenjen terminom glioblastoma (GBM), a ustanovljeno je i zajedničko porijeklo astrocitoma i glioblastoma.

Između 1934. i 1941. godine, najproduktivnij istraživač u oblasti glioma bio je njemački neuropatolog Hans-Joachim Scherer, koji je objavio veliki broj istraživačkih radova na ovu temu (24). Scherer je tvrdio da bi histomorfološka dijagnoza trebala biti zasnovana na cijelom uzorku tumora, a ne na pojedinačnim ćelijama tumora pronađenim u materijalu (25). Na osnovu svog istraživanja, došao je do zaključka da GBM i astrocitom dijele iste prekursorske ćelije i da neki slučajevi astrocitoma mogu tokom vremena napredovati u glioblastom. Stoga je Scherer uveo termine primarni GBM, koji nastaje *de novo*, i sekundarni GBM, koji se razvija na osnovu prethodno postojećeg astrocitoma (26, 27). Prema Scherer-ovim procjenama, primarni i sekundarni GBM dijele iste histomorfološke karakteristike, ali se razlikuju u svojim biološkim svojstvima (28). Ove dvije vrste glioblastoma razlikuju se ne samo po evoluciji, već i po kliničkom manifestovanju i progresiji – dok je primarni GBM izuzetno agresivan i ima dramatičan klinički tok, sekundarni GBM pokazuje sporiji napredak i bolju prognozu za pacijente.

1.1.2. Epidemiologija glijalnih tumora

Gliomi su najučestaliji maligni tumori mozga kod odraslih i čine značajan dio svih zloćudnih neoplazmi CNS-a (29). Oni predstavljaju oko 75% svih malignih tumora mozga u odraslih (30), te 40% ukupnog broja tumora CNS-a (31). Incidenca tumora CNS-a varira ovisno o dobi i polu pacijenata. Godišnja incidenca primarnih malignih tumora mozga iznosi oko 3,7 na 100.000 muškaraca i 2,6 na 100.000 žena (32). Zanimljivo je da su ove stope znatno veće u razvijenim zemljama: 5,8 na 100.000 kod muškaraca i 4,1 na 100.000 kod žena, u poređenju sa manje razvijenim zemljama gdje su stope 3,0 na 100.000 za muškarce i 2,1 na 100.000 za žene.

Kod muškaraca je stopa primarnih malignih tumora značajno viša nego kod žena, dok su nemaligni tumori poput meningeoma češći kod žena (33). U dječijoj populaciji, tumori CNS-a su druga najčešća vrsta tumora i čine 25% svih tumora, pri čemu spinalni tumori čine 10-11% svih tumora CNS-a kod djece do 15 godina (34).

Za starosnu grupu od 15 do 29 godina, tumori CNS-a čine 6% svih tumora i nalaze se na šestom mjestu po učestalosti, dok spinalni tumori čine 6-8% svih tumora CNS-a (7). Kod djece mlađe od 15 godina, najčešći su meduloblastomi (23,5%) i niskogradusni gliomi (31,7%) (35).

U starosnoj grupi od 15 do 29 godina, tipovi tumora se razlikuju: astrocitomi čine najveći udio sa 64%, dok ostali gliomi čine 19%, PNET (primitivni neuroektodermalni tumor) 8%, a ependimomi 6% (35). Zanimljivo je da oko 5% tumora CNS-a pokazuje multicentrični rast, što dodatno otežava dijagnostiku i liječenje (36).

1.1.3. Etiološki faktori kod glijalnih tumora

Vanjski faktori koji sa sigurnošću povećavaju rizik od nastanka tumora nervnog sistema su rijetki (37). Ono što je poznato jeste da su oštećenja na molekularnom nivou, poput DNK mutacija, osnovni uzrok niza reakcija koje dovode do neoplastičnog procesa unutar CNS-a (38). Među potencijalnim vanjskim faktorima su kancerogeni okolišni faktori i prehrana, uključujući N-nitroso komponente (39), hemijski agensi poput policikličnih aromatskih hidrokarbona i vinil-hlorida (40), te virusi kao što su Simian sarcoma virus, povezan s glioblastomom, i JC humani polioma virus, povezan s meduloblastomom (41). Radijacija je također značajan faktor, posebno u vezi s visokogradusnim glijalnim tumorima (9, 11). Najnovije studije izvještavaju o statistički značajnom porastu incidencije tumora mozga kod izlaganja čak i umjerenim dozama zračenja (manje od 1 Sv) (42).

Prvi konkretan dokaz o povezanosti jonizujućeg zračenja i tumora mozga dolazi iz studije koja je pratila izraelske dječake liječene radijacionom terapijom za tineu capitis, s prosječnim dozama od 1.0 do 6.0 Gy (43). Pod uticajem određenih faktora, prvenstveno genetskih poremećaja, nervne matične ćelije mogu podleći malignoj transformaciji (44).

U procesu onkogeneze, postoje dvije glavne vrste gena s različitim ulogama: onkogeni i tumor supresorski geni. Aktivacija onkogena može uzrokovati nastanak neoplazmi, dok aktivacija tumor supresorskih gena prevenira njihov razvoj. Maligna transformacija se dešava kada dođe do aktivacije onkogena ili inaktivacije tumor supresorskih gena (45).

Okolišni faktori, poput izloženosti kancerogenim agensima i prehrambenim komponentama, i dalje su predmet brojnih istraživanja kako bi se bolje razumjeli njihovi uticaji na razvoj tumora CNS-a. Također, hemijski agensi kao što su policiklični aromatski hidrokarboni i vinil-hlorid, poznati po svojim kancerogenim svojstvima, povezani su sa povećanim rizikom od razvoja

ovih tumora (46). Radijacija je posebno značajan faktor, sa dokazima koji pokazuju da izlaganje čak i umjerenim dozama zračenja može značajno povećati rizik od razvoja tumora mozga (47).

Studija koja je pratila izraelske dječake liječene radijacionom terapijom za *tineu capitis* pružila je prvi čvrst dokaz o povezanosti jonizujućeg zračenja i tumora mozga, pokazavši da prosječne doze zračenja od 1,0 do 6,0 Gy značajno povećavaju rizik od razvoja ovih tumora (48). Nasljedni genetski poremećaji također igraju ključnu ulogu u malignoj transformaciji nervnih matičnih ćelija (49).

Pored radijacijskog uticaja, dokazan je uticaj pesticida, policikličnih aromatskih ugljikohidrata, i virusa. Piel i sar. (50) su proveli prospektivnu studiju u Francuskoj koja je uključivala farmere i osobe koje su izložene pesticidima, i utvrdili su da je izloženost pesticidima povezana sa povećanom incidencijom CNS tumora, uključujući gliome i meningeome (HR 1.96; 95% CI 1.11–3.47). Slično tome, u drugoj studiji, Piel et al. (51) su našli povezanost između izloženosti karbamatnim insekticidima i povećane incidencije CNS tumora. Fallahi i sar. (52) su u svojoj studiji u Italiji također otkrili pozitivan rizik od glioma i meningeoma kod osoba koje se bave ruralnim aktivnostima. Carles et al. (53) su u Francuskoj pokazali da je rezidencijalna blizina poljoprivrednim zemljištima povezana s povećanim rizikom od meningeoma (OR 2.30; 95% CI 1.04–5.10).

Izloženost hemijskim agensima kao što su policiklični aromatski hidrokarboni i vinil-hlorid povezana je s povećanim rizikom od razvoja glijalnih tumora. Studije su pokazale da ove hemikalije mogu uzrokovati oštećenja na molekularnom nivou, uključujući DNK mutacije, što dovodi do neoplastičnih procesa unutar CNS-a (54).

Virusne infekcije, poput Simian sarcoma virusa i JC humanog polioma virusa, takođe su identifikovane kao faktori rizika za određene tipove glijalnih tumora. Simian sarcoma virus je povezan s glioblastomom, dok je JC humani polioma virus povezan s meduloblastomom (55).

1.1.4. Patogeneza glijalnih tumora

Gliomi su najčešći primarni tumori mozga i karakteriše ih značajna histološka varijabilnost koja je često povezana s genetskim promjenama unutar tumora (56). Ova heterogenost među tumorima istog tipa i gradusa otežava predviđanje preživljavanja pacijenata samo na temelju histološke analize. Kod tumora gradusa 1, koji su benigne prirode, rijetko dolazi do progresije

u više graduse, a njihove genetske promjene razlikuju se od onih u gradus 2–4 tumorima (57). Sa druge strane, oligodendrogliomi i anaplastični oligodendrogliomi često pokazuju gubitak heterozigotnosti na hromosomima 1p i 19q, što se nalazi u 40-90% biopsija, ovisno o studiji (58-61). Ova genetska promjena predviđa povoljan odgovor na određene hemioterapijske agense i radioterapiju te produženo preživljavanje čak i nakon recidiva. Uz to, često se javlja nishodna regulacija gena *PTEN*, koji djeluje kao tumor supresor, a smanjenje njegove aktivnosti može biti posljedica metilacije promotorne regije. Amplifikacija receptora faktora rasta porijeklom iz plazmocita *PDGFRα* pojavljuje u otprilike 7% ovih tumora (62).

Kod astrocitoma gradusa 2 često se javljaju amplifikacije gena *PDGFRα* i *PDGFRβ*, kao i njihovih liganada (*PDGF-A, -B, -C, -D*) (62-64). Ove genetske promjene mogu značajno doprinijeti gliomagenazi, s obzirom na to da retrovirusno izražavanje *PDGF-B* u ćelijama progenitora može inicirati gliomagenazu kod miševa i štakora. Također, gubitak p53 je česta genetska promjena u astrocitomima gradusa 2. U anaplastičnim astrocitomima, gubitak gena *Rb*, koji reguliše napredovanje u ćelijskom ciklusu, i nishodna regulacija ili mutacija gena *p16INK4A/CDKN2A* prisutni su u otprilike 50% tumora. Amplifikacija gena *MDM2*, koji inhibira p53, nalazi se u 13-43% anaplastičnih astrocitoma (65-67).

Glioblastomi mogu se podijeliti na primarne i sekundarne. Primarni glioblastomi nastaju *de novo* kod starijih pacijenata i čine oko 90% svih glioblastoma. U primarnim glioblastomima često se pojavljuje amplifikacija i/ili mutacija gena za epidermalni faktor rasta (*EGFR*) na hromosomu 7, što može potaknuti proliferaciju i invaziju ćelija glioma. Također, gubitak gena *PTEN*, uslijed *LOH* hromosoma u lokaciji 10q ili mutacije, može dovesti do povećane aktivnosti *AKT/mTOR*, što pozitivno djeluje na proliferaciju i invaziju ćelija. U sekundarnim glioblastomima, koji nastaju iz prethodnih astrocitoma nižeg razreda, često se javlja metilacija promotora gena MGMT, što je povezano sa boljim odgovorom na terapiju temozolomidom (65, 68).

Unutar pojedinih glioma može se uočiti i raznolikost. Neka područja tumora razvijaju hipoksične uslove, što aktivira gene odgovorne za stvaranje novih krvnih sudova i dovodi do pojačane angiogeneze. Osim toga, na određenim mjestima tumora može doći do razgradnje krvno-moždane barijere, zbog čega proteini iz krvnog seruma prodiru u vanćelijski prostor tumora. To može uticati na signalizaciju integrina i povećati pokretljivost ćelija glioma (69, 70).

Kao i drugi tumori, gliomi se odlikuju brzom **proliferacijom**, koja nastaje zbog gubitka više inhibitora ćelijskog ciklusa i pojačanog signaliziranja putem različitih receptora za rast. Receptori za rast poput *EGFR* i *PDGFR* aktiviraju proliferativne signale, a često dolazi do povećane ekspresije oba, liganda i receptora, što može sugerisati i postojanje autokrinih ili parakrinih petlji koje pojačavaju ovu signalizaciju. Važno je napomenuti da receptori za rast kao što su *EGFR* i *PDGFR* rade u sinergiji s receptorima za adheziju ćelija, kao što su integrini i efrini, što ima za rezultat pojačavanje signala rasta. Ovi receptori za rast i receptori za adheziju ćelija obično brzo aktiviraju kinazu fokalne adhezije (FAK), citoplazmatsku nerekceptornu tirozin kinazu koja igra ključnu ulogu u regulaciji napretka ćelijskog ciklusa. FAK pojačava aktivnost vanćelijske signalizirane kinaze (ERK) i transkripciju ciklina D1, dok inhibira ekspresiju p27Kip1 (57, 60).

Gliomi su poznati po svojoj **invazivnosti** (71). Kod glioma, invazivni fenotip je vrlo karakterističan i često se opisuje kao potpisna karakteristika. Slično proliferativnom fenotipu, signalizacija putem receptora za rast igra ključnu ulogu u promociji invazivnosti u saradnji s receptorima za adheziju i proteazama. Različiti receptori za rast poput *c-Met*, *EGFR* i *PDGFR* su pokazali sposobnost da promovišu migraciju i invaziju ćelija glioma. Često se u tumoru povećava ekspresija i receptora i liganda, što opet sugeriše prisustvo autokrinih ili parakrinih petlji koje pojačavaju signalizaciju (72). Receptori za adheziju ćelija kao što su integrini, efrini i *CD44* porodice igraju značajnu ulogu u migraciji i invaziji ćelija glioma. Na primjer, ekspresija određenih integrina kao što su alfa v beta 3 i alfa v beta 5 je povećana u malignim gliomima. Integrini omogućavaju interakciju sa citoskeletom, stvarajući vučnu silu koja pomaže ćelijama da se kreću. Efrini-B3 ligand i Eph-B3 receptor, članovi Eph/Ephrin porodice, takođe promovišu invaziju ćelija glioma (73).

Signalne molekule u ćelijama glioma djeluju stimulišući receptore za rast i receptore za adheziju ćelija kako bi pojačali i propagirali signale za invaziju. Ove molekule uključuju citoplazmatske tirozin kinaze, adaptorske molekule i proteine citoskeleta (74). Na primjer, tirozin kinaza FAK i njen član Pyk2 mogu promovisati migraciju i invaziju ćelija glioma u zavisnosti od konteksta. Takođe, Src porodica tirozin kinaza su neophodne za invaziju ćelija glioma. Adaptorski molekuli iz CAS porodice, kao što su HEF1 i p130CAS, podržavaju invaziju glioma, dok članovi Crk porodice djeluju nishodno od HEF1 ili CAS proteina (71). Molekuli poput fosfatidilinozitol-3-kinaze (PI3K) i *PTEN*, koji regulišu preživljavanje i proliferaciju ćelija, takođe regulišu migraciju i invaziju ćelija glioma. PI3K pozitivno reguliše

migraciju i invaziju, dok *PTEN* djeluje negativno, što znači da gubitak *PTEN* funkcije može promovirati invaziju ćelija glioma (75, 76).

Invazija ćelija glioma najvjerovatnije podrazumijeva degradaciju vanćelijske matrice pomoću proteaza. Različite porodice proteaza, uključujući serinske proteaze, katepsine, matriksne metaloproteinaze (MMPs) i ADAMTS porodicu metaloproteinaza, igraju ulogu u migraciji i invaziji ćelija glioma (65, 70). Aktivnost proteaza može biti regulisana različitim faktorima u tumoru, uključujući lokalizaciju proteazne funkcije u specifičnim oblastima membrane tumorskih ćelija. Na primer, serinska proteaza urokinaza, čija ekspresija je povećana u GBM tumorima, pokazuje lokalizaciju i aktivnost u specifičnim regijama ćelijske membrane, što je važno za optimalnu aktivnost proteaze. Takođe, vezivanje MMP-2 za integrin alfa v beta 3 na površini ćelija takođe pomaže u lokalizaciji i pojačavanju aktivnosti ove proteaze (74, 77, 78).

1.1.5. Klasifikacija glijalnih tumora

Za razliku od većine solidnih tumora, AJCC (American Joint Committee on Cancer) TNM stadiranje se ne koristi rutinski kod primarnih tumora mozga, jer ovi tumori rijetko metastaziraju izvan centralnog nervnog sistema. Umjesto toga, kod tumora mozga primarno se koristi WHO klasifikacija i gradiranje.

Istorijski gledano, prema WHO klasifikaciji iz 2007. godine, glijalni tumori su se razvrstavali na osnovu histopatoloških karakteristika koje su se odnosile na sličnost sa ćelijama iz kojih se pretpostavlja da su potekle, kao i na stepen njihove diferencijacije (79-82).

U skladu sa WHO klasifikacijom iz 2016. godine, gliomi su kategorizovani na osnovu histoloških i molekularno genetičkih analiza. Podijeljeni su u dvije glavne grupe (83, 84):

- Niskogradusni gliomi (LGG, WHO gradusi 1 i 2)
- Visokogradusni gliomi (HGG, WHO gradusi 3 i 4).

Tumori gradusa 1 karakterišu se niskim proliferativnim potencijalom, niskim mitotskim indeksom, i slabije izraženim atipijama tumorskih ćelija. Ovi tumori su potpuno kurabilni hirurškom resekcijom. Kako gradus tumora raste, stepen diferencijacije opada (85-88).

Uključivanje molekularnih karakteristika u klasifikaciju omogućilo je detaljnije razumijevanje i karakterizaciju različitih tipova difuznih glioma, što je omogućilo značajan napredak u terapiji i značajno poboljšalo prognozu ove bolesti (89-91).

Tradicionalno, tumori CNS-a gradirani su korištenjem latinskih brojeva. Međutim, u zvaničnoj klasifikaciji Svjetske Zdravstvene Organizacije (WHO plava knjiga, peto izdanje) istaknuta je potreba za jedinstvenim pristupom klasifikaciji i gradiranju tumora, te je favorizovana upotreba arapskih brojeva (92-94).

Nova klasifikacija glioma, glioneuronalnih tumora i neuronalnih tumora uključuje 14 novih tipova tumora. Kod nekih tipova, sveobuhvatni pristup koji obuhvata histološki gradus i molekularne karakteristike je neophodan za postizanje tačne dijagnoze (29). Klasifikacija tumora CNS-a prema WHO iz 2021. godine (WHO CNS5) sadrži niz promjena u odnosu na prethodnu klasifikaciju iz 2016. godine (95, 96). Iako WHO CNS5 u velikoj mjeri slijedi strukturu iz 2016. godine, došlo je do značajnih revizija u poglavlju koje se odnosi na gliome i glioneuronalne tumore, zahvaljujući napretku u molekularnoj genetici. Osim toga, tumori koji su zajednički za druge organske sisteme, poput mezenhimalnih (ne-meningealnih) tumora i melanocitnih tumora, sada su grupisani zajedno. Dodano je i poglavlje o genetskim tumorskim sindromima (97, 98).

Jedna od ključnih razlika između ove dvije klasifikacije je veći fokus na molekularnu genetiku u WHO CNS5, koja ima kliničku relevantnost (94, 95). Dok su histopatološke karakteristike tradicionalno bile osnova za karakterizaciju i gradiranje CNS tumora, pokazalo se da ove karakteristike mogu biti heterogene unutar jednog tumora, što može dovesti do grešaka u uzorkovanju i potcjenjivanja biološkog ponašanja tumora. S druge strane, molekularne genetske promjene su uniformnije, smanjujući mogućnost grešaka čak i kod malih uzoraka biopsija. Stoga je molekularna informacija postala ključna za postizanje veće dijagnostičke tačnosti, preciznije prognoze i optimizovanog upravljanja pacijentima i mogućnosti liječenja, što su važni elementi personalizovane medicine (72).

WHO CNS5 naglašava korištenje "slojevitog izvještavanja", gdje su histopatologija, gradiranje i molekularne informacije kombinovani kako bi se formirala integrisana dijagnoza (80). Ova klasifikacija takođe uzima u obzir revidirane definicije mnogih CNS tumora zasnovane na molekularnim promjenama, što je važno imati na umu kada se podaci iz starijih kliničkih ispitivanja koriste za novodefinisane tipove tumora (72). Što se tiče terminologije, "tip" sada zamjenjuje "entitet", a "podtip" zamjenjuje "varijantu". Neke dijagnoze su revidirane radi jasnoće, pa je tako termin "anaplastični" uklonjen iz dijagnoza poput "anaplastičnog astrocitoma" i "anaplastičnog oligodendroglioma", iako je zadržan za "anaplastične

meningeome". Također, anatomske lokacije su izostavljene iz naziva nekih tumora, kao što je slučaj sa hordoidnim gliomom ("treće komore") (91-93).

U WHO CNS5 su ažurirane i standardizovane smjernice za izvještavanje o simbolima gena, nazivima gena i hromosomskim promjenama, pri čemu su simboli gena pisani italikom, dok proteini i grupe gena nisu. Jedinice mjere su promijenjene, pa se veličina tumora sada daje u milimetrima (mm) umjesto u centimetrima (cm), kako bi se izbjegla upotreba decimala. Što se tiče gradiranja tumora, sada se koriste arapski brojevi umjesto rimskih (79-81). Gradiranje se sada vrši unutar tipova tumora, a ne između različitih tipova tumora. Na primjer, astrocytoma IDH-mutant sada može biti gradus 2, 3 ili 4. S obzirom da se gradiranje CNS tumora može razlikovati od gradiranja tumora u drugim organima, preporučuje se korištenje termina "CNS WHO gradus" (84, 99). Gradiranje se prvenstveno bazira na prirodnoj biologiji tumora bez tretmana, što može biti problematično za procjenu jer većina pacijenata danas prima tretman koji utiče na tok bolesti. Na primjer, meduloblastom aktiviran WNT-om, visoko maligni tumor bez tretmana, klasifikuje se kao CNS WHO gradus 4, ali dobro reaguje na aktuelne režime liječenja (84, 99). Tradicionalno, gradiranje tumora se baziralo na zbiru atipičnih histopatoloških karakteristika; međutim, pokazalo se da neki molekularni biomarkeri imaju veću prognostičku preciznost od histopatologije, te stoga preciznije identifikuju pacijente s većim rizikom od recidiva (84, 99).

Prema novoj WHO klasifikaciji, glijalni tumori su podijeljeni na sljedeći način (80, 81, 83, 94, 95):

1. Difuzni gliomi kod odraslih (eng. *adult-type diffuse gliomas*)**:**
    - Astrocitom, IDH-mutant (eng. *astrocytoma*, *IDH-mutant*)
    - Oligodendrogliom, IDH-mutant, i 1p/19q-ko-deletiran (eng. *oligodendroglioma*, *IDH-mutant, and 1p/19q-codeleted*)
    - Glioblastom, IDH-divlji tip (eng. *glioblastoma, IDH-wildtype*)
2. Niskogradusni glioma difuznog tipa u pedijatrijskoj populaciji (eng. *paediatric-type diffuse low-grade gliomas*):
    - Difuzni astrocitom, MYB- ili MYBL1-alterisan (eng. *diffuse astrocytoma, MYB- or MYBL1-altered*)
    - Angiocentrični gliom (eng. *angiocentric glioma*)

- Polimorfni niskogradusni neuroepitelni tumor (eng. *polymorphous low-grade neuroepithelial tumor*)
- Difuzni niskogradusni gliom, MAPK (eng. *diffuse low-grade glioma, MAPK*)

3. Visokogradusni glioma difuznog tipa u pedijatrijskoj populaciji (eng. *paediatric-type diffuse high-grade gliomas*)**:**
    - Difuzni gliom srednje linije, H3 K27-alterisan (eng. *diffuse midline glioma, H3 K27-altered*)
    - Difuzni hemisferični gliom, H3 G34-mutant (eng. *diffuse hemispheric glioma, H3 G34-mutant*)
    - Difuzni pedijatrijski tip visokogradusnog glioma, H3-divlji tip i IDH-divlji tip (eng. diffuse paediatric-type high-grade glioma, H3-wildtype and IDH-wildtype)
    - Infantilni hemisferični gliom (eng. *infant-type hemispheric glioma*)
4. Ograničeni astrocitni gliomi (eng. *circumscribed astrocytic gliomas*):
    - Pilocitni astrocitom (eng. *pilocytic astrocytoma*)
    - Visokogradusni astrocitom (sa piloidnim karakteristikama) (eng. *high-grade astrocytoma with piloid features*)
    - Pleomorfni ksantoastrocitom (eng. *pleomorphic xanthoastrocytoma*)
    - Subependimalni gigantski ćelijski astrocitom (eng. *subependymal giant cell astrocytoma*)
    - Kordoidni gliom (eng. *chordoid glioma*)
    - Astroblastom, MN1 (eng. *astroblastoma*, MN1)

1.1.6. Dijagnostičke procedure

U dijagnostici glioma, različite slikovne metode imaju svoje specifične uloge i koristi. Iako je kompjuterska tomografija (CT) često dovoljna za početnu dijagnozu većine gliomskih tumora, ona nije toliko sveobuhvatna kao magnetska rezonanca (MRI) i stoga ima sekundarnu ulogu u dijagnostici glioma (100). Obično se CT pregled rutinski koristi za postoperativni nadzor kako bi se uočile moguće komplikacije poput krvarenja. Iako je CT dovoljno osjetljiv za dugoročno

praćenje stanja nakon tretmana, ako se primijeti napredovanje tumora, preporučuje se upotreba MRI. CT također može biti glavna slikovna metoda u rijetkim slučajevima kada je MRI kontraindicirana zbog prisustva feromagnetnih stranih tijela, pejsmejkera ili kohlearnih implantata (101). S druge strane, MRI pruža detaljnije informacije zahvaljujući svojoj sposobnosti da uoči suptilne promjene u arhitekturi mozga koje mogu ukazivati na prisustvo glioma. MRI nije samo ključna u dijagnostici, već i u praćenju stanja prije i poslije tretmana. Iako su naprednije slikovne tehnike posljednjih godina ušle u onkološku dijagnostiku, osnovne MRI sekvence još uvijek čine osnovu radiološkog rada. Ove sekvence omogućavaju prikazivanje lokacije, veličine, margina, strukture i širenja tumora, kao i prisustva ili odsustva vazogene edema (102-104). Kontrastne slike T1 s gadolinijem otkrivaju poremećaje u krvno-moždanoj barijeri, dok su slike osjetljivosti (SWI) korisne za prikaz krvarenja i kalcifikacija unutar tumora. Slike difuzije mogu pokazati područja s povećanom difuzijom, a automatski izračunati koeficijent difuzije (ADC) može pomoći u predviđanju razreda tumora i evaluaciji odgovora na tretman (105). Oligodendrogliom se obično prikazuje kao masa u kortikalnoj i subkortikalnoj bijeloj tvari koja može biti heterogena zbog cistične degeneracije, kalcifikacija ili malih intratumoralnih krvarenja, s blagom ili odsutnom kontrastnom enhancijom ili peritumoralnim edemom. Spor rast je karakterističan za praćenje slika (106). Niskogradusni difuzni astrocitom obično se prikazuje kao homogena masa bijele tvari relativno dobro definisana, bez nekroze ili kontrastne enhancije, s blagim ili odsutnim peritumoralnim edemom, i obično pokazuje spor rast (107). Glioblastom se često prikazuje kao masa u bijeloj tvari s centralnim nekrotičnim središtem, okružena debljim nepravilo poboljšanim marginama i vasogenim edemom. Glioblastom je najčešći i najagresivniji maligni tumor mozga kod odraslih, s lošom prognozom i medijanom preživljavanja manjom od 2 godine. Iako su biološke dijagnostičke metode napredovale, one donose nove izazove u slikovnoj dijagnostici jer radiološki izgled tumora ne mora uvijek odgovarati njegovim biomarkerima. Tumori s *IDH-wildtype* obično pokazuju agresivan rast i transformaciju, iako inicijalno mogu imati radiološke karakteristike niskogradusnog glioma (108-110).

U smislu perfuzijskih tehnika, MR perfuzija pruža informacije o krvnom protoku kroz tkivo. Ova metoda može dati dublje zaključke zbog promjena u krvnom toku tumora. Zdravo tkivo održava metabolizam, uklanja otpadne produkte i održava stabilnu temperaturu, dok patološko tkivo to ne može (110, 111). Najčešće se koriste dva pristupa za MR perfuziju: dinamička osjetljivost kontrasta (DSC) koja se oslanja na unos kontrasta, te dinamičko poboljšanje kontrasta (DCE) koje također zavisi od kontrasta, a koristi se kada se primjećuju defekti

perfuzije i hiperintenzivne regije lezije. Treća metoda, arterijsko spin označavanje (ASL), ne zahtijeva kontrastna sredstva; umjesto toga koristi napredne brze pulsne sekvence i krvni protok djeluje kao kontrast. DSC je posebno koristan za procjenu cerebralnog tkiva zbog velike mreže krvnih žila i svojstva paramagnetičnog kontrasta koji povećava lokalnu osjetljivost tkiva, uzrokujući povećanu T2 dezintegraciju okolnih tkiva (112). Iako je DSC često korištena tehnika u radiološkim odjelima za posttretmansko praćenje visokogradusnih glioma, artefakti osjetljivosti mogu se pojaviti u području baze lubanje ili na mjestu postoperativnog hemosiderina. Tumori s visokom mikrovaskularnom gustoćom često će imati povišenu relativnu cerebralnu krvnu zapreminu (rCBV), što može biti korisno za preoperativnu dijagnozu ili praćenje malignih lezija (113).

Godinama su ljekari imali poteškoća u koreliranju kliničke slike i morfoloških karakteristika tumora čiji uvid dobiju slikovnom dijagnostikom. Na primjer, gliomi mogu ometati motoričke i senzorne funkcije pacijenata, a funkcionalna magnetska rezonanca (fMRI) nudi bolji uvid u ove promjene (114-116). Ova metoda se temelji na osnovnim principima MRI fizike: endogeni kisikovi hemoglobin je dijamagnetičan i proizvodi pojačane signale u poređenju sa deoksigeniranim hemoglobinom, koji ima kraće vrijeme opuštanja na T2, što ima za rezultat smanjenje signala. Time se omogućuje praćenje aktivacije mozga jer će stimulirani kortikalni dijelovi imati povećan protok krvi i viši nivo kiseonika u krvi, dok će nivoi deoksigenisanog hemoglobina biti smanjeni (117). Ova pojava, poznata kao BOLD efekt, vodi do povećanog signala na T2*-težinskim slikama. U slučaju glioblastoma, fMRI ima značajan uticaj na planiranje hirurškog liječenja, pružajući širu perspektivu prognoze i potrebu za intervencijom. U vezi s difuzijskom tenzorskom slikom (DTI), ova metoda rekonstruiše model subkortikalne povezanosti, što pomaže preciznijem planiranju resekcije i smanjenju funkcionalnih oštećenja nakon operacije, naročito kod heterogenih glioma koji se teško razlikuju od normalnog tkiva. Nedavne studije sugerišu da je DTI efikasnija kada se kombinuje sa drugim metodama, kao što je tehnika “ograda” sa kateterima oko margina tumora, što pomaže u resekciji visokogradusnih glioma blizu kortikospinalnog trakta. U naprednijim metodama, visoko definisana fibrotografija omogućuje evaluaciju bijele tvari oko tumora, iako se kvaliteta slike značajno oslanja na kompetenciju izvođača. Nuklearna medicina, uključujući pozitron emisijsku tomografiju (PET) i spektrometriju (SPECT), takođe doprinosi boljem razumijevanju glioma (118). PET, posebno s označenim aminokiselinama kao što je 18F-FDG, omogućava detekciju napredovanja tumora u ranim fazama i bolje planiranje liječenja. SPECT, iako je pristupačnija i jeftinija od PET-a, nudi nižu prostornu rezoluciju, ali se uspješno koristi za diferencijaciju

između progresije tumora i nekroze uzrokovane zračenjem, s visokom specifičnošću i osjetljivošću u prepoznavanju recidiva glioma (119).

Patohistološka analiza glijalnih tumora ključna je za dijagnostiku i planiranje liječenja, a proces obuhvata nekoliko ključnih koraka (120). Prvi korak uključuje prikupljanje uzorka tkiva, koji se obično uzima tokom hirurškog zahvata kada se tumor djelomično ili potpuno odstranjuje, ili putem biopsije iglom za manji uzorak. Nakon uzimanja, uzorak tkiva mora biti brzo fiksiran u otopini formalina kako bi se očuvala njegova struktura. Nakon fiksacije, uzorak prolazi kroz postupak dehidracije koristeći serije alkohola i zatim kroz parafin, u kojem se izlijeva u kalupe. Kada se parafin stvrdne, uzorak se reže na tanke listiće pomoću mikrotoma, obično debljine između 4 i 5 mikrometara (121). Ovi presjeci se zatim postavljaju na staklene pločice za daljnju obradu. Slijede standardne metode bojenja tankih listića tkiva, najčešće hematoksilin-eozin (HE) bojenje, osnovnu metodu koja omogućava opštu procjenu histološke strukture tumora (122, 123). Hematoksilin boji nukleuse u plavu boju, dok eozin boji citoplazmu i ekstracelularni matriks u ružičastu, omogućavajući prepoznavanje osnovnih histoloških karakteristika i morfologije tumora. Skoro uvijek se koristi i dodatna imunohistohemijska dijagnostička metoda pri kojoj se primenjuju antitijela za identifikaciju specifičnih antigena u ćelijama i tkivu, pomažući u klasifikaciji tumora i određivanju imunološkog profila. Za glijalne tumore, markeri poput GFAP (*glial fibrillary acidic protein*) često su uključeni u analizu (124). Nove metode poput imunohistohemijske analize sa specifičnim markerima, kao što su IDH1 i IDH2, pomažu u preciznoj klasifikaciji glioma. Fluorescentna in situ hibridizacija (FISH) omogućava detekciju genetskih promjena poput kromosomskih aberacija i amplifikacija specifičnih gena. Molekularne analize, uključujući sekvenciranje sljedeće generacije (NGS), pružaju detaljnu analizu genoma tumora, otkrivajući mutacije i druge genetske promjene. Kombinacija ovih metoda može poboljšati preciznost dijagnoze i razumijevanje biologije tumora (125).

U posljednjem desetljeću, razumijevanje tumora CNS-a značajno je unaprijeđeno, pogotovo spoznajama u molekularnim promjenama glijalnih tumora (72). Dok su se ranije CNS tumori klasifikovali isključivo na osnovu histoloških karakteristika, molekularni podaci su se koristili kao dodatak (126). S obzirom na razlike u ishodima liječenja između IDH-wildtype i IDH-mutantnih difuznih glioma, postalo je jasno da molekularne karakteristike igraju ključnu ulogu. Nedavne promjene u molekularnoj dijagnostici značajno su uticale na kliničke ishode i samu klasifikaciju glijalnih tumora. Najnovije izmjene iz 2021. godine ističu važnost biomarkera u dijagnostici, na osnovu čega je i izmijenjena histološka klasifikacija glioma (74, 127). Difuzni

gliomi kod odraslih sada se klasifikuju prema molekularnim profilima, a ne samo histološkim karakteristikama. Ova klasifikacija uključuje IDH-mutantne astrocytome, IDH-mutantne i 1p/19q-koedilirane oligodendrogliome, te IDH-wildtype glioblastome. Razlikuju se na osnovu molekularnih osobina: IDH-mutantni astrocytomi se ocjenjuju kao 2, 3 ili 4; IDH-mutantni i 1p/19q-koedilirani oligodendrogliomi se ocjenjuju kao 2 ili 3; dok su glioblastomi, koji su IDH-wildtype, ocjenjeni kao 4 (128-130). Za dijagnozu glioblastoma, koji su IDH-wildtype, ključni su specifični molekularni markeri kao što su mikrovaskularna proliferacija, prisustvo nekroze, mutacije TERT promotora, amplifikacija *EGFR* gena i promjene u broju kopija hromosoma (+7/−10) (131-134). Ovi napredci u dijagnostici ne samo da su poboljšali tačnost identifikacije tumora, već su takođe omogućili bolje preoperativno planiranje, upravljanje pacijentima i post-tretmansko praćenje, što doprinosi boljem upravljanju glijalnim tumorima (77).

1.1.7. Terapija glijalnih tumora

Nakon hirurškog zahvata, liječenje glijalnih tumora nastavlja se kroz primjenu radioterapije i hemioterapije, u zavisnosti od specifičnih karakteristika tumora i pacijenta (135-137). Radioterapija se koristi za precizno ciljanu destrukciju preostalih tumorskih ćelija koje nisu mogle biti uklonjene tokom operacije. Ova metoda pomaže u smanjenju rizika od recidiva i dodatnog širenja tumora (138). Hemioterapija se primjenjuje kako bi se suzbio rast tumora i kontrolisale eventualne preostale ćelije koje mogu biti prisutne u organizmu. Ova terapija ima ključnu ulogu u tretmanu glioma, naročito kod onih tumora koji se ne mogu u potpunosti eliminisati hirurškim putem (61, 139, 140). Kombinacija ovih metoda tretmana omogućava optimalno ciljanje tumorskih ćelija iz različitih izvora i poboljšava šanse za kontrolu bolesti i produženje preživljavanja pacijenata (141).

Odabir odgovarajuće kombinacije terapija i redoslijed njihove primjene zavise od vrste glioma, njegove histološke karakteristike, stepena agresivnosti i molekularnih markera. Terapijski protokol se prilagođava prema individualnim potrebama pacijenta, a odluke se često donose na osnovu rezultata prethodnih terapija i odgovora tumora na tretman (142-144). U savremenom pristupu liječenju, značajnu ulogu igra i personalizacija terapije. Napredak u razumijevanju molekularnih i genetskih karakteristika glioma omogućava razvoj ciljanih terapija koje mogu poboljšati efikasnost liječenja i smanjiti nuspojave. Ove terapije se fokusiraju na specifične molekularne ciljeve unutar tumora, čime se poboljšava preciznost i efikasnost liječenja (145).

Niskogradusni glioma, uključujući astrocitom, *IDH-mutant*, WHO stepen 2, i oligodendrogliom, IDH-mutant i 1p/19q-kodeletiran, WHO stepen 2 se tretiraju i hirurški i konzervativno. Nakon operacije, može se pažljivo primijeniti politika praćenja i čekanja kod mladih pacijenata bez istorije napada povezanih sa tumorom. Postoperativna radioterapija treba se razmotriti kod pacijenata s postoperativnim ostatkom tumora ili kod pacijenata starijih od 40 godina (146). Rana radioterapija poboljšava kontrolu napada i progresiju, ali ne i ukupno preživljavanje. Hemioterapija temozolomidom može se razmotriti samo kod pacijenata koji ne mogu tolerisati radioterapiju. Međutim, period bez progresije bolesti (PFS) u slučaju samostalne terapije temozolidom slabiji je u odnosu na radioterapiju kod astrocitoma, IDH-mutant, WHO stepen 2. U RTOG 9802 ispitivanju, dodatak hemioterapije prokarbazin, lomustin i vinkristin (PCV) uz radioterapiju nakon resekcije produžava ukupno preživljavanje (OS) na 4–5 godina kod visokorizičnih pacijenata sa niskim stepenom glioma, posebno kod mladih (13–39 godina) ili starijih od 40 godina (147). Ovaj napredak u preživljavanju potvrđena je kod pacijenata s IDH-mutant tumorima, ali ne kod IDH wild-type. Standardni postoperativni tretman za visokorizične pacijente sa IDH-mutant gliomom uključuje radioterapiju i PCV. Doze od 45 do 50 Gy su obično dovoljne, dok visoke doze od 60 Gy ili više nisu pokazale dodatne koristi. Takođe, kasni neurološki defekti uslijed visoke doze mogu biti problem (148).

Za postoperativni tretman, dva velika nasumična kontrolisana ispitivanja su pokazala da dodatak PCV-a radioterapiji poboljšava OS. U EORTC 26951 ispitivanju testirana je uspješnost 6 ciklusa PCV-a nakon radioterapije, dok su u RTOG 9402 ispitivanju primijenjena 4 ciklusa PCV-a prije radioterapije. Apsolutni napredak u preživljavanju od 5–6 godina zapažen je kod pacijenata s oligodendrogliomom, 1p/19q-kodeletiranim, nakon dodatka PCV-a (149). Međutim, hemioterapija alkilacijom sama po sebi nije pokazala sličnu efikasnost u odnosu na radioterapiju s PCV-om. Temozolomid ili PCV sami nisu pokazali razliku u preživljavanju u odnosu na samu radioterapiju. Stoga, PCV uz radioterapiju (60 Gy) postao je standardni tretman za ovu grupu (150). Međutim, samo 30%–50% pacijenata u ispitivanjima EORTC 26951 i RTOG 9402 završilo je PCV cikluse. Temozolomid je pokazao povoljan sigurnosni profil, uz posljedičnu laku mijelosupresiju. U modifikovanoj CODEL studiji ispitivaće se da li temozolomid uz radioterapiju može zamijeniti PCV uz radioterapiju s boljim ili sličnim ishodima (151-153).

Postoperativna radioterapija je preporučena nakon operacije za astrocitom, IDH-mutant, WHO stepen 3–4. Doza radioterapije je slična onoj za druge visokostepene gliome (60 Gy). Dokazi

o korisnosti postoperativnog tretmana dolaze iz analiza podgrupa u ispitivanjima visokostepenih glioma, WHO stepen 3. U studiji EORTC 26053 (CANTON) upoređivano je preživljavanje pacijenata koji su tretirani samo radioterapijom, onih tretiranih radioterapijom uz istovremenu primjenu temozolomida i treće grupe koja je liječena radioterapijom sa adjuvantnim temozolomidom (141, 154-156). Ažurirani rezultati iz 2021. godine pokazali su poboljšanje preživljavanja uz dodatak adjuvantnog temozolomida kod pacijenata s IDH-mutant gliomom. Astrocitom, IDH-mutant, WHO stepen 4 je novo definisan u klasifikaciji WHO 2021. godine i često je dugotrajnog toka i sa de-diferencijacijom prethodnog niskog stepena glioma. Iako ima povoljniju prognozu od glioblastoma, IDH-wildtype, WHO stepen 4, mogućnost smanjenja intenziteta tretmana još nije dokazana. Stoga se preporučuje standardni tretman za glioblastom, IDH-wildtype i za ovaj tip (145, 157).

Glioblastom, IDH-wildtype, WHO stepen 4 je najčešći tip primarnih malignih bolesti centralnog nervnog sistema i ima najlošije ishode preživljavanja, sa petogodišnjom stopom preživljavanja OS od 5%–10% (72). Nakon maksimalne sigurne resekcije, radioterapija s istovremenim temozolomidom (75 mg/m²/dan × 6 sedmica) i adjuvantnim temozolomidom (150–200 mg/m²/dan × 5 dana za šest 28-dnevnih ciklusa) postala je standard tretmana za novo dijagnostikovane pacijente (158). Ovaj režim, poznat kao Stupp režim, povezan je sa napretkom u preživljavanju u upoređenju sa samostalnom radioterapijom u EORTC-NCI ispitivanju. MGMT metilacija bila je vrlo značajan prediktorni faktor za bolje odgovore i ishode temozolomid režima (159, 160). Pacijenti bez MGMT metilacije takođe su imali manji, ali značajan napredak u preživljavanju. Stoga se preporučuje istovremena i adjuvantna primjena temozolomida s radioterapijom, bez obzira na MGMT metilaciju. Nakon primjene Stupp režima liječenja, za sada ni jedna izmjena u terapiji nije uvedena (161). Ni povećanje doze temozolomida niti produženje trajanja adjuvantnog temozolomida preko 6 ciklusa nisu pokazali poboljšanje preživljavanja. Dodavanje bevacizumaba Stupp režimu produžilo je PFS za 3–4 meseca, ali ne OS, u dva nasumična ispitivanja treće faze (162, 163). Povećana toksičnost povezana s bevacizumabom i produženje PFS-a nije dostiglo predviđeni raspon. Dakle, bevacizumab se ne primenjuje kao prva linija tretmana. Ciljana terapija je istraživana za receptor tirozinske kinaze-PI3K, PT53 i Rb putanju, koja je važna tumorigena putanja u glioblastomu, IDH-wildtype. Međutim, terapija sa tumor-specifičnim antitijelima u kombinaciji sa standardnom terapijom nije pokazala napredak u preživljavanju u slučaju novodijagnostikovanih glioblastoma sa *EGFR* amplifikacijom (164). U fazi III ispitivanju imunoterapije, vakcina usmerena protiv *EGFRvIII* pokazala je loše rezultate. Za sada, najbolji

izbor predstavlja hemioterapijski Snupp režim. Iako imunoterapija ili ciljana terapija nisu uspješne kao početni tretman, multimodalni pristup sa novim terapijama u kombinaciji sa standardnim tretmanom može poboljšati ishode preživljavanja u budućnosti. Doza radioterapije od 60 Gy u 1.8–2 Gy po frakciji ostaje standardna, kao i Stupp režim (165). Povećanje doza preko 60 Gy i upotreba radiosurgije ili brahiterapije nisu pokazali poboljšanje preživljavanja. Standardna doza od 60 Gy u 30 frakcija s istovremenim i adjuvantnim temozolomidom ostaje standardna terapija za pacijente s dobrim performansama ili nešto mlađom životnom dobi (<70 godina). Za pacijente sa lošijom prognozom, posebno starije, ispitivani su efekti skraćenih terapijskih režima. Iako samo podržavajuća njega, bez radioterapije, smanjuje OS kod pacijenata starijih od 70 godina s dobrim opštim stanjem, pokazalo se da kratki kurs hipofrakcionisane radioterapije (40 Gy u 15 frakcija) daje dobre rezultate. Ovaj pristup omogućava slično preživljavanje kao standardni tretman, ali uz manju toksičnost (165).

1.2. B7-H3 kao biomarker kod tumora

B7-H3 (CD276 molekula) pripada B7 porodici imunoloških kontrolnih tačaka i uglavnom djeluje kao ko-inhibitor koji potiče napredovanje tumora (166). Nepravilno je izražen na tumorskim ćelijama, a može se inducirati i na ćelijama koje predstavljaju antigene (APC), uključujući dendritske ćelije i makrofage (167, 168). U tumorskom mikrookruženju, B7-H3 doprinosi razvoju tumora tako što slabi odgovor T ćelija, potiče polarizaciju tumorima pridruženih makrofaga prema M2 fenotipu, inhibira funkciju DC-a te podstiče migraciju i invaziju fibroblasta povezanih s tumorom (CAF) (169-171). Osim imunoloških, B7-H3 ima i neimunološke funkcije – podstiče proliferaciju, invaziju, metastaziranje i otpornost tumorskih ćelija, kao i angiogenezu i metaboličke procese, a može djelovati i putem egzosoma da ubrza napredovanje tumora. MikroRNK mogu regulisati ekspresiju B7-H3. Zbog toga B7-H3 može poslužiti kao potencijalni biomarker u dijagnostici tumora i pokazatelj loše prognoze (172, 173). Imunoterapija usmjerena na B7-H3, kao i kombinacija B7-H3 s drugim imunološkim kontrolnim tačkama, pokazala je određenu efikasnost (174).

1.2.1. Struktura B7-H3

Struktura ljudskog gena za B7-H3 nalazi se na hromozomu 15q24.1 i sastoji se od 12 eksona koji kodiraju 316 aminokiselina (175). B7-H3 je tip 1 transmembranski glikoprotein koji ima

dvije izoforme: 2IgB7-H3 i 4IgB7-H3 (176). 2IgB7-H3 se sastoji od jednog vanćelijskog domena sličnog IgV i jednog domena sličnog IgC, transmembranskog područja i citoplazmatskog repa dugog 45 aminokiselina. Ova struktura je prvotno opisana u istraživanju koje je koristilo analizu sekvence nukleinskih kiselina u cDNA biblioteci dobijenoj iz ljudskih dendritičkih ćelija (177).

4IgB7-H3 sadrži dva identična para IgV-sličnih i IgC-sličnih domena (177). Ova izoforma je potvrđena kod ljudi i smatra se glavnom izoformom koja se izražava na imunološkim ćelijama, kao i na malignim ćelijama. Kod ljudi, 4IgB7-H3 je dominantna izoforma. Geni za B7-H3 kod miševa nalaze se na hromozomu 9 i imaju sličnu strukturu kao ljudski 2IgB7-H3, sa 93% sličnosti u aminokiselinskom sastavu. Predviđena molekularna težina 2IgB7-H3 je približno 70 kDa prema sekvenci aminokiselina, dok je B7-H3 detektovan kao glikoprotein od približno 110 kDa u uzorcima raka dojke kod ljudi putem Western blotting metode (177).

Istražena je i kristalna struktura B7-H3, pri čemu je pokazano da FG petlja IgV domena igra ključnu ulogu u njegovoj inhibicijskoj funkciji. Osim transmembranske forme, otkrivena je i rastvorna verzija B7-H3 (sB7-H3) u normalnom ljudskom serumu. sB7-H3 se proizvodi alternativnim spajanjem iz četvrtog introna B7-H3 ili putem MMP-a. Nivo sB7-H3 u serumu je povezan s prognozom u različitim malignim tumorima (177).

1.2.2. Imunološke karakteristike B7-H3

Prvobitno otkriven kao imunološki kostimulator, B7-H3 je pokazao sposobnost da stimuliše proliferaciju CD4+ i CD8+ T ćelija, poveća lučenje interferona γ i poboljša citotoksičnu aktivnost T ćelija (178, 179). Ova kostimulacijska uloga B7-H3 bila je potvrđena u nekoliko studija koje su obuhvatale različite modele, uključujući rak, autoimune bolesti i allo-graftove. Međutim, u posljednjoj deceniji, većina istraživanja u onkologiji pokazala je da B7-H3 igra inhibicijsku ulogu u tumorskom mikrookruženju (180). Ova razlika u imunomodulatornim ulogama naročito je očigledna između autoimunih bolesti i modela raka. Dok se u istraživanjima tumora najčešće izvještava o imunoinhibicijskoj ulozi B7-H3, u modelima autoimunih bolesti ona igra proinflamatornu ulogu, iako postoji i određeni kontradiktorni rezultati istraživanja u ovom području (168).

Različiti faktori mogu doprinijeti ovoj razlici. Prvi faktor je specifičan obrazac ekspresije B7-H3 za različite bolesti. Povećana ekspresija B7-H3 u tumorima i različitim stromalnim ćelijama primijećena je na različitim nivoima i distribucijama, dok je u modelima autoimunih bolesti

zapažena ekspresija B7-H3 u sinoviocitima, osteoblastima, endotelnim ćelijama i drugim ćelijama (169, 181). Ova razlika u obrascu ekspresije može uticati na imunomodulatornu sposobnost B7-H3. B7-H3 je prisutan ne samo na adaptivnim imunološkim ćelijama, već i na fibroblastima povezanim sa rakom, neutrofilima i endotelu, gdje može oblikovati imunoinhibitorno tumorsko mikrookruženje. Distribucija i funkcije ovih stromalnih ćelija značajno se razlikuju u različitim modelima, što može uticati na funkciju najistraživanijeg imunoregulacijskog mehanizma T ćelija. Drugi faktor su različiti putevi aktivacije koje B7-H3 može aktivirati preko različitih partnera za vezivanje (182).

U modelima autoimunih bolesti, istraživanje veze između funkcije i diferencijacije T pomoćničkih ćelija i B7-H3 je otkrilo određene kontradikcije. Neke studije su pokazale da miševi bez B7-H3 imaju ubrzanu progresiju autoimunog encefalomijelitisa i viši nivo autoantitijela. Takođe je primijećeno da se T pomoćničke ćelije u ovim miševima radije diferenciraju u T1 ćelije nego u T2 ćelije. S druge strane, u modelu alergijskog konjunktivitisa izvešteno je da B7-H3 negativno reguliše i T2 i T1 imunološke odgovore (183).

Povezanost između B7-H3 i T limfocita kao ključnih komponenti antitumorske imunosti je ustanovljena u nekoliko modela raka. Rane studije su pokazale da B7-H3 inhibira aktivnost T ćelija nishodno regulišući NF-κB, NFAT i AP-1 signalne puteve, dok blokiranje B7-H3 povećava aktivaciju T ćelija u modelima miševa. U najnovijim istraživanjima, blokiranje B7-H3 dovelo je do značajnog povećanja infiltracije CD8+ T ćelija i inhibicije tumora u određenim modelima raka. Regulatorne T (Treg) ćelije su pokazale sposobnost da doprinesu imunološkoj toleranciji i izbjegavanju imunog odgovora u raku (184). U modelima in vivo, Treg ćelije utiču na DC ćelije, smanjuju formiranje MHCII-peptida i stimulišu ekspresiju IL-10 i B7-H3, čime čine DC ćelije imunoinhibitornim. Smanjena infiltracija Treg ćelija u modelima miševa bez B7-H3 i pozitivna korelacija između broja FOXP3+ Treg ćelija i ekspresije B7-H3 u ljudskim uzorcima NSCLC sugerišu mogući imunoinhibitorni mehanizam B7-H3 putem regrutovanja Treg ćelija (174).

Makrofazi povezani sa rakom (eng. *tumor associated macrophages*, TAM) su vrlo plastične ćelije koje obavljaju mnoge funkcije i čine ključne komponente tumorskog mikrookruženja. Aktivacijska stanja TAM-ova se generalno svrstavaju u dva tipa: M1 makrofagi koji promovišu inflamaciju i poboljšavaju T ćelijsku reakciju i M2 makrofagi koji igraju kritičnu ulogu u imunomodulaciji i progresiji tumora (185). U modelima raka jajnika, B7-H3 knockout tumorske ćelije su pokazale smanjenje broja M2 makrofaga i povećanu infiltraciju IFN-γ+

CD8+ T ćelija. Neutrofili su istaknuti dio urođenog imunološkog sistema i često su prisutni u tumorskom mikrookruženju (186, 187). U ljudskom raku želuca, tumorom indukovani GM-CSF stimuliše proliferaciju neutrofila i ekspresiju B7-H3 u neutrofilima putem JAK2-STAT3 signalnog puta. Visok nivo B7-H3 u neutrofilima je povezan sa lošom prognozom i progresijom tumora u raku želuca (188).

Istraživanje mehanizma kojim B7-H3 utiče na funkciju imunoloških ćelija pokazuje složene interakcije između B7-H3 i različitih imunoloških komponenti. Iako je B7-H3 uglavnom identifikovan kao imunoinhibitor u raku, njegove funkcije variraju u različitim bolestima i vrstama raka, što naglašava potrebu za pažljivom interpretacijom rezultata i specifičnom analizom za različite vrste raka (189).

1.2.3. Uloga B7-H3 kod nemoždanih tumora

Uloga B7-H3 je značajno istražena kod tumora nemoždanog porijekla (177). B7-H3 je molekul iz porodice B7 koji je privukao značajnu pažnju u istraživanjima raka zbog svoje uloge u različitim vrstama malignih tumora (190-192).

Kod raka pluća, posebno kod nesitnoćelijskog karcinoma (eng. *non-small cell lung carcinoma*, NSCLC), B7-H3 je često pojačano izražen i povezan je sa lošijom prognozom. Kod 634 pacijenta sa NSCLC, B7-H3 je pronađen kod 510 njih, a visoki nivo ekspresije B7-H3 negativno utiče na preživljavanje. S druge strane, kod mikrocelularnog karcinoma pluća (SCLC), iako je B7-H3 prisutan u 64,9% slučajeva, njegova povezanost sa kliničkim i patološkim varijablama ili markerima tumorskih infiltrirajućih limfocita (TIL) ostaje nejasna, a neki istraživači sugerišu da B7-H3 može biti negativni prediktor u ovom tipu raka (193). U NSCLC, B7-H3 može doprinijeti rastu tumora kroz nekoliko mehanizama, uključujući stimulaciju proliferacije ćelija, epitelno-mezenhimalnu tranziciju (EMT) i metastaziranje preko PI3K/AKT signalnog puta (194). Takođe, smanjena ekspresija B7-H3 može biti povezana sa smanjenjem lipidne sinteze, što ukazuje na složenu ulogu u metabolizmu raka (195). Terapijske strategije usmjerene na B7-H3, kao što su terapije sa hibridnim antigen-receptorom (CAR) T ćelijama i bispecifični stimulatori ćelija ubica (BiKE), pokazale su značajan potencijal u predkliničkim modelima, a kombinovanje B7-H3 sa inhibicijom PD-1 pokazuje obećavajuće rezultate u kliničkim ispitivanjima (196).

Kod raka debelog crijeva (eng. *colorectal carcinoma*, CRC), ekspresija B7-H3 je pronađena u oko 50,8% primarnih tumora i povezana je sa naprednijim stadijumima, lošijim

preživljavanjem i povećanom infiltracijom T ćelija (192, 197). Povećana ekspresija B7-H3 se povezuje sa intenzivnijim zahvatanjem limfnih čvorova i lošijom diferencijacijom tumora. Mehanistički, B7-H3 promoviše angiogenezu kroz NF-κB signalni put i pojačava rast tumora modifikovanjem inflamatornih odgovora putem TNF-α (187, 189). Takođe, B7-H3 je povezan sa povećanom hemorezistencijom na lijekove kao što su oksaliplatin i 5-fluorouracil, a njegova ekspresija raste tokom radioterapije, doprinoseći radiorezistenciji (198, 199).

Kod raka dojke, B7-H3 je izražen u približno 73,6% slučajeva, iako se o uticaju na prognozu još uvijek raspravlja (200, 201). Neka istraživanja sugerišu da visoka ekspresija B7-H3 može biti povezana sa lošijim ishodima, dok se u drugim ne nalazi značajna povezanost između ekspresije B7-H3 i ukupnog preživljavanja ili preživljavanja bez bolesti (202). Pokazano je da B7-H3 inhibira proliferaciju T ćelija i ometa oslobađanje IFN-γ, što može doprinijeti izbjegavanju imunog odgovora. Takođe utiče na obogaćivanje matičnih ćelija i hemorezistenciju. Pored toga, uspostavljeno je da je B7-H3 pogodan cilj za molekularno ultrazvučno snimanje raka dojke, što otvara mogućnosti za nove dijagnostičke i terapijske pristupe (196, 203).

Kod raka prostate, B7-H3 je povezan sa lošijim ishodima, uključujući povećanu učestalost recidiva, posebno u ERG-negativnim podtipovima (204). Ekspresija B7-H3 je povezana sa nivoima androgenih receptora, a u velikim studijama B7-H3 često služi kao negativni prognostički marker (171, 205, 206). B7-H3 može uticati na progresiju raka prostate kroz mioidne supresorske ćelije (MDSCs), dok rezultati nekih istraživanja sugerišu da može imati ko-stimulativnu ulogu (207). CAR T ćelijske terapije usmjerene na B7-H3 su u fazi ispitivanja i pokazuju značajne antitumorske efekte u prekliničkim modelima (208).

Kod melanoma, koji je poznat po visokoj imunogenosti, takođe je zabilježena povećana ekspresija B7-H3 (209), koja je povezana sa naprednijim fazama bolesti (210). Dok neka istraživanja sugerišu da B7-H3 poboljšava migraciju i invaziju ćelija, uticaj na proliferaciju je manje jasan (211). Prekomerna ekspresija B7-H3 u ćelijama melanoma povezana je sa povećanom glikolitičkom aktivnošću i smanjenom osjetljivošću na hemioterapiju. Terapije usmjerene na B7-H3, uključujući bispecifična antitela i CAR T ćelije, pokazale su potencijal u prekliničkim modelima, ali klinički uspjeh još uvek nije postignut (212, 213).

Pojačana ekspresija B7-H3 je prisutna u velikom broju slučajeva karcinoma želuca i povezana je sa različitim patološkim karakteristikama (178, 214). Neka istraživanja sugerišu da viši nivoi B7-H3 mogu biti povezani sa boljim ukupnim preživljavanjem i bolje diferenciranim

tumorima, dok druga ukazuju da B7-H3 može doprinijeti progresiji tumora i izbjegavanju imunološkog odgovora. Uloga B7-H3 u raku želuca ostaje složena i zahtjeva dodatna istraživanja (215-217).

Za rak jetre, posebno za hepatocelularni karcinom (HCC), B7-H3 je često izražen i povezan sa lošijim preživljavanjem i povećanom učestalošću recidiva (218, 219). B7-H3 promoviše progresiju HCC-a kroz mehanizme kao što su epitelno-mezenhimalna tranzicija (EMT) i M2 polarizacija tumorskih makrofaga (TAMs) (220). B7-H3 ima potencijal kao dijagnostički marker i terapijski cilj, uz trenutna istraživanja koja proučavaju njegovu ulogu u ranom otkrivanju raka jetre (221).

Kada je u pitanju rak grlića materice, B7-H3 je prisutan u značajnom broju slučajeva i povezan je sa kraćim preživljavanjem specifičnim za bolest (222). Mehanizmi kroz koje B7-H3 doprinosi tumorogenezi uključuju aktivaciju JAK2-STAT3 puta i moguću ulogu AKT/mTOR puta (223). Iako je značaj ekspresije B7-H3 istraživan i njeni pro-tumorigeni mehanizmi, primjena terapija usmjerenih na B7-H3 u modelima raka grlića materice još uvek nije dostupna (176, 224).

1.2.4. Pregled literature o ulozi B7-H3 kod tumora mozga

B7-H3 ima značajnu ulogu u patogenezi različitih tumora mozga (168). U odnosu na druge članove B7 porodice, B7-H3 je primjetno izraženiji kod glioma, a što je utvrđeno analizama RNA-seq podataka iz baza TCGA (eng. *The Cancer Genome Atlas*) i CGGA (eng. *Chinese Glioma Genome Atlas*) (225). Imunohistohemijske studije pokazuju da oko 86% glioma pokazuje ekspresiju na B7-H3, sa većim intenzitetom ekspresije u težim oblicima bolesti. Ovaj protein se povezuje s malignitetom, molekularnim podtipovima tumora i statusom IDH mutacija, te je identifikovan kao potencijalni cilj za imunoterapiju (226). B7-H3 doprinosi razvoju gliomskih ćelija aktivacijom JAK2/STAT3/Slug puta i regulacijom procesa epitelno-mezenhimske transformacije (EMT) putem promjena u ekspresiji E-kadherina i MMP proteina. Kod glioblastoma, najagresivnijeg oblika glioma, B7-H3 je izrazito povišen, sa visokim nivoom ekspresije posebno u novodijagnostikovanim tumorima. B7-H3 se nalazi na membranama i unutar citoplazme ćelija, sa povećanjem ekspresije u područjima hipoksije (170, 227, 228). Ova visoka ekspresija B7-H3 u GBM-u je povezana sa lošijom prognozom, što naglašava njegov značaj kao biomarkera i potencijalni cilj u terapijama usmjerenim na imunološke kontrolne tačke. B7-H3 je ispitivan i kod difuznog infiltrativnog glijalnog tumora

moždanog stabla kod djece (eng. *childhood diffuse intrinsic pontine glioma*, DIPG) gdje je pokazano 100%-tno prisustvo ekspresije B7-H3 u uzorcima, sa visokim nivoom ekspresije u odnosu na druge ne-difuzne gliome moždanog stabla. Trenutna istraživanja uključuju primjenu B7-H3-CAR-T ćelija kod djece i mladih sa DIPG-om, sa preliminarnim rezultatima koji pokazuju lokalnu imunološku aktivaciju i prisustvo CAR-T ćelija u cerebrospinalnoj tečnosti (229).

B7-H3 je ispitivan i kod atipičnog teratoidnog rabdoidnog tumora (eng. *atypical teratoid rhabdoid tumor*, ATRT), gdje takođe pokazuje značajnu ekspresiju B7-H3 (230). Visoka ekspresija ovog markera povezana je s lošijom prognozom i većim malignitetom (231). CAR-T ćelijska terapija ciljana na B7-H3 pokazuje obećavajuće rezultate u eksperimentalnim modelima, sugerišući moguću korist u tretiranju ovog rijetkog i agresivnog tumora (232).

Kod neuroblastoma, B7-H3 je prisutan u velikom broju slučajeva, povezan sa naprednim stadijumima i lošijom prognozom (233). Terapija CAR-T ćelijama usmjerenim na B7-H3 pokazuje potencijal za poboljšanje rezultata tretmana, posebno u slučajevima gdje je površinska gustoća B7-H3 visoka. Takođe, bi-specifični nano-prsten koji cilja i CD3 i B7-H3 uspješno prelazi krvno-moždanu barijeru i aktivira imuni odgovor, pružajući nove mogućnosti za terapiju neuroblastoma (234).

Kod kraniofaringeoma, benignim tumorima sa visokim stepenom recidiva, B7-H3 je visoko izražen i povezan s lošijim ishodima. Istraživanja su pokazala da B7-H3/CD3 bi-specifične T ćelije mogu biti efikasne u tretmanu ovih tumora, dok B7-H3-antitijelo-DM1 konjugati pokazuju potencijal za suzbijanje tumora u 2D i 3D modelima (235-237).

Kod meningeoma, B7-H3 je prepoznat kao najizraženiji imunološki kontrolni marker, sa prisustvom u 75% do 100% uzoraka kod odraslih i djece (238). Visoka ekspresija B7-H3 povezana je s malignijim podtipovima i nedostatkom adjuvantne terapije, što sugeriše da B7-H3 može igrati ključnu ulogu u razvoju i napredovanju meningeoma (238). Inhibitor PP2A, LB-100, pokazuje da može povećati ekspresiju B7-H3 u malignim meningeomima, čime se potencijalno poboljšava efikasnost imunoterapije. S druge strane, inhibicija nikotinamid fosforiboziltransferaze, koja je izražena u anaplastičnim meningeomima, može smanjiti rast tumora i ekspresiju B7-H3, što ukazuje na mogućnost kombinovane terapije (238).

1.2.5. B7-H3 kao ciljana terapija

B7-H3 se ističe kao ključni cilj u molekularnoj terapiji zbog svoje složene uloge u regulaciji preživljavanja i proliferacije tumorskih ćelija (239). Njegova funkcija uključuje aktivaciju različitih signalnih puteva koji igraju presudnu ulogu u održavanju tumorskog fenotipa. Njegova uloga je djelimično ispitana u eksperimentalnim studijama. Jedan od značajnih puteva kroz koji B7-H3 doprinosi onkogenezi je Nuclear Factor Erythroid 2–Related Factor 2 (Nrf2) (240-243). Nrf2 je ključan regulator odgovora na oksidativni stres i detoksikaciju, a njegovo aktiviranje putem B7-H3 može omogućiti tumorima da prežive u uslovima oksidativnog stresa i upale (244-246). Osim toga, B7-H3 stabilizuje *Hypoxia-Inducible Factor-1α* (HIF-1α), koji je poznat po svojoj ulozi u adaptaciji tumorskih ćelija na hipoksiju. Stabilizacija HIF-1α vodi do povećane ekspresije gena koji su uključeni u angiogenezu i metabolizam glukoze, čime se poboljšava preživljavanje tumorskih ćelija i njihova sposobnost rasta u hipoksičnim uslovima (73). B7-H3 takođe aktivira enolazu 1 i c-Myc-laktat dehidrogenazu-A put, što doprinosi promjeni metaboličkih puteva u tumorima. Enolaza 1 je ključna za proces glikolize, dok c-Myc-laktat dehidrogenaza-A podržava pretvaranje piruvata u laktat, što omogućava tumorskima ćelijama da se prilagode na povećane metaboličke potrebe i hipoksične uslove (247). Još jedan ključan put kojim B7-H3 doprinosi kancerogenezi je PI3K/Akt/mTOR put, koji igra centralnu ulogu u regulaciji rasta, proliferacije i preživljavanja ćelija (248). Aktivacija ovog puta putem B7-H3 dovodi do pojačane sinteze proteina, inhibicije apoptoze i povećane proizvodnje energije, što sve doprinosi tumorskom rastu i razvoju (249). Zbog svoje uloge u ovim ključnim signalnim putovima i njegovog specifičnog izražavanja u različitim tumorima, B7-H3 se smatra izuzetno privlačnim ciljem za terapiju. Istraživanja su pokazala da terapije koje ciljaju B7-H3 mogu biti efikasnije u smanjenju tumorskog rasta i poboljšanju preživljavanja u eksperimentalnim modelima, te su stoga potaknute kliničke studije za dalje istraživanje njegove uloge i efikasnosti u terapiji karcinoma (250).

Kliničke studije ispitivanja lijekova predstavljaju ključan dio procesa razvoja novih terapija i lijekova, omogućavajući istraživačima da procijene sigurnost i efikasnost novih medicinskih intervencija prije nego što postanu dostupne široj javnosti. Do sada su kliničkim eksperimentima ispitivani slijedeći lijekovi kojima je B7-H3 cilj: enoblituzumab, pembrolizumab, retifanlimabom, tobotelimabom, omburtamab, HS-20093 i ifinatamab deruxtecan.

Enoblituzumab, ranije poznat kao MGA271, je humanizovano IgG1 monoklonalno antitijelo koje se usmjerava na B7-H3 (250, 251). Njegov dizajn je optimizovan za poboljšanje veze s FcγR (CD16A) i smanjenje veze s FcγR (CD32B), što omogućava poboljšanu aktivaciju i inhibiciju antitijelima posredovane citotoksičnosti (ADCC). U prvoj fazi kliničkog ispitivanja, primjenjivan je intravenozno u dozama od 0,01 do 15 mg/kg, uz varijacije u rasporedu doziranja. Ovo ispitivanje obuhvatilo je pacijente s melanomom, karcinomom skvamoznih ćelija glave i vrata, karcinomom bubrega, tripl-negativnim karcinomom dojke, kao i visoko izraženim B7-H3 karcinomima mokraćnog mjehura i pluća. Nisu zabilježene doze koje uzrokuju toksičnost i maksimalna tolerisana doza nije utvrđena (167, 252). Među pacijentima, 83,7% ih je iskusilo nuspojave povezane s tretmanom, dok su ozbiljne nuspojave bile rijetke, uključujući reakcije na infuziju i sindrom oslobađanja citokina. Uočena su smanjenja veličine tumora u rasponu od 2% do 69%, a objektivni odgovori su zabilježeni u melanomu, karcinomu prostate i mokraćnog mjehura (167, 207).

U kliničkim ispitivanjima koja su uključivala 133 pacijenta s NSCLC, HNSCC, uroterijalnim karcinomom i melanomom, ispitivana je kombinacija enoblituzumaba i pembrolizumaba (167, 250). Nisu postignute doze koje uzrokuju toksičnost. Najčešće nuspojave bile su reakcije na infuziju, umor, osip i mučnina (167, 250). Ozbiljne nuspojave uključivale su pneumonitis, limfopeniju i osip. Potpuni odgovor zabilježen je kod jednog pacijenta s HNSCC koji nije prethodno bio tretiran inhibitorima PD-1/PD-L1 (250).

Enoblituzumab je takođe ispitivan u kombinaciji s retifanlimabom i tobotelimabom, s ciljem liječenja pacijenata s HNSCC (250). Istraživanje je prekinuto zbog sedam smrtnih slučajeva, od kojih je jedan potencijalno povezan sa terapijom. Smrtni slučajevi su se najviše povezivali sa hemoragijom (167, 207, 251, 252).

Omburtamab je radioobilježeno monoklonalno antitijelo usmjereno na B7-H3 koje emituje beta čestice i gama zrake (253). Korišten je u liječenju neuroblastoma i drugih maligniteta kod djece (254). U prvoj fazi ispitivanja, doza intratekalne primjene kretala se od 10 mCi do 100 mCi, a preporučene doze su se prilagodile prema uzrastu. Nuspojave su uključivale hematološke toksičnosti kao što su limfopenija i trombocitopenija, dok su glavni ciljevi ispitivanja bili preživljavanje i progresija bolesti. Tri godine nakon početka ispitivanja, preživljavanje je iznosilo 57% (255).

HS-20093 je lijek koji je usmjeren na B7-H3, a testiran je kod bolesnika s različitim naprednim solidnim tumorima (256-258). Maksimalna tolerisana doza bila je 12 mg/kg. Glavne nuspojave

uključivale su leukopeniju, neutropeniju i anemiju, dok su odgovori na terapiju zabilježeni u različitim vrstama tumora, uključujući sitnoćelijski karcinom pluća (259, 260).

Ifinatamab Deruxtecan je anti-B7-H3 IgG1 monoklonalno antitijelo sa konjugiranim derivatom *exatecana*. U ispitivanjima faze I, najčešće nuspojave uključivale su mučninu i reakcije na infuziju, dok su ozbiljne nuspojave uključivale anemiju i limfopeniju. Preporučena faza II doza bila je 12 mg/kg svake tri sedmice, a stopa ukupne kontrole bolesti bila je 71,4% (261).

Lijekovi koji ciljaju B7-H3, uključujući enoblituzumab, omburtamab, HS-20093 i ifinatamab deruxtecan, pokazali su značajan potencijal u terapiji karcinoma. Enoblituzumab je pokazao efikasnost u smanjenju veličine tumora u različitim vrstama karcinoma, dok su kombinacije s pembrolizumabom i drugim lijekovima obećavale, iako su neke prekinute zbog ozbiljnih nuspojava. Omburtamab je pokazao korist u liječenju neuroblastoma s prihvatljivom stopom preživljavanja, HS-20093 je demonstrirao efikasnost kod naprednih solidnih tumora, a ifinatamab deruxtecan je imao visoku stopu kontrole bolesti. Ovi lijekovi nude značajan potencijal za razvoj ciljane terapije protiv B7-H3.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Glavni cilj istraživanja glasi:

- Utvrditi nivo imunohistohemijske ekspresije B7-H3 kod niskogradusnih i visokogradusnih glijalnih tumora.

Dodatni ciljevi istraživanja su:

- Utvrditi povezanost imunohistohemijske ekspresije B7-H3 sa stepenom diferencijacije i proliferacije neoplastičnih ćelija glijalnog porijekla.
- Utvrditi povezanost imunohistohemijske ekspresije B7-H3 s morfometrijskim karakteristikama tumora evaluiranim magnetnom rezonancom, uključujući volumen tumora, volumen peritumoralnog edema i edema indeks.
- Utvrditi prediktivnu ulogu imunohistohemijske ekspresije B7-H3 u kontekstu težine kliničke slike i perioda preživljavanja sa i bez progresije bolesti.

3. HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA

Hipoteze istraživanja glase:

1) Postoji statistički značajna razlika u imunohistohemijskoj ekspresiji B7-H3 u odnosu na gradus glijalnog tumora.
2) Postoji statistički značajna pozitivna korelacija između imunohistohemijske ekspresije B7-H3 i stepena diferencijacije i proliferacije glijalnih tumora.
3) Postoji statistički značajna pozitivna korelacija između imunohistohemijske ekspresije B7-H3 i morfometrijskih karakteristika tumora evaluiranih magnetnom rezonancom, uključujući volumen tumora, volumen peritumoralnog edema i edema indeks.
4) Imunohistohemijska ekspresija B7-H3 ima statistički značajnu prediktivnu ulogu težine kliničkog stanja i vremena preživljavanja sa i bez progresije glijalnih tumora.

4. PACIJENTI I METODE

4.1. Dizajn studije i etički aspekti

Studija je retrospektivno-kohortnog tipa s nerandomizovanim uzorkom. Tokom istraživanja poštovani su principi Helsinške deklaracije o pravima pacijenata, zakonski i podzanski akti Bosne i Hercegovine vezani za dobru istraživačku praksu. Pored toga, za potrebe istraživanja pribavljena je odluka Etičkog komiteta Kantonalne bolnice Zenica (referentni broj: 00-03-35-464-11/23, donešena na dan 29. aprila 2024. godine), kao i Medicinskog fakulteta Univerziteta u Banjaluci.

4.2. Pacijenti

U istraživanje je uključeno 99 konsekutivnih pacijenata, različite dobi i spola, kojima je verifikovan intrakranijalni glijalni tumor i koji su operativno liječeni te postoperativno praćeni na Odjelu za neurohirurgiju Kantonalne bolnice Zenica u periodu od početka 2013. do kraja 2021. godine.

4.2.1. Kriteriji uključivanja i neuključivanja

Kriteriji za uključivanje u studiju su:

1. Pacijenti kojima je patohistološki verifikovan intrakranijalni niskogradusni ili visokogradusni tumor glijalnog porijekla;
2. Pacijenti operativno liječeni i postoperativno praćeni na Odjelu za neurohirurgiju Kantonalne bolnice Zenica, kojima je preoperativna i postoperativna neuroradiološka obrada rađena u Kantonalnoj bolnici Zenica a uzorci obrađivani na Odjelu za patologiju Kantonalne bolnice Zenica sa konsultacijama u referentnim centrima;
3. Pacijenti koji nisu tretirani neoadjuvantnim onkološkim tretmanom.

Kriteriji za neuključivanja iz studije su:

1. Pacijenti koji ne zadovoljavaju naprijed navedene kriterije uključenja u studiju,
2. Pacijenti sa multiplim primarnim intrakranijalnim tumorima, hemoragijom i nekim akcidentalnim intrakranijalnim tumorima;

3. Pacijenti sa istorijom drugih malignih oboljenja;
4. Pacijenti bez podataka potpunog praćenja;
5. Pacijenti bez reprezentativnog tkivnog uzorka.

Ispitanici su podijeljeni u dvije grupe prema WHO klasifikaciji iz 2016. godine na niskogradusne gliome (eng. *low grade*, LGG) koji uključuju WHO G1 i G2, te druga grupa visokogradusnih glioma (eng. *high grade*, HGG) koji uključuju WHO G3 i G4 graduse. Grupisanje ispitanika na osnovu visokogradusnih i niskogradusnih patohistoloških karakteristika tumora bilo je u skladu sa klasifikacijom tumora CNS definisane od strane WHO iz 2016. godine.

4.3. Metode

4.3.1. Prikupljanje podataka

Pregledom protokola i informacionog sistema prikupljeni su podaci o pacijentima: dob pacijenta, spol, KPS, kliničko-patološke karakteristike, primarna lokalizacija tumora, prisustvo peritumoralnog edema, diferencijacija tumora, WHO sistematizacija tumora, prisustvo limfovaskularne invazije, intratumoralna i peritumoralna infiltracija limfocita, te postoperativni tretman.

4.3.2. Principi dijagnostike i liječenja pacijenata sa glijalnim tumorima kod ispitivanog uzorka

Tretman svih pacijenata uključivao je maksimalnu hirušku resekciju, radijaciju i hemioterapiju prema preporukama WHO. Tumori WHO G1 nisu imali daljnje terapije nakon hirurške resekcije, dok su tumori stadija 3 i 4, kao i neki stadija 2 s visokim faktorima rizika, primili adjuvantni onkološki tretman. Pacijenti su klasifikovani prema funkcionalnom oštećenju uz pomoć Karnofsky indeksa, koji se koristi za upoređivanje efikasnosti različitih terapija i za procjenu prognoze pojedinih pacijenata; što je KPS niži, to je preživljavanje lošije.

4.3.3. Imunohistohemijska analiza markera proliferacije Ki67 i semikvantitativna analiza ekspresije B7-H3

Nakon hirurške ekscizije, uzorci tumora su fiksirani u 10% neutralnom puferovanom formalinu, dehidrirani u rastućim koncentracijama etil alkohola (70%, 96%, 100%) i ukalupljeni u parafinske blokove. Histopatološkom evaluacijom (Hematoxylin-Eosin bojenje) i prema WHO klasifikaciji, dijagnoza tumora je postavljena i izvršeno je gradiranje na Odjelu za patologiju KBZ ili u referentnim centrima za konsultacione biopsije. Iz parafinskih blokova su na rotacionom mikrotomu (microTec CUT 4055, Mainz, Njemačka) napravljeni novi serijski presjeci debljine 4-5 μm. Za ponovnu histopatološku i imunohistohemijsku analizu, presjeci su deparafinisani u ksilolu, rehidrirani u opadajućoj koncentraciji etil alkohola (100%, 96%, 70%), isprani u destilovanoj vodi rutinskom metodom hematoksilin-eosin (HE) prema standardnom protokolu za aparat (ST 4040 Leica M., Leica Microsystems, Wetzlar, Njemačka). Gotovi preparati su analizirani svjetlosnim mikroskopom (Leica DM 2500, Wetzlar, Njemačka).

Imunohistohemijska analiza je urađena od reprezentativnih uzoraka primarnih tumora, dobijenih selekcijom HE-obojenih parafinskih blokova. Svi uzorci su analizirani na prisustvo B7-H3 (klon RBT-B7H3, Bio SB, SAD) proteina korištenjem specifičnog antitijela na imunobojaču (BenchMark ULTRA, Ventana Medical Systems, Inc.) na rezovima debljine 4 μm, prateći standardne protokole. Dobijeni rezultati prisutnosti i ekspresije B7-H3 proteina su komparirani sa prethodno navedenim morfološkim karakteristikama i obrascem rasta glijalnih tumora, histološkim tipom i gradusom tumora, postoperativnim komplikacijama i preživljenjem pacijenata.

Evaluacija ekspresije B7-H3 i intenzitete bojenja je vršena prema sistemu imunoreaktivnog bodovanja (eng. *immunoreactive score*), prema Meyerholzu i sar. (262). Sistem se bazira na dvokategorijskoj procjeni. Kategorija A podrazumijeva procjenu intenziteta imunobojenja, pri čemu vrijedi da je:

0 – negativno bojenje,
1 – slabo bojenje,
2 – umjereno bojenje i
3 – izraženo bojenje.

Kategorija B označava procenat imunoreaktivnih ćelija, a boduje se prema narednim karakteristikama:

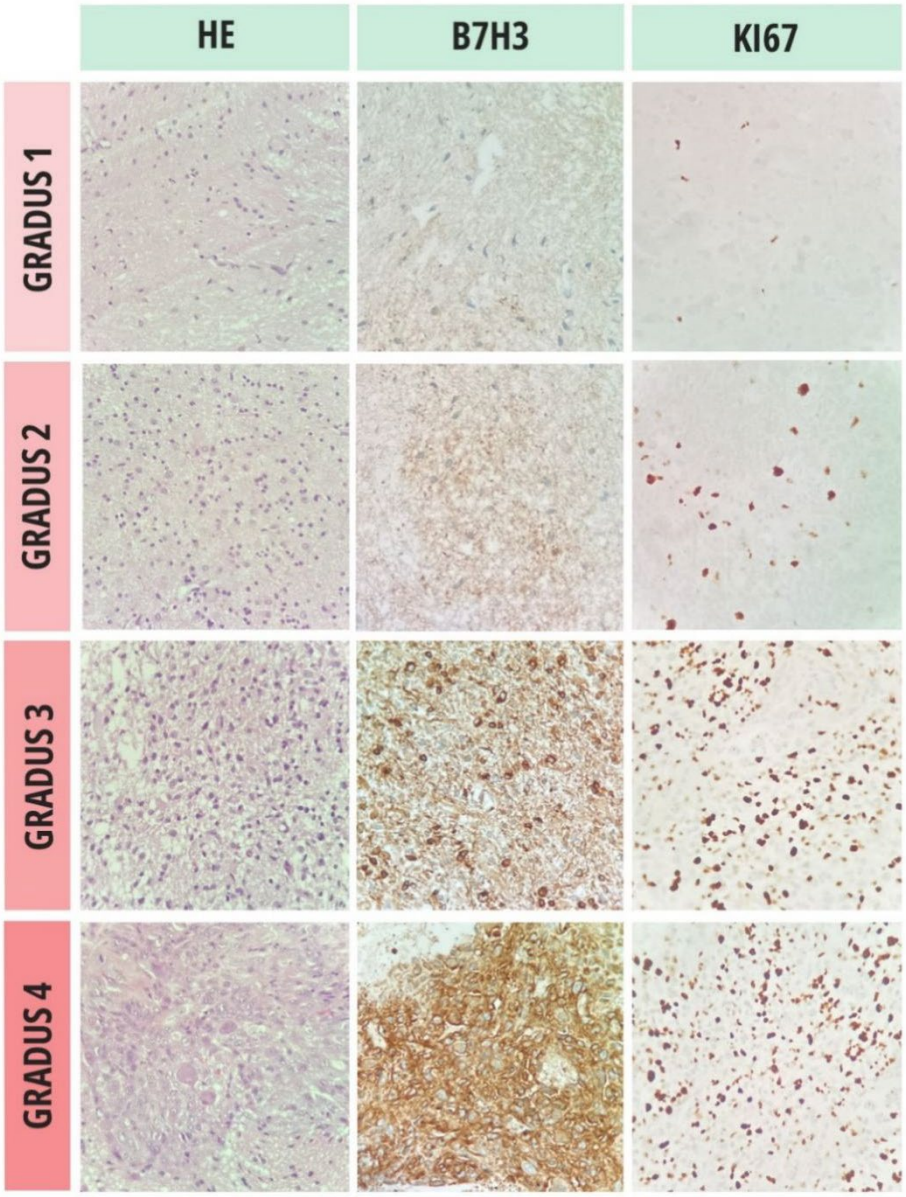
0 – negativna ekspresija (bez pozitivnih ćelija ili sa jednom pozitivnom ćelijom),

1 – niska ekspresija (s manje od 10% pozitivnih ćelija),

2 – umjerena ekspresija (10-50% pozitivnih ćelija),

3 – jaka ekspresija (više od 50% pozitivnih ćelija).

Nakon procjene, vrijednosti kategorije A i B se množe, pri čemu se dobije skor sa maksimalnih 12 bodova, prema Gansen i sar. (180).



Slika 2. Bojenje tumora prema gradusima (G1-G4) za hematoksilin-eozin (HE), B7-H3 i Ki67 s jasnim razlikama u ekspresiji između gradusa. (Izvor: autor, Kantonalna bolnica Zenica)

Proliferacija i diferencijacija su praćeni pomoću Ki-67 indeksa. Antigen je uzet uranjanjem stakalca u termostatsku kupku sa prethodno zagrijanim 10 mmol/L citratnim puferom (pH 6,0) tokom 40 minuta na 97 °C, a zatim je ohlađen na sobnoj temperaturi 20 minuta. Nakon toga, predmeti su tretirani sa 3,0% H_2O_2 u destilovanoj vodi 10 minuta, kako bi se blokirala aktivnost endogene peroksidaze. Nakon blokiranja nespecifičnog antigena normalnim zečjim serumom u trajanju od 10 minuta, stakalca su inkubirana 30 minuta na sobnoj temperaturi sa anti-humanim Ki67 antitijelom (1:200; klon MIB1, kod M7240; Dako, Glostrup, Danska). Samo definitivno nuklearno bojenje je smatrano pozitivnim. Slučajevi su bodovani procentom tumorskih ćelija koje su obojene, određen u više vidnih polja sa najintenzivnijim bojenjem (eng. *hot spot*) (Slika 2).

4.3.4. Procjena težine kliničke slike i praćenje progresije bolesti, ukupnog preživljenja i preživljenja bez progresije

Klinički podaci su retrospektivno prikupljeni iz istorija bolesti pacijenata Odjela neurohirurgije Kantonalne bolnice Zenica. Za svakog pacijenta podaci su uneseni u tabele dizajnirane za praćenje svakog pojedinačnog pacijenta. Pacijenti su podlijegali rutinskom MRI ispitivanju prije i poslije operativnog zahvata.

Podaci o **težini kliničke slike** pacijenata su praćeni je pomoću KPS, a evaluiran je prije operativnog zahvata prema standardnom protokolu Kantonalne bolnice Zenica, kao i na prvom kontrolnom pregledu mjesec (±10) dana poslije operativnog zahvata. Skala ocjenjuje sposobnost pacijenta da obavlja svakodnevne aktivnosti i stepen zavisnosti od medicinske njege, pri čemu se pacijentima dodjeljuje vrijednost od 0 do 100, gdje viši skor označava bolju funkcionalnu sposobnost. Pacijenti sa KPS $\geq$ 60 smatraju se funkcionalno sposobnijima, jer mogu samostalno obavljati svakodnevne aktivnosti i ne zahtijevaju stalnu medicinsku njegu. S druge strane, KPS < 60 označava težu kliničku sliku, pri čemu pacijenti postaju sve više zavisni od pomoći drugih i zahtijevaju stalnu njegu. Prag od 60 bodova se koristi kao cut-off vrijednost za procjenu sposobnosti pacijenta da podnese agresivne terapijske protokole i predikciju prognoze bolesti (263).

Progresija bolesti je definisana prema RANO (eng. *response assessment in neuro-oncology criteria*) kriterijumima (264). RANO kriterijumi klasifikuju odgovor na terapiju u četiri glavne kategorije. Kompletan odgovor podrazumijeva potpuno nestajanje svih vidljivih lezija na kontrastnom MRI snimku, odsustvo novih lezija, prestanak ili minimalnu upotrebu

kortikosteroida i stabilan ili poboljšan klinički status pacijenta. Parcijalni odgovor definiše se kao smanjenje veličine ciljnih lezija za najmanje 50% u odnosu na početno stanje, bez pojave novih lezija, uz stabilan ili smanjen nivo kortikosteroida i nepromijenjen ili poboljšan klinički status. Stabilna bolest označava situaciju u kojoj promjene u veličini tumora ne ispunjavaju kriterijume ni za parcijalni odgovor ni za progresiju bolesti, pri čemu nema novih lezija, a klinički status ostaje stabilan. Progresija bolesti se dijagnostikuje kada dođe do povećanja tumorske mase za najmanje 25% u odnosu na prethodno najmanje zabilježenu veličinu, pojave novih lezija, kliničkog pogoršanja koje se ne može objasniti drugim faktorima te povećane potrebe za kortikosteroidima uslijed pogoršanja simptoma. Ukoliko je MRI snimak bio dvosmislen, terapija je nastavljena i snimanje je ponovljeno svake 4 sedmice. Ukoliko je na kontrolnom snimku potvrđena progresija, MRI je smatran progresijskom tačkom u kojoj je izražena prvobitna sumnja na progresiju.

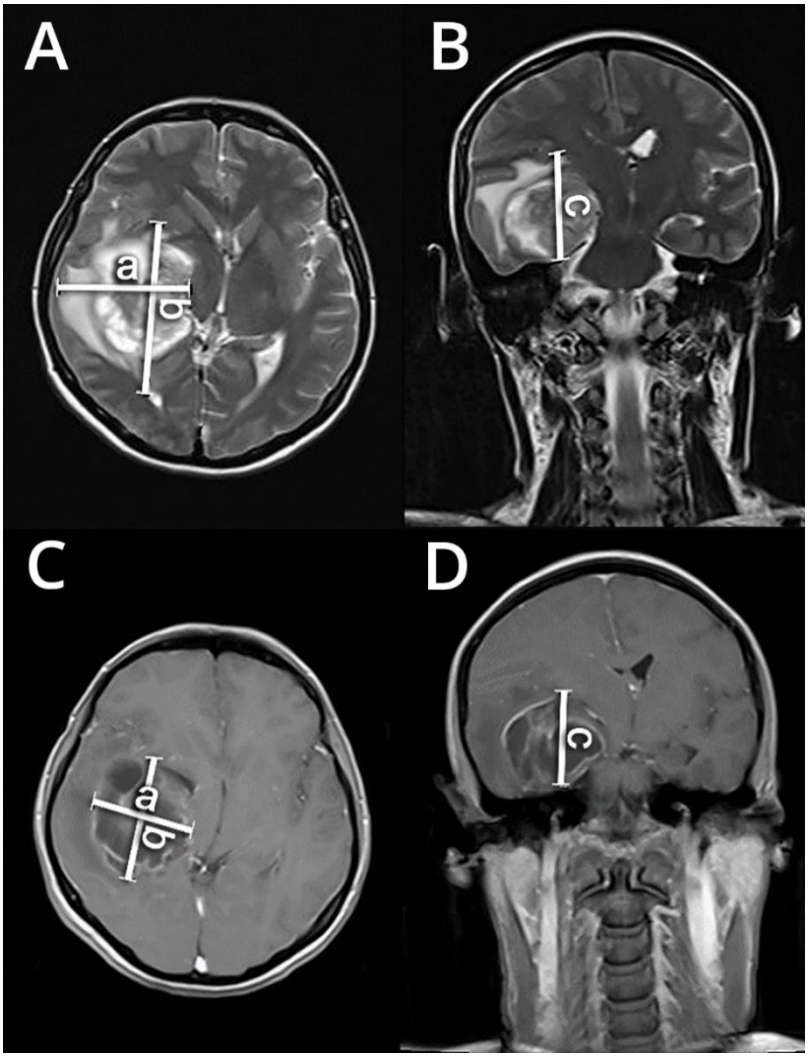
Ukupno preživljenje (eng. *overall survival*) je podrazumijevalo vrijeme od dijagnostikovanja do letalnog ishoda, što ujedno čini i vrijeme sa progresijom bolesti. Kada je u pitanju vrijeme bez progresije bolesti (eng. *progression-free survival*) ono je podrazumijevalo vrijeme od operativnog zahvata do pojave progresije bolesti prema RANO kriterijima. Pacijenti su praćeni minimalno 3 godine od dijagnostikovanja tumora mozga, uzimajući u obzir prirodni tok bolesti.

4.3.5. Radiološka morfometrijska analiza glijalnih tumora

Radiološke morfološke karakteristike glijalnih tumora su evaluirane koristeći IMPAX sistem (verzija 6.5.1.144, AGFA HealthCare N.V., Belgija). S obzirom na to da intrakranijalni gliomi zauzimaju sferoidan oblik, za mjerenje volumena tumora (TV) i peritumoralnog edema (PTBE) korištena je relacija:

$$V = 4/3\pi \times a/2 \times b/2 \times c/2. \quad (I)$$

Mjerenje je uključivalo koronalne (prema relaciji – a), aksijalne (prema relaciji – b) i sagitalne (prema relaciji – c) dijametre, radi procjene kumulativne vrijednosti TV i PTBE. Nakon toga, izvršena su mjerenja istih promjera tumora kako bi se izračunao VT, kao što je prikazano na slici 3.



Slika 3. Morfometrijska analiza glijalnih tumora: A - mjerenje koronalnog (a) i aksijalnog dijametra (b) tumora sa peritumoralnim edemom. B - mjerenje sagitalnog dijametra (c) tumora sa peritumoralnim edemom. C - mjerenje koronalnog (a) i aksijalnog dijametra (b) tumora. D - mjerenje sagitalnog dijametra (c) tumora.

Oduzimanjem vrijednosti TV od kumulativne vrijednosti (TV + PTBE), dobivena je vrijednost PTBE. Odnos između TV i PTBE je procijenjen izračunavanjem edema indeksa (EI), pri čemu je korištena relacija:

$$EI = (TV + PTBE)/(TV). \quad \text{(II)}$$

Za analizu veličine tumora korištene su T1 sekvence sa kontrastom, dok je PTBE analiziran na T2 sekvencama. Mjerenja su izražena u cm^3.

4.4. Statistička analiza podataka

Nakon što su podaci uneseni u odgovarajuće tabele, podvrgnuti su statističkoj analizi koja je izvršena u SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, verzija 26.0) programu. Podaci su bili prikazani u obliku frekvencija i procenata za kategorijalne varijable. Za kontinuirane varijable, podaci su bili prikazani u odnosu na normalnost distribucije. Normalnost distribucije je ispitana pomoću Kolmogorov-Smirnov testa. Varijable koje su pokazale normalnu distribuciju bile su prikazane u obliku srednje aritmetičke sredine i standardne devijacije. Varijable kod kojih su uočena odstupanja od normalne distribucije bile su prezentovane u obliku medijana i interkvartilnog raspona. Statistički značajne razlike su utvrđene pomoću Student t testa za normalno distribuirane varijable, dok su Mann-Whitney U testom analizirane varijable kod kojih je bilo odstupanja od normalne distribucije. Korelacijska analiza je obuhvatila proračun Pearsonovog ili Spearmanovog korelacijskog koeficijenta, u zavisnosti od prirode podataka. Diskriminatna vrijednost B7-H3 za razlikovanje LGG od HGG je testirana pomoću *Recevier operating curve* (ROC) analize, a rezultati su prikazani u obliku AUC (eng. Area under curve) indeksom i pripadajućim 95% intervalom pouzdanosti (eng. *Confidence interval*, CI). Pomoću Youdenovog indeksa određena je granična (eng. *cut-off*) vrijednost. Za utvrđivanje prediktivne uloge ispitivanog markera sprovedena je univarijantna regresiona analiza. Varijable koje su pokazale statističku značajnost u univarijantnog regresionoj analizi su dodatno analizirane pomoću multivarijantne regresione analize. Rezultati regresione analize su prikazani pomoću omjera izgleda (eng. *odds ratio*, OR) Prediktivna vrijednost ekspresije B7-H3 za ukupno vrijeme preživljenja i vrijeme preživljenja bez progresije bolesti je analizirano pomoću Cox regresione analize, a rezultati su prikazani pomoći omjera rizika (eng. *hazard ratio*, HR). Nivo statističke značajnosti je bio podešen na 5% ($p \leq 0.05$).

5. REZULTATI

5.1.Demografske karakteristike ispitanika

Tabela 1 prikazuje demografske karakteristike ispitanika u ukupnom uzorku (N = 99) i prema grupama LGG (N = 42) i HGG (N = 57). Među ispitanicima, 57 (57,6%) su muškarci, pri čemu je njihov udio veći u HGG grupi (63,2%) u odnosu na LGG grupu (50,0%), ali razlika nije statistički značajna (p = 0,190). Slično, 42 (42,4%) ispitanika su žene, pri čemu su podjednako zastupljene u LGG grupi (50,0%), dok je njihov udio u HGG grupi niži (36,8%). Medijana starosti u ukupnom uzorku iznosi 56 godina (IQR 46–63), pri čemu je medijana starosti u LGG grupi 55 godina (IQR 44–65), a u HGG grupi 56 godina (IQR 47–63). Razlika u starosnoj dobi između grupa nije bila statistički značajna (p = 0,899).

Tabela 1. Demografske karakteristike ispitanika

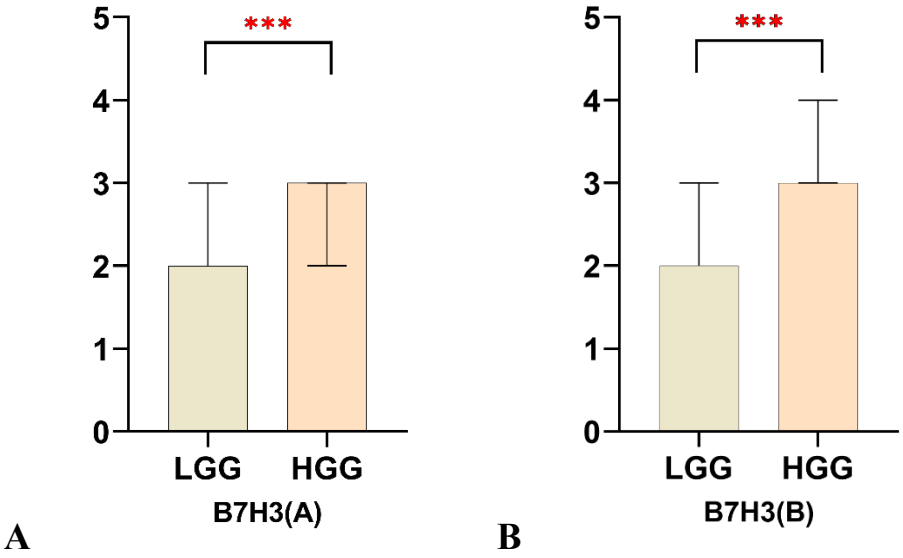
Varijable		**Ukupno** (N = 99)	**Grupe**		
			LGG (N = 42)	**HGG** (N = 57)	***p*-vrijednost**
Pol *N (%)*	Muški	57 (57,6)	21 (50,0)	36 (63,2)	0,190[a]
	Ženski	42 (42,4)	21 (50,0)	21 (36,8)	
Dob (godine) *Medijana (IQR)*		56 (46 - 63)	55 (44 - 65)	56 (47 - 63)	0,899[b]

IQR, interkvartilni raspon; a, Pearsonov χ^2 test; b, Mann-Whitney U test;

5.2. Ispitivanje nivoa imunohistohemijske ekspresije B7-H3 kod niskogradusnih i visokogradusnih glijalnih tumora

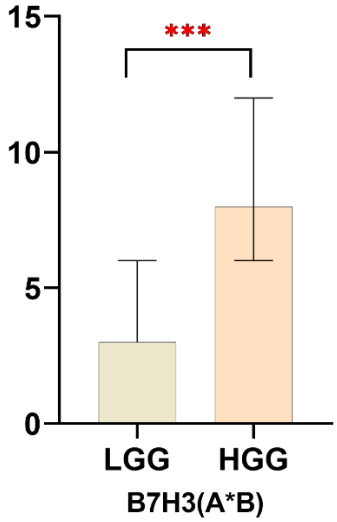
Intenzitet imunobojenja, označen kao B7-H3(A), je imao medijanu 2.0 (IQR 1.0 - 3.0) za LGG, dok je medijana za HGG iznosila 3.0 (IQR 2.0 - 6.0) ($p<0.001$), što je prikazano na *Grafikonu* 1A. Kada je u pitanju procjena procenta imunoreaktivnih glijalnih neoplastičnih ćelija, označenih kao za B7-H3(B), medijana za LGG je iznosila 2.0 (IQR 2.0 - 3.0), dok su vrijednosti

medijane za HGG bile više 3.0 (IQR 3.0 - 4.0) (*Grafikon* 1B), uz utvrđenu statistički značajnu razliku (p<0.001).



*Grafikon 1. Intenzitet imunobojenja označen kao B7-H3(A) i procentualna zastupljenost imunoreaktivnih ćelija označen kao B7-H3(B). *** - statistički značajna razlika (p<0.001).*

Imunoreaktivni skor dobijen umnoškom B7-H3(A) i B7-H3(B), koji je označen kao B7-H3(A*B) je imao statistički značajno višu vrijednost ($p < 0.001$) u HGG grupi sa medijanom od 8.0 (IQR 6.0 - 12.0) u odnosu na LGG grupu čiji je medijana iznosila 3.0 (IQR 2.0 - 6.0).



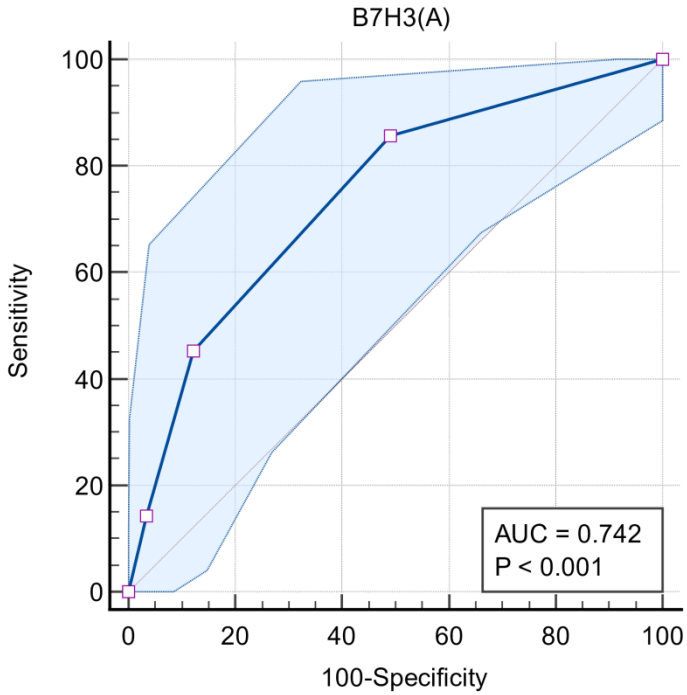
*Grafikon 2. Vrijednosti imunoreaktivnog skora u ispitivanim grupama. *** - statistički značajna razlika (p<0.001).*

5.2.1. Dijagnostičko-diskriminantne performanse B7-H3 u razlikovanju visokogradusnih od niskogradusnih glijalnih tumora

Tabela 2 prikazuje diskriminantnu vrijednost ekspresije B7-H3 u razlikovanju LGG od HGG tumora. Za varijablu B7-H3 (A) pri graničnoj (*cut-off*) vrijednosti ≥2, AUC iznosi 0,742 (95% CI: 0,645–0,825), što je prikazano na *Grafikonu* 3, uz senzitivnost od 85,71% i specifičnost od 50,88%, sa postignutom statističkom značajnosti ($p < 0,001$).

