



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΙΣΘΗΤΗΡΙΩΝ ΟΡΓΑΝΩΝ
ΚΛΙΝΙΚΗ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΙ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ
ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΓΛΟΙΩΜΑΤΑ ΤΟΥ ΚΝΣ**

ΓΟΥΣΙΑΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ
Ιατρός

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2010

«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 2020. παράγραφος 2»

Ημερομηνία αίτησης του κ. Γούσια Κωνσταντίνου: 22-3-2005

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 557^α/24-5-2005

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Πολυζωΐδης Κωνσταντίνος Αναπληρωτής Καθηγητής Νευροχειρουργικής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Κυρίτσης Αθανάσιος Καθηγητής Νευρολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μπάη Μαρία Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 1-6-2005

«Επιδημιολογική και ανοσολογική μελέτη ασθενών με γλοιώματα του ΚΝΣ»

Ημερομηνία Ανασυγκρότησης Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 603^α/24-4-2007

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής

Επιβλέπων

Κυρίτσης Αθανάσιος Καθηγητής Νευρολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Πολυζωΐδης Κωνσταντίνος Καθηγητής Νευροχειρουργικής Ιατρικής Σχολής Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης

Μπάη Μαρία Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

ΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ : 683^α/11-5-2010

| | |
|----------------------------------|---|
| Κυρίτσης Αθανάσιος | Καθηγητής Νευρολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων |
| Μπάη Μαρία | Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων |
| Πολυζωΐδης Κωνσταντίνος | Καθηγητής Νευροχειρουργικής Ιατρικής Σχολής Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης |
| Βούλγαρη Παρασκευή | Επίκουρη Καθηγήτρια Ρευματολογίας με έμφαση στην Ανοσολογία Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων |
| Βούλγαρης Σπυρίδων | Επίκουρος Καθηγητής Νευροχειρουργικής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων |
| Γούσια Άννα | Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων |
| Πελίδου Συγκλητή –Ερριέτα | Επίκουρη Καθηγήτρια Νευρολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων |

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 9-6-2010

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

Ιωάννης Γουδέβενος

Καθηγητής Παθολογίας-Καρδιολογίας

Η Γραμματέας της Σχολής



ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΣΒΕΝΤΖΟΥΡΗ - ΖΩΗ

Στους γονείς μου , Τάκη και Αννίτα

Στη γυναίκα μου , Μαρκέλλα

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Πολυάριθμες μελέτες βασισμένες στα γλοιώματα έχουν πραγματοποιηθεί στις τελευταίες τρεις κυρίως δεκαετίες, χωρίς ωστόσο να μπορούμε να ισχυρισθούμε ότι κατανοούμε πλήρως την αιτιολογία και τους μηχανισμούς της παθογένεσης του γλοιώματος. Παρά τις νέες και πολλά υποσχόμενες θεσπισμένες και εναλλακτικές θεραπείες, δεν έχει βελτιωθεί το προσδόκιμο επιβίωσης των ασθενών αυτών, που στην περίπτωση των γλοιοβλαστωμάτων παραμένει πολύ πτωχό.

Η εφαρμογή της ανοσοθεραπείας είτε ως συμπληρωματική θεραπεία μετά από χειρουργική αφαίρεση ή ως μονοθεραπεία εξελίσσεται διαρκώς, ωστόσο προϋποθέτει τη γνώση και σε βάθος κατανόηση της κατάστασης της ανοσίας του γλοιώματος καθώς και των ελλείψεων που παρατηρούνται σε αυτό κατά τη νόσο.

Σκοπός της διδακτορικής μας διατριