

A triptofán metabolizmus vizsgálata agydaganatokban

Dr. Bosnyák Edit

Doktori (PhD) értekezés

Témavezetők: Prof. Dr. Juhász Csaba

Dr. Pfund Zoltán, egyetemi docens

A Doktori iskola vezetője: Prof. Dr. Komoly Sámuel, az MTA Doktora



Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Neurológiai Klinika

Klinikai Idegtudományok Doktori Iskola

Wayne State University School of Medicine, Detroit, Michigan;

PET Center and Translational Imaging Laboratory, Children's Hospital of
Michigan, Detroit, USA

Pécs, 2018

Tartalomjegyzék

Rövidítések

I. Bevezetés

II. Célkitűzések

III. Négy tanulmány összegzése

III.1. Tanulmány 1.

III.1.1. Célkitűzés

III.1.2. Betegek és módszerek

III.1.3. Eredmények

III.1.4. Összefoglalás

III.2. Tanulmány 2.

III.2.1. Célkitűzés

III.2.2. Betegek és módszerek

III.2.3. Eredmények

III.2.3. Összefoglalás

III.3. Tanulmány 3.

III.3.1. Célkitűzés

III.3.2. Betegek és módszerek

III.3.3. Eredmények

III.3.4. Összefoglalás

III.4. Tanulmány 4.

III.4.1. Célkitűzés

III.4.2. Betegek és módszerek

III.4.3. Eredmények

III.4.4. Összefoglalás

IV. ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

V. PUBLIKÁCIÓK

VI. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

RÖVIDÍTÉSEK

AMT: ¹¹C-alpha-methyl-L-tryptophan

BDI-II: Beck Depressziós Skála-II

EGFR: epidermális növekedési faktor receptor

FLAIR: fluid-attenuated inversion recovery

GBM: glioblastoma

IDH1: izocitrát dehidrogenáz 1

IDO1/2: indolamin 2,3-dioxigenáz 1/2

KIR: Központi idegrendszer

KMO: kinurenin 3-monooxygenáz

KP: kinurenin útvonal

KYNU: kinurenináz

MGMT: O⁶-metilguanin-DNS metiltranszferáz

MRI: mágneses rezonancia képalkotás

PET: pozitron emissziós tomográfia

RANO: Response Assessment in Neuro-Oncology

TDO2: triptofán 2,3-dioxigenáz 2

WHO: World Health Organization

I. BEVEZETÉS

Az agytumороk felnőtt korban viszonylag ritkák, de gyermekekben a leggyakrabban előforduló szolid tumorok. Az agydaganatok halálozási mutatói minden életkorban magasak, ezért az az egészségügy jelentős problémái közé tartoznak. Az újonnan diagnosztizált agydaganatok nagyobb részét a metasztázisok alkotják, a kisebb hányadot a központi idegrendszer (KIR) elemeinek elsődleges daganatai adják. Néhány rizikófaktor ismert, melyek összefüggnek az agytumороk kialakulásával, mint az ionizáló sugárzás és a genetikai hajlam, habár az agydaganatok többsége sporadikus. Ugyanakkor autoimmun betegségek és allergiák előfordulása fordítottan arányos a glioma kialakulásának valószínűségével. A leggyakoribb elsődleges agydaganat a meningeoma, majd ezt követve a glioblastoma. A 2016-os SEER (Surveillance Epidemiology and End Results) program adatai szerint, a 40 év felettek körében az elsődleges KIR daganatok éves előfordulási gyakorisága 40.10/100,000. 1995-2013 között az elsődleges, rosszindulatú KIR daganatok 5 éves relatív túlélési rátája 34.7% volt. Ez az arány a nem, az életkor, a klinikai és szövettani típus függvényében változik (a nőkben például magasabb). A nem rosszindulatú KIR tumorok 5 éves túlélése ezzel szemben meghaladta a 90%-ot.

Általánosságban elmondható, hogy az agytumороk leggyakoribb klinikai tünete az epilepsziás roham, de gyakran észlelhető fokális neurológiai kórjel, a viselkedés megváltozása, kognitív hanyatlás is. A hangulatzavar és a depresszió szintén gyakori jelenség a betegekben. Gliomák esetén, az életkor és a tumor szövettani típusa jelentős hatással bír a tünettanra. Epilepsziás roham inkább az alacsony grádusú tumorokban gyakori, míg a fokális neurológiai kórjel és a kognitív hanyatlás gyakoribb magas grádusú gliomák esetén. Azonban az is előfordul, hogy különböző pszichiátriai tünetek, mint depresszió, apátia, viselkedészavar, szorongás stb., a bevezető tünet. A többnyire szolid tumort képező meningeomákban legtöbbször epilepsziás roham az első tünet (a betegek 13-60%-ban fordul elő), de ez a tumorfajta gyakran van jelen akár tünetmentes formában is (a népesség 2-3%-ában).

A 2016-os revízió megjelenéséig, a KIR daganatok WHO klasszifikációja a konvencionális szövettani leletekre támaszkodott. Az elsődleges agydaganatok frissített, 2016-os WHO klasszifikációja, most először, a molekuláris biomarkereket is figyelembe vette a konvencionális szövettani eltérések mellett. Ezáltal új koncepciót vezetett be a KIR daganatok diagnózisának felállításában. Ez a rendszer új entitásokat is leír, ugyanakkor töröl néhány olyan korábbi, amelynek nincs diagnosztikai és/vagy biológiai relevanciája (pl.: az oligoastrocytomát, mint külön entitást a továbbiakban nem javasolja használni, mert specifikus molekuláris markerek által az astrocytomák és oligodendrogliomák egyértelműen elkülöníthetők). Egy másik lényegi változás, hogy a cerebrális invázió ténye hozzáadásra került az atípusos meningeoma kritériumához. Bevezetésre került továbbá a lágyszövet-típus osztályozáson alapuló rendszer is.

I.1. Képkeltő vizsgálatok agydaganatokban

Az agydaganatok diagnózisának felállításában a kontrasztanyag mágneses rezonancia vizsgálat a standard klinikai eljárás. Az MRI fontos szerepet játszik a differenciálásban, a műtét előtti kiértékelésben, a kezelés tervezésében, és a műtét utáni követésben egyaránt. A konvencionális MRI vizsgálatok azonban csak korlátozottan tudják elkülöníteni az alacsony grádusú tumorokat a magas grádusú (infiltratív) tumoroktól, valamint a recidív/progrediáló agydaganatokat az irradiációs károsodásoktól. A korszerű MRI technikák, mint a diffúzió-súlyozott (DWI), és perfúzió-súlyozott (PWI) szekvenciák, valamint az MR spektroszkópia (MRS), fontos további információval szolgálnak a tumor diagnózisához és kezeléséhez, és ígéretesek az agydaganatok potenciális molekuláris eltéréseinek azonosításában is. Molekuláris képkeltés pozitron emissziós tomográfiával (PET) ugyancsak egyre nagyobb szerepet játszik agytumoros betegek műtét előtti és műtét utáni követésében, mind a felnőttkori, mind a gyermekkori agytumoroknál.

I.1.1. Konvencionális MRI vizsgálatok agydaganatokban

Az alacsony grádusú gliomák az MRI-n tipikusan kontrasztanyagot nem halmozó léziókként, míg az anaplasztikus gliomák (III-as grádusú) és a glioblastomák (IV-es grádusú) gyakran halmozó léziókként jelennek meg. A glioblastomák típusos radiológiai jellegzetessége, hogy a kontrasztanyag T1 MRI képeken a centrális nekrozis körül vastag, szabálytalan gyűrű formájú heterogén halmozást mutat. Ha a tumor körül kiterjedt hyperintenzitás is megjelenik, FLAIR és T2 szekvenciákon, az a tumor környezetének infiltrációját, és a vazogén oedemát jelzi. A meningeomák diagnosztizálhatók mind a kontrasztanyag nélküli, mind a kontrasztanyag T1-és T2-súlyozott képeken, akár csak a FLAIR felvételeken. A hagyományos MRI azonban csak korlátozottan képes elkülöníteni az alacsony grádusú meningeomákat a magas grádusúaktól, valamint a tumorszövetet a nem-specifikus szöveti elváltozásoktól. A jelen klinikai gyakorlatban a konvencionális MRI technikákat (a kontraszt nélküli és kontrasztos T1, valamint a T2 és a FLAIR) használják nem csak az agytumorok alapdiagnosztikájához, de a műtét, vagy gyógyszeres kezelés utáni követéshez is, jóllehet ezekkel a technikákkal a valódi vagy pseudo-progresszió és -regresszió elkülönítése nagyon bizonytalan (például antiangiogén ágens használatát követően). Magas grádusú gliomák progresszióját a RANO kritériumok használatával lehet megítélni (részletesen lásd a tézisben).

I.1.2. Korszerű MRI vizsgálatok agydaganatokban

Az elmúlt 10 évben a korszerű MRI technikák fejlődése előrelépést jelentett mind az agydaganatok elsődleges diagnosztikájában, mind azok követésében. A DWI, PWI és MRS segítségével részletes információkhoz juthatunk a tumorok számos fiziológiai jellegzetességéről, például a vaszkularizációjukról, a mikroperfúziójukról és a sejtsűrűségükről. Ezen felül ígéretes adatokkal szolgálnak a malignus gliomák műtét utáni viszonyairól is. A DWI képes felmérni a tumor denzitását és a fehérállományban el tudja különíteni a nem halmozó tumoros részt a tumor körüli oedemától. A PWI segítségével az angiogenezist és a vér-agy gát áteresztő képességét lehet vizsgálni, amivel megbecsülhető a tumor malignitási foka, s ezzel az antiangiogenetikus terápiák követésének fontos eszköze lehet. A PWI tehát egy olyan non-invazív neuro-onkológiai diagnosztika, mely elsősorban a tumorok prognózisa és a terápiás válasz követése terén játszhat fontos szerepet. Az MR spektroszkópia a kolin, a laktát, a kreatin, és az N-acetil-aszpartát koncentrációja révén a

tumor által indukált metabolit változásokat képes mérni, amelyek összefüggésben vannak a tumor grádusával. A változások mérésével a tumor proliferációs rátáját (kolin/NAA hányados révén) és a nekrozis jelenlétét (lipid vagy laktát csúcs által) lehet megbecsülni.

I.1.3. PET vizsgálatok a neuro-onkológiában

A neuro-onkológiai diagnosztikában és terápiában a PET-tel való molekuláris képalkotásnak fontos szerep juthat. A PET a tumor megváltozott cukor, nukleozid vagy aminosav metabolizmusát tudja mérni, ezzel képes megkülönböztetni az egyes tumor típusokat, azok metabolikus sajátosságainak ismeretében.

I.1.3.1. FDG-PET: Az elmúlt 3 évtizedben a 2-deoxy-2-[¹⁸F]fluoro-D-glucose (FDG) PET alapvető klinikai képalkotó technikává fejlődött úgy az intra- mint az extracranialis daganatok detektálásában. A neuro-onkológiában az FDG-PET-nek elsődleges szerep jut a benignus és malignus folyamatok differenciálásában, valamint a rekurrens tumoroknak az irradiációs károsodásoktól való elkülönítésében. FDG legfőbb előnye a viszonylag hosszú felezési idő (110 perc) és a radiofarmakon automatizált szintézise.

I.1.3.2. Aminosav PET: A legtöbb tumornak magasabb az aminosav felvétele és metabolizmusa, mint a normál sejteknek. Ez a különbség okozza az aminosav PET-ek tumor diagnosztikában észlelt magas szenzitivitását. Az agydaganatok képalkotásában legelterjedtebben vizsgált aminosav PET tracer az L-[methyl-¹¹C]methionine (MET), a ¹⁸F-fluoroethyl-tyrosine (FET), és a ¹⁸F-fluoro-L-dihydroxy-phenylalanine (FDOPA). A Wayne State Egyetem kutatócsoportja vezette be a humán diagnosztikában a ¹¹C-alpha-methyl-L-tryptophan (AMT) használatát. A legalaposabban tanulmányozott aminosav a MET, habár egy rövid felezési idejű (20 perc) szén-11 pozitron-emissziós izotóppal jelölt tracer. A FET a 110 perces felezési idejű ¹⁸F-al jelölt tirozin alapú molekula, a hosszabb felezési ideje révén alkalmasabb a rutin klinikai gyakorlatban. Mind a MET, mind a FET-PET képes azonosítani és elkülöníteni az újonnan diagnosztizált és rekurrens gliomákat, és segítséget adnak a terápiás terv kidolgozásához, valamint a terápiás válasz monitorozásához. A FDOPA-t eredetileg a dopamin szintézis mérésére fejlesztették ki, tumor diagnosztikában néhány intézet használja, kinetikus jellemzői hasonlóak a FET-hez.

I.1.3.3. AMT-PET: AMT-val eredetileg az agy szerotonin szintézisének a rátáját vizsgálták. Emelkedett kortikális AMT felvétellel azonosítani lehet egyes epileptogén fókuszokat gyógyszer-rezisztens epilepsziás betegeknél. AMT-PET vizsgálatokban magas triptofán felvételt detektáltak számos alacsony grádusú és magas grádusú agydaganatban. A tumor általi statikus AMT felvételen kívül, a tracer kinetikus analízise is segített az alacsony grádusú tumorok típusainak elkülönítésében, a tumor proliferatív aktivitásának megítélésében, és jól elkülöníthetővé vált a rekurrens tumor az irradiációs nekrozistól. Az AMT-PET-et korszerű MRI-vel kombinálva, mint a diffúziós tenzor képalkotás, még megbízhatóbb non-invazív módszert kaptunk a tumor cellularitásának vizsgálatához. A triptofán és az AMT nagyrészt az L-típusú aminosav transzportereken keresztül jut be az agyi tumorszövetbe. Azonban az AMT az alfa-metil csoport jelenléte miatt, nem épül be a fehérjékbe úgy, mint a triptofán. A triptofán ugyanakkor az immunmoduláns kinurenin útvonalon keresztül metabolizálódik, így kulcsszerephez jut a daganat immuntoleranciájában.

II. CÉLKITŰZÉSEK

Az AMT-PET-tel kapcsolatos vizsgálataink fő célja annak meghatározása volt, hogy ez a diagnosztikai eljárás milyen klinikai jelentőséggel bír újonnan felfedezett, illetve recidíváló agydaganatok kivizsgálásában. Azokra a klinikai kérdésekre fókuszáltunk, amelyekben aminosav PET-et korábban nem használtak. Vizsgálataink eredményét 4 közleményben foglaltuk össze.

1. Először megvizsgáltuk, hogy az elsődleges glioblastomák (GBM) prognosztikai jelentőséggel bíró molekuláris markerei milyen összefüggést mutatnak a PET-tel mért triptofán metabolizmussal, és/vagy MR képek különböző eltéréseivel, valamint hogy kezelés előtt a glioblastomák AMT felvételének van-e prognosztikai értéke a beteg túlélésére.
2. Második közleményünkben a glioblastomák kezelését követően a kontrasztanyagot nem halmozó agyterületek AMT felvételét mértük meg. Arra voltunk kíváncsiak, hogy ezen nem-halmozó területek AMT felvételének a mértéke előre jelzi-e az utánkötések során a tumor progressziójának téri-, és időbeli viselkedését.
3. Agydaganattal társult depressziós betegek triptofán metabolizmusát elemezve arra kerestünk választ, hogy a tumor-mentes agyterületek kóros triptofán felvétele használható-e az agydaganathoz társult depresszió biomarkereként.
4. Végül AMT-PET-tel meningeomák triptofán metabolizmusának kinetikáját elemeztük azzal a céllal, hogy elkülöníthetők-e ezzel a technikával az egyes WHO fokozatú meningeomák.

III. A NÉGY TANULMÁNY ÖSSZEFOGLALÁSA

Felnőtt betegeket vizsgáltunk multimodális képalkotó eljárásokkal, különböző típusú agydaganatok esetében, kezelés előtt és után. A kutatási protokollokat a Wayne State Egyetem Kutatási Etikai Bizottsága (Institutional Review Board) előzetesen jóváhagyta, a betegektől, azok felvilágosítása után, írásos beleegyezést kaptunk.

A statisztikai elemzésekhez a Windows kompatibilis IBM SPSS statisztikai program (IBM Corp., Armonk, NY) 19.0, 21.0, vagy 23.0 verzióját használtuk, a p értékeket $<0,05$ esetén tekintettük szignifikánsnak.

III.1. Prognostic Molecular and Imaging Biomarkers in Primary Glioblastoma (Bosnyák et al., Clin Nucl Med, 2017)

III.1.1. *Célkitűzés:* Számos olyan molekuláris glioma marker (köztük az izocitrát dehidrogenáz 1 [IDH1] mutációja, epidermális növekedési faktor receptor [EGFR] amplifikációja, O⁶-metilguanin-DNS metiltranszferáz [MGMT] promotor metilációja) ismert, melyek összefüggésben vannak a glioblastomás betegek túlélésének hosszával. Ebben a tanulmányban az IDH1 vad-típusú (vagyis elsődleges) glioblastomás betegeknél a fenti molekuláris markerek és a tumor aminosav felvétele közötti összefüggéseket vizsgáltuk meg a túlélés tükrében.

III.1.2. *Betegek és módszerek:* Huszonegy újonnan diagnosztizált, IDH1 vad-típusú glioblastomás betegnél (14 férfi, átlag életkor: 62 év) MRI és AMT-PET vizsgálat történt a műtétet megelőzően. Tizenhárom betegnél teljes, nyolc betegnél részleges tumor eltávolítás történt. A túlélési idő medián értéke 14,8 hónap volt, a betegek 62%-ánál (21-ből 13 beteg) meghaladta az 1 évet.

Az MRI felvételeken mért T2 és T1 kontraszthalmozó terület nagyságát, a PET által becsült tumor térfogatot, a tumor triptofán felvételét, és a kinetikus PET változók korrelációját vizsgáltuk prognosztikai molekuláris markerekkel (EGFR és MGMT) és a túlélési idővel.

III.1.3. *Eredmények:* Az EGFR amplifikáció kisebb T1 kontraszthalmozó területtel társult ($p=0,04$), és alacsonyabb volt a T1 halmozó területeknek mind a T2 MR képeken mért tumor területekhez ($p=0,04$), mind a PET-tel mért tumor térfogathoz viszonyított aránya is ($p=0,02$). A metilált MGMT promoterrel rendelkező tumorok PET-tel mért térfogata alacsonyabb volt a nem-metilált MGMT promoterű tumorokénál ($p=0,045$), ahogy alacsonyabb volt metilált promoter esetén a tumornak az agykéreghez viszonyított egyirányú AMT felvétele is ($p=0,009$). Sem az EGFR amplifikáció, sem az MGMT promoter metiláció nem mutatott szignifikáns összefüggést a túléléssel, a PET-tel mért magas tumorszövet/agykéreg AMT felvételi arány azonban erős prognosztikai faktornak bizonyult (hazard ratio: 30; $p=0,002$) a hosszabb túlélés szempontjából. Magas tumor/kéreg AMT felvételi arány esetén a becsült átlagos túlélési idő 26 hónap volt, míg alacsony arány esetén csupán 8 hónap.

III.1.4. *Összefoglalás:* Eredményeink azt mutatják, hogy primer glioblastomás betegeknél az egyes MRI és PET eltérések összefüggésben vannak az EGFR amplifikációval és az MGMT promoter metilációval. PET-tel a tumorban mért magas triptofán felvétellel azonosítani lehet a hosszabb túlélést mutató betegcsoportot.

III.2. Tryptophan PET predicts spatial and temporal patterns of post-treatment glioblastoma progression detected by contrast-enhanced MRI (Bosnyák et al., J Neurocol, 2016)

III.2.1. *Célkitűzés:* A gliomák kiújulásának vizsgálatára egyre gyakrabban használt módszer az aminosav PET. Megfigyelték, hogy a kontraszthalmozó tumorszöveten kívül is gyakran fokozott az aminosav felvétel. Ebben a tanulmányban azt vizsgáltuk, hogy azon területek alapján, melyek az MR felvételeken kontrasztot nem halmoznak, de PET pozitívak, megjósolható-e a glioblastomás betegek kezelés utáni tumor progressziójának tér- és időbeli MRI mintázata.

III.2.2. *Betegek és módszerek:* AMT-PET vizsgálat készült 12 olyan betegnél (közülük 6 volt férfi, átlag életkoruk 61 év volt), akiknél az MRI recidív glioblastomára gyanús kontraszthalmozást mutatott. A PET képeken azokat a kontrasztanyagot halmozó és nem halmozó agyi területeket jelöltük meg, amelyek tumor recidivát mutató, egyértelműen magas AMT felvételt mutattak (ennek meghatározásához korábbi tanulmányok AMT felvételi küszöbértékeit használtuk). Az MRI kontrasztanyagot nem-halmozó agyterületek nagyságát és aminosav felvételét vetettük később össze a kontroll MR felvételeken látott kontrasztot halmozó progressziók térbeli és időbeli mintázataival.

III.2.3. *Eredmények:* A tumor progressziójának térbeli helyzetét elemezve, az MR felvételeken nem halmozó PET pozitív agyterületek nagysága az egyes betegekben széles határok között változott, és akár 24 mm távolságra is kiterjedt a kontrasztot halmozó góc szélétől. Tíz betegnél, akiknél 1-17 hónappal az AMT-PET után készült MRI a kontraszthalmozó léziók egyértelmű progresszióját igazolta, a nem-halmozó PET pozitív agyterület jó egyezést adott az új kontraszthalmozás helyével. Hat betegnél a kontraszt-pozitív terület meg is haladta a PET+ területet, négy esetben gyakorlatilag egybe esett azzal. Annál a két betegnél, akiknél a kezdeti kontraszt-pozitív léziót meghaladó PET pozitivitás nem volt mérhető, a későbbi MRI nem mutatott progressziót.

A glioma progressziójának időbeli megjelenését illetően azt találtuk, hogy a kontraszt-pozitív AMT felvétel mértéke negatív korrelációt adott a progresszióig eltelt idővel ($R=0.77$, $p=0.003$).

III.2.4. *Összefoglalás:* Az aminosav PET egyrészt kiegészítheti az MRI vizsgálatot a gliomák kiújulásának azonosításában, ugyanakkor képes lehet a várható progresszió helyének és idejének előre jelzésére is. Ennek ismerete támogatást nyújthat sebészi intervenció illetve más, célzott terápiák részére recidív glioblastomáknál.

III.3. Imaging cerebral tryptophan metabolism in brain tumor-associated depression (Bosnyák et al., EJNMMI Research, 2015)

III.3.1. *Célkitűzés:* Agydaganattal élő emberek jelentős részét érintheti a depresszió, mely hozzájárulhat a daganattal járó rossz életminőséghez és rosszabb életkilátásokhoz is. Egy korábbi vizsgálat szerint az agydaganatos betegekben az AMT-PET kóros triptofán metabolizmust mutatott nem csak a tumorszövetben, de a normálisnak látszó ellenoldali féltekében is. Mivel felvetődik, hogy a triptofán metabolizmus köztes molekulái, a szerotonin és a kinurenin szerepet játszhatnak a depresszió kialakulásában, jelen vizsgálatunkban agydaganatos betegek depressziójának és triptofán metabolizmusának összefüggéseit próbáltuk felderíteni.

III.3.2. *Betegek és módszerek:* Huszonegy, különböző típusú agydaganatban szenvedő (10 meningeoma, 8 glioma, 3 agyi metasztázis) beteget vontunk be a vizsgálatba (13 férfi, átlag életkoruk 57 év volt). Négy betegnek volt rezekciós műtete kemoradiációval vagy anélkül a vizsgálatot megelőzően. Egyik betegnél sem szerepelt a kórelőzményben depresszió, és az AMT-PET idején nem szedtek antidepresszáns gyógyszert. A Karnofsky index valamennyi betegnél 70, vagy azt meghaladó volt. Az MRI és az AMT-PET koregisztrációját követően a tumorszövetben és a tumorral kontralaterális, ép félteke különböző kortikális és szubkortikális régióiban meghatároztuk az AMT kinetikus paramétereit, a VD' értéket („volume of distribution”, ami a nettó triptofán transzport becsült értéke), és a K értéket (ez a triptofán metabolizmussal összefüggő egyirányú aminosav felvétel mérőszáma). A PET vizsgálat napján minden beteg kitöltötte a Beck Depressziós kérdőívet (BDI-II). Végül a depressziót mérő (BDI-II) pontszámokat összevetettük a tumor nagyságával, malignitási fokával, szövettani típusával és az AMT-PET változóival.

III.3.3. *Eredmények:* A BDI-II pontszámok 2 és 33 közé estek, az átlag 12 ± 10 volt, a klinikai depresszió szintjét 7 beteg érte el (33%). A magas BDI-II pontszám a legszorosabb összefüggést a thalamus magas AMT K értékével mutatta, mind az összes beteget vizsgálva

(Spearman's $\rho=0.63$, $p=0.004$), mind a 18 beteget magába foglaló primer agydaganatos betegek alcsoportjában ($r=0.68$, $p=0.004$). A frontális és striatális VD' értékek magasabbak voltak a depressziós betegekben, mint a nem depressziósokban ($p<0.05$), és ez a különbség még kifejezettebb volt, ha a közepes/súlyos depressziós betegeket hasonlítottuk össze a nem-, vagy enyhén depressziós betegekkel (frontálisan $p=0.005$, striatálisan $p<0.001$). A tumor mérete, malignitása, vagy típusa nem mutatott összefüggést a depressziós skálán mért pontszámokkal.

III.3.4. *Összefoglalás:* A thalamus, striatum és frontális kéreg kóros triptofán anyagcséréje összefüggésben van az agydaganatos betegek depressziójával. A PET által azonosított eltérések a szerotonin és a kinurenin termelésének egyensúlyzavarára utalhatnak, és egyfajta molekuláris képpalkotó markerként szolgálhatnak agydaganathoz társuló depressziók esetén.

III.4. Molecular imaging correlates of tryptophan metabolism via the kynurenine pathway in human meningiomas (Bosnyák et al. Neuro-Oncology, 2015)

III.4.1. *Célkitűzés:* Gliomákban a kinurenin útvonalon (KP) keresztül történő fokozott triptofán metabolizmus alapvető szerepet játszik a tumoros immunszuppresszióban. Meningeomákban, ezzel szemben, a triptofán metabolizmus részletei még nem ismertek. Ennek okán a meningeomák triptofán metabolizmusának részletes vizsgálatát tűztük ki célul. Egyrészt összevetettük a meningeomák és a gliomák AMT-PET eltéréseit, másrészt eltávolított meningeoma szövetmintákon elemeztük a KP kulcs enzimek protein expresszióját.

III.4.2. *Betegek és módszerek:* Negyvenhét (közülük 26 volt férfi, életkoruk 10 és 91 év között volt), MRI-vel diagnosztizált meningeomás ($n=16$) és gliomás (II-es grádusú $n=21$, III-as grádusú $n=10$) betegnél készült AMT-PET a műtét előtt. A tumor AMT felvételét és kinetikus paramétereit (köztük a K-t, mint az egyirányú felvétel mérőszámát, valamint a k_3 '-t, mint a szöveti kötődés mértékét) határoztuk meg, és ezeket vetettük össze a meningeomák malignitási fokával, illetve összehasonlítottuk a meningeomákban és a gliomákban mért értékeket. A meningeomák eltávolítása után a KP enzimek (a felső ági enzimek közül az IDO1, IDO2, TDO2, az alsó ágiak közül a KMO, KYNU) expresszióját immunhisztokémiai módszerrel mértük meg.

III.4.3. *Eredmények:* A tumor/agykéreg AMT k_3 ' aránya egyenes arányú összefüggést mutatott a meningeoma WHO (malignitási) fokával ($r=0.75$, $P=0.003$), valamint 92%-os pontossággal volt képes elkülöníteni egymástól az I-es grádusú és II/III-as grádusú meningeomákat. A kinetikus AMT paraméterek segítségével el lehetett különíteni a meningeomákat mind az alacsony malignitási fokú gliomáktól (k_3 'tumor/kéreg arány, 97%-os pontosság), mind a magas grádusú gliomáktól (K tumor/kéreg arány, 83%-os pontosság). Az enzimek közül a legerősebb immunfestést a TDO2 mutatta, mely különösen erős volt az I-es grádusú meningeomákban. Ugyanakkor a TDO2 festődés erőssége fordítottan volt arányos az adott meningeoma AMT k_3 'tumor/kéreg arányával ($p=0.001$).

III.4.4. *Összefoglalás:* A triptofán metabolizmus PET vizsgálata alkalmas lehet a különböző WHO fokozatú meningeomák elkülönítésében. Ezen tumorokban a TDO2 enzimnek fontos irányító szerepe lehet az *in vivo* triptofán metabolizmusban. Ezen eredményeknek akár terápiás konzekvenciái is lehetnek, például a kinurenin útvonalat célzó farmakonok fejlesztésében meningeomák kezeléséhez.

IV. ÖSSZEGZÉS

Új megfigyelések:

- Összefüggés van a gliomák prognosztikai jelentőségű genetikai biomarkerei (mint az IDH, MGMT, EGFR) és a glioblastomák aminosav felvétele között. Specifikus MRI és AMT-PET mintázatok társíthatók prognosztikus molekuláris biomarkerekkel az IDH1 vad-típusú (vagyis primer) glioblastomákban.
- A magas tumor/agykéreg AMT felvételi arány olyan megbízható képalkotó markernek bizonyult, mely lényegesen hosszabb túlélési idővel volt társítható az IDH1 vad-típusú glioblastomákban.
- Az AMT-PET nemcsak kiegészíti a hagyományos MRI-t a kiújuló gliomák diagnosztizálásában, de jól előre jelzi a várható progresszió térbeli, és időbeli megjelenését is.
- Az AMT felvétel mértéke és a kontrasztos T1 MRI képeken megjelenő tumor progresszió ideje között fordított arányosság van, a nem halmozó területek magasabb AMT felvétele előre jelzi a korai progressziót.
- Kapcsolat van az agyi triptofán metabolizmus és a tumorhoz társult depresszió között. A PET által a thalamusban, striatumban és frontális agykéregben mérhető triptofán transzport zavara összefüggésbe hozható az agydaganatos betegek depressziójával.
- Az AMT-PET nagy pontossággal képes elkülöníteni a WHO I-es grádusú meningeomákat a II-III-as grádusú meningeomáktól.
- Az AMT-PET a kinetikus paraméterek meghatározásával nagy pontossággal elkülönítheti a meningeomákat a II-III-as grádusú gliomáktól.

Fenti vizsgálatok kiinduló pontja az a korábbi megfigyelés volt, hogy a pozitron sugárzó izotóppal jelölt triptofán analóggal végzett AMT-PET vizsgálatok hasznos információkkal szolgáltak különböző agydaganatokban. Fentebb összegzett tanulmányok eltérő agydaganatos betegcsoportokat vizsgáltak és ezen PET modalitásnak számos új, a klinikumban való alkalmazásának lehetőségét fedezték fel mind kezelés előtti-, mind kezelés utáni agydaganatok esetén. E disszertáció során összefoglalt tanulmányokban ezzel a PET módszerrel, kombinálva kvantitatív PET és MR technikákkal, valamint immunhisztokémiával, még nem tisztázott klinikai kérdéseket vizsgáltunk. Eredményeink új lehetőségekre hívják fel a figyelmet ezen képalkotás megközelítéséből, mely különféle típusú agydaganatok molekuláris sajátosságainak feltérképezésére, prognosztikus biomarkerek meghatározására és a tumorhoz társult depresszió hátterében álló potenciális mechanizmusok megértésére alkalmas. Bár az eredmények biztatóak, fontos megjegyezni, hogy az AMT-PET nem terjedt el széles körben a klinikai radiológiai gyakorlatban. Ennek oka elsősorban a C-11 izotóp rövid felezési ideje (20 perc). Legújabban F-18-al jelölt triptofán analógokat is tesztelnek a triptofán transzportjának, illetve kinurenin úton történő metabolizmusának leképezéséhez. Az első eredmények kedvezőek, pl., 1-(2-¹⁸F-fluoroetil)-L-triptofánt szintetizálva és használva, mely markáns tumorszöveti felvételt mutatott tumoros állatmodellben, és a kinetikája is hasonlóan mutatkozott az AMT-hez. Addig is, míg az új, F-18-al jelölt izotópokkal zajlanak a kísérletek, az AMT-PET-tel nyert, és a disszertációban részletezett kedvező klinikai eredmények további munkára ösztönöznek. Például előrelépést

hozhat egy, a triptofán metabolizmus további elemzésével kifejlesztett molekuláris képalkotó technika kifejlesztésében, mely az emberi rákkutatásba bevezethető, és klinikailag hasznosítható. Várható továbbá az is, hogy az olyan multimodális vizsgálatok, melyek a PET technikát az egyre fejlődő kvantitatív MRI technikákkal kombinálják, az agydaganatok terápiáját, illetve annak követését fogja javítani, hozzájárulva az agydaganatos betegek jobb életminőségéhez és hosszabb túléléséhez.

V. PUBLIKÁCIÓK

V.1. Tézishez kapcsolódó közlemények

1. **Bosnyák E**, Kamson DO, Guastella AR, Varadarajan K, Robinette NL, Kupsky WJ, Muzik O, Michelhaugh SK, Mittal S, Juhász C. Molecular imaging correlates of tryptophan metabolism via the kynurenine pathway in human meningiomas. *Neuro Oncol.* 2015; 17:1284-92. (IF 7.37)
2. **Bosnyák E**, Kamson DO, Behen ME, Barger GR, Mittal S, Juhász C. Imaging cerebral tryptophan metabolism in brain tumor-associated depression. *EJNMMI Res.* 2015; 5:56. (IF: 1.761)
3. **Bosnyák E**, Kamson DO, Robinette NL, Barger GR, Mittal S, Juhász C. Tryptophan PET predicts spatial and temporal patterns of post-treatment glioblastoma progression detected by contrast-enhanced MRI. *J Neurooncol.* 2016; 126:317-25. (IF: 2.754)
4. **Bosnyák E**, Michelhaugh SK, Klinger NV, Kamson DO, Barger GR, Mittal S, Juhász C. Prognostic Molecular and Imaging Biomarkers in Primary Glioblastoma. *Clin Nucl Med.* 2017; 42:341-7. (IF: 4.563)
5. Juhász C, **Bosnyák E**. PET and SPECT studies in children with hemispheric low-grade gliomas. *Childs Nerv Syst.* 2016; 32:1823-32. (IF: 1.08)
6. Erdélyi-Bótor S, Komáromy H, Kamson DO, Kovács N, Perlaki G, Orsi G, Molnár T, Illes Z, Nagy L, Kéki S, Deli G, **Bosnyák E**, Trauninger A, Pfund Z. Serum L-arginine and dimethylarginine levels in migraine patients with brain white matter lesions. *Cephalalgia.* 2017; 37:571-580. (IF: 6.05)
7. Jeong JW, Juhász C, Mittal S, **Bosnyák E**, Kamson DO, Barger GR, Robinette NL, Kupsky WJ, Chugani DC. Multi-modal imaging of tumor cellularity and tryptophan metabolism in human gliomas. *Cancer Imaging.* 2015; 15:10. (IF: 1.47)
8. **Bosnyák E**, Barger GR, Michelhaugh S, Robinette NL, Amit-Yousif A, Mittal S, Juhász C. Amino Acid PET Imaging of the Early Metabolic Response during Tumor-Treating Fields (TTFields) Therapy in Recurrent Glioblastoma. *Clin Nucl Med.* 2018; 43:176-179. (IF: 4.563)

V.2. Tézishez nem kapcsolódó közlemények

1. **Bosnyák E**, Behen ME, Guy WC, Asano E, Chugani HT, Juhász C. Predictors of Cognitive Functions in Children With Sturge-Weber Syndrome: A Longitudinal Study. *Pediatr Neurol.* 2016; 61:38-45. (IF: 1.866)
2. **Bosnyák E**, Herceg M, Pál E, Aschermann Z, Janszky J, Késmárki I, Komoly S, Karádi K, Dóczi T, Nagy F, Kovács N. Are branded and generic extended-release ropinirole formulations equally efficacious? A rater-blinded, switch-over, multicenter study. *Parkinsons Dis.* 2014; 2014:158353. (IF: 2.01)

3. Deli G, **Bosnyák E**, Pusch G, Komoly S, Feher G. Diabetic Neuropathies: Diagnosis and Management. *Neuroendocrinology*. 2014, Vol.98,No.4. (IF: 4.373)
4. Karádi K, Lucza T, Aschermann Z, Komoly S, Deli G, **Bosnyák E**, Acs P, Horváth R, Janszky J, Kovács N. Visuospatial impairment in Parkinson's disease: the role of laterality. *Laterality*. 2015; 20:112-27. (IF: 1.312)
5. Szapary L, Fehér G, **Bosnyák E**, Deli G, Csécsei P. Effective, safe stroke prevention with novel oral anticoagulants in patients with atrial fibrillation. Focus on dabigatran. *Ideggy Sz*. 2013; 66: 165-74. (IF: 0.343)
6. Deli G, Balás I, Komoly S, Dóczi T, Janszky J, Illés Z, Aschermann Z, Tasnádi E, Nagy F, Pfund Z, Bóné B, **Bosnyák E**, Kuliffay Z, Szijjartó G, Kovács N. Treatment of dystonia by deep brain stimulation: a summary of 40 cases. *Ideggy Sz*. 2012; 65:249-60. (IF: 0.348)
7. Toth P, Koller A, Pusch G, **Bosnyák E**, Szapary L, Komoly S, et al. Microalbuminuria, indicated by total versus immunoreactive urinary albumins, in acute ischemic stroke patients. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2011; 20:510-6. (IF: 1.68)
8. Deli G, Balás I, Komoly S, Dóczi T, Janszky József, Aschermann Z, Nagy F, **Bosnyák E**, Kovács N. Earlier and more efficiently: The role of Deep Brain Stimulation in Parkinson's Disease: preserving the working capability. *Ideggyogy Sz*. 2015; 68:384-90. (IF: 0.376)
9. Horváth K, Aschermann Z, Ács P, **Bosnyák E**, Deli G, et al. Validation of the Hungarian Unified Dyskinesia Rating Scale. *Ideggyogy Sz*. 2015; 68:183-8. (IF: 0.376)
10. Deli G, Aschermann Z, Ács P, **Bosnyák E**, Janszky J, et al. Bilateral Subthalamic Stimulation can Improve Sleep Quality in Parkinson's Disease. *J Parkinsons Dis*. 2015; 5:361-8. (IF: 3.015)
11. Kovács N, Aschermann Z, Ács P, **Bosnyák E**, Deli G, Janszky J, Komoly S. The impact of levodopa-carbidopa intestinal gel on health-related quality of life in Parkinson's disease. *Ideggyogy Sz*. 2014; 67:245-50. (IF: 0.386)
12. Horváth K, Aschermann Z, Acs P, **Bosnyák E**, Deli G, et al. Is the MDS-UPDRS a Good Screening Tool for Detecting Sleep Problems and Daytime Sleepiness in Parkinson's Disease? *Parkinsons Dis*. 2014; 2014:806169. (IF: 2.01)

V.3. Tézishez kapcsolódó prezentációk

Bosnyák E, Kamson D, Muzik O, Mittal S, Juhász C. Characterization of meningiomas by kinetic analysis of alpha[C-11]-methyl-L-tryptophan PET. Presented at the 21st Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping, Honolulu, HI, June 14-18, 2015.

Bosnyák E, Kamson D, Behen M, Barger G, Mittal S, Juhász C. Correlation of cerebral tryptophan metabolism with brain tumor-associated depression: A PET study. Presented at the 21st Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping, Honolulu, HI, June 14-18, 2015.

Bosnyák E, Kamson D, Robinette N, Barger G, Mittal S, Juhász C. Multimodal imaging of spatial patterns of post-treatment glioblastoma progression. *Neuro-Oncology* 2015; 17(suppl 5):v162. doi:10.1093/neuonc/nov225.38. Presented at the 20th Annual Scientific Meeting of the Society for Neuro-Oncology, San Antonio, TX, November 19-22, 2015.

Juhász C, **Bosnyák E**, Kamson D, Barger G, Behen M, Mittal S. Imaging cerebral tryptophan metabolism in brain tumor-associated depression. *Neuro-Oncology* 2015; 17 (suppl 5): v162. doi: 10.1093/neuonc/nov225.37. Presented at the 20th Annual Scientific Meeting of the Society for Neuro-Oncology, San Antonio, TX, November 19-22, 2015.

Bosnyák E, Michelhaugh SK, Klinger NV, Barger GR, Mittal S, Juhász C. Amino acid metabolism measured by PET is associated with specific molecular biomarkers in primary glioblastoma. *Neuro-Oncology* 2016; 18(suppl 6): vi132. Presented at the 21st Annual Scientific Meeting of the Society for Neuro-Oncology, Scottsdale, AZ, November 17-21, 2016.

Juhász C, Mittal S, Shah VB, **Bosnyák E**, Barger GR. Imaging the early metabolic response during tumor-treating fields therapy in recurrent glioblastoma. *Neuro-Oncology* 2016; 18(Suppl 6): vi132. Presented at the 21st Annual Scientific Meeting of the Society for Neuro-Oncology, Scottsdale, AZ, November 17-21, 2016.

Bosnyák E, John F, Robinette NL, Yousif A, Barger GR, Mittal S, Juhász C. Amino acid PET and perfusion MRI in contrast-enhancing and non-enhancing regions of glioblastomas. *Neuro-Oncology*, 2017; 19(suppl 6): vi161. Presented at the 22nd Annual Scientific Meeting of the Society for Neuro-Oncology, San Francisco, CA, November 16-19, 2017.

VI. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Tanulmányaim a National Cancer Institute (R01 CA123451) és a National Institute of Neurological Disorders and Stroke (R01 NS0419222) kutatói grantjei által voltak támogatva. Szövetteni mintákat a Biobanking and Correlative Sciences Core biztosította a Karmanos Rákkutató Intézetben, melyet szintén a National Cancer Institute támogat (P30 CA022453).

Ez a tézis sok ember munkájának a segítségével jöhetett csak létre, mely személyeknek nagyon hálás vagyok.

Mindenek előtt témavezetőmnek, Juhász Csaba Professor Úrnak szeretnék köszönetet mondani az Egyesült Államokban (WSU) töltött éveim alatt nyújtott folytonos önzetlen támogatásáért, a neuroonkológiai képalkotás (elsődlegesen az AMT-PET) alapjainak az elsajátításában való tanításáért, kutatói munkám vezetéséért és a tézisémben megírásában nyújtott rengeteg tanácsáért, segítségéért.

Szintén szeretnék köszönetet mondani a társ-témavezetőmnek, Dr. Pfund Zoltánnak, aki támogatta külföldi kutatásomat, a kint töltött éveim alatti folytonos bátorításért, melyet kaptam tőle illetve a tézisémben és a védés megszervezésében nyújtott segítségéért.

Hálás vagyok Komoly Sámuel és Janszky József Professor Uraknak, akik szintén támogattak, mikor ezt a lehetőséget megkaptam és mindvégig támogatták kutatói munkám előrehaladását.

Szeretnék szívélyes köszönetet mondani, bár sajnos nem lehetnek itt, minden kollégámnak, asszisztenseknek Detroitban, akik végig támogatták a munkámat a Wayne State Egyetemen (szeretném őket név szerint is megemlíteni):

Prof. Sandeep Mittal, MD (Chair, Neurosurgery), Geoffrey Barger, MD (Neurology), A WSU/Karmanos Cancer Institute Neuro-Oncology Multidisciplinary Team vezetői; Natasha L. Robinette, MD, és Alit Yousif, MD (Radiology), akik a klinikai MRI képek leletezését végezték; Thomas Mangner, PhD (PET Center, Children's Hospital of Michigan) az AMT előkészítésében kulcsszerepet játszó radiokémikus; Cathie Germain, MA, Cynthia Burnett, BA, és Kelly Forcucci, RN, betegtoborozásban és előjegyzésükben nyújtott segítségükért és Ms. Lynda Ferguson, aki folyamatos támogatta munkánkat a kutatásban végzett adminisztrációs munkájával.

Szintén köszönetet szeretnék mondani James Janisse-nek (PhD), a statisztikai elemzéseknél nyújtott fontos iránymutatásaiért és Sharon Michelhaugh-nak (PhD), aki a szövetteni minták feldolgozásában nyújtott segítséget (WSU Neuro-Oncology Research Laboratory).

Nagyon hálás vagyok a Children's Hospital of Michigan, PET Centrumában dolgozó minden kollégának a folyamatos tanácsokért illetve a technikai részletekben nyújtott felbecsületlen segítségükért.

Külön köszönetet szeretnék mondani minden barátomnak, akik mellettem álltak és végig támogatták munkám előrehaladását.

Végül, de persze nem utolsó sorban, szeretnék köszönetet mondani a szüleimnek, testvéreimnek, nagymamámnak a felém tanúsított önzetlen szeretetükért, támogatásukért, bátorításukért. Az, hogy kimentem az Egyesült Államokba, számomra hatalmas döntés volt, de az egyik legjobb döntés amit hoztam.