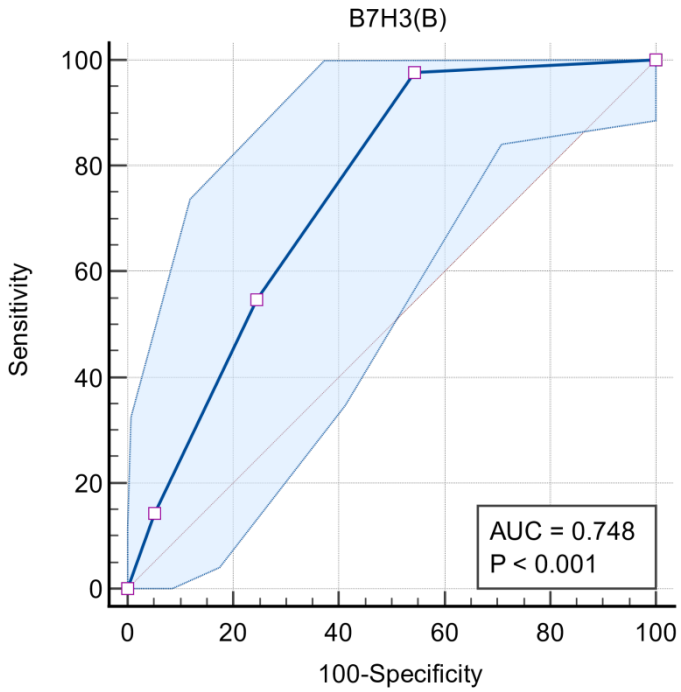
Tabela 2. Diskriminantna vrijednost B7-H3 ekspresije u razlikovanju visokogradusnih od niskogradusnih glijalnih tumora

Varijabla	AUC	95% CI	Cut-off	Senzitivnost	Specifičnost	*p*-vrijednost
B7-H3 (A)	0,742	0,645 - 0,825	≥2	85,71	50,88	<0,001
B7-H3 (A)	0,748	0,651 - 0,830	≥3	97,62	45,61	<0,001
B7-H3 (A*B)	0,816	0,726 - 0,886	≥5	73,14	80,70	<0,001



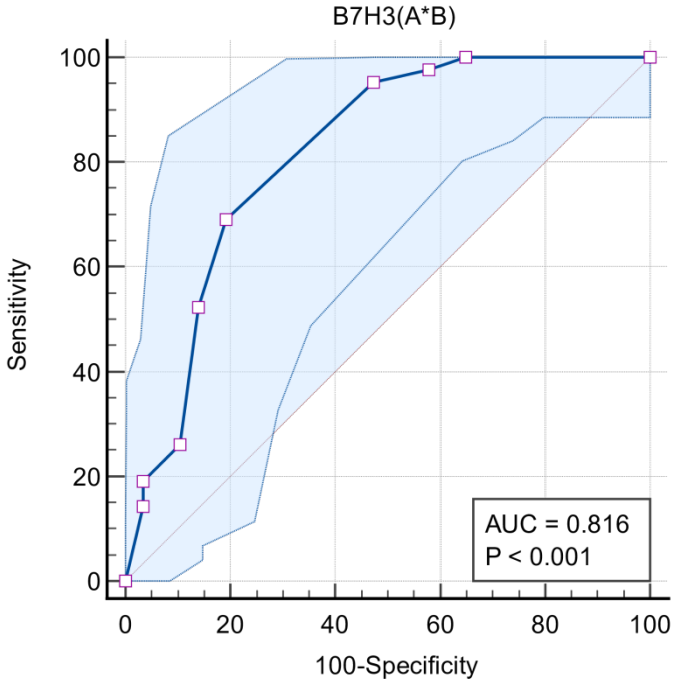
Grafikon 3. Recevier operating curve (ROC) analiza diskriminantne vrijednosti B7-H3(A) u diferencijranju visokogradusnih od niskogradusnih glijalnih tumora.

Za B7-H3 (B) pri cut-off vrijednosti ≥3, AUC iznosi 0,748 (95% CI: 0,651–0,830), što je prikazano na *Grafikonu* 4, uz senzitivnost od 97,62% i specifičnost od 45,61% (*Tabela* 2).



Grafikon 4. Recevier operating curve (ROC) analiza diskriminantne vrijednosti B7-H3(B) u diferencijranju visokogradusnih od niskogradusnih glijalnih tumora.

Za ukupni histopatološki skor imunoekspresije, B7-H3 (A*B), pri *cut-off* vrijednosti ≥5, AUC iznosi 0,816 (95% CI: 0,726–0,886; $p < 0,001$), što je prikazano na *Grafikonu* 5, uz senzitivnost od 73,14% i specifičnost od 80,70% (*Tabela* 2).



*Grafikon 5. Recevier operating curve (ROC) analiza diskriminantne vrijednosti B7-H3(A*B) u diferencijranju visokogradusnih od niskogradusnih glijalnih tumora.*

Obzirom da je cut-off vrijednost za B7-H3 (A*B) iznosila ≥5, vrijednosti iznad iste su determinisani kao visoka ekspresija B7-H3, a vrijednosti ispod niskom ekspresijom B7-H3. Niska ekspresija B7-H3 proteina prisutna je kod 40 od 99 pacijenata (40,4%) u ukupnom uzorku, sa izraženom razlikom između grupa. U LGG grupi, niska ekspresija je zabilježena kod 29 od 42 pacijenta (69,0%), dok je u HGG grupi prisutna kod samo 11 od 57 pacijenata (19,3%). S druge strane, visoka ekspresija B7-H3 proteina prisutna je kod 59 pacijenata (59,6%), pri čemu se značajno češće javlja u HGG grupi, gdje je detektovana kod 46 od 57 pacijenata (80,7%), dok je u LGG grupi prisutna kod 13 od 42 pacijenta (31,0%). Ove razlike su statistički značajne ($p < 0,001$), što ukazuje na to da je niska ekspresija B7-H3 dominantna u LGG grupi, dok je visoka ekspresija učestalija u HGG grupi.

Tabela 3. Zastupljenosti visoke i niske ekspresije B7-H3 kod pacijenata sa glijalnim tumorima

Varijable		**Ukupno** (N = 99)	**Grupe**		
			LGG (N = 42)	**HGG** (N = 57)	***p*-vrijednost**
Nivo ekspresije B7-H3 *N (%)*	Niska	40 (40,4)	29 (69,0)	11 (19,3)	<0,001[a]
	Visoka	59 (59,6)	13 (31,0)	46 (80,7)	

a, Pearsonov χ^2 test;

5.3. Ispitivanje povezanosti imunohistohemijske ekspresije B7-H3 sa stepenom diferencijacije i proliferacije neoplastičnih ćelija glijalnog porijekla.

5.3.1. Patohistološke karkteristike glijalnih tumora

U LGG grupi najčešće su zastupljeni difuzni astrocitomi (gradus II), koji čine 71,4% slučajeva, dok pilocitični astrocitomi (gradus I) čine preostalih 28,6%. U ovoj grupi nisu zabilježeni tumori gradusa III i IV. U HGG grupi dominiraju glioblastomi (gradus IV), koji su prisutni u 63,2% slučajeva, dok anaplastični astrocitomi (gradus III) čine preostalih 36,8%. U ovoj grupi nisu registrovani tumori gradusa I i II. Razlika u distribuciji gradusa između LGG i HGG grupa je statistički značajna ($p < 0,001$) (*Tabela 4*).

Tabela 4. Patohistološka gradacija glijalnih tumora i stepen proliferacije i diferencijacije praćen Ki67 proliferativnim indeksom

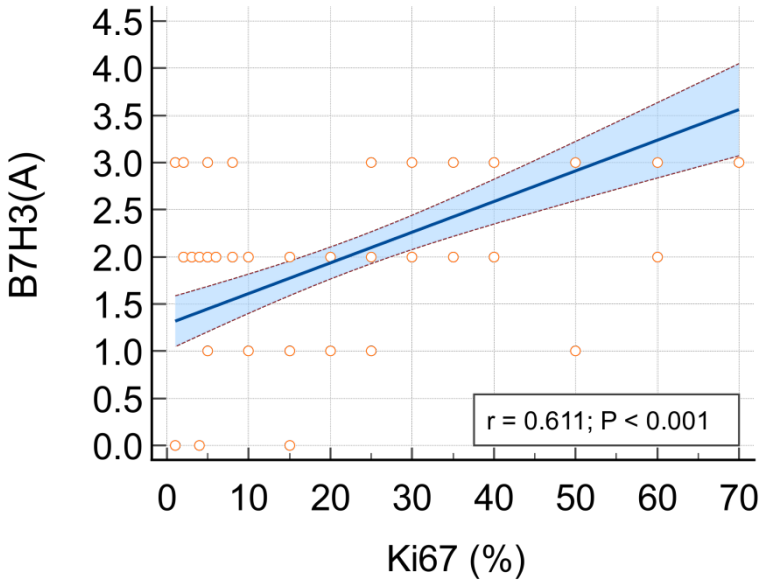
Varijabla		**Ukupno** (N = 99)	**Grupe**		
			LGG (N = 42)	**HGG** (N = 57)	***p*-vrijednost**
Patohistološki gradus i tip tumora *N (%)*	I (astrocytoma pilocyticum)	12 (12,1)	12 (28,6)	0 (0)	<0,001[a]
	II (astrocytoma diffusum)	30 (30,3)	30 (71,4)	0 (0)	
	III (astrocytoma anaplasticum)	21 (21,2)	0 (0)	21 (36,8)	
	IV (glioblastoma)	36 (36,4)	0 (0)	36 (63,2)	
Ki67 (%) *Medijana (IQR)*		20.0 (8.0 - 60.0)	5.0 (4.0 - 20.0)	35.0 (25.0 - 60.0)	<0.001[b]

IQR, interkvartilni raspon; a, Pearsonov χ^2 test; b, Mann-Whitney U test;

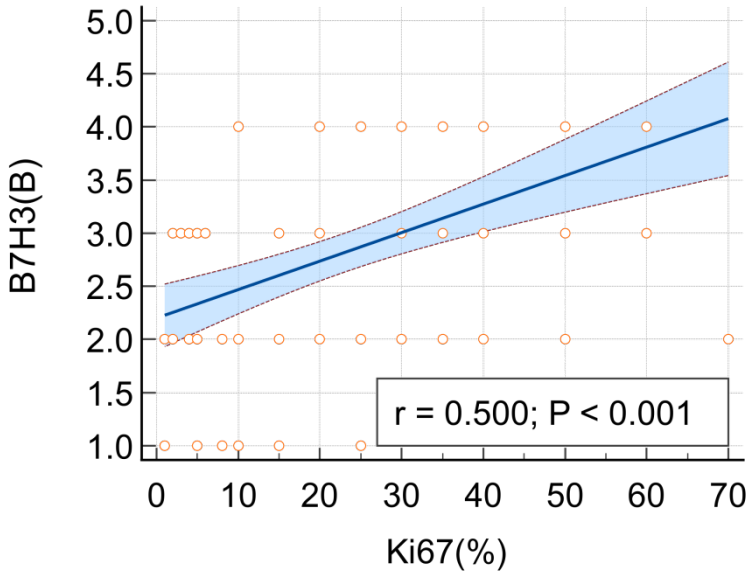
U LGG grupi, medijana Ki67 iznosi 5,0% (IQR: 4,0–20,0%), što ukazuje na niži stepen proliferacije (*Tabela* 4). U HGG grupi, medijana Ki67 iznosi 35,0% (IQR: 25,0–60,0%), što ukazuje na značajno višu proliferativnu aktivnost, karakterističnu za agresivne glijalne tumore. Razlika između grupa je statistički značajna ($p < 0,001$).

5.3.2. Korelacija imunohistohemijske ekspresije B7-H3 i stepena diferecijacije i proliferacije praćenog Ki67 proliferativnim indeksom

Ki67 pokazuje umjerenu do jaku pozitivnu korelaciju sa svim ispitivanim markerima. Korelacija sa B7-H3 (A) iznosi r = 0.611 ($p < 0,001$), što je vidljivo na *Grafikonu 6*, dok je korelacija sa B7H4 (B) nešto slabija (r = 0.500, $p < 0,001$) *(Grafikon 7)*.

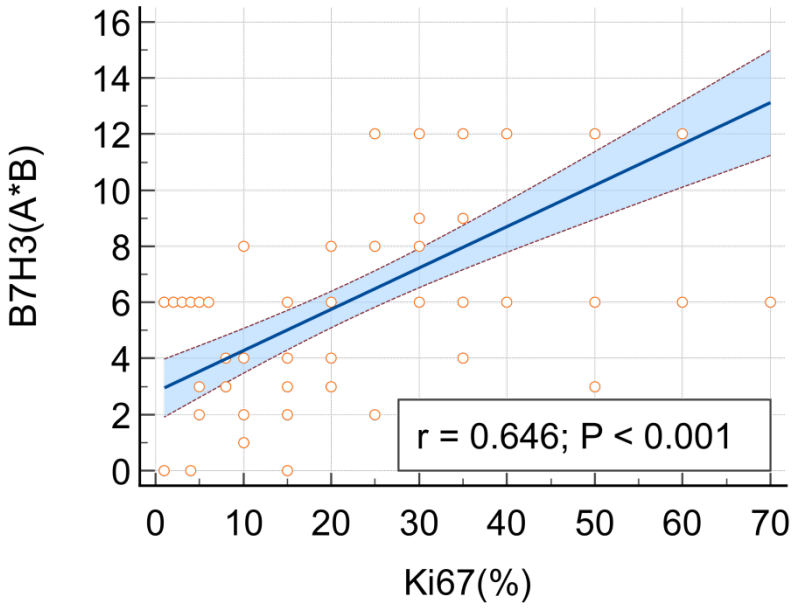


Grafikon 6. Dijagram raspršenja B7-H3(A) i Ki67 indeksa sa vrijednostima Spearmanovog korelacijskog testa



Grafikon 7. Dijagram raspršenja B7-H3(A) i Ki67 indeksa sa vrijednostima Spearmanovog korelacijskog testa

Najjača povezanost Ki67 indeksa zabilježena je sa ukupnim skorom B7-H3 (A*B) (r = 0.646, p < 0,001), što je prikazano na *Grafikonu* 8.



Grafikon 8. Dijagram raspršenja B7-H3(A) i Ki67 indeksa sa vrijednostima Spearmanovog korelacijskog testa

5.4. Ispitivanje povezanosti imunohistohemijske ekspresije B7-H3 s morfometrijskim karakteristikama tumora evaluiranim magnetnom rezonancom, uključujući volume tumora, volumen peritumoralnog edema i edema indeks

5.4.1. Radiološke i radiološko-morfometrijske karakteristike glijalnih tumora

Radiološke i radiološko-morfometrijske karakteristike glijalnih tumora prikazane u *Tabeli* 5 ukazuju na određene razlike između LGG i HGG grupa. Kada je u pitanju anatomska lokacija tumora, u LGG grupi tumori su najčešće smješteni u frontalnom režnju (N = 15; 35,7%), zatim u temporalnom režnju (N = 9; 21,4%) i parijeto-okcipitalnoj regiji (N = 6; 14,3%). U HGG grupi, tumori su najčešće lokalizovani u frontalnom režnju (N = 22; 38,6%) i temporalnom režnju (N = 18; 31,6%). Ostale lokalizacije, poput parijetalnog i frontotemporalnog režnja, su rjeđe zastupljene u obje grupe. Ipak, razlike u distribuciji tumora prema anatomskoj lokaciji između LGG i HGG grupa nisu statistički značajne (p = 0,335) (*Tabela 5*).

Tabela 5. Radiološke i radiološko-morfometrijske karakteristike glijalnih tumora

Varijabla		**Ukupno** (N = 99)	**Grupe**		
			LGG (N = 42)	**HGG** (N = 57)	***p*-vrijednost**
Anatomska lokacija tumora *N (%)*	Cerebelum	4 (4,0)	1 (2,4)	3 (5,3)	0,335[a]
	Frontalno	37 (37,4)	15 (35,7)	22 (38,6)	
	Frontoparijetalno	2 (2,0)	1 (2,4)	1 (1,8)	
	Frontotemporalno	5 (5,1)	3 (7,1)	2 (3,5)	
	Okcipitalno	4 (4,0)	1 (2,4)	3 (5,3)	
	Parijetalno	7 (7,1)	4 (9,5)	3 (5,3)	
	Parijetookcipitalno	7 (7,1)	6 (14,3)	1 (1,8)	
	Temporalno	27 (27,3)	9 (21,4)	18 (31,6)	
	Temporookcipitalno	2 (2,0)	0 (0)	2 (3,5)	
	Temporoparijetalno	4 (4,0)	2 (4,8)	2 (3,5)	
Strana *N (%)*	Desno	48 (48,5)	23 (54,8)	25 (43,9)	0,558[a]
	Lijevo	46 (46,5)	17 (40,5)	29 (50,9)	
	Obostrano	5 (5,1)	2 (4,8)	3 (5,3)	
TV (cm^3) *Medijana (IQR)*		29,3 (12,2 - 50,0)	15,5 (10,5 - 25,2)	41,8 (30,2 - 60,8)	<0,001[b]
PTBE (cm^3) *Medijana (IQR)*		84,5 (47,6 - 178,2)	58,7 (42,0 - 79,9)	173,3 (90,9 - 213,4)	<0,001[b]
EI (cm^3) *Medijana (IQR)*		4,6 (3,8 - 4,2)	4,2 (3,8 - 4,8)	4,6 (3,9 - 4,9)	0,026[b]

IQR, interkvartilni raspon; a, Pearsonov χ^2 test; b, Mann-Whitney U test;

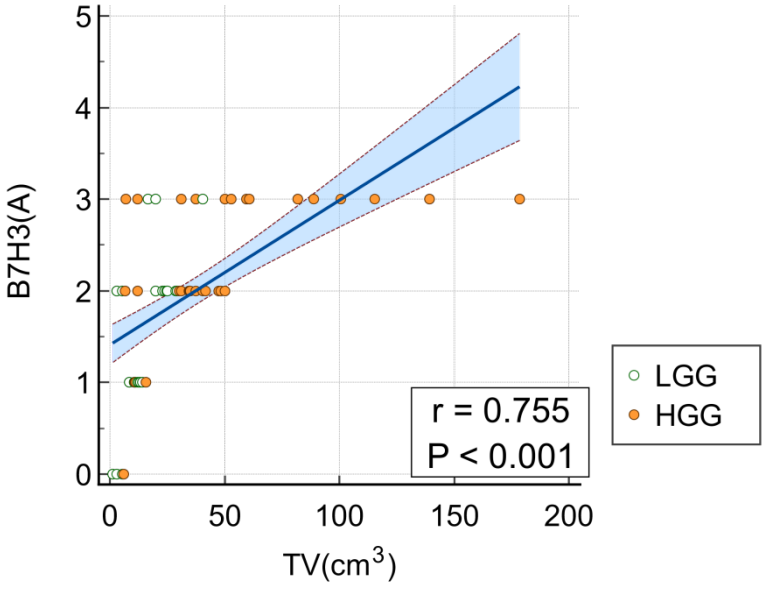
Distribucija tumora prema strani zahvaćenosti pokazuje da su u ukupnom uzorku tumori podjednako prisutni na desnoj (N = 48; 48,5%) i lijevoj hemisferi (N = 46; 46,5%), dok su bilateralni tumori rijetki (N = 5; 5,1%). U LGG grupi, tumori su češće locirani na desnoj strani (N = 23; 54,8%), dok su na lijevoj strani prisutni u 40,5% slučajeva (N = 17). U HGG grupi, nešto je veća zastupljenost tumora na lijevoj strani (N = 29; 50,9%) u odnosu na desnu (N =

25, 43,9%). Ipak, razlike u distribuciji prema strani zahvaćenosti nisu statistički značajne (p = 0,558).

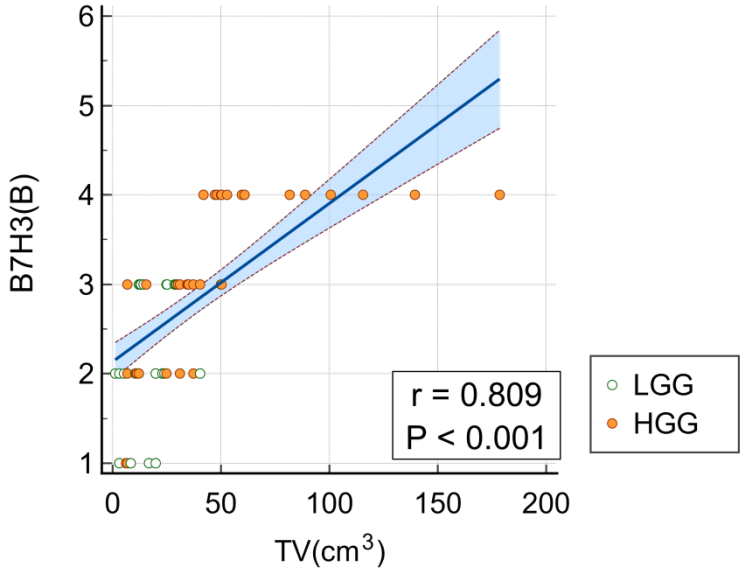
Analiza morfometrijskih parametara pokazuje značajne razlike između LGG i HGG grupa. Medijana volumena tumora u LGG grupi iznosi 15,5 cm³ (IQR: 10,5–25,2 cm³), dok je u HGG grupi značajno veći i iznosi 41,8 cm³ (IQR: 30,2–60,8 cm³), što ukazuje na progresiju tumorskog rasta kod visokogradusnih glioma (p < 0,001). Slično tome, volumen peritumorskog edema je u LGG grupi značajno manji (medijana: 58,7 cm³, IQR: 42,0–79,9 cm³) u poređenju sa HGG grupom, gdje dostiže medijana od 173,3 cm³ (IQR: 90,9–213,4 cm³) (p < 0,001). Vrijednosti edema indeksa (EI) su također nešto više u HGG grupi (medijana: 4,6 cm³, IQR: 3,9–4,9 cm³) nego u LGG grupi (medijana: 4,2 cm³, IQR: 3,8–4,8 cm³), pri čemu ova razlika dostiže statističku značajnost (p = 0,026).

5.4.2. Korelacija imunohistohemijske ekspresije B7-H3 sa volumenom tumora, peritumoralnog edema i edema indeksa

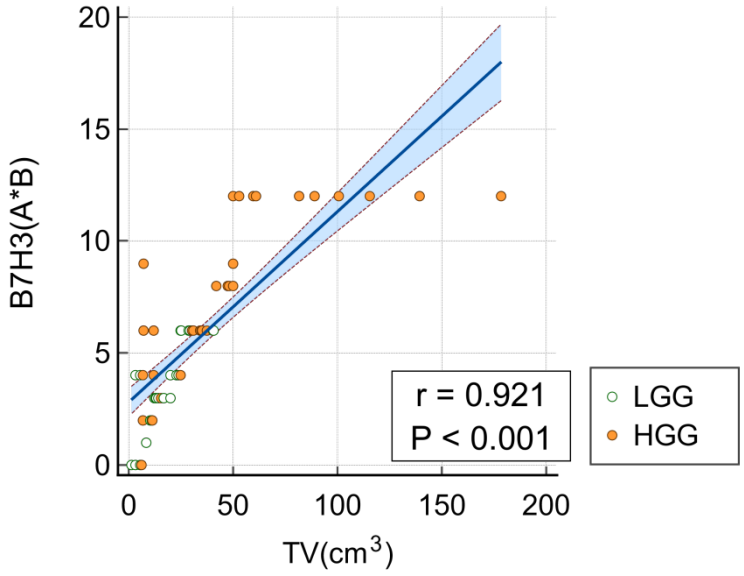
TV pokazuje značajnu pozitivnu korelaciju sa ekspresijom B7-H3 (A) (r = 0,755, p < 0,001) (*Grafikon 9*), B7-H3 (B) (r = 0,809, p < 0,001) (*Grafikon 10*) i ukupnim skorom B7-H3 (A*B) (r = 0,921, p < 0,001) (*Grafikon 11*).



Grafikon 9. Dijagram raspršenja za B7-H3(A) i volumen tumora (TV) sa vrijednostima Spearmanovog korelacijskog testa

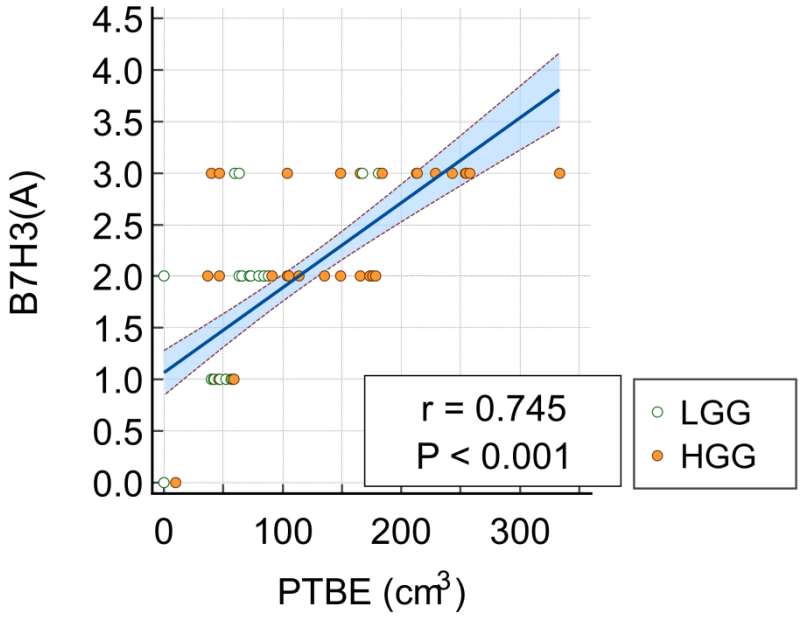


Grafikon 10. Dijagram raspršenja za B7-H3(B) i volumen tumora (TV) sa vrijednostima Spearmanovog korelacijskog testa

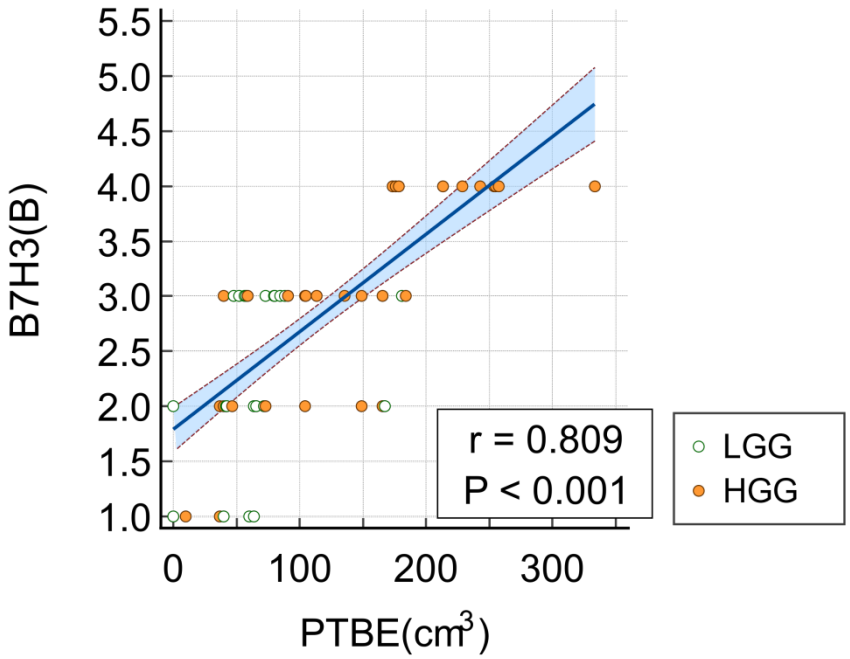


*Grafikon 11. Dijagram raspršenja za B7-H3(A*B) i volumen tumora (TV) sa vrijednostima Spearmanovog korelacijskog testa*

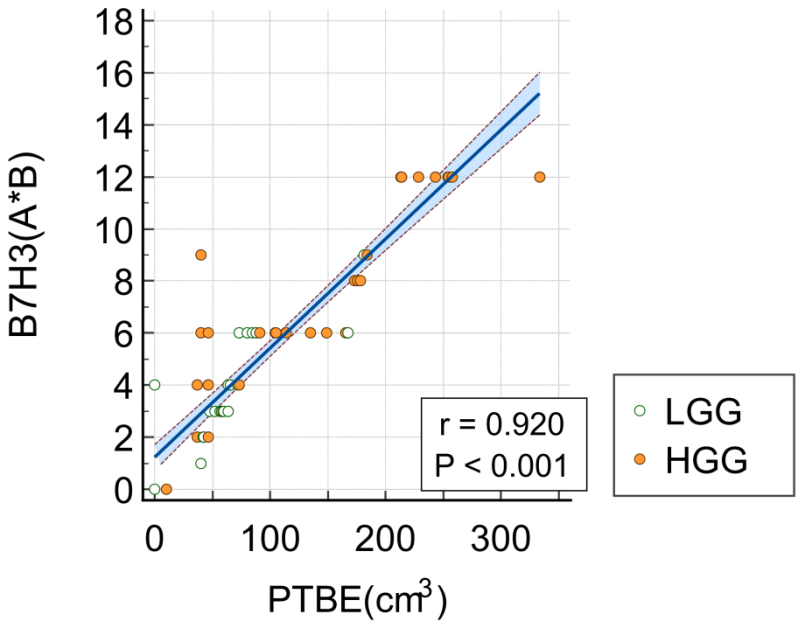
PTBE pokazuje snažnu korelaciju sa ekspresijom B7-H3 (A) (r = 0,754, $p < 0,001$) (*Grafikon* 12), B7-H3 (B) (r = 0,809, $p < 0,001$), što je prikazano na *Grafikonu* 12 i B7-H3 (A*B) (r = 0,920, $p < 0,001$) (*Grafikon 13*), što ukazuje na činjenicu da povišena ekspresija B7-H3 može biti povezana sa povećanim razvojem peritumorskog edema.



Grafikon 12. Dijagram raspršenja za B7-H3(A) i volumen peritumoralnog edema (PTBE) sa vrijednostima Spearmanovog korelacijskog testa

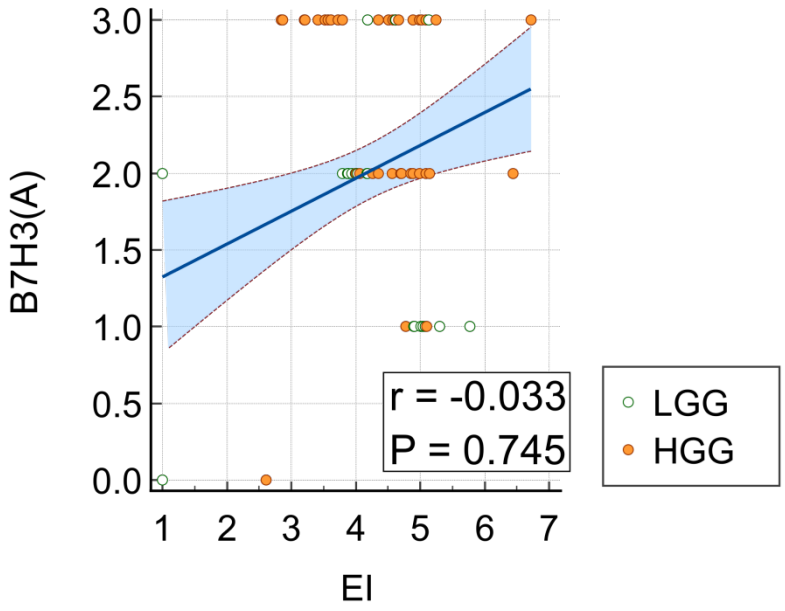


Grafikon 13. Dijagram raspršenja za B7-H3(B) i volumen peritumoralnog edema (PTBE) sa vrijednostima Spearmanovog korelacijskog testa

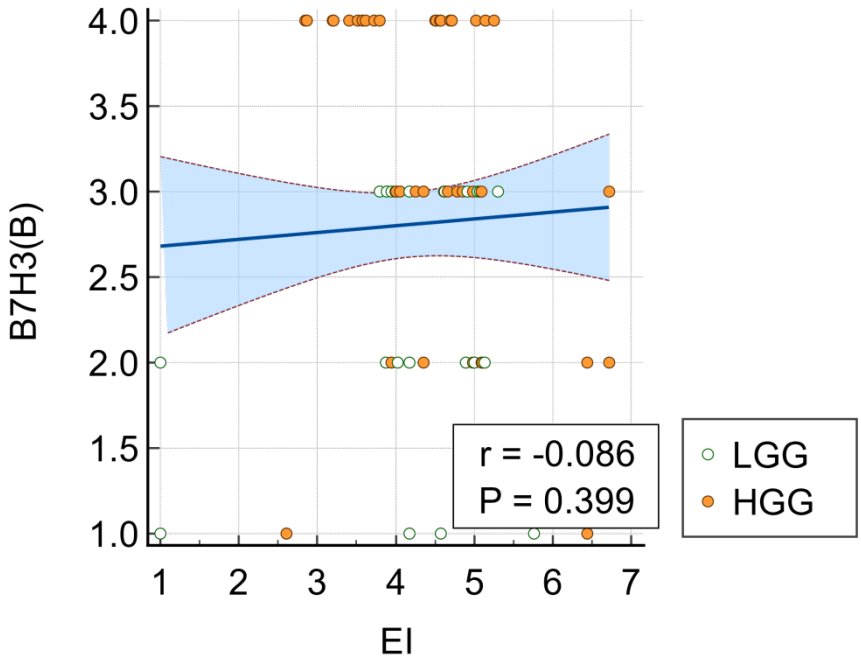


*Grafikon 14. Dijagram raspršenja za B7-H3(A*B) i volumen peritumoralnog edema (PTBE) sa vrijednostima Spearmanovog korelacijskog testa*

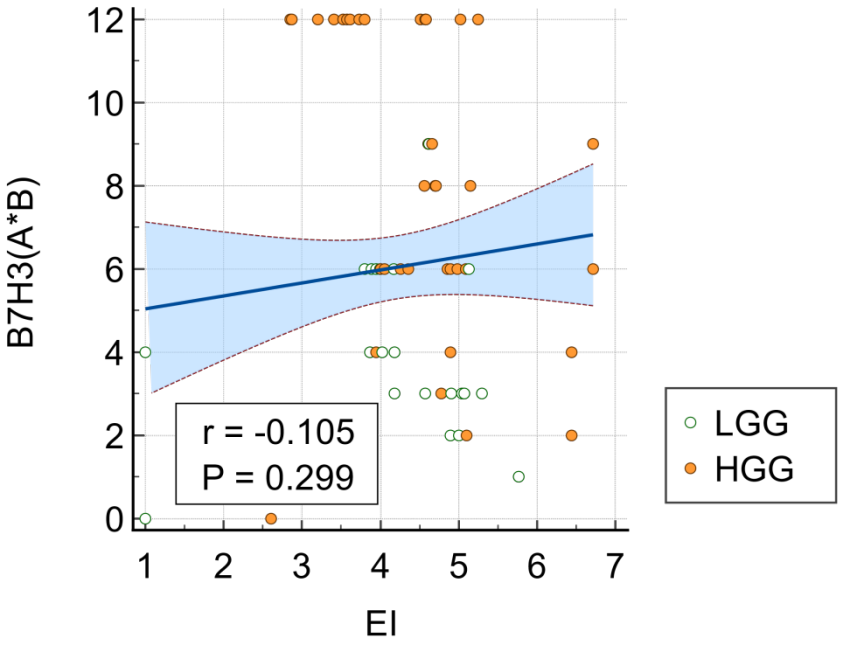
EI ne pokazuje značajnu korelaciju sa ekspresijom B7-H3, pri čemu su koeficijenti korelacije niski i statistički neznačajni za sve analizirane varijable: B7-H3 (A) (r = -0,033, p = 0,745) (*Grafikon 15*), B7-H3 (B) (r = -0,086, p = 0,399) što je prikazano na *Grafikonu 16*, te B7-H3 (A*B) (r = -0,105, p = 0,299) (*Grafikon 17*). Dakle, veći nivoi B7-H3 ekspresije prate povećan ukupni volumen tumora i obim peritumorskog edema, oni ne utiču proporcionalno na odnos edema i samog tumora, tj. EI.



Grafikon 15. Dijagram raspršenja za B7-H3(A) i edema indeks (EI) sa vrijednostima Spearmanovog korelacijskog testa



Grafikon 16. Dijagram raspršenja za B7-H3(B) i edema indeks (EI) sa vrijednostima Spearmanovog korelacijskog testa



*Grafikon 17. Dijagram raspršenja za B7-H3(A*B) i edema indeks (EI) sa vrijednostima Spearmanovog korelacijskog testa*

5.5. Ispitivanje prediktivne uloge imunohistohemijske ekspresije B7-H3 u kontekstu težine kliničke slike i perioda preživljavanja sa i bez progresije bolesti

5.5.1. Težina kliničke slike pacijenata sa glijalnim tumorima i period preživljenja sa i bez progresije bolesti

Preoperativni Karnofsky skor značajno varira između grupa (*Tabela 6)*. U ukupnom uzorku, medijanska vrijednost iznosi 40,0 (20,0–60,0). U LGG grupi skor je viši, sa medijanom od 60,0 (40,0–80,0), dok je u HGG grupi značajno niži, sa medijanom od 40,0 (20,0–40,0) ($p < 0,001$). Lakša klinička slika (Karnofsky ≥ 60) prisutna je kod 64 pacijenta (64,6 %), češće u HGG grupi, gdje je zabilježena kod 48 pacijenata (84,2 %), dok je u LGG grupi prisutna kod 16 pacijenata (38,1 %) ($p < 0,001$). Teža klinička slika (Karnofsky < 60) registrovana je kod 35 pacijenata (35,4 %), od čega su 26 pacijenata (61,9 %) iz LGG grupe, a 9 pacijenata (15,8 %) iz HGG grupe. Postoperativno, medijanski Karnofsky skor ostaje viši u LGG grupi, 60,0 (40,0–100,0), u odnosu na HGG grupu, gdje iznosi 20,0 (20,0–60,0) ($p < 0,001$). Lakša klinička slika nakon operacije prisutna je kod 62 pacijenta (62,6 %), od čega 47 pacijenata (82,5 %) u HGG grupi i 15 pacijenata (35,7 %) u LGG grupi ($p < 0,001$).

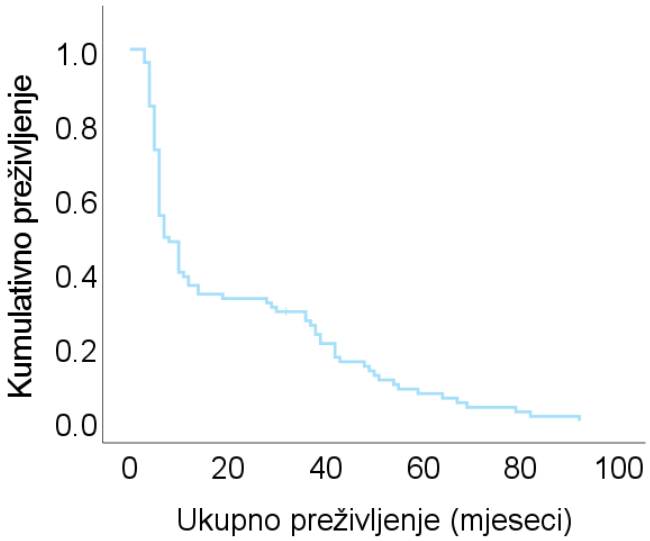
Tabela 6. Težina kliničke slike pacijenata sa glijalnim tumorima

Varijabla		**Ukupno** (N = 99)	**Grupe**		
			LGG (N = 42)	**HGG** (N = 57)	***p*-vrijednost**
KPS (preoperativno) *Medijana (IQR)*		40.0 (20.0 - 60.0)	60.0 (40.0 - 80.0)	40.0 (20.0 - 40.0)	<0,001
KPS (preoperativno) *N (%)*	Lakša klinička slika (Karnofsky ≥ 60)	64 (64,6)	16 (38,1)	48 (84,2)	<0,001
	Teška klinička slika (Karnofsky < 60)	35 (35,4)	26 (61,9)	9 (15,8)	
KPS (postoperativno 1 mjesec) *Medijana (IQR)*		40,0 (20,0 - 100,0)	60,0 (40,0 - 100,0)	20,0 (20,0 - 60,0)	<0,001
KPS (postoperativno 1 mjesec) *N (%)*	Lakša klinička slika (Karnofsky ≥ 60)	62 (62,6)	15 (35,7)	47 (82,5)	<0,001
	Teška klinička slika (Karnofsky < 60)	37 (37,4)	27 (64,3)	10 (17,5)	
RANO kriterij progresije bolesti	Kompletan odgovor	4 (4,0)	4 (9,5)	0 (0)	<0,001
	Parcijalni odgovor	17 (17,2)	17 (40,5)	0 (0)	
	Stabilna bolest	20 (20,2)	15 (35,7)	5 (8,8)	
	Progresija bolesti	58 (58,6)	6 (14,3)	52 (91,2)	
Ukupno preživljenje (mjesec) *Medijana (IQR)*		10 (5 - 37)	43 (38 - 57)	6 (4 - 10)	<0,001
Preživljenje bez progresije (mjesec) *Medijana (IQR)*		7 (5 - 28)	30 (25 - 42)	3 (3 - 4)	<0,001

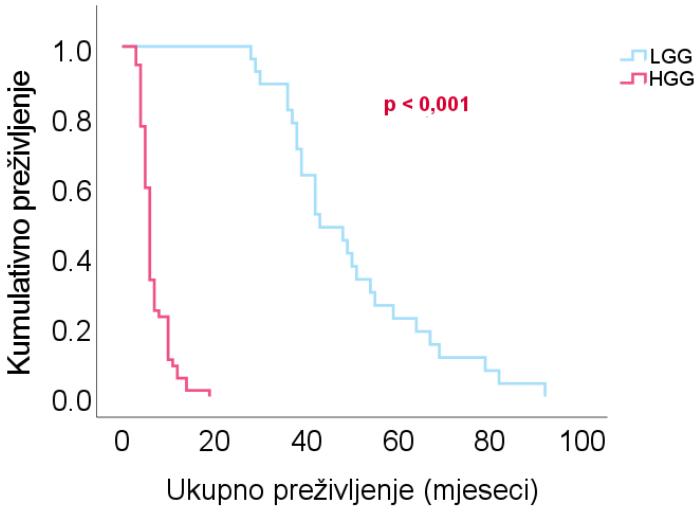
IQR, interkvartilni raspon; a, Pearsonov χ^2 test; b, Mann-Whitney U test;

Procjena bolesti prema RANO kriterijumima pokazuje značajnu razliku u odgovoru na terapiju. Kompletan odgovor na terapiju zabilježen je kod 4 pacijenta (4,0 %), svi iz LGG grupe. Parcijalni odgovor prisutan je kod 17 pacijenata (17,2 %), takođe isključivo u LGG grupi. Stabilna bolest registrovana je kod 20 pacijenata (20,2 %), češće u LGG grupi, gdje je zabilježena kod 15 pacijenata (35,7 %), dok je u HGG grupi prisutna kod 5 pacijenata (8,8 %). Progresija bolesti dominira u HGG grupi, gdje je zabilježena kod 52 pacijenta (91,2 %), dok je u LGG grupi prisutna kod 6 pacijenata (14,3 %) ($p < 0,001$).

Ukupno preživljenje značajno je duže kod pacijenata sa LGG tumorima, gdje medijana iznosi 43 mjeseca (IQR: 38 – 57), dok je u HGG grupi medijana svega 6 mjeseci (IQR: 4 – 10) ($p < 0,001$), što se jasno vidi na *Grafikonu 18A* i *18B*. Slično tome, preživljenje bez progresije duže je u LGG grupi, sa medijanom od 30 mjeseci (IQR: 25 – 42), nego u HGG grupi, gdje iznosi 3 mjeseca (IQR: 3 – 4) ($p < 0,001$) (*Grafikon 19B*).

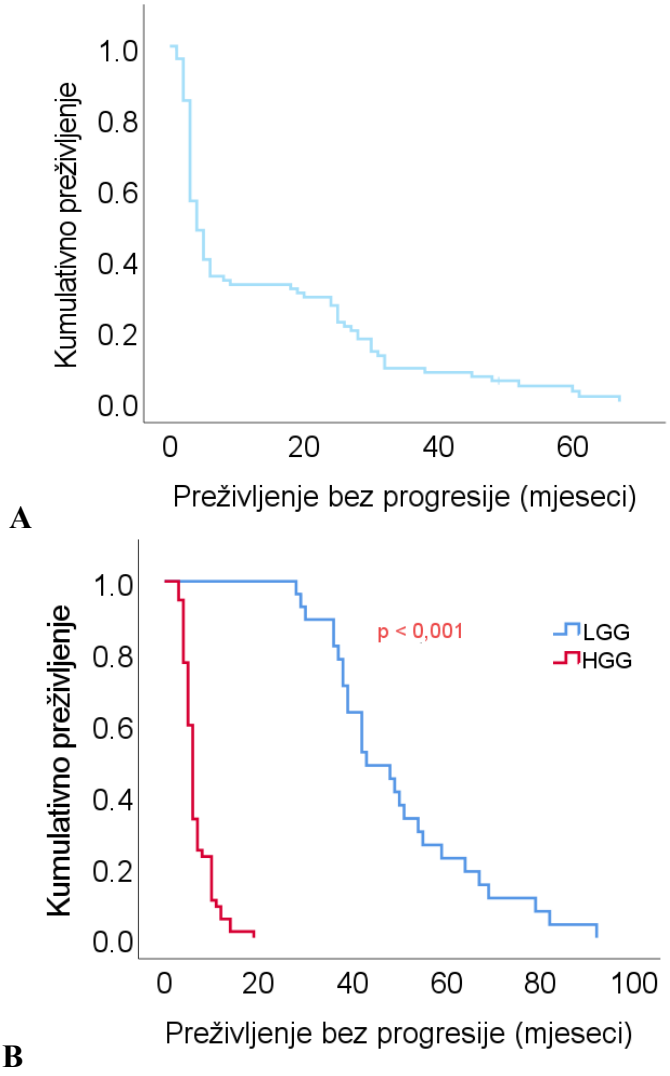


A



B

Grafikon 18. Ukupno preživljenje cijele kohorte (A) i podgrupna analiza u odnosu na LGG i HGG grupu (B). Statistička značajnost je ispitivana log-rank testom.



Grafikon 19. Preživljenje bez progresije bolesti (A) i podgrupna analiza u odnosu na LGG i HGG grupu (B). Statistička značajnost je ispitivana log-rank testom.

5.5.2. Prediktivna uloge imunohistohemijske ekspresije B7-H3 u kontekstu težine kliničke slike i perioda preživljavanja sa i bez progresije bolesti

Univarijantna regresiona analiza pokazuje da je visoka ekspresija B7-H3 povezana s većom vjerovatnoćom teške kliničke slike preoperativno i mjesec dana nakon operacije, kao i sa progresijom bolesti (*Tabela 7*). Preoperativno, pacijenti s visokom ekspresijom B7-H3 imaju 4,3 puta veću vjerovatnoću da imaju Karnofsky skor < 60 (95 % CI: 1,8–10,4; $p < 0,001$). Mjesec dana nakon operacije, ova vjerovatnoća je nešto veća, 4,5 puta (95 % CI: 1,9–10,6; p

< 0,001). Takođe, pacijenti s visokom ekspresijom B7-H3 imaju 5,4 puta veću vjerovatnoću za progresiju bolesti prema RANO kriterijumima (95 % CI: 2,7–10,6; $p < 0,001$).

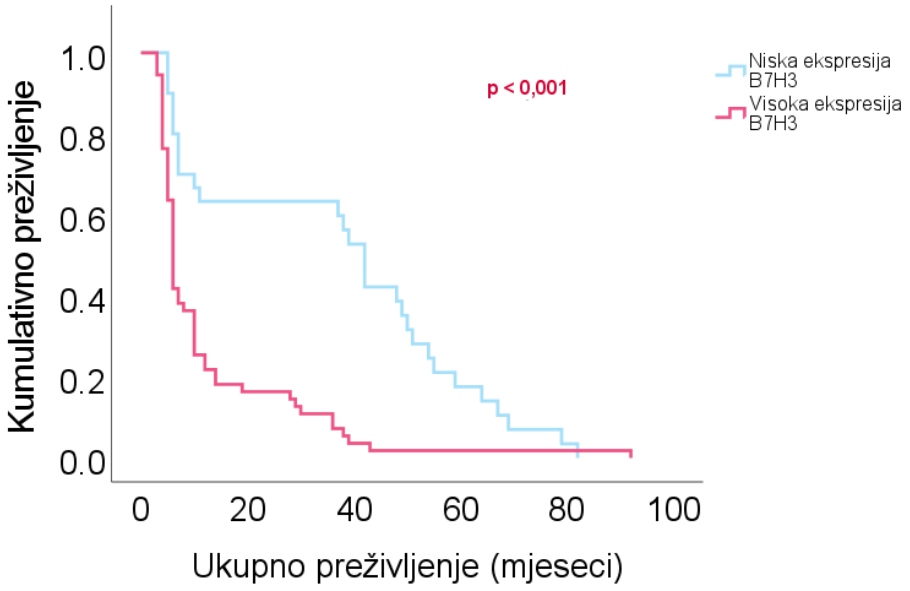
*Tabela 7. Univarijatna i multivarijantna regresiona analiza za predikciju teške kliničke slike i progresije bolesti u odnosu na visoku nivo ekspresije B7-H3 (B7-H3(A*B)≥5)*

Varijabla	**Univarijantna regresiona analiza**		**Multivarijantna regresiona analiza**	
	OR (95% CI)	***p*-vrijednost**	**OR (95% CI)**	***p*-vrijednost**
Teška klinička slika (Karnofsky < 60) preoperativno	4,3 (1,8 - 10,4)	<0,001	1,7 (0,1 - 29,4)	0,718
Teška klinička slika (Karnofsky < 60) 1 mjesec postoperativno	4,5 (1,9 - 10,6)	<0,001	2,6 (0,2 - 44,7)	0,500
Progresija bolesti (perma RANO kriterijima)	5,4 (2,7 - 10,6)	<0,001	4,9 (2,4 - 10,1)	<0,001

OR, omjer izgleda (eng. odds ratio);

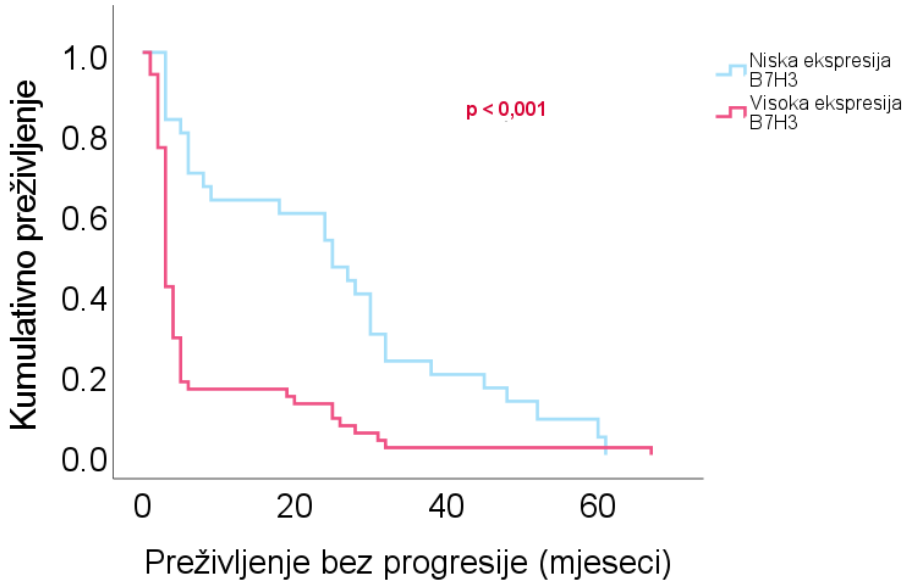
Multivarijantna regresiona analiza, nakon prilagođavanja za potencijalne konfondere, pokazuje da visoka ekspresija B7-H3 ne ostaje značajan prediktor teške kliničke slike. Za preoperativni Karnofsky skor < 60, OR iznosi 1,7 (95 % CI: 0,1–29,4; $p = 0,718$), dok je za postoperativni Karnofsky skor < 60 vrijednost OR 2,6 (95 % CI: 0,2–44,7; $p = 0,500$), što ukazuje na veliki interval pouzdanosti i odsustvo statističke značajnosti. Nasuprot tome, visoka ekspresija B7-H3 ostaje značajan nezavisni prediktor progresije bolesti. U multivarijantnoj analizi, pacijenti sa visokom ekspresijom B7-H3 imaju 4,9 puta veću vjerovatnoću progresije bolesti prema RANO kriterijumima (95 % CI: 2,4–10,1; $p < 0,001$).

Pacijenti sa visokom ekspresijom B7-H3 imaju značajno kraće ukupno preživljenje sa progresijom bolesti u poređenju sa onima sa niskom ekspresijom. Medijana preživljenja u grupi sa visokom ekspresijom B7-H3 iznosi 6 mjeseci (95 % CI: 5,4–6,6), dok je u grupi sa niskom ekspresijom značajno duži i iznosi 42 mjeseca (95 % CI: 36,9–47,1). Razlika između ovih grupa je statistički značajna ($p < 0,001$), što ukazuje na snažnu povezanost između visoke ekspresije B7-H3 i skraćenog preživljenja.



Grafikon 20. Razlika u ukupnom preživljenju (sa progresijom bolesti) u odnosu na nivo ekspresije B7-H3. Statistički značajna razlika je utvrđena log-rank testom.

Pacijenti sa visokom ekspresijom B7-H3 imaju značajno kraće preživljenje bez progresije bolesti u poređenju sa onima sa niskom ekspresijom. Medijana preživljenja bez progresije u grupi sa visokom ekspresijom B7-H3 iznosi 3 mjeseca (95 % CI: 2,6–3,4), dok je u grupi sa niskom ekspresijom značajno duži i iznosi 25 mjeseci (95 % CI: 15,4–34,6). Razlika između grupa je statistički značajna ($p < 0,001$), što ukazuje da visoka ekspresija B7-H3 može biti povezana sa ubrzanom progresijom bolesti i lošijim ishodom kod pacijenata sa glijalnim tumorima.



Grafikon 21. Razlika u preživljenju bez progresije bolesti u odnosu na nivo ekspresije B7-H3. Statistički značajna razlika je utvrđena log-rank testom.

Cox regresiona analiza pokazuje da je visoka ekspresija B7-H3 značajno povezana sa kraćim ukupnim preživljenjem i preživljenjem bez progresije kod pacijenata sa glijalnim tumorima. Pacijenti sa visokom ekspresijom B7-H3 imaju 2,9 puta veći rizik od smrtnog ishoda (95 % CI: 1,7–4,7; $p < 0,001$) u poređenju sa onima sa niskom ekspresijom. Takođe, rizik od progresije bolesti je 2,6 puta veći (95 % CI: 1,6–4,2; $p < 0,001$) kod pacijenata sa visokom ekspresijom B7-H3, što sugeriše da je ova molekula potencijalni prognostički marker lošijeg ishoda kod glijalnih tumora.

*Tabela 8. Cox regresiona analiza ukupnog preživljenja (sa progresijom) i preživljenja bez progresije u odnosu na visoku nivo ekspresije B7-H3 (B7-H3(A*B)≥5)*

Varijabla	**Cox regresiona analiza**	
	HR (95% CI)	***p*-vrijednost**
Ukupno preživljenje (sa progresijom)	2,9 (1,7 - 4,7)	<0,001
Preživljenje bez progresije)	2,6 (1,6 - 4,2)	<0,001

HR, omjer rizika (eng. hazard ratio)

6. DISKUSIJA

B7-H3 se ističe kao ključni cilj u molekularnoj terapiji zbog svoje složene uloge u regulaciji preživljavanja i proliferacije tumorskih ćelija (239). Njegova uloga je djelimično ispitana u eksperimentalnim studijama.

Istraživanja su pokazala da terapije koje ciljaju B7-H3 mogu biti efikasnije u smanjenju tumorskog rasta i poboljšanju preživljavanja u eksperimentalnim modelima, te su stoga potaknute kliničke studije za dalje istraživanje njegove uloge i efikasnosti u terapiji karcinoma (250).

Kliničke studije ispitivanja lijekova predstavljaju ključan dio procesa razvoja novih terapija i lijekova, omogućavajući istraživačima da procijene sigurnost i efikasnost novih medicinskih intervencija prije nego što postanu dostupne široj javnosti.

Uloga B7-H3 je značajno istražena kod tumora nemoždanog porijekla (177). B7-H3 je molekul iz porodice B7 koji je privukao značajnu pažnju u istraživanjima raka zbog svoje uloge u različitim vrstama malignih tumora (190-192).

Kod raka pluća, posebno kod nesitnoćelijskog karcinoma (193), B7-H3 je često pojačano izražen i povezan je sa lošijom prognozom. Kod raka debelog crijeva, ekspresija B7-H3 je pronađena u oko 50,8% primarnih tumora i povezana je sa naprednijim stadijumima, lošijim preživljavanjem i povećanom infiltracijom T ćelija (192, 197). Kod raka dojke, B7-H3 je izražen u približno 73,6% slučajeva, iako se o uticaju na prognozu još uvijek raspravlja (200, 201). Kod raka prostate, B7-H3 je povezan sa lošijim ishodima, uključujući povećanu učestalost recidiva, posebno u ERG-negativnim podtipovima (204). Kod melanoma je takođe zabilježena povećana ekspresija B7-H3 (209). Pojačana ekspresija B7-H3 je prisutna u velikom broju slučajeva karcinoma želuca i povezana je sa različitim patološkim karakteristikama (178, 214). Za rak jetre, posebno za hepatocelularni karcinom, B7-H3 je često izražen i povezan sa lošijim preživljavanjem i povećanom učestalošću recidiva (218, 219). Kada je u pitanju rak grlića materice, B7-H3 je prisutan u značajnom broju slučajeva i povezan je sa kraćim preživljavanjem specifičnim za bolest (222).

B7-H3 ima značajnu ulogu u patogenezi različitih tumora mozga (168). U odnosu na druge članove B7 porodice, B7-H3 je primjetno izraženiji kod glioma. Ovaj protein se povezuje s malignitetom, molekularnim podtipovima tumora i statusom IDH mutacija, te je identifikovan kao potencijalni cilj za imunoterapiju (226). B7-H3 doprinosi razvoju gliomskih ćelija

aktivacijom JAK2/STAT3/Slug puta i regulacijom procesa epitelno-mezenhimske transformacije (EMT) putem promjena u ekspresiji E-kadherina i MMP proteina. Kod glioblastoma, najagresivnijeg oblika glioma, B7-H3 je izrazito povišen, sa visokim nivoom ekspresije posebno u novodijagnostikovanim tumorima.

Ova visoka ekspresija B7-H3 u GBM-u je povezana sa lošijom prognozom, što naglašava njegov značaj kao biomarkera i potencijalni cilj u terapijama usmjerenim na imunološke kontrolne tačke.

Rezultati istraživanja su potvrdili da postoji statistički značajna razlika u imunoekspresiji B7-H3 sa izraženijim prisustvom u HGG grupi, što govori u prilog činjenici da nivo ekspresije B7-H3 prati viši gradus i stepen maligniteta glijalnih tumora. Maachani i sar. (265) navode da gliomi gradusa I i II nisu pokazali statistički značajne razlike u intenzitetu bojenja B7-H3 u komparaciji sa normalnim tkivom mozga, dok su glijalni tumorai III i IV gradusa imali značajno izraženiju ekspresiju, posebno u GBM-ovima (53.3% s visokim intenzitetom bojenja), što je u saglasnosti rezultatima ovog istraživanja. Digregorio i sar. (266) potvrđuju da je intenzitet ekspresije B7-H3 kod GBM-a prediktor rekurencije. U eksperimentalnoj studiji Zhong i sar. (267) dolaze do zaključka da prekomjerna ekspresija B7-H3 dovodi do nekontrolisanog rasta neoplastičnih glijalnih ćelija stimulišući JAK2/STAT3/Slug-zavisni signalni put.

U niskogradusnim pilocitnim i subependimnim gliomima, IHH ekspresija B7-H3 je minimalna, usporediva s ekspresijom u normalnom moždanom tkivu. Baral i sar. (268) su opisali da je medijana relativne kvantifikacije (RQ) B7-H3 mRNA u G1 uzorcima bila 0,610 ± 0,583, bez značajne razlike u odnosu na kontrolno tkivo ($p > 0,05$). U niskogradusnim astrociomima i oligodendrogliomima (WHO G2), ekspresija B7-H3 počinje da raste. Wang i sar. (269) su analizirali 293 uzorka LGG (G2) u TCGA i CGGA bazama i zabilježili umjerenu do visoku ekspresiju CD276, s RQ vrijednostima koje su u prosjeku 2–3-puta više nego u G1, posebno u IDH-wildtype tumorima ($p < 0,01$). Ovaj porast sugeriše rano uključivanje B7-H3 u patogenezu i imunomodulaciju nižeg gradusa glioma. Anaplastični gliomi (WHO G3) pokazuju značajno višu IHH ekspresiju B7-H3 nego G2. U studiji Front Immunol. 2024., Digregorio i sar. navode da je preko 65 % G3 uzoraka imalo snažnu membransku i citoplazmatsku pozitivnost za B7-H3 (staining score ≥ 6), dok su samo 18 % uzoraka G2 dostizala isti nivo ($p < 0,0001$) (265). CGGA analiza je potvrdila ove nalaze, pokazujući da medijana RQ za G3 iznosi oko 8,5 ± 4,2, značajno više nego u G2 ($p < 0,001$) (270).

Glioblastomi (GBM) imaju najeksplicitniju, gotovo uniformnu, visoku ekspresiju B7-H3, što potvrđuje Nehama i sar. (271) su koji su u uzorcima GBM-a detektovali snažnu imunoreaktivnost u 76 % slučajeva, umjerenu u 22 % i odsutnost ekspresije samo u 2 % uzoraka (n = 46). Analiza CGGA i TCGA baza pokazuje da je medijana RQ u G4 bila 12,3 ± 6,7, što je značajno više nego u G3 ($p < 0,0001$) i G2 ($p < 0,00001$) (266). Takođe, Baral i sar. (268) su takođe zabilježili da je koncentracija sB7-H3 u likvoru pacijenata s HGG (G3+G4) bila 7,287 ± 5,207 ng/mL, naspram 0,610 ± 0,583 ng/mL u G2 ($p < 0,001$), što govori u prilog rezultatima naše studije.

Povezanost B7-H3 sa proliferativnom aktivnošću i diferencijacijom tumorskih ćelija potvrđena je kroz više nivoa analize. Ki-67 korelira sa intenzitetom bojenja B7-H3 ($r = 0,68$; $p < 0,001$), što ukazuje da ćelije s višom ekspresijom B7-H3 imaju pojačanu mitotsku aktivnost. Prekomjerna ekspresija B7-H3 u glioma ćelijama aktivira JAK2/STAT3/Slug zavisni signalni put, što dovodi do epitelno-mezenhimalne tranzicije (EMT) i povećane sinteze matričnih metaloproteinaza (MMP-2 i MMP-9). Ovaj kaskadni događaj ne samo da olakšava invaziju, nego i direktno pospješuje diobu ćelija kroz induciranje ekspresije ciklina i faktora rasta. U studiji Zhong i sar. (267) inhibicija JAK2/STAT3 puta dovela je do 60 % smanjenja proliferacije glioma ćelija in vitro ($p < 0,01$), što je u kontekstu povezanosti sa B7-H3 izuzetno bitan podatak. Wang i sar. su analizirali više od 600 uzoraka iz TCGA i CGGA baza te pokazali da visoka ekspresija CD276 korespondira sa porastom transkripcionih profila povezanih s Ćelijskom diobom, uključujući MKI67, CCNB1 i CCND1 ($p < 0,001$) (269). Sličan nalaz potvrdila je analiza u kojoj su uzorci sa visokim IHH indeksom B7-H3 imali i visok prosječan Ki-67 indeks (prosječno 55 % pozitivnih jedinki), dok je kod uzoraka sa niskom B7-H3 ekspresijom Ki-67 iznosio samo 18 % ($p < 0,001$) (272). Takođe, u pretkliničkim modelima miševa, tumori s genetskom stabilizacijom višeg nivoa B7-H3 rasli su brže, sa značajno većim proliferativnim klasterom obilježenim Ki-67 (68 % pozitivnih ćelija naspram 32 % u kontrolnim tumorima; $p < 0,001$). Tretman monoklonskim antitijelom protiv B7-H3 rezultirao je padom Ki-67 indeksa na 25 % i usporenjem rasta tumora ($p < 0,005$) (168). Neimuni mehanizmi B7-H3 uključuju aktivaciju PI3K/AKT signalnog puta, što vodi do fosforilacije mTOR i povećanog translacionog kapaciteta za proteine neophodne za diobu ćelija (173, 273), što potencijalno pojašnjava korelaciju verifikovanu u našem istraživanju između B7-H3 i Ki67 proliferativnog indeksa. Blokada PI3K/AKT ili JAK2/STAT3 puta dovodi do drastičnog smanjenja proliferacije, čime se potvrđuje značajna uloga B7-H3 u regulaciji tumorske diobe (273).

Upoređujući ekspresiju B7-H3 sa MR parametrima, utvrdili smo da su veći volumen primarnog tumora i peritumoralnog edema direktno povezani s višim IHH indeksom. Konkretno, indeks edema (volumen edematoznog područja/volumen tumora) korelirao je s B7-H3 ekspresijom ($r = 0,59$; $p = 0,003$). Slične rezultate objavio je i Liu i sar. (274), gdje je B7-H3 pozitivnost na IHH korelirala s heterogenošću signala na T2 sekvencama, što može odražavati mikrookluzivne i mikropatološke promjene unutar tumora (274). U pretkliničkim modelima, kombinacija inhibicije AURKA puta (alisertib) i blokade B7-H3 znatno je smanjila volumen tumora u ortotopnim mišjim modelima glioma, pri čemu je prosječni volumen tumora bio za više od 50 % manji u tretiranoj grupi u odnosu na kontrolu ($p < 0,01$) (275). Ovo ukazuje da B7-H3 direktno doprinosi volumenu tumora in vivo, što se slaže sa rezultatima naše studije. S druge strane, precizna 3D volumetrija tumora na T1W-CE i T2-FLAIR sekvencama omogućava mjerenje ukupnog tumorskog volumena i volumena peritumoralnog edema (275). Iako direktne kliničke studije koje kombinuju B7-H3 IHH i volumetriju MRI-a nisu brojne, s obzirom na to da se ekspresija CD276 povećava s gradusom, a veći gradus korelira sa većim volumom na MRI-u (276), može se indirektno zaključiti da visok nivo B7-H3 prati povećani tumorski volumen. Korelacija između B7-H3 i volumenom peritumoralnog edema se može objasniti patofiziološkim karakteristikama agresivnih glioma: visokogradusni, brzorastući tumori izazivaju veće oštećenje krvno-moždane barijere i intenzivniju neovaskularizaciju, što dovodi do propuštanja tečnosti u okolno moždano tkivo (vazogeni edem). Literatura potvrđuje da viši gradus glioma obično prati izraženiji peritumoralni edem uslijed agresivne prirode tumora i izražene angiogeneze (277). B7-H3, s druge strane, doprinosi upravo tim procesima. Pokazano je da prekomjerno eksprimirani B7-H3 u glioblastomu pospješuje invaziju tumorskih ćelija u okolno tkivo i podstiče angiogenezu – na primjer, aktivacijom endotelnih ćelija u formiranju novih kapilara (278). Na taj način, tumori bogati B7-H3 mogu imati difuznije invazivne ivice i više propusne krvne sudove, što zajedno dovodi do većeg volumena tumora i obimnijeg edema u okolini. Iako specifičnih publikacija koje kvantitativno povezuju B7-H3 sa zapreminom tumora ima relativno malo, u drugim solidnim tumorima primijećena je analogna pojava: primjerice, u karcinomu bubrega visoka ekspresija CD276 (B7-H3) korelira sa većom veličinom tumora, višim stadijem bolesti i prisustvom nekroze (279). Ovi nalazi upućuju da je B7-H3 povezan sa agresivnim biološkim ponašanjem tumora, što se odražava i na morfološkom nivou (veći rast i invazija). Važno je napomenuti da se indeksom edema i drugim radiološkim parametrima može neinvazivno naslutiti agresivnost tumora prije operacije; u tom smislu, prisustvo B7-H3 (npr. detektovano eventualnom biopsijom ili tečnom biopsijom)

moglo bi objasniti radiološki nalaz opsežnog edema. Dalja istraživanja bi svakako trebalo detaljnije da kvantifikuju vezu između imunohistohemijskih biomarkera poput B7-H3 i neuroradioloških karakteristika glioma (280).

Povećana ekspresija B7-H3 je u više kohorti povezana s lošijim ukupnim preživljavanjem i preživljavanjem bez progresije bolesti (PFS). U studiji Huashan bolnice, GBM pacijenti s IRS > 6 imali su medijanu ukupnog preživljavanja od 12 mjeseci, nasuprot 16 mjeseci u IRS ≤ 6 grupi (p = 0,042) (281). Analiza Rembrandt baze podataka pokazala je značajno niži OS u visokoekspresivnoj grupi (n = 88) u odnosu na niskoekspresivnu (n = 89; p = 0,0055) (281). U populaciji pedijatrijskih pacijenata sa gliomima, visoka B7-H3 mRNA ekspresija je indikovala kraću medijanu preživljavanja (13,2 vs. 19,2 mjeseca; p = 0,049) (228). U retrospektivnoj studiji 102 pacijenta s glioblastomom, grupe su podijeljene prema nivou imunoreaktivnosti B7-H3: pacijenti s niskom ili odsutnom ekspresijom imali su medijani OS od 22,0 mjeseci (95 % CI: 7,2–36,8) i PFS od 12,0 mjeseci (95 % CI: 6,0–18,0), dok je grupa visokog izražaja imala medijanu OS od samo 8,0 mjeseci (95 % CI: 3,2–12,8) i PFS od 4,0 mjeseca (95 % CI: 1,9–6,1), uz statistički značajne razlike (p = 0,009 za OS; p = 0,008 za PFS) (173). Ovim podacima potvrđuje se uloga B7-H3 kao nezavisnog nepovoljnog prognostičkog faktora u GBM-u. U specifičnoj kohorti od 86 pacijenata s IDH-wild-type glioblastomom, visok IRS (IRS > 4) za B7-H3 korelirao je sa značajno kraćim OS i PFS, nezavisno od ekspresije PD-L1. Uz to, analiza je pokazala da je ko-ekspresija B7-H3 i PD-L1 najčešća kod mlađih muških pacijenata s jednofokalnim tumorima, iako PD-L1 sam po sebi nije značajno uticao na kliničke ishode (282). Ovaj nalaz sugerira da evaluacija B7-H3 može biti korisnija za stratifikaciju rizičnih pacijenata nego standardni PD-L1 testovi. Podaci iz velikih genomskih baza TCGA i CGGA dodatno osnažuju ove rezultate: pacijenti smješteni u gornji tercil B7-H3 mRNA ekspresije imali su medijanu OS od 10,5 mjeseci, nasuprot 17,8 mjeseci u donjem tercilu (p < 0,001) (271). Analize gena pokazale su da je visoka ekspresija B7-H3 nezavisno povezana s putanjama ćelijske diobe, angiogenezom i smanjenom infiltracijom $CD8^+$ T-ćelija, što dodatno objašnjava skraćeno preživljavanje (167). Molekularni mehanizmi kojima B7-H3 utiče na progresiju bolesti uključuju inhibiciju efektorskih T i NK-ćelija, aktivaciju JAK2/STAT3 i PI3K/AKT signala te pojačano lučenje VEGF-a i MMP-ova, što pospješuje invaziju i formiranje neovaskularnih struktura u tumoru. Ovakva imunosupresija i pro-proliferativni signali stvaraju „hladno“ mikrookruženje, otporno na terapiju, te ubrzavaju recidiv i napredovanje bolesti (283). S obzirom na ove dokaze, B7-H3 se nameće kao ključni biomarker za predviđanje preživljenja i PFS kod pacijenata s glijalnim tumorima. Njegovo određivanje može omogućiti

raniju identifikaciju pacijenata visokog rizika, personalizaciju terapijskih režima i razvoj kombiniranih imunoterapija koje, uz standardnu radiohemioterapiju, ciljaju B7-H3 kako bi produžile OS i PFS te poboljšale kliničke ishode.

Evidentno je da B7-H3 se može koristiti kao checkpoint za terapiju kod glijalnih tumora. U području adoptivne ćelijske imunoterapije, preklinički modeli B7-H3-usmjerenih CAR-T ćelija pokazali su snažnu antitumorsku aktivnost protiv humanih GBM graftova u miševima: jedna od studija navodi redukciju volumena tumora za > 80 % i produženje medijane preživljavanja za 50 % u odnosu na kontrolu ($p < 0,01$) (284). Na osnovu tih nalaza, započeta je faza I kliničkog ispitivanja NCT04077866 („*Safety and Efficacy of B7-H3 CAR-T Cells in Recurrent Glioblastoma*“), u kojoj je prvu kohortu od 12 pacijenata s recidivirajućim GBM-om karakterisala prihvatljiva toksičnost (nema ≥ grade 3 neurotoksičnosti) i preliminarni dokazi o stabilizaciji bolesti kod 4/12 pacijenata nakon 8 tjedana terapije.^6,7 Pored CAR-T ćelija, u Seattle Children's Hospital se provodi i „quad-CAR“ studija koja simultano cilja B7-H3, EGFR806, HER2 i IL13Rα2 u diffuse intrinsic pontine glioma (DIPG) i drugih rezistentnih CNS tumora kod djece i mladih odraslih (285). Rani izvještaji ukazuju na tolerabilnost ove lokoregionalne terapije i na detekciju CAR-T ćelija u likvoru do 6 mjeseci poslije infuzije, uz smanjenje volumena tumora u 3 od 5 evaluiranih pacijenata (285). Antitijela konjugirana s citotoksičnim agensima (ADCs) predstavljaju drugi važan pristup. Ifinatamab deruxtecan (DS-7300), ADC koji povezuje anti-B7-H3 monoklonsko antitijelo s topoisomerazom I inhibirajućom jedinku, u fazi I/II kliničkog ispitivanja pokazuje dokaz o ciljanoj internalizaciji i antitumorskoj aktivnosti: kod 30 pacijenata s uznapredovalim solidnim tumorima (uključujući mali broj GBM), zabilježena je ukupna stopa odgovora (ORR) od 23 % i disease control rate (DCR) od 57 %, uz prihvatljivu sigurnosnu profil (najčešći neželjeni efekti: neutropenija 27 %, umor 20 %) (286). Također, enoblituzumab (MGA271), humanizovano IgG1κ antitijelo protiv B7-H3, u fazi I studiji na pacijentima sa solidnim tumorima iskazalo je stabilnu bolest kod 18 % ispitanika ($n = 66$) i primjetno pojačanje infiltracije $CD8^+$ T-ćelija u tumorsku mikronišu, bez ozbiljnih imunotoksičnih događaja (nema ≥ grade 3 imunotoksičnosti) (287). Radioimunoterapija s B7-H3 usmjerenim radiokonjugatom omburtamab (131I-8H9) pokazala je obećavajuće rezultate u maloj kohorti djece s DIPG i leptomeningealnom diseminacijom, produžujuća medijana OS sa uobičajenih 9 mjeseci na 13 mjeseci i medijana PFS na 7 mjeseci, uz minimalnu neurotoksičnost.^12 Kombinacije B7-H3-usmjerenih terapija s inhibitorima PD-1/PD-L1 i radioterapijom također su u eksperimentalnoj fazi: preklinički podaci pokazuju da radioterapija do 8 Gy/X-zrak pojačava ekspresiju B7-H3 na glioma ćelijama i poboljšava

infiltraciju CAR-T ćelija, što ima za rezultat veće smanjenje volumena tumora (~ 90 % vs. 65 % kod monoterapije; $p < 0,001$) (288). Sveobuhvatno, ciljanje B7-H3 u glijalnim tumorima, bilo putem CAR-T ćelija, ADC-a, monoklonskih antitijela ili radioimunoterapije, pokazuje preliminarne dokaze efikasnosti i sigurne primjene. Daljnje faze kliničkih ispitivanja, osobito onih kombiniranih s drugim imunoterapijama ili standardnom radiohemikoterapijom, ključne su za optimizaciju odgovora, produženje preživljavanja i smanjenje recidiva kod pacijenata s agresivnim glijalnim tumorima.

Na osnovu dobijenih rezultata o povezanosti povišene ekspresije B7-H3 sa višim gradusom, većom proliferacijom i lošijim ishodima, naredni korak treba usmjeriti na prospektivnu, multicentričnu verifikaciju cut-off vrijednosti za imunohistohemijsko „visoko“ naspram „nisko“, uz istovremeno potpuno molekularno profilisanje (IDH, 1p/19q, TERTp, EGFR) i standardizovanu MRI volumetriju i perfuziju, kako bi se izgradili robusni, klinički upotrebljivi modeli rizika koji uključuju B7-H3 kao ključnu varijablu te omogućilo radiogenomsko mapiranje ovog cilja. Takav slojeviti pristup je usklađen s aktuelnim uvidima o biološkoj ulozi CD276 u gliomima i sa recentnim pregledima koji B7-H3 pozicioniraju kao tumoru-selektivan, prognostički i terapijski relevantan signalni čvor (289). Pored tkivnog označavanja, nužno je testirati neinvazivne načine određivanja statusa B7-H3, uključujući mjerenje rastvorljivog B7-H3 u likvoru i serumu te razvoj B7-H3-usmjerenih radiofarmaka za PET/SPECT, jer rani radovi sugeriraju da nivoi u CSF-u prate malignitet, dok koncepti sa B7-H3 antitijelima otvaraju mogućnost precizne vizualizacije i selekcije bolesnika (268). U translaciji prema terapiji, prioritet treba dati platformama koje direktno ciljaju B7-H3, uz dizajn studija koji povezuje intenzitet ekspresije sa odgovorom. Rane faze sa intrakranijskom primjenom B7-H3-ciljanih CAR-T limfocita u tumorima CNS-a pokazuju izvodljivost i biološku aktivnost, što opravdava evaluaciju u odraslim visokogradusnim gliomima i finije ispitivanje optimalne rute primjene, doziranja i praćenja neurotoksičnosti (288). Paralelno, B7-H3 antitijelo-lijek konjugati prelaze u kasne faze razvoja u solidnim tumorima s ohrabrujućim sigurnosnim profilom i signalom aktivnosti, iako je potrebna striktna validacija prediktivnih biomarkera jer se u pojedinim ispitivanjima nije našla jednostavna linearna veza između membranske ekspresije i odgovora (290). U sveukupnoj strategiji liječenja glioma, preporučljivo je integrisati B7-H3 u patohistološke analize i u trijažu za klinička ispitivanja, uz razmatranje kombinacionih pristupa sa standardom njege i drugim imuno-metama s obzirom na heterogenost glioblastoma i sklonost imunosupresivnom mikrookruženju (291).

Glavno ograničenje ove studije proizlazi iz retrospektivnog dizajna, što može uvjetovati pristranost u odabiru uzoraka i otežati kontrolu za sve potencijalne konfondere. Relativno mala kohorta pacijenata, iako adekvatna za prvobitnu analizu, smanjuje statističku snagu i ograničava generalizaciju rezultata na širu populaciju oboljelih od glioma. Kako bi se potvrdile trenutne nalaze o prognostičkoj i dijagnostičkoj vrijednosti ekspresije B7-H3, preporučuje se provođenje velikih prospektivnih studija s jasno definisanim kriterijima uključivanja i isključivanja, te standardizovanim protokolima imunohistohemijske analize. Nadalje, multicentrična suradnja omogućila bi prikupljanje raznovrsnijih uzoraka, povećala heterogenost populacije i unaprijedila vanjsku valjanost, čime bi se dodatno potvrdila uloga B7-H3 kao biomarkera i cilja za terapiju u kliničkoj praksi.

7. ZAKLJUČAK

U zaključku, ovo istraživanje nedvosmisleno potvrđuje sve postavljene hipoteze te ukazuje na ključnu ulogu imunohistohemijske ekspresije B7-H3 u biologiji i kliničkoj slici glijalnih tumora. Na osnovu rezultata studije može se doći do slijedećih zaključaka:

- Potvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u imunohistohemijskoj ekspresiji B7-H3 između različitih gradusa glijalnog tumora, pri čemu se intenzitet ekspresije postepeno povećava od gradusa I prema gradusu IV.
- Potvrđeno je da postoji statistički značajna pozitivna korelacija između imunohistohemijske ekspresije B7-H3 i stepena diferencijacije te proliferacije glijalnih tumora, što ukazuje na to da viši nivoi ekspresije prate agresivniji i brže dijeleći tumorske ćelije.
- Potvrđeno je da postoji statistički značajna pozitivna korelacija između imunohistohemijske ekspresije B7-H3 i morfometrijskih karakteristika tumora na magnetnoj rezonanci, uključujući ukupni volumen tumora, volumen peritumoralnog edema i edema indeks.
- Potvrđeno je da imunohistohemijska ekspresija B7-H3 ima statistički značajnu prediktivnu ulogu u određivanju težine kliničkog stanja pacijenata i u vremenu preživljavanja, kako ukupnog preživljavanja, tako i preživljavanja bez progresije bolesti.

8. LITERATURA

1. Galanis E, Wen PY, de Groot JF, Weller M. Isocitrate Dehydrogenase Wild-type Glial Tumors, Including Glioblastoma. Hematol Oncol Clin North Am. 2022 Feb;36(1):113-32. 10.1016/j.hoc.2021.08.007

2. Godoy LFS, Paes VR, Ayres AS, Bandeira GA, Moreno RA, Hirata FCC, et al. Advances in diffuse glial tumors diagnosis. Arq Neuropsiquiatr. 2023 Dec;81(12):1134-45. 10.1055/s-0043-1777729

3. Han PC, Baker TG. Glial and glioneuronal tumors: Navigating the complexity of evolving concepts and new classification. J Neurol Sci. 2024 Jun 15;461:123058. 10.1016/j.jns.2024.123058

4. Revishchin AV, Parshina VV, Pavlova GV. The role of glial cell line-derived neurotrophic factor isoforms in human glial tumors. Zh Vopr Neirokhir Im N N Burdenko. 2022;86(6):106-12. 10.17116/neiro202286061106

5. Veikutis V, Brazdziunas M, Keleras E, Basevicius A, Grib A, Skaudickas D, et al. Diagnostic Approaches to Adult-Type Diffuse Glial Tumors: Comparative Literature and Clinical Practice Study. Curr Oncol. 2023 Aug 24;30(9):7818-35. 10.3390/curroncol30090568

6. Yang K, Wu Z, Zhang H, Zhang N, Wu W, Wang Z, et al. Glioma targeted therapy: insight into future of molecular approaches. Mol Cancer. 2022 Feb 8;21(1):39. 10.1186/s12943-022-01513-z

7. Dimertsev AV, Zuev AA. Surgical treatment of glial tumors of the paralimbic system. Zh Vopr Neirokhir Im N N Burdenko. 2022;86(5):37-45. 10.17116/neiro20228605137

8. Stoyanov GS, Dzhenkov DL. On the Concepts and History of Glioblastoma Multiforme - Morphology, Genetics and Epigenetics. Folia Med (Plovdiv). 2018 Mar 1;60(1):48-66. 10.1515/folmed-2017-0069

9. Martin-Villalba A, Okuducu AF, von Deimling A. The evolution of our understanding on glioma. Brain Pathol. 2008 Jul;18(3):455-63. 10.1111/j.1750-3639.2008.00136.x

10. Bailey P, Cushing H. A classification of the tumors of the glioma group on a histogenetic basis with a correlated study of prognosis. (No Title). 1926.

11. Bargmann CI, Hung MC, Weinberg RA. Multiple independent activations of the neu oncogene by a point mutation altering the transmembrane domain of p185. Cell. 1986 Jun 6;45(5):649-57. 10.1016/0092-8674(86)90779-8

12. David H. Rudolf Virchow and Modern Aspects of Tumor Pathology. Pathology - Research and Practice. 1988 1988/06/01/;183(3):356-64. https://doi.org/10.1016/S0344-0338(88)80138-9

13. Schlehofer B, Blettner M, Preston-Martin S, Niehoff D, Wahrendorf J, Arslan A, et al. Role of medical history in brain tumour development. Results from the international adult brain tumour study. Int J Cancer. 1999 Jul 19;82(2):155-60. 10.1002/(sici)1097-0215(19990719)82:2<155::aid-ijc1>3.0.co;2-p

14. Kirkpatrick DB. The first primary brain-tumor operation. J Neurosurg. 1984 Nov;61(5):809-13. 10.3171/jns.1984.61.5.0809

15. Zülch KJ. Historical development of the classification of brain tumours and the new proposal of the World Health Organization (WHO). Neurosurg Rev. 1981;4(3):123-7. 10.1007/bf01743637

16. Bower JM. The 40-year history of modeling active dendrites in cerebellar Purkinje cells: emergence of the first single cell "community model". Front Comput Neurosci. 2015;9:129. 10.3389/fncom.2015.00129

17. Fodstad H. The neuron theory. Stereotact Funct Neurosurg. 2001;77(1-4):20-4. 10.1159/000064596

18. Gourdie RG, Harris BS, Bond J, Edmondson AM, Cheng G, Sedmera D, et al. His-Purkinje lineages and development. Novartis Found Symp. 2003;250:110-22; discussion 22-4, 276-9.

19. von Bartheld CS, Bahney J, Herculano-Houzel S. The search for true numbers of neurons and glial cells in the human brain: A review of 150 years of cell counting. J Comp Neurol. 2016 Dec 15;524(18):3865-95. 10.1002/cne.24040

20. Henry JM. Neurons and Nobel Prizes: a centennial history of neuropathology. Neurosurgery. 1998 Jan;42(1):143-55; discussion 55-6. 10.1097/00006123-199801000-00031

21. Budka H. Neuropathology through the ages - personal reflections: The golden era of neuropathology. Free Neuropathol. 2020 Jan;1. 10.17879/freeneuropathology-2020-2817

22. Pendleton C, Ahn ES, Quiñones-Hinojosa A. Harvey Cushing and pediatric brain tumors at Johns Hopkins: the early stages of development. J Neurosurg Pediatr. 2011 Jun;7(6):575-88. 10.3171/2011.3.Peds10323

23. Pendleton C, Jallo GI, Cohen-Gadol AA, Quiñones-Hinojosa A. "Groans less, seems more comfortable:" Harvey Cushing's redefinition of success in the operative treatment of pediatric intracranial lesions. Childs Nerv Syst. 2011 Jan;27(1):155-61. 10.1007/s00381-010-1310-z

24. Berciano J. Hans Joachim Scherer (1906-1945). J Neurol. 2021 Aug;268(8):3052-3. 10.1007/s00415-020-10301-y

25. Peiffer J, Kleihues P. Hans-Joachim Scherer (1906-1945), pioneer in glioma research. Brain Pathol. 1999 Apr;9(2):241-5. 10.1111/j.1750-3639.1999.tb00222.x

26. Reuter G, Lombard A, Suero Molina E, Scholtes F, Bianchi E. Hans Joachim Scherer: an under-recognized pioneer of glioma research in Belgium. Acta Neurol Belg. 2021 Aug;121(4):867-72. 10.1007/s13760-021-01708-z

27. Stoyanov GS, Petkova L, Dzhenkov DL. Hans Joachim Scherer and His Impact on the Diagnostic, Clinical, and Modern Research Aspects of Glial Tumors. Cureus. 2019 Nov 13;11(11):e6148. 10.7759/cureus.6148

28. Scherer M. Some comments on the paper: Hans-Joachim Scherer (1906-1945), pioneer in glioma research. Brain Pathol. 2013 Jul;23(4):485-7. 10.1111/bpa.12066

29. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Cell. 2000 Jan 7;100(1):57-70. 10.1016/s0092-8674(00)81683-9

30. Ostrom QT, Gittleman H, Stetson L, Virk SM, Barnholtz-Sloan JS. Epidemiology of gliomas. Cancer Treat Res. 2015;163:1-14. 10.1007/978-3-319-12048-5_1

31. Venmar KT, Kimmel DW, Cliffel DE, Fingleton B. IL4 receptor α mediates enhanced glucose and glutamine metabolism to support breast cancer growth. Biochim Biophys Acta. 2015 May;1853(5):1219-28. 10.1016/j.bbamcr.2015.02.020

32. Ohgaki H. Epidemiology of brain tumors. Methods Mol Biol. 2009;472:323-42. 10.1007/978-1-60327-492-0_14

33. Ostrom QT, Bauchet L, Davis FG, Deltour I, Fisher JL, Langer CE, et al. The epidemiology of glioma in adults: a "state of the science" review. Neuro Oncol. 2014 Jul;16(7):896-913. 10.1093/neuonc/nou087

34. Schwartzbaum JA, Fisher JL, Aldape KD, Wrensch M. Epidemiology and molecular pathology of glioma. Nat Clin Pract Neurol. 2006 Sep;2(9):494-503; quiz 1 p following 16. 10.1038/ncpneuro0289

35. Ostrom QT, Francis SS, Barnholtz-Sloan JS. Epidemiology of Brain and Other CNS Tumors. Curr Neurol Neurosci Rep. 2021 Nov 24;21(12):68. 10.1007/s11910-021-01152-9

36. Davis ME. Epidemiology and Overview of Gliomas. Semin Oncol Nurs. 2018 Dec;34(5):420-9. 10.1016/j.soncn.2018.10.001

37. Waker CA, Lober RM. Brain Tumors of Glial Origin. Adv Exp Med Biol. 2019;1190:281-97. 10.1007/978-981-32-9636-7_18

38. Ohgaki H, Kleihues P. Epidemiology and etiology of gliomas. Acta Neuropathol. 2005 Jan;109(1):93-108. 10.1007/s00401-005-0991-y

39. Smith CJ, Perfetti TA, Chokshi C, Venugopal C, Ashford JW, Singh SK. Risk factors for glioblastoma are shared by other brain tumor types. Hum Exp Toxicol. 2024 Jan-Dec;43:9603271241241796. 10.1177/09603271241241796

40. D'Elia A, Tropeano MP, Maiola V, Frati A, Salvati M. The etiology of low-grade gliomas: pathological and clinical considerations about radiation-induced low-grade gliomas. Neurol Sci. 2015 Jul;36(7):1091-5. 10.1007/s10072-015-2136-y

41. Reni M, Mazza E, Zanon S, Gatta G, Vecht CJ. Central nervous system gliomas. Crit Rev Oncol Hematol. 2017 May;113:213-34. 10.1016/j.critrevonc.2017.03.021

42. Kleihues P, Aguzzi A, Ohgaki H. Genetic and environmental factors in the etiology of human brain tumors. Toxicol Lett. 1995 Dec;82-83:601-5. 10.1016/0378-4274(95)03503-6

43. Bondy ML, Kyritsis AP, Gu J, de Andrade M, Cunningham J, Levin VA, et al. Mutagen sensitivity and risk of gliomas: a case-control analysis. Cancer Res. 1996 Apr 1;56(7):1484-6.

44. Inskip PD, Linet MS, Heineman EF. Etiology of brain tumors in adults. Epidemiol Rev. 1995;17(2):382-414. 10.1093/oxfordjournals.epirev.a036200

45. Zhong S, Yang W, Zhang Z, Xie Y, Pan L, Ren J, et al. Association between viral infections and glioma risk: a two-sample bidirectional Mendelian randomization analysis. BMC Medicine. 2023 2023/12/05;21(1):487. 10.1186/s12916-023-03142-9

46. Claus EB, Cannataro VL, Gaffney SG, Townsend JP. Environmental and sex-specific molecular signatures of glioma causation. Neuro-Oncology. 2021;24(1):29-36. 10.1093/neuonc/noab103

47. Ostrom QT, Adel Fahmideh M, Cote DJ, Muskens IS, Schraw JM, Scheurer ME, et al. Risk factors for childhood and adult primary brain tumors. Neuro Oncol. 2019 Nov 4;21(11):1357-75. 10.1093/neuonc/noz123

48. Kaplan S, Novikov I, Modan B. Nutritional factors in the etiology of brain tumors: potential role of nitrosamines, fat, and cholesterol. Am J Epidemiol. 1997 Nov 15;146(10):832-41. 10.1093/oxfordjournals.aje.a009201

49. Cohen AL, Colman H. Glioma biology and molecular markers. Cancer Treat Res. 2015;163:15-30. 10.1007/978-3-319-12048-5_2

50. Piel C, Pouchieu C, Migault L, Béziat B, Boulanger M, Bureau M, et al. Increased risk of central nervous system tumours with carbamate insecticide use in the prospective cohort AGRICAN. International Journal of Epidemiology. 2018;48(2):512-26. 10.1093/ije/dyy246

51. Piel C, Pouchieu C, Tual S, Migault L, Lemarchand C, Carles C, et al. Central nervous system tumors and agricultural exposures in the prospective cohort AGRICAN. International Journal of Cancer. 2017;141(9):1771-82. https://doi.org/10.1002/ijc.30879

52. Fallahi P, Foddis R, Cristaudo A, Antonelli A. High risk of brain tumors in farmers: a mini-review of the literature, and report of the results of a case control study. Clin Ter. 2017 Sep-Oct;168(5):e290-e2. 10.7417/t.2017.2022

53. Carles C, Bouvier G, Esquirol Y, Piel C, Migault L, Pouchieu C, et al. Residential proximity to agricultural land and risk of brain tumor in the general population. Environmental Research. 2017 2017/11/01/;159:321-30. https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.08.025

54. Vienne-Jumeau A, Tafani C, Ricard D. Environmental risk factors of primary brain tumors: A review. Rev Neurol (Paris). 2019 Dec;175(10):664-78. 10.1016/j.neurol.2019.08.004

55. Molina MJ, Molina LT. Megacities and Atmospheric Pollution. Journal of the Air & Waste Management Association. 2004 2004/06/01;54(6):644-80. 10.1080/10473289.2004.10470936

56. Gladson CL, Prayson RA, Liu WM. The pathobiology of glioma tumors. Annu Rev Pathol. 2010;5:33-50. 10.1146/annurev-pathol-121808-102109

57. Bi J, Chowdhry S, Wu S, Zhang W, Masui K, Mischel PS. Altered cellular metabolism in gliomas - an emerging landscape of actionable co-dependency targets. Nat Rev Cancer. 2020 Jan;20(1):57-70. 10.1038/s41568-019-0226-5

58. Dastagirzada Y, Suryadevara C, Weiss H, Orringer D. Neurosurgical Advances for Malignant Gliomas: Intersection of Biology and Technology. Cancer J. 2021 Sep-Oct 01;27(5):364-70. 10.1097/ppo.0000000000000548

59. Feng S, Liu Y. Metabolomics of Glioma. Adv Exp Med Biol. 2021;1280:261-76. 10.1007/978-3-030-51652-9_18

60. Fontebasso AM, Bechet D, Jabado N. Molecular biomarkers in pediatric glial tumors: a needed wind of change. Curr Opin Oncol. 2013 Nov;25(6):665-73. 10.1097/cco.0000000000000007

61. Gisina A, Kholodenko I, Kim Y, Abakumov M, Lupatov A, Yarygin K. Glioma Stem Cells: Novel Data Obtained by Single-Cell Sequencing. Int J Mol Sci. 2022 Nov 17;23(22). 10.3390/ijms232214224

62. Jo J, Diaz M, Horbinski C, Mackman N, Bagley S, Broekman M, et al. Epidemiology, biology, and management of venous thromboembolism in gliomas: An interdisciplinary review. Neuro Oncol. 2023 Aug 3;25(8):1381-94. 10.1093/neuonc/noad059

63. Kondo T. Molecular mechanisms involved in gliomagenesis. Brain Tumor Pathol. 2017 Jan;34(1):1-7. 10.1007/s10014-017-0278-8

64. Li J, Sulman E, Aldape K. Molecular biology of brain tumors. Handb Clin Neurol. 2012;104:23-34. 10.1016/b978-0-444-52138-5.00002-5

65. Marumoto T, Saya H. Molecular biology of glioma. Adv Exp Med Biol. 2012;746:2-11. 10.1007/978-1-4614-3146-6_1

66. Walker C, Baborie A, Crooks D, Wilkins S, Jenkinson MD. Biology, genetics and imaging of glial cell tumours. Br J Radiol. 2011 Dec;84 Spec No 2(Spec Iss 2):S90-106. 10.1259/bjr/23430927

67. Weingart J, Brem H. Biology and therapy of glial tumors. Curr Opin Neurol Neurosurg. 1992 Dec;5(6):808-12.

68. Martuza RL, Seizinger BR, Jacoby LB, Rouleau GA, Gusella JF. The molecular biology of human glial tumors. Trends Neurosci. 1988 Jan;11(1):22-7. 10.1016/0166-2236(88)90045-8

69. Pirlog R, Susman S, Iuga CA, Florian SI. Proteomic Advances in Glial Tumors through Mass Spectrometry Approaches. Medicina (Kaunas). 2019 Jul 27;55(8). 10.3390/medicina55080412

70. Reifenberger G, Wirsching HG, Knobbe-Thomsen CB, Weller M. Advances in the molecular genetics of gliomas - implications for classification and therapy. Nat Rev Clin Oncol. 2017 Jul;14(7):434-52. 10.1038/nrclinonc.2016.204

71. Begagić E, Bečulić H, Đuzić N, Džidić-Krivić A, Pugonja R, Muharemović A, et al. CRISPR/Cas9-Mediated Gene Therapy for Glioblastoma: A Scoping Review. Biomedicines. 2024 Jan 21;12(1). 10.3390/biomedicines12010238

72. Begagić E, Pugonja R, Bečulić H, Čeliković A, Tandir Lihić L, Kadić Vukas S, et al. Molecular Targeted Therapies in Glioblastoma Multiforme: A Systematic Overview of Global Trends and Findings. Brain Sci. 2023 Nov 17;13(11). 10.3390/brainsci13111602

73. Begagić E, Bečulić H, Džidić-Krivić A, Kadić Vukas S, Hadžić S, Mekić-Abazović A, et al. Understanding the Significance of Hypoxia-Inducible Factors (HIFs) in Glioblastoma: A Systematic Review. Cancers (Basel). 2024 May 30;16(11). 10.3390/cancers16112089

74. Chen R, Smith-Cohn M, Cohen AL, Colman H. Glioma Subclassifications and Their Clinical Significance. Neurotherapeutics. 2017 Apr;14(2):284-97. 10.1007/s13311-017-0519-x

75. Galbraith K, Snuderl M. Molecular Pathology of Gliomas. Surg Pathol Clin. 2021 Sep;14(3):379-86. 10.1016/j.path.2021.05.003

76. Ludwig K, Kornblum HI. Molecular markers in glioma. J Neurooncol. 2017 Sep;134(3):505-12. 10.1007/s11060-017-2379-y

77. Verdugo E, Puerto I, Medina M. An update on the molecular biology of glioblastoma, with clinical implications and progress in its treatment. Cancer Commun (Lond). 2022 Nov;42(11):1083-111. 10.1002/cac2.12361

78. Wang LM, Englander ZK, Miller ML, Bruce JN. Malignant Glioma. Adv Exp Med Biol. 2023;1405:1-30. 10.1007/978-3-031-23705-8_1

79. Bakkar M, Altinok D, Kupsky WJ, Marupudi NI, Chiang J, Gorsi HS. Central Nervous System Tumor With BCL6 Corepressor Internal Tandem Duplication: Treatment Course of a Long-term Survivor. J Pediatr Hematol Oncol. 2023 Aug 1;45(6):352-5. 10.1097/mph.0000000000002695

80. Bale TA, Rosenblum MK. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: An update on pediatric low-grade gliomas and glioneuronal tumors. Brain Pathol. 2022 Jul;32(4):e13060. 10.1111/bpa.13060

81. Berger TR, Wen PY, Lang-Orsini M, Chukwueke UN. World Health Organization 2021 Classification of Central Nervous System Tumors and Implications for Therapy for Adult-Type Gliomas: A Review. JAMA Oncol. 2022 Oct 1;8(10):1493-501. 10.1001/jamaoncol.2022.2844

82. Capper D, Jones DTW, Sill M, Hovestadt V, Schrimpf D, Sturm D, et al. DNA methylation-based classification of central nervous system tumours. Nature. 2018 Mar 22;555(7697):469-74. 10.1038/nature26000

83. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. Acta Neuropathol. 2016 Jun;131(6):803-20. 10.1007/s00401-016-1545-1

84. Louis DN, Perry A, Wesseling P, Brat DJ, Cree IA, Figarella-Branger D, et al. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. Neuro Oncol. 2021 Aug 2;23(8):1231-51. 10.1093/neuonc/noab106

85. Malbari F. Pediatric Neuro-Oncology. Neurol Clin. 2021 Aug;39(3):829-45. 10.1016/j.ncl.2021.04.005

86. Malta TM, Snyder J, Noushmehr H, Castro AV. Advances in Central Nervous System Tumor Classification. Adv Exp Med Biol. 2023;1416:121-35. 10.1007/978-3-031-29750-2_10

87. McLendon RE, Yachnis AT, Miller CR, Ng HK. Central Nervous System Tumor Classification: An Update on the Integration of Tumor Genetics. Hematol Oncol Clin North Am. 2022 Feb;36(1):1-21. 10.1016/j.hoc.2021.08.001

88. Miller KD, Ostrom QT, Kruchko C, Patil N, Tihan T, Cioffi G, et al. Brain and other central nervous system tumor statistics, 2021. CA Cancer J Clin. 2021 Sep;71(5):381-406. 10.3322/caac.21693

89. Packer RJ, Macdonald T, Vezina G. Central nervous system tumors. Hematol Oncol Clin North Am. 2010 Feb;24(1):87-108. 10.1016/j.hoc.2009.11.012

90. Śledzińska P, Bebyn MG, Furtak J, Kowalewski J, Lewandowska MA. Prognostic and Predictive Biomarkers in Gliomas. Int J Mol Sci. 2021 Sep 26;22(19). 10.3390/ijms221910373

91. Smith HL, Wadhwani N, Horbinski C. Major Features of the 2021 WHO Classification of CNS Tumors. Neurotherapeutics. 2022 Oct;19(6):1691-704. 10.1007/s13311-022-01249-0

92. Sturm D, Orr BA, Toprak UH, Hovestadt V, Jones DTW, Capper D, et al. New Brain Tumor Entities Emerge from Molecular Classification of CNS-PNETs. Cell. 2016 Feb 25;164(5):1060-72. 10.1016/j.cell.2016.01.015

93. Thomas DL. 2021 updates to the World Health Organization classification of adult-type and pediatric-type diffuse gliomas: a clinical practice review. Chin Clin Oncol. 2023 Feb;12(1):7. 10.21037/cco-22-120

94. Tran S, Bielle F. WHO 2021 and beyond: new types, molecular markers and tools for brain tumor classification. Curr Opin Oncol. 2022 Nov 1;34(6):670-5. 10.1097/cco.0000000000000903

95. Wen PY, Packer RJ. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: clinical implications. Neuro Oncol. 2021 Aug 2;23(8):1215-7. 10.1093/neuonc/noab120

96. Wesseling P, Capper D. WHO 2016 Classification of gliomas. Neuropathol Appl Neurobiol. 2018 Feb;44(2):139-50. 10.1111/nan.12432

97. Whitfield BT, Huse JT. Classification of adult-type diffuse gliomas: Impact of the World Health Organization 2021 update. Brain Pathol. 2022 Jul;32(4):e13062. 10.1111/bpa.13062

98. Yoda RA, Cimino PJ. Classification and Grading of Central Nervous System Tumors According to the World Health Organization 5th Edition. Semin Neurol. 2023 Dec;43(6):833-44. 10.1055/s-0043-1776793

99. Kurokawa R, Kurokawa M, Baba A, Ota Y, Pinarbasi E, Camelo-Piragua S, et al. Major Changes in 2021 World Health Organization Classification of Central Nervous System Tumors. Radiographics. 2022 Sep-Oct;42(5):1474-93. 10.1148/rg.210236

100. Veikutis V, Brazdziunas M, Keleras E, Basevicius A, Grib A, Skaudickas D, et al. Diagnostic Approaches to Adult-Type Diffuse Glial Tumors: Comparative Literature and Clinical Practice Study. Current Oncology. 2023;30(9):7818-35.

101. Jain S, Gupta P, Shankar KB, Singh R, Siraj F. Diagnostic algorithm for pathological evaluation of gliomas in a resource-constrained setting. J Cancer Res Ther. 2023 Apr-Jun;19(3):562-6. 10.4103/jcrt.jcrt_102_21

102. Pope WB, Sayre J, Perlina A, Villablanca JP, Mischel PS, Cloughesy TF. MR imaging correlates of survival in patients with high-grade gliomas. AJNR Am J Neuroradiol. 2005 Nov-Dec;26(10):2466-74.

103. Jafri NF, Clarke JL, Weinberg V, Barani IJ, Cha S. Relationship of glioblastoma multiforme to the subventricular zone is associated with survival. Neuro Oncol. 2013 Jan;15(1):91-6. 10.1093/neuonc/nos268

104. Kappadakunnel M, Eskin A, Dong J, Nelson SF, Mischel PS, Liau LM, et al. Stem cell associated gene expression in glioblastoma multiforme: relationship to survival and the subventricular zone. J Neurooncol. 2010 Feb;96(3):359-67. 10.1007/s11060-009-9983-4

105. Ostrom QT, Gittleman H, de Blank PM, Finlay JL, Gurney JG, McKean-Cowdin R, et al. American Brain Tumor Association Adolescent and Young Adult Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2008-2012. Neuro-Oncology. 2015;18(suppl_1):i1-i50. 10.1093/neuonc/nov297

106. Young GS. Advanced MRI of Adult Brain Tumors. Neurologic Clinics. 2007 2007/11/01/;25(4):947-73. https://doi.org/10.1016/j.ncl.2007.07.010

107. Jung T-Y, Jung S. Early Neuroimaging Findings of Glioblastoma Mimicking Non-neoplastic Cerebral Lesion

—Two Case Reports&mdash. Neurologia medico-chirurgica. 2007;47(9):424-7. 10.2176/nmc.47.424

108. Verburg N, de Witt Hamer PC. State-of-the-art imaging for glioma surgery. Neurosurg Rev. 2021 Jun;44(3):1331-43. 10.1007/s10143-020-01337-9

109. Tiefenbach J, Lu VM, Metzler AR, Palejwala A, Haider S, Ivan ME, et al. The use of advanced neuroimaging modalities in the evaluation of low-grade glioma in adults: a literature review. Neurosurg Focus. 2024 Feb;56(2):E3. 10.3171/2023.11.Focus23649

110. Li AY, Iv M. Conventional and Advanced Imaging Techniques in Post-treatment Glioma Imaging. Front Radiol. 2022;2:883293. 10.3389/fradi.2022.883293

111. Bernstock JD, Gary SE, Klinger N, Valdes PA, Ibn Essayed W, Olsen HE, et al. Standard clinical approaches and emerging modalities for glioblastoma imaging. Neurooncol Adv. 2022 Jan-Dec;4(1):vdac080. 10.1093/noajnl/vdac080

112. Carrete LR, Young JS, Cha S. Advanced Imaging Techniques for Newly Diagnosed and Recurrent Gliomas. Front Neurosci. 2022;16:787755. 10.3389/fnins.2022.787755

113. Bapuraj JR, Perni K, Gomez-Hassan D, Srinivasan A. Imaging Surveillance of Gliomas: Role of Basic and Advanced Imaging Techniques. Radiol Clin North Am. 2021 May;59(3):395-407. 10.1016/j.rcl.2021.01.006

114. Lee J, Chen MM, Liu HL, Ucisik FE, Wintermark M, Kumar VA. MR Perfusion Imaging for Gliomas. Magn Reson Imaging Clin N Am. 2024 Feb;32(1):73-83. 10.1016/j.mric.2023.07.003

115. Metz MC, Wiestler B. Molecular imaging of gliomas. Clin Neuropathol. 2023 Jul-Aug;42(4):131-9. 10.5414/np301535

116. Nabavizadeh SA, Ware JB, Wolf RL. Emerging Techniques in Imaging of Glioma Microenvironment. Top Magn Reson Imaging. 2020 Apr;29(2):103-14. 10.1097/rmr.0000000000000232

117. Bapuraj JR, Wang N, Srinivasan A, Rao A. Advanced Imaging and Computational Techniques for the Diagnostic and Prognostic Assessment of Malignant Gliomas. Cancer J. 2021 Sep-Oct 01;27(5):344-52. 10.1097/ppo.0000000000000545

118. Kamble AN, Agrawal NK, Koundal S, Bhargava S, Kamble AN, Joyner DA, et al. Imaging-based stratification of adult gliomas prognosticates survival and correlates with the

2021 WHO classification. Neuroradiology. 2023 Jan;65(1):41-54. 10.1007/s00234-022-03015-7

119. Chekhonin IV, Cohen O, Otazo R, Young RJ, Holodny AI, Pronin IN. Magnetic resonance relaxometry in quantitative imaging of brain gliomas: A literature review. Neuroradiol J. 2024 Jun;37(3):267-75. 10.1177/19714009231173100

120. Thambi R, Kandamuthan S, Sainulabdeen S, Vilasiniamma L, Abraham TR, Balakrishnan PK. Histopathological Analysis of Brain Tumours- A Seven Year Study from a Tertiary Care Centre in South India. J Clin Diagn Res. 2017 Jun;11(6):Ec05-ec8. 10.7860/jcdr/2017/25623.9990

121. Perry A, Wesseling P. Chapter 5 - Histologic classification of gliomas. In: Berger MS, Weller M, editors. Handbook of Clinical Neurology. 134: Elsevier; 2016. p. 71-95.

122. Elazab N, Gab-Allah WA, Elmogy M. A multi-class brain tumor grading system based on histopathological images using a hybrid YOLO and RESNET networks. Scientific Reports. 2024 2024/02/26;14(1):4584. 10.1038/s41598-024-54864-6

123. Figini M, Castellano A, Bailo M, Callea M, Cadioli M, Bouyagoub S, et al. Comprehensive Brain Tumour Characterisation with VERDICT-MRI: Evaluation of Cellular and Vascular Measures Validated by Histology. Cancers. 2023;15(9):2490.

124. Wesseling P, Kros JM, Jeuken JWM. The pathological diagnosis of diffuse gliomas: towards a smart synthesis of microscopic and molecular information in a multidisciplinary context. Diagnostic Histopathology. 2011 2011/11/01/;17(11):486-94. https://doi.org/10.1016/j.mpdhp.2011.08.005

125. Forjaz G, Barnholtz-Sloan JS, Kruchko C, Siegel R, Negoita S, Ostrom QT, et al. An updated histology recode for the analysis of primary malignant and nonmalignant brain and other central nervous system tumors in the Surveillance, Epidemiology, and End Results Program. Neurooncol Adv. 2021 Jan-Dec;3(1):vdaa175. 10.1093/noajnl/vdaa175

126. Rodriguez FJ, Vizcaino MA, Lin MT. Recent Advances on the Molecular Pathology of Glial Neoplasms in Children and Adults. J Mol Diagn. 2016 Sep;18(5):620-34. 10.1016/j.jmoldx.2016.05.005

127. Chiu FY, Yen Y. Imaging biomarkers for clinical applications in neuro-oncology: current status and future perspectives. Biomark Res. 2023 Mar 29;11(1):35. 10.1186/s40364-023-00476-7

128. Gritsch S, Batchelor TT, Gonzalez Castro LN. Diagnostic, therapeutic, and prognostic implications of the 2021 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system. Cancer. 2022 Jan 1;128(1):47-58. 10.1002/cncr.33918

129. Kristensen BW, Priesterbach-Ackley LP, Petersen JK, Wesseling P. Molecular pathology of tumors of the central nervous system. Ann Oncol. 2019 Aug 1;30(8):1265-78. 10.1093/annonc/mdz164

130. Udaka YT, Packer RJ. Pediatric Brain Tumors. Neurol Clin. 2018 Aug;36(3):533-56. 10.1016/j.ncl.2018.04.009

131. Ceccarelli M, Barthel FP, Malta TM, Sabedot TS, Salama SR, Murray BA, et al. Molecular Profiling Reveals Biologically Discrete Subsets and Pathways of Progression in Diffuse Glioma. Cell. 2016 Jan 28;164(3):550-63. 10.1016/j.cell.2015.12.028

132. Eckel-Passow JE, Lachance DH, Molinaro AM, Walsh KM, Decker PA, Sicotte H, et al. Glioma Groups Based on 1p/19q, IDH, and TERT Promoter Mutations in Tumors. N Engl J Med. 2015 Jun 25;372(26):2499-508. 10.1056/NEJMoa1407279

133. Muench A, Teichmann D, Spille D, Kuzman P, Perez E, May SA, et al. A Novel Type of IDH-wildtype Glioma Characterized by Gliomatosis Cerebri-like Growth Pattern, TERT Promoter Mutation, and Distinct Epigenetic Profile. Am J Surg Pathol. 2023 Dec 1;47(12):1364-75. 10.1097/pas.0000000000002118

134. Powter B, Jeffreys SA, Sareen H, Cooper A, Brungs D, Po J, et al. Human TERT promoter mutations as a prognostic biomarker in glioma. J Cancer Res Clin Oncol. 2021 Apr;147(4):1007-17. 10.1007/s00432-021-03536-3

135. Arrieta VA, Dmello C, McGrail DJ, Brat DJ, Lee-Chang C, Heimberger AB, et al. Immune checkpoint blockade in glioblastoma: from tumor heterogeneity to personalized treatment. J Clin Invest. 2023 Jan 17;133(2). 10.1172/jci163447

136. Elleaume H, Barth RF, Rousseau J, Bobyk L, Balosso J, Yang W, et al. Radiation therapy combined with intracerebral convection-enhanced delivery of cisplatin or carboplatin for treatment of the F98 rat glioma. J Neurooncol. 2020 Sep;149(2):193-208. 10.1007/s11060-020-03600-x

137. Eslahi M, Dana PM, Asemi Z, Hallajzadeh J, Mansournia MA, Yousefi B. The effects of chitosan-based materials on glioma: Recent advances in its applications for diagnosis and treatment. Int J Biol Macromol. 2021 Jan 31;168:124-9. 10.1016/j.ijbiomac.2020.11.180

138. Gatto L, Franceschi E, Tosoni A, Di Nunno V, Maggio I, Lodi R, et al. IDH Inhibitors and Beyond: The Cornerstone of Targeted Glioma Treatment. Mol Diagn Ther. 2021 Jul;25(4):457-73. 10.1007/s40291-021-00537-3

139. Govindarajan V, Shah AH, Di L, Rivas S, Suter RK, Eichberg DG, et al. Systematic Review of Epigenetic Therapies for Treatment of IDH-mutant Glioma. World Neurosurg. 2022 Jun;162:47-56. 10.1016/j.wneu.2022.03.051

140. Luiz MT, Tofani LB, Araújo VHS, Di Filippo LD, Duarte JL, Marchetti JM, et al. Gene Therapy Based on Lipid Nanoparticles as Non-viral Vectors for Glioma Treatment. Curr Gene Ther. 2021;21(5):452-63. 10.2174/1566523220999201230205126

141. Nicholson JG, Fine HA. Diffuse Glioma Heterogeneity and Its Therapeutic Implications. Cancer Discov. 2021 Mar;11(3):575-90. 10.1158/2159-8290.Cd-20-1474

142. Pucko E, Ostrowski R. Targeting protein kinases for anti-glioma treatment. Folia Neuropathol. 2020;58(4):287-98. 10.5114/fn.2020.102430

143. Sait SF, Giantini-Larsen AM, Tringale KR, Souweidane MM, Karajannis MA. Treatment of Pediatric Low-Grade Gliomas. Curr Neurol Neurosci Rep. 2023 Apr;23(4):185-99. 10.1007/s11910-023-01257-3

144. Schaff LR, Mellinghoff IK. Glioblastoma and Other Primary Brain Malignancies in Adults: A Review. Jama. 2023 Feb 21;329(7):574-87. 10.1001/jama.2023.0023

145. Śledzińska P, Bebyn M, Furtak J, Koper A, Koper K. Current and promising treatment strategies in glioma. Rev Neurosci. 2023 Jul 26;34(5):483-516. 10.1515/revneuro-2022-0060

146. van den Bent MJ, Geurts M, French PJ, Smits M, Capper D, Bromberg JEC, et al. Primary brain tumours in adults. Lancet. 2023 Oct 28;402(10412):1564-79. 10.1016/s0140-6736(23)01054-1

147. Xu S, Tang L, Li X, Fan F, Liu Z. Immunotherapy for glioma: Current management and future application. Cancer Lett. 2020 Apr 28;476:1-12. 10.1016/j.canlet.2020.02.002

148. Yasinjan F, Xing Y, Geng H, Guo R, Yang L, Liu Z, et al. Immunotherapy: a promising approach for glioma treatment. Front Immunol. 2023;14:1255611. 10.3389/fimmu.2023.1255611

149. Zhou S, Cisse B. Regulation of Microglia for the Treatment of Glioma. World Neurosurg. 2021 Oct;154:222-7. 10.1016/j.wneu.2021.06.107

150. Agosti E, Zeppieri M, De Maria L, Tedeschi C, Fontanella MM, Panciani PP, et al. Glioblastoma Immunotherapy: A Systematic Review of the Present Strategies and Prospects for Advancements. Int J Mol Sci. 2023 Oct 10;24(20). 10.3390/ijms242015037

151. Akkari L, Bowman RL, Tessier J, Klemm F, Handgraaf SM, de Groot M, et al. Dynamic changes in glioma macrophage populations after radiotherapy reveal CSF-1R inhibition as a strategy to overcome resistance. Sci Transl Med. 2020 Jul 15;12(552). 10.1126/scitranslmed.aaw7843

152. Barthel L, Hadamitzky M, Dammann P, Schedlowski M, Sure U, Thakur BK, et al. Glioma: molecular signature and crossroads with tumor microenvironment. Cancer Metastasis Rev. 2022 Mar;41(1):53-75. 10.1007/s10555-021-09997-9

153. Howarth A, Madureira PA, Lockwood G, Storer LCD, Grundy R, Rahman R, et al. Modulating autophagy as a therapeutic strategy for the treatment of paediatric high-grade glioma. Brain Pathol. 2019 Nov;29(6):707-25. 10.1111/bpa.12729

154. Malta TM, de Souza CF, Sabedot TS, Silva TC, Mosella MS, Kalkanis SN, et al. Glioma CpG island methylator phenotype (G-CIMP): biological and clinical implications. Neuro Oncol. 2018 Apr 9;20(5):608-20. 10.1093/neuonc/nox183

155. Miller JJ. Targeting IDH-Mutant Glioma. Neurotherapeutics. 2022 Oct;19(6):1724-32. 10.1007/s13311-022-01238-3

156. Obrador E, Moreno-Murciano P, Oriol-Caballo M, López-Blanch R, Pineda B, Gutiérrez-Arroyo JL, et al. Glioblastoma Therapy: Past, Present and Future. Int J Mol Sci. 2024 Feb 21;25(5). 10.3390/ijms25052529

157. Weller M, Wen PY, Chang SM, Dirven L, Lim M, Monje M, et al. Glioma. Nat Rev Dis Primers. 2024 May 9;10(1):33. 10.1038/s41572-024-00516-y

158. Baumert BG, Hegi ME, van den Bent MJ, von Deimling A, Gorlia T, Hoang-Xuan K, et al. Temozolomide chemotherapy versus radiotherapy in high-risk low-grade glioma (EORTC 22033-26033): a randomised, open-label, phase 3 intergroup study. Lancet Oncol. 2016 Nov;17(11):1521-32. 10.1016/s1470-2045(16)30313-8

159. Bell EH, Zhang P, Shaw EG, Buckner JC, Barger GR, Bullard DE, et al. Comprehensive Genomic Analysis in NRG Oncology/RTOG 9802: A Phase III Trial of Radiation Versus Radiation Plus Procarbazine, Lomustine (CCNU), and Vincristine in High-Risk Low-Grade Glioma. J Clin Oncol. 2020 Oct 10;38(29):3407-17. 10.1200/jco.19.02983

160. Shaw E, Arusell R, Scheithauer B, O'Fallon J, O'Neill B, Dinapoli R, 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 May 1;20(9):2267-76. 10.1200/jco.2002.09.126

161. van den Bent MJ, Tesileanu CMS, Wick W, Sanson M, Brandes AA, Clement PM, et al. Adjuvant and concurrent temozolomide for 1p/19q non-co-deleted anaplastic glioma (CATNON; EORTC study 26053-22054): second interim analysis of a randomised, open-label, phase 3 study. Lancet Oncol. 2021 Jun;22(6):813-23. 10.1016/s1470-2045(21)00090-5

162. Gilbert MR, Wang M, Aldape KD, Stupp R, Hegi ME, Jaeckle KA, et al. Dose-dense temozolomide for newly diagnosed glioblastoma: a randomized phase III clinical trial. J Clin Oncol. 2013 Nov 10;31(32):4085-91. 10.1200/jco.2013.49.6968

163. Chinot OL, Wick W, Mason W, Henriksson R, Saran F, Nishikawa R, et al. Bevacizumab plus radiotherapy-temozolomide for newly diagnosed glioblastoma. N Engl J Med. 2014 Feb 20;370(8):709-22. 10.1056/NEJMoa1308345

164. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. Nature. 2008 Oct 23;455(7216):1061-8. 10.1038/nature07385

165. Lee JH, Wee CW. Treatment of Adult Gliomas: A Current Update. Brain Neurorehabil. 2022 11/;15(3).

166. Dong P, Xiong Y, Yue J, Hanley SJB, Watari H. B7H3 As a Promoter of Metastasis and Promising Therapeutic Target. Front Oncol. 2018;8:264. 10.3389/fonc.2018.00264

167. Feustel K, Martin J, Falchook GS. B7-H3 Inhibitors in Oncology Clinical Trials: A Review. J Immunother Precis Oncol. 2024 Feb;7(1):53-66. 10.36401/jipo-23-18

168. Guo X, Chang M, Wang Y, Xing B, Ma W. B7-H3 in Brain Malignancies: Immunology and Immunotherapy. Int J Biol Sci. 2023;19(12):3762-80. 10.7150/ijbs.85813

169. Kontos F, Michelakos T, Kurokawa T, Sadagopan A, Schwab JH, Ferrone CR, et al. B7-H3: An Attractive Target for Antibody-based Immunotherapy. Clin Cancer Res. 2021 Mar 1;27(5):1227-35. 10.1158/1078-0432.Ccr-20-2584

170. Santiago-Vicente Y, de Jesús Castillejos-López M, Carmona-Aparicio L, Coballase-Urrutia E, Velasco-Hidalgo L, Niembro-Zúñiga AM, et al. Immunotherapy for Pediatric

Gliomas: CAR-T Cells Against B7H3: A Review of the Literature. CNS Neurol Disord Drug Targets. 2024;23(4):420-30. 10.2174/1871527322666230406094257

171. Sardinha M, Palma Dos Reis AF, Barreira JV, Fontes Sousa M, Pacey S, Luz R. Antibody-Drug Conjugates in Prostate Cancer: A Systematic Review. Cureus. 2023 Feb;15(2):e34490. 10.7759/cureus.34490

172. Sharma R, Suravarjhula L, Banerjee M, Kumar G, Kumar N. Chimeric Antigen Receptor T-cell Therapy in Cancer: A Critical Review. Curr Drug Res Rev. 2023;15(3):241-61. 10.2174/2589977515666230220092125

173. Zhao B, Li H, Xia Y, Wang Y, Wang Y, Shi Y, et al. Immune checkpoint of B7-H3 in cancer: from immunology to clinical immunotherapy. J Hematol Oncol. 2022 Oct 25;15(1):153. 10.1186/s13045-022-01364-7

174. Zhou WT, Jin WL. B7-H3/CD276: An Emerging Cancer Immunotherapy. Front Immunol. 2021;12:701006. 10.3389/fimmu.2021.701006

175. Ni L, Dong C. New B7 Family Checkpoints in Human Cancers. Mol Cancer Ther. 2017 Jul;16(7):1203-11. 10.1158/1535-7163.Mct-16-0761

176. Shi J, Zhao H, Lian H, Ke L, Zhao L, Wang C, et al. CD276 (B7H3) improve cancer stem cells formation in cervical carcinoma cell lines. Transl Cancer Res. 2021 Jan;10(1):65-72. 10.21037/tcr-19-2910

177. Zhao B, Li H, Xia Y, Wang Y, Wang Y, Shi Y, et al. Immune checkpoint of B7-H3 in cancer: from immunology to clinical immunotherapy. Journal of Hematology & Oncology. 2022 2022/10/25;15(1):153. 10.1186/s13045-022-01364-7

178. Bolandi N, Derakhshani A, Hemmat N, Baghbanzadeh A, Asadzadeh Z, Afrashteh Nour M, et al. The Positive and Negative Immunoregulatory Role of B7 Family: Promising Novel Targets in Gastric Cancer Treatment. Int J Mol Sci. 2021 Oct 3;22(19). 10.3390/ijms221910719

179. Du H, Hirabayashi K, Ahn S, Kren NP, Montgomery SA, Wang X, et al. Antitumor Responses in the Absence of Toxicity in Solid Tumors by Targeting B7-H3 via Chimeric Antigen Receptor T Cells. Cancer Cell. 2019 Feb 11;35(2):221-37.e8. 10.1016/j.ccell.2019.01.002

180. Ganesan B, Parameswaran S, Sharma A, Krishnakumar S. Clinical relevance of B7H3 expression in retinoblastoma. Sci Rep. 2020 Jun 23;10(1):10185. 10.1038/s41598-020-67101-7

181. Moghimi B, Muthugounder S, Jambon S, Tibbetts R, Hung L, Bassiri H, et al. Preclinical assessment of the efficacy and specificity of GD2-B7H3 SynNotch CAR-T in metastatic neuroblastoma. Nat Commun. 2021 Jan 21;12(1):511. 10.1038/s41467-020-20785-x

182. Wang Y, Ji N, Zhang Y, Chu J, Pan C, Zhang P, et al. B7H3-targeting chimeric antigen receptor modification enhances antitumor effect of Vγ9Vδ2 T cells in glioblastoma. J Transl Med. 2023 Sep 28;21(1):672. 10.1186/s12967-023-04514-8

183. Xu Z, Peng B, Liang Q, Chen X, Cai Y, Zeng S, et al. Construction of a Ferroptosis-Related Nine-lncRNA Signature for Predicting Prognosis and Immune Response in Hepatocellular Carcinoma. Front Immunol. 2021;12:719175. 10.3389/fimmu.2021.719175

184. Zhang Y, Zheng J. Functions of Immune Checkpoint Molecules Beyond Immune Evasion. Adv Exp Med Biol. 2020;1248:201-26. 10.1007/978-981-15-3266-5_9

185. Fang C, Rinke AE, Wang J, Flaherty KR, Phan SH, Liu T. B7H3 expression and significance in idiopathic pulmonary fibrosis. J Pathol. 2022 Mar;256(3):310-20. 10.1002/path.5838

186. Hu X, Qiu Y, Zeng X, Wang H. Exosomes reveal the dual nature of radiotherapy in tumor immunology. Cancer Sci. 2022 Apr;113(4):1105-12. 10.1111/cas.15314

187. Jin H, Zhu M, Zhang D, Liu X, Guo Y, Xia L, et al. B7H3 increases ferroptosis resistance by inhibiting cholesterol metabolism in colorectal cancer. Cancer Sci. 2023 Nov;114(11):4225-36. 10.1111/cas.15944

188. Mielcarska S, Dawidowicz M, Kula A, Kiczmer P, Skiba H, Krygier M, et al. B7H3 Role in Reshaping Immunosuppressive Landscape in MSI and MSS Colorectal Cancer Tumours. Cancers (Basel). 2023 Jun 10;15(12). 10.3390/cancers15123136

189. Peuker K, Strigli A, Tauriello DVF, Hendricks A, von Schönfels W, Burmeister G, et al. Microbiota-dependent activation of the myeloid calcineurin-NFAT pathway inhibits B7H3- and B7H4-dependent anti-tumor immunity in colorectal cancer. Immunity. 2022 Apr 12;55(4):701-17.e7. 10.1016/j.immuni.2022.03.008

190. Belluomini L, Sposito M, Avancini A, Insolda J, Milella M, Rossi A, et al. Unlocking New Horizons in Small-Cell Lung Cancer Treatment: The Onset of Antibody-Drug Conjugates. Cancers (Basel). 2023 Nov 10;15(22). 10.3390/cancers15225368

191. Carvajal-Hausdorf D, Altan M, Velcheti V, Gettinger SN, Herbst RS, Rimm DL, et al. Expression and clinical significance of PD-L1, B7-H3, B7-H4 and TILs in human small cell lung Cancer (SCLC). J Immunother Cancer. 2019 Mar 8;7(1):65. 10.1186/s40425-019-0540-1

192. Rasic P, Jeremic M, Jeremic R, Dusanovic Pjevic M, Rasic M, Djuricic SM, et al. Targeting B7-H3—A Novel Strategy for the Design of Anticancer Agents for Extracranial Pediatric Solid Tumors Treatment. Molecules. 2023;28(8):3356.

193. Nie J, Yang R, Zhou R, Deng Y, Li D, Gou D, et al. Circular RNA circFARSA promotes the tumorigenesis of non-small cell lung cancer by elevating B7H3 via sponging miR-15a-5p. Cell Cycle. 2022 Dec;21(24):2575-89. 10.1080/15384101.2022.2105087

194. Passaro A, Jänne PA, Peters S. Antibody-Drug Conjugates in Lung Cancer: Recent Advances and Implementing Strategies. J Clin Oncol. 2023 Jul 20;41(21):3747-61. 10.1200/jco.23.00013

195. Yu T, Nie FQ, Zhang Q, Yu SK, Zhang ML, Wang Q, et al. Effects of methionine deficiency on B7H3-DAP12-CAR-T cells in the treatment of lung squamous cell carcinoma. Cell Death Dis. 2024 Jan 5;15(1):12. 10.1038/s41419-023-06376-w

196. Scribner JA, Brown JG, Son T, Chiechi M, Li P, Sharma S, et al. Preclinical Development of MGC018, a Duocarmycin-based Antibody-drug Conjugate Targeting B7-H3 for Solid Cancer. Mol Cancer Ther. 2020 Nov;19(11):2235-44. 10.1158/1535-7163.Mct-20-0116

197. Cao Y, Efetov SK, He M, Fu Y, Beeraka NM, Zhang J, et al. Updated Clinical Perspectives and Challenges of Chimeric Antigen Receptor-T Cell Therapy in Colorectal Cancer and Invasive Breast Cancer. Arch Immunol Ther Exp (Warsz). 2023 Aug 11;71(1):19. 10.1007/s00005-023-00684-x

198. Wang R, Ma Y, Zhan S, Zhang G, Cao L, Zhang X, et al. B7-H3 promotes colorectal cancer angiogenesis through activating the NF-κB pathway to induce VEGFA expression. Cell Death Dis. 2020 Jan 23;11(1):55. 10.1038/s41419-020-2252-3

199. Zhang H, Zhu M, Zhao A, Shi T, Xi Q. B7-H3 regulates anti-tumor immunity and promotes tumor development in colorectal cancer. Biochim Biophys Acta Rev Cancer. 2024 Jan;1879(1):189031. 10.1016/j.bbcan.2023.189031

200. Avci O, Çavdar E, İriağaç Y, Karaboyun K, Çelikkol A, Özçağlayan Tİ K, et al. Soluble B7H3 level in breast cancer and its relationship with clinicopathological variables and T cell infiltration. Contemp Oncol (Pozn). 2022;26(1):27-31. 10.5114/wo.2022.113502

201. Costa A, Kieffer Y, Scholer-Dahirel A, Pelon F, Bourachot B, Cardon M, et al. Fibroblast Heterogeneity and Immunosuppressive Environment in Human Breast Cancer. Cancer Cell. 2018 Mar 12;33(3):463-79.e10. 10.1016/j.ccell.2018.01.011

202. Feng Y, Lee J, Yang L, Hilton MB, Morris K, Seaman S, et al. Engineering CD276/B7-H3-targeted antibody-drug conjugates with enhanced cancer-eradicating capability. Cell Rep. 2023 Dec 26;42(12):113503. 10.1016/j.celrep.2023.113503

203. Jiang Y, Liu J, Chen L, Qian Z, Zhang Y. A promising target for breast cancer: B7-H3. BMC Cancer. 2024 Feb 7;24(1):182. 10.1186/s12885-024-11933-3

204. Agarwal S, Fang L, McGowen K, Yin J, Bowman J, Ku AT, et al. Tumor-derived biomarkers predict efficacy of B7H3 antibody-drug conjugate treatment in metastatic prostate cancer models. J Clin Invest. 2023 Nov 15;133(22). 10.1172/jci162148

205. Guo C, Figueiredo I, Gurel B, Neeb A, Seed G, Crespo M, et al. B7-H3 as a Therapeutic Target in Advanced Prostate Cancer. Eur Urol. 2023 Mar;83(3):224-38. 10.1016/j.eururo.2022.09.004

206. Rosellini M, Santoni M, Mollica V, Rizzo A, Cimadamore A, Scarpelli M, et al. Treating Prostate Cancer by Antibody-Drug Conjugates. Int J Mol Sci. 2021 Feb 4;22(4). 10.3390/ijms22041551

207. Shenderov E, De Marzo AM, Lotan TL, Wang H, Chan S, Lim SJ, et al. Neoadjuvant enoblituzumab in localized prostate cancer: a single-arm, phase 2 trial. Nat Med. 2023 Apr;29(4):888-97. 10.1038/s41591-023-02284-w

208. Shi W, Wang Y, Zhao Y, Kim JJ, Li H, Meng C, et al. Immune checkpoint B7-H3 is a therapeutic vulnerability in prostate cancer harboring PTEN and TP53 deficiencies. Sci Transl Med. 2023 May 10;15(695):eadf6724. 10.1126/scitranslmed.adf6724

209. Rasic P, Jovanovic-Tucovic M, Jeremic M, Djuricic SM, Vasiljevic ZV, Milickovic M, et al. B7 homologue 3 as a prognostic biomarker and potential therapeutic target in gastrointestinal tumors. World J Gastrointest Oncol. 2021 Aug 15;13(8):799-821. 10.4251/wjgo.v13.i8.799

210. Ma J, Shang T, Ma P, Sun X, Zhao J, Sun X, et al. Bispecific anti-CD3 x anti-B7-H3 antibody mediates T cell cytotoxic ability to human melanoma in vitro and in vivo. Invest New Drugs. 2019 Oct;37(5):1036-43. 10.1007/s10637-018-00719-7

211. Nygren MK, Tekle C, Ingebrigtsen VA, Fodstad O. B7-H3 and its relevance in cancer; immunological and non-immunological perspectives. Front Biosci (Elite Ed). 2011 Jun 1;3(3):989-93. 10.2741/e304

212. Wang J, Chong KK, Nakamura Y, Nguyen L, Huang SK, Kuo C, et al. B7-H3 associated with tumor progression and epigenetic regulatory activity in cutaneous melanoma. J Invest Dermatol. 2013 Aug;133(8):2050-8. 10.1038/jid.2013.114

213. Ziogas DC, Theocharopoulos C, Lialios PP, Foteinou D, Koumprentziotis IA, Xynos G, et al. Beyond CTLA-4 and PD-1 Inhibition: Novel Immune Checkpoint Molecules for Melanoma Treatment. Cancers (Basel). 2023 May 11;15(10). 10.3390/cancers15102718

214. Gao Q, Huang C, Liu T, Yang F, Chen Z, Sun L, et al. Gastric cancer mesenchymal stem cells promote tumor glycolysis and chemoresistance by regulating B7H3 in gastric cancer cells. J Cell Biochem. 2024 Mar;125(3):e30521. 10.1002/jcb.30521

215. Lutz MS, Zekri L, Weßling L, Berchtold S, Heitmann JS, Lauer UM, et al. IgG-based B7-H3xCD3 bispecific antibody for treatment of pancreatic, hepatic and gastric cancer. Front Immunol. 2023;14:1163136. 10.3389/fimmu.2023.1163136

216. Sun F, Yu X, Ju R, Wang Z, Wang Y. Antitumor responses in gastric cancer by targeting B7H3 via chimeric antigen receptor T cells. Cancer Cell Int. 2022 Jan 31;22(1):50. 10.1186/s12935-022-02471-8

217. Xia L, Chen Y, Li J, Wang J, Shen K, Zhao A, et al. B7-H3 confers stemness characteristics to gastric cancer cells by promoting glutathione metabolism through AKT/pAKT/Nrf2 pathway. Chin Med J (Engl). 2023 Aug 20;136(16):1977-89. 10.1097/cm9.0000000000002772

218. Cao G, Zhang G, Liu M, Liu J, Wang Q, Zhu L, et al. GPC3-targeted CAR-T cells secreting B7H3-targeted BiTE exhibit potent cytotoxicity activity against hepatocellular

carcinoma cell in the in vitro assay. Biochem Biophys Rep. 2022 Sep;31:101324. 10.1016/j.bbrep.2022.101324

219. Luo L, Qiao H, Meng F, Dong X, Zhou B, Jiang H, et al. Arsenic trioxide synergizes with B7H3-mediated immunotherapy to eradicate hepatocellular carcinomas. Int J Cancer. 2006 Apr 1;118(7):1823-30. 10.1002/ijc.21557

220. Qiu MJ, He XX, Bi NR, Wang MM, Xiong ZF, Yang SL. Effects of liver-targeted drugs on expression of immune-related proteins in hepatocellular carcinoma cells. Clin Chim Acta. 2018 Oct;485:103-5. 10.1016/j.cca.2018.06.032

221. Wang Y, Drum DL, Sun R, Zhang Y, Chen F, Sun F, et al. Stressed target cancer cells drive nongenetic reprogramming of CAR T cells and solid tumor microenvironment. Nat Commun. 2023 Sep 15;14(1):5727. 10.1038/s41467-023-41282-x

222. Han S, Shi X, Liu L, Zong L, Zhang J, Chen Q, et al. Roles of B7-H3 in Cervical Cancer and Its Prognostic Value. J Cancer. 2018;9(15):2612-24. 10.7150/jca.24959

223. Han S, Wang Y, Shi X, Zong L, Liu L, Zhang J, et al. Negative roles of B7-H3 and B7-H4 in the microenvironment of cervical cancer. Exp Cell Res. 2018 Oct 1;371(1):222-30. 10.1016/j.yexcr.2018.08.014

224. Zong L, Gu Y, Zhou Y, Kong Y, Mo S, Yu S, et al. Expression of B7 family checkpoint proteins in cervical cancer. Mod Pathol. 2022 Jun;35(6):786-93. 10.1038/s41379-021-00979-4

225. Zhang C, Zhang Z, Li F, Shen Z, Qiao Y, Li L, et al. Large-scale analysis reveals the specific clinical and immune features of B7-H3 in glioma. Oncoimmunology. 2018;7(11):e1461304. 10.1080/2162402x.2018.1461304

226. Takashima Y, Kawaguchi A, Hayano A, Yamanaka R. CD276 and the gene signature composed of GATA3 and LGALS3 enable prognosis prediction of glioblastoma multiforme. PLoS One. 2019;14(5):e0216825. 10.1371/journal.pone.0216825

227. Haydar D, Houke H, Chiang J, Yi Z, Odé Z, Caldwell K, et al. Cell-surface antigen profiling of pediatric brain tumors: B7-H3 is consistently expressed and can be targeted via local or systemic CAR T-cell delivery. Neuro Oncol. 2021 Jun 1;23(6):999-1011. 10.1093/neuonc/noaa278

228. Maachani UB, Tosi U, Pisapia DJ, Mukherjee S, Marnell CS, Voronina J, et al. B7-H3 as a Prognostic Biomarker and Therapeutic Target in Pediatric central nervous system Tumors. Transl Oncol. 2020 Feb;13(2):365-71. 10.1016/j.tranon.2019.11.006

229. Park JA, Cheung NV. Targets and Antibody Formats for Immunotherapy of Neuroblastoma. J Clin Oncol. 2020 Jun 1;38(16):1836-48. 10.1200/jco.19.01410

230. Theruvath J, Sotillo E, Mount CW, Graef CM, Delaidelli A, Heitzeneder S, et al. Locoregionally administered B7-H3-targeted CAR T cells for treatment of atypical teratoid/rhabdoid tumors. Nat Med. 2020 May;26(5):712-9. 10.1038/s41591-020-0821-8

231. Alva E, Rubens J, Chi S, Rosenberg T, Reddy A, Raabe EH, et al. Recent progress and novel approaches to treating atypical teratoid rhabdoid tumor. Neoplasia. 2023 Mar;37:100880. 10.1016/j.neo.2023.100880

232. Tran S, Plant-Fox AS, Chi SN, Narendran A. Current advances in immunotherapy for atypical teratoid rhabdoid tumor (ATRT). Neurooncol Pract. 2023 Aug;10(4):322-34. 10.1093/nop/npad005

233. Bottino C, Vitale C, Dondero A, Castriconi R. B7-H3 in Pediatric Tumors: Far beyond Neuroblastoma. Cancers (Basel). 2023 Jun 21;15(13). 10.3390/cancers15133279

234. Zhang H, Zhang J, Li C, Xu H, Dong R, Chen CC, et al. Survival Association and Cell Cycle Effects of B7H3 in Neuroblastoma. J Korean Neurosurg Soc. 2020 Nov;63(6):707-16. 10.3340/jkns.2019.0255

235. Tang M, Chen C, Wang G, Wang Y, Zhang Z, Li H, et al. Evaluation of B7-H3 Targeted Immunotherapy in a 3D Organoid Model of Craniopharyngioma. Biomolecules. 2022 Nov 24;12(12). 10.3390/biom12121744

236. Wang Y, Deng J, Wang L, Zhou T, Yang J, Tian Z, et al. Expression and clinical significance of PD-L1, B7-H3, B7-H4 and VISTA in craniopharyngioma. Journal for ImmunoTherapy of Cancer. 2020;8(2):e000406. 10.1136/jitc-2019-000406

237. Chen C, Wang Y, Zhong K, Jiang C, Wang L, Yuan Z, et al. Frequent B7-H3 overexpression in craniopharyngioma. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2019 2019/06/25/;514(2):379-85. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.04.142

238. Hu B, Hao S, Miao Y, Deng Y, Wang J, Wan H, et al. Inhibiting PP2A Upregulates B7-H3 Expression and Potentially Increases the Sensitivity of Malignant Meningiomas to Immunotherapy by Proteomics. Pathol Oncol Res. 2022;28:1610572. 10.3389/pore.2022.1610572

239. Park JH, Pyun WY, Park HW. Cancer Metabolism: Phenotype, Signaling and Therapeutic Targets. Cells. 2020 Oct 16;9(10). 10.3390/cells9102308

240. Yang S, Wei W, Zhao Q. B7-H3, a checkpoint molecule, as a target for cancer immunotherapy. Int J Biol Sci. 2020;16(11):1767-73. 10.7150/ijbs.41105

241. Ahmed M, Cheng M, Zhao Q, Goldgur Y, Cheal SM, Guo HF, et al. Humanized Affinity-matured Monoclonal Antibody 8H9 Has Potent Antitumor Activity and Binds to FG Loop of Tumor Antigen B7-H3. J Biol Chem. 2015 Dec 11;290(50):30018-29. 10.1074/jbc.M115.679852

242. Kovaleva OV, Belova TP, Korotkova EA, Kushlinskii DN, Gratchev AN, Petrikova NA, et al. Soluble B7-H3 in Ovarian Cancer and Its Predictive Value. Bull Exp Biol Med. 2021 Aug;171(4):472-4. 10.1007/s10517-021-05253-w

243. Huang L, Zhou Y, Sun Q, Cao L, Zhang X. Evaluation of the role of soluble B7-H3 in association with membrane B7-H3 expression in gastric adenocarcinoma. Cancer Biomark. 2022;33(1):123-9. 10.3233/cbm-210178

244. Dodson M, Castro-Portuguez R, Zhang DD. NRF2 plays a critical role in mitigating lipid peroxidation and ferroptosis. Redox Biol. 2019 May;23:101107. 10.1016/j.redox.2019.101107

245. Jaramillo MC, Zhang DD. The emerging role of the Nrf2-Keap1 signaling pathway in cancer. Genes Dev. 2013 Oct 15;27(20):2179-91. 10.1101/gad.225680.113

246. Sánchez-Ortega M, Carrera AC, Garrido A. Role of NRF2 in Lung Cancer. Cells. 2021 Jul 24;10(8). 10.3390/cells10081879

247. Zuo J, Wang B, Long M, Gao Z, Zhang Z, Wang H, et al. The type 1 transmembrane glycoprotein B7-H3 interacts with the glycolytic enzyme ENO1 to promote malignancy and glycolysis in HeLa cells. FEBS Lett. 2018 Jul;592(14):2476-88. 10.1002/1873-3468.13164

248. Deng M, Wu D, Zhang Y, Jin Z, Miao J. MiR-29c downregulates tumor-expressed B7-H3 to mediate the antitumor NK-cell functions in ovarian cancer. Gynecol Oncol. 2021 Jul;162(1):190-9. 10.1016/j.ygyno.2021.04.013

249. Sun M, Richards S, Prasad DV, Mai XM, Rudensky A, Dong C. Characterization of mouse and human B7-H3 genes. J Immunol. 2002 Jun 15;168(12):6294-7. 10.4049/jimmunol.168.12.6294

250. Aggarwal C, Prawira A, Antonia S, Rahma O, Tolcher A, Cohen RB, et al. Dual checkpoint targeting of B7-H3 and PD-1 with enoblituzumab and pembrolizumab in advanced solid tumors: interim results from a multicenter phase I/II trial. J Immunother Cancer. 2022 Apr;10(4). 10.1136/jitc-2021-004424

251. Benzon B, Zhao SG, Haffner MC, Takhar M, Erho N, Yousefi K, et al. Correlation of B7-H3 with androgen receptor, immune pathways and poor outcome in prostate cancer: an expression-based analysis. Prostate Cancer Prostatic Dis. 2017 Mar;20(1):28-35. 10.1038/pcan.2016.49

252. Malapelle U, Parente P, Pepe F, Di Micco MC, Russo A, Clemente C, et al. B7-H3/CD276 Inhibitors: Is There Room for the Treatment of Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer? Int J Mol Sci. 2022 Dec 16;23(24). 10.3390/ijms232416077

253. Modak S, Zanzonico P, Grkovski M, Slotkin EK, Carrasquillo JA, Lyashchenko SK, et al. B7H3-Directed Intraperitoneal Radioimmunotherapy With Radioiodinated Omburtamab for Desmoplastic Small Round Cell Tumor and Other Peritoneal Tumors: Results of a Phase I Study. J Clin Oncol. 2020 Dec 20;38(36):4283-91. 10.1200/jco.20.01974

254. Kramer K, Pandit-Taskar N, Kushner BH, Zanzonico P, Humm JL, Tomlinson U, et al. Phase 1 study of intraventricular (131)I-omburtamab targeting B7H3 (CD276)-expressing CNS malignancies. J Hematol Oncol. 2022 Nov 12;15(1):165. 10.1186/s13045-022-01383-4

255. Huang Y, Zhang HL, Li ZL, Du T, Chen YH, Wang Y, et al. FUT8-mediated aberrant N-glycosylation of B7H3 suppresses the immune response in triple-negative breast cancer. Nat Commun. 2021 May 11;12(1):2672. 10.1038/s41467-021-22618-x

256. Fabrizio FP, Muscarella LA, Rossi A. B7-H3/CD276 and small-cell lung cancer: What's new? Transl Oncol. 2024 Jan;39:101801. 10.1016/j.tranon.2023.101801

257. Koumprentziotis IA, Theocharopoulos C, Foteinou D, Angeli E, Anastasopoulou A, Gogas H, et al. New Emerging Targets in Cancer Immunotherapy: The Role of B7-H3. Vaccines (Basel). 2024 Jan 5;12(1). 10.3390/vaccines12010054

258. He J, Zeng X, Wang C, Wang E, Li Y. Antibody-drug conjugates in cancer therapy: mechanisms and clinical studies. MedComm (2020). 2024 Aug;5(8):e671. 10.1002/mco2.671

259. Meng Y, Wang X, Yang J, Zhu M, Yu M, Li L, et al. Antibody-drug conjugates treatment of small cell lung cancer: advances in clinical research. Discov Oncol. 2024 Aug 1;15(1):327. 10.1007/s12672-024-01171-1

260. Gu Y, Benavente CA. Landscape and Treatment Options of Shapeshifting Small Cell Lung Cancer. J Clin Med. 2024 May 26;13(11). 10.3390/jcm13113120

261. Patel MR, Johnson ML, Falchook GS, Doi T, Friedman CF, Piha-Paul SA, et al. DS-7300 (B7-H3 DXd-ADC) in patients (pts) with metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC): A subgroup analysis of a phase 1/2 multicenter study. American Society of Clinical Oncology; 2022.

262. Meyerholz DK, Beck AP. Principles and approaches for reproducible scoring of tissue stains in research. Lab Invest. 2018 Jul;98(7):844-55. 10.1038/s41374-018-0057-0

263. Bruno F, Pellerino A, Pronello E, Rudà R. Chapter 6 - Newly diagnosed glioblastoma: A review on clinical management. In: Vitorino C, Balaña C, Cabral C, editors. New Insights Into Glioblastoma: Academic Press; 2023. p. 101-23.

264. Wen PY, Bent Mvd, Youssef G, Cloughesy TF, Ellingson BM, Weller M, et al. RANO 2.0: Update to the Response Assessment in Neuro-Oncology Criteria for High- and Low-Grade Gliomas in Adults. Journal of Clinical Oncology. 2023;41(33):5187-99. 10.1200/jco.23.01059

265. Maachani UB, Tosi U, Pisapia DJ, Mukherjee S, Marnell CS, Voronina J, et al. B7–H3 as a Prognostic Biomarker and Therapeutic Target in Pediatric central nervous system Tumors. Translational Oncology. 2020 2020/02/01/;13(2):365-71. https://doi.org/10.1016/j.tranon.2019.11.006

266. Digregorio M, Coppieters N, Lombard A, Lumapat PN, Scholtes F, Rogister B. The expression of B7-H3 isoforms in newly diagnosed glioblastoma and recurrence and their functional role. Acta Neuropathologica Communications. 2021 2021/04/01;9(1):59. 10.1186/s40478-021-01167-w

267. Zhong C, Tao B, Chen Y, Guo Z, Yang X, Peng L, et al. B7-H3 Regulates Glioma Growth and Cell Invasion Through a JAK2/STAT3/Slug-Dependent Signaling Pathway. Onco Targets Ther. 2020;13:2215-24. 10.2147/ott.S237841

268. Baral A, Ye HX, Jiang PC, Yao Y, Mao Y. B7-H3 and B7-H1 expression in cerebral spinal fluid and tumor tissue correlates with the malignancy grade of glioma patients. Oncol Lett. 2014 Sep;8(3):1195-201. 10.3892/ol.2014.2268

269. Wang Z, Wang Z, Zhang C, Liu X, Li G, Liu S, et al. Genetic and clinical characterization of B7-H3 (CD276) expression and epigenetic regulation in diffuse brain glioma. Cancer Sci. 2018 Sep;109(9):2697-705. 10.1111/cas.13744

270. Zhang C, Zhen Z, Feng L, Zhibo S, Yamin Q, Lifeng L, et al. Large-scale analysis reveals the specific clinical and immune features of B7-H3 in glioma. OncoImmunology. 2018 2018/11/02;7(11):e1461304. 10.1080/2162402X.2018.1461304

271. Babič D, Jovčevska I, Zottel A. B7-H3 in glioblastoma and beyond: significance and therapeutic strategies. Frontiers in Immunology. 2024 2024-November-25;Volume 15 - 2024. 10.3389/fimmu.2024.1495283

272. Getu AA, Tigabu A, Zhou M, Lu J, Fodstad Ø, Tan M. New frontiers in immune checkpoint B7-H3 (CD276) research and drug development. Molecular Cancer. 2023 2023/03/02;22(1):43. 10.1186/s12943-023-01751-9

273. Getu AA, Tigabu A, Zhou M, Lu J, Fodstad Ø, Tan M. New frontiers in immune checkpoint B7-H3 (CD276) research and drug development. Mol Cancer. 2023 Mar 2;22(1):43. 10.1186/s12943-023-01751-9

274. Hu LS, Hawkins-Daarud A, Wang L, Li J, Swanson KR. Imaging of intratumoral heterogeneity in high-grade glioma. Cancer Lett. 2020 May 1;477:97-106. 10.1016/j.canlet.2020.02.025

275. Liu J, Deng Y, Pu Z, Miao Y, Hao Z, Wang H, et al. The AURKA inhibitor alters the immune microenvironment and enhances targeting B7-H3 immunotherapy in glioblastoma. JCI Insight. 2025 Feb 10;10(5). 10.1172/jci.insight.173700

276. Blystad I, Warntjes JBM, Smedby Ö, Lundberg P, Larsson EM, Tisell A. Quantitative MRI for analysis of peritumoral edema in malignant gliomas. PLoS One. 2017;12(5):e0177135. 10.1371/journal.pone.0177135

277. Reyes Soto G, Vega-Moreno DA, Catillo-Rangel C, González-Aguilar A, Chávez-Martínez OA, Nikolenko V, et al. Correlation of Edema/Tumor Index With Histopathological Outcomes According to the WHO Classification of Cranial Tumors. Cureus. 2024 2024/11/03;16(11):e72942. 10.7759/cureus.72942

278. Joshi V, Beecher K, Lim M, Stacey A, Feng Y, Jat PS, et al. B7-H3 Expression in Breast Cancer and Brain Metastasis. International Journal of Molecular Sciences. 2024;25(7):3976.

279. Crispen PL, Sheinin Y, Roth TJ, Lohse CM, Kuntz SM, Frigola X, et al. Tumor cell and tumor vasculature expression of B7-H3 predict survival in clear cell renal cell carcinoma. Clin Cancer Res. 2008 Aug 15;14(16):5150-7. 10.1158/1078-0432.Ccr-08-0536

280. Juković-Bihorac F, Đuričić S, Begagić E, Bečulić H, Efendić A, Vranić S, et al. B7-H3 as a Reliable Diagnostic Biomarker for the Differentiation of High-Grade Gliomas (HGGs) and Low-Grade Gliomas (LGGs). Brain Sci. 2025 Aug 15;15(8). 10.3390/brainsci15080872

281. Zhang J, Wang J, Marzese DM, Wang X, Yang Z, Li C, et al. B7H3 regulates differentiation and serves as a potential biomarker and theranostic target for human glioblastoma. Laboratory Investigation. 2019;99(8):1117-29. 10.1038/s41374-019-0238-5

282. Yüceer RO, Kaya S, Balcı S, Eğilmez H, Yılmaz M, Erdıs E. Prognostic Biomarkers in Isocitrate Dehydrogenase Wild-Type Glioblastoma: A Focus on B7-H3. Brain Sciences. 2025 02/19;15:212. 10.3390/brainsci15020212

283. Inocencio JF, Mitrasinovic S, Asad M, Parney IF, Zang X, Himes BT. Immune checkpoint pathways in glioblastoma: a diverse and evolving landscape. Frontiers in Immunology. 2024 2024-September-13;Volume 15 - 2024. 10.3389/fimmu.2024.1424396

284. Kontos F, Michelakos T, Kurokawa T, Sadagopan A, Schwab JH, Ferrone CR, et al. B7-H3: An Attractive Target for Antibody-based Immunotherapy. Clinical Cancer Research. 2021;27(5):1227-35. 10.1158/1078-0432.CCR-20-2584

285. Epperly R, Gottschalk S, DeRenzo C. CAR T cells redirected to B7-H3 for pediatric solid tumors: Current status and future perspectives. EJC Paediatric Oncology. 2024;3. 10.1016/j.ejcped.2024.100160

286. Patel MR, Doi T, Koyama T, Falchook GS, Friedman CF, Piha-Paul SA, et al. 690P Ifinatamab deruxtecan (I-DXd; DS-7300) in patients with advanced solid tumors: Updated clinical and biomarker results from a phase I/II study. Annals of Oncology. 2023 10/01;34:S481-S2. 10.1016/j.annonc.2023.09.1876

287. Ventin M, Cattaneo G, Maggs L, Jia J, Arya S, Ferrone S, et al. B7-H3-targeted CAR T cell activity is enhanced by radiotherapy in solid cancers. Front Oncol. 2023;13:1193963. 10.3389/fonc.2023.1193963

288. Vitanza NA, Ronsley R, Choe M, Seidel K, Huang W, Rawlings-Rhea SD, et al. Intracerebroventricular B7-H3-targeting CAR T cells for diffuse intrinsic pontine glioma: a phase 1 trial. Nat Med. 2025 Mar;31(3):861-8. 10.1038/s41591-024-03451-3

289. Babič D, Jovčevska I, Zottel A. B7-H3 in glioblastoma and beyond: significance and therapeutic strategies. Front Immunol. 2024;15:1495283. 10.3389/fimmu.2024.1495283

290. Ma Y, Yang Y, Huang Y, Fang W, Xue J, Meng X, et al. A B7H3-targeting antibody–drug conjugate in advanced solid tumors: a phase 1/1b trial. Nature Medicine. 2025 2025/06/01;31(6):1949-57. 10.1038/s41591-025-03600-2

291. Mielcarska S, Kot A, Dawidowicz M, Kula A, Sobków P, Kłaczka D, et al. B7-H3 in Cancer Immunotherapy-Prospects and Challenges: A Review of the Literature. Cells. 2025 Aug 6;14(15). 10.3390/cells14151209

9. BIOGRAFIJA AUTORA

Fatima Juković-Bihorac rođena je 25. oktobra 1980. godine u Priboju, Republika Srbija. Nakon završene Gimnazije u rodnom gradu, upisala je Medicinski fakultet Univerziteta u Sarajevu, gdje je 2006. godine stekla zvanje doktora medicine. Specijalizaciju iz patologije završila je 2015. godine na Institutu za patologiju i citologiju Kliničkog centra Univerziteta u Sarajevu. Trenutno je apsolvent doktoralnog studija na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Banjoj Luci.

Radnu karijeru započela je kao stažista u Kliničkom centru Univerziteta u Sarajevu 2006. godine. Od 2009. do 2010. radila je kao doktor opšte medicine u Službi za patologiju Kantonalne bolnice Zenica. Nakon toga je započela specijalizaciju iz patologije u Kliničkom centru Univerziteta u Sarajevu, gdje je ostala do 2016. godine, prvo kao specijalizant, a potom kao specijalista patolog. Od septembra 2016. godine radi kao specijalista patolog u Kantonalnoj bolnici Zenica, u Službi za patologiju.

Član je Ljekarske komore Zeničko-dobojskog kantona i European Society of Pathology (ESCOP) od 2013. godine. Aktivno se služi engleskim jezikom (B1 nivo) i posjeduje vozačku dozvolu B kategorije. Takođe je kompetentna u radu s većinom Microsoft Office aplikacija.

Publicirani radovi:

1. **Juković-Bihorac F**, Koluh A, Bečulić H. A rare case of giant cavernous splenic haemangioma. Med Jadertin 2022; 52:215–8. https://doi.org/10.57140/mj.52.3.6
2. **Juković Bihorac F**, Koluh A, Begagić E. A case report of appendiceal adenoma - a rare entity. Medica Jadertina 2023;53:285–8. https://doi.org/10.57140/mj.53.4.7
3. **Juković-Bihorac F**, Bečulić H, Begagić E, Skomorac R, Locally aggressive giant basal cell carcinoma of the head with focus on surgical treatment - a case report. Med Jadert 2023;53:219–24. https://doi.org/10.57140/mj.53.3.6.
4. Begagić E, Pugonja R, Bečulić H, Čeliković A, Tandir Lihić L, Kadić Vukas S, Čejvan L, Skomorac R, Selimović E, Jaganjac B, **Juković Bihorac F**, Jusić A, Pojskić M. Molecular Targeted Therapies in Glioblastoma Multiforme: A Systematic Overview of Global Trends and Findings. *Brain Sci* 2023; 13(11): 1602. https://doi.org/10.3390/brainsci13111602
5. Bečulić H, Skomorac R, Jusić A, Selimović E, Begagić E, **Juković-Bihorac F**, et al. Rijetki slučaj empijema cavum septi pellucidi i principi neurokirurškog zbrinjavanja:

prikaz slučaja s pregledom literature. Med Jadertina 2023;53:55–60. https://doi.org/10.57140/mj.53.1.7.

6. Begagić E, Mekić-Abazović A, Bečilić H, Efendić A, Selimović E, Memić Z, Mujbegović L, **Juković Bihorac F**. Epidemiological and pathohistological characteristics of testicular neoplasms in the Zenica-Doboj Canton, Bosnia and Herzegovina: a three-year monocentric study. Libri Oncologici : Croatian Journal of Oncology 2023;51:53–8. https://doi.org/10.20471/LO.2023.51.02-03.08.
7. **Juković-Bihorac F**, Bečulić H, Begagić E, Pugonja R, Radovanović J, Džidić-Krivić A, et al. Histopathological spectrum of lumbar disc changes in obesity: analysis of intervertebral discs in lumbar hernia patients in Zenica-Doboj Canton, Bosnia and Herzegovina. Med Glas (Zenica) 2024: 140–6. https://doi.org/10.17392/1698-23.
8. Selimović E, Bečulić H, Begagić E, Galić I, **Juković-Bihorac F**, Memić Z. Correlation of Blood Pressure, Heart Rate and Pain with Anxiety, and Importance of its Prevention in Surgery of Impacted Third Molars Under Local Anesthesia. Archives of Psychiatry Research. 2024; 60(1):47-53. https://doi.org/10.20471/feb.2024.60.01.06
9. Bečulić, H., Begagić, E., Šegalo, S., **Juković-Bihorac, F.**, Papić, E., Pugonja, R., Džidić-Krivić, A., Nuhović, A., Lakičević, G., Vranić, S., & Pojskić, M. (2025). Histopathologic degenerative score as a predictor of minimal clinically important difference in pain and functionality following surgical treatment for disc herniation. *Biomolecules & biomedicine*, *25*(3), 623–631. https://doi.org/10.17305/bb.2024.10877
10. Begagić, E., Bečulić, H., Džidić-Krivić, A., Kadić Vukas, S., Hadžić, S., Mekić-Abazović, A., Šegalo, S., Papić, E., Muchai Echengi, E., Pugonja, R., Kasapović, T., Kavgić, D., Nuhović, A., Juković-Bihorac, F., Đuričić, S., & Pojskić, M. (2024). Understanding the Significance of Hypoxia-Inducible Factors (HIFs) in Glioblastoma: A Systematic Review. Cancers, 16(11), 2089. https://doi.org/10.3390/cancers16112089

11. Sefo, Haso; Bečulić, Hakija; Begagić, Emir; Skomorac, Rasim; Jusić, Aldin; Salković, Naida; Mašović, Anes; **Juković-Bihorac, Fatima**. "Successful outcome in the treatment of a rare brachial plexus schwannoma: a case report with literature review", Medical Journal, 2024; 30(1):49-53

12. **Juković-Bihorac F**, Đuričić S, Begagić E, Bečulić H, Efendić A, Vranić S, Pojskić M. B7-H3 as a Reliable Diagnostic Biomarker for the Differentiation of High-Grade Gliomas (HGGs) and Low-Grade Gliomas (LGGs). Brain Sciences. 2025; 15(8):872. https://doi.org/10.3390/brainsci15080872

POPIS SLIKA, TABELA I GRAFIKONA

Popis slika:

Slika 1. Ćelije centralnog nervnog sistema (Izvor: https://www.vectorstock.com/royalty-free-vector/glial-cell-anatomy-diagram-vector-19591887) 9

Slika 2. Bojenje tumora prema gradusima (G1-G4) za hematoksilin-eozin (HE), B7-H3 i Ki67 s jasnim razlikama u ekspresiji između gradusa. (Izvor: autor, Kantonalna bolnica Zenica)..41

Slika 3. Morfometrijska analiza glijalnih tumora: A - mjerenje koronalnog (a) i aksijalnog dijametra (b) tumora sa peritumoralnim edemom. B - mjerenje sagitalnog dijametra (c) tumora sa peritumoralnim edemom. C - mjerenje koronalnog (a) i aksijalnog dijametra (b) tumora. D - mjerenje sagitalnog dijametra (c) tumora. 44

Popis tabela:

Tabela 1. Demografske karakteristike ispitanika 46

Tabela 2. Diskriminantna vrijednost B7-H3 ekspresije u razlikovanju visokogradusnih od niskogradusnih glijalnih tumora 48

Tabela 3. Zastupljenosti visoke i niske ekspresije B7-H3 kod pacijenata sa glijalnim tumorima 50

Tabela 4. Patohistološka gradacija glijalnih tumora i stepen proliferacije i diferencijacije praćen Ki67 proliferativnim indeksom 51

Tabela 5. Radiološke i radiološko-morfometrijske karakteristike glijalnih tumora..... 54

Tabela 6. Težina kliničke slike pacijenata sa glijalnim tumorima 61

Tabela 7. Univarijatna i multivarijantna regresiona analiza za predikciju teške kliničke slike i progresije bolesti u odnosu na visoku nivo ekspresije B7-H3 (B7-H3(A*B)≥5) 64

Tabela 8. Cox regresiona analiza ukupnog preživljenja (sa progresijom) i preživljenja bez progresije u odnosu na visoku nivo ekspresije B7-H3 (B7-H3(A*B)≥5)..... 66

Popis grafikona:

Grafikon 1. Intenzitet imunobojenja označen kao B7-H3(A) i procentualna zastupljenost imunoreaktivnih ćelija označen kao B7-H3(B). *** - statistički značajna razlika ($p<0.001$). 47

Grafikon 2. Vrijednosti imunoreaktivnog skora u ispitivanim grupama. *** - statistički značajna razlika (p<0.001).....47

Grafikon 3. Recevier operating curve (ROC) analiza diskriminantne vrijednosti B7-H3(A) u diferencijranju visokogradusnih od niskogradusnih glijalnih tumora. 48

Grafikon 4. Recevier operating curve (ROC) analiza diskriminantne vrijednosti B7-H3(B) u diferencijranju visokogradusnih od niskogradusnih glijalnih tumora. 49

Grafikon 5. Recevier operating curve (ROC) analiza diskriminantne vrijednosti B7-H3(A*B) u diferencijranju visokogradusnih od niskogradusnih glijalnih tumora. 49

Grafikon 6. Dijagram raspršenja B7-H3(A) i Ki67 indeksa sa vrijednostima Spearmanovog korelacijskog testa.....52

Grafikon 7. Dijagram raspršenja B7-H3(A) i Ki67 indeksa sa vrijednostima Spearmanovog korelacijskog testa.....52

Grafikon 8. Dijagram raspršenja B7-H3(A) i Ki67 indeksa sa vrijednostima Spearmanovog korelacijskog testa.....53

Grafikon 9. Dijagram raspršenja za B7-H3(A) i volumen tumora (TV) sa vrijednostima Spearmanovog korelacijskog testa.....55

Grafikon 10. Dijagram raspršenja za B7-H3(B) i volumen tumora (TV) sa vrijednostima Spearmanovog korelacijskog testa.....56

Grafikon 11. Dijagram raspršenja za B7-H3(A*B) i volumen tumora (TV) sa vrijednostima Spearmanovog korelacijskog testa.....56

Grafikon 12. Dijagram raspršenja za B7-H3(A) i volumen peritumoralnog edema (PTBE) sa vrijednostima Spearmanovog korelacijskog testa.....57

Grafikon 13. Dijagram raspršenja za B7-H3(B) i volumen peritumoralnog edema (PTBE) sa vrijednostima Spearmanovog korelacijskog testa.....57

Grafikon 14. Dijagram raspršenja za B7-H3(A*B) i volumen peritumoralnog edema (PTBE) sa vrijednostima Spearmanovog korelacijskog testa 58

Grafikon 15. Dijagram raspršenja za B7-H3(A) i edema indeks (EI) sa vrijednostima Spearmanovog korelacijskog testa.....59

Grafikon 16. Dijagram raspršenja za B7-H3(B) i edema indeks (EI) sa vrijednostima Spearmanovog korelacijskog testa.....59

Grafikon 17. Dijagram raspršenja za B7-H3(A*B) i edema indeks (EI) sa vrijednostima Spearmanovog korelacijskog testa.....60

Grafikon 18. Ukupno preživljenje cijele kohorte (A) i podgrupna analiza u odnosu na LGG i HGG grupu (B). Statistička značajnost je ispitivana log-rank testom. 63

Grafikon 19. Preživljenje bez progresije bolesti (A) i podgrupna analiza u odnosu na LGG i HGG grupu (B). Statistička značajnost je ispitivana log-rank testom. 63

Grafikon 20. Razlika u ukupnom preživljenju (sa progresijom bolesti) u odnosu na nivo ekspresije B7-H3. Statistički značajna razlika je utvrđena log-rank testom. 65

Grafikon 21. Razlika u preživljenju bez progresije bolesti u odnosu na nivo ekspresije B7-H3. Statistički značajna razlika je utvrđena log-rank testom.....65

PRILOZI

Izjava 1.

IZJAVA O AUTORSTVU

Izjavljujem da je doktorska disertacija

Naslov rada: ***Ekspresija B7-H3 i njena veza sa patohistološkim, morfometrijskim i kliničkim karakteristikama niskogradusnih i visokogradusnih tumora glijalnog porijekla***

Naslov rada na engleskom jeziku: ***B7-H3 expression and its relationship with pathohistological, morphometric and clinical characteristics of low-grade and high-grade tumors of glial origin***

- rezultat vlastitog istraživačkog rada,
- da master rad, u cjelini ili u dijelovima, nije bio predložen za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisu prekršena autorska prava niti korištena intelektualna svojina drugih lica.

U Banjoj Luci, 20.09.2025. godine

Potpis kandidata

Fatima Juković-Bihorac, dr. med.

Izjava 2.

Izjava kojom se ovlašćuje Medicinski fakultet Univerziteta u Banjoj Luci da master rad učini javno dostupnim

Dajem ovlast Medicinskom fakultetu Univerziteta u Banjoj Luci da moju doktorsku disertaciju, podnazivom "***Ekspresija B7-H3 i njena veza sa patohistološkim, morfometrijskim i kliničkim karakteristikama niskogradusnih i visokogradusnih tumora glijalnog porijekla***" koji je moje autorsko djelo, učini javno dostupnim.

Doktorsku disertaciju sa svojim prilozima predala sam u elektronskom formatu, pogodnom za trajno arhiviranje.

Moja doktorska disertacija, pohranjena u digitalni repozitorijum Univerziteta u Banjoj Luci, može da se koriste od strane svih koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons), za koju sam se odlučila.

1. Autorstvo

2. Autorstvo - nekomercijalno

3. Autorstvo - nekomercijalno - bez prerade

4. Autorstvo - nekomercijalno - dijeliti pod istim uslovima

5. Autorstvo - bez prerade

6. Autorstvo - dijeliti pod istim uslovima.

U Banjoj Luci, 20.09.2025. godine

Potpis kandidata

Fatima ~~Juković~~-Bihorac, dr. med.

Izjava 3

Izjava o identičnosti štampane i elektronske verzije doktorske disertacije

Ime i prezime autora: **Fatima Juković-Bihorac**

Naslov rada: ***Ekspresija B7-H3 i njena veza sa patohistološkim, morfometrijskim i kliničkim karakteristikama niskogradusnih i visokogradusnih tumora glijalnog porijekla***

Mentor: **Prof. dr Slaviša Đuričić**

Izjavljujem da je štampana verzija mog master rada identična elektronskoj verziji koju sam predala za digitalni repozitorijum Univerziteta u Banjoj Luci.

U Banjoj Luci, 20.09.2025. godine

Potpis kandidata

Fatima Juković-Bihorac, dr. med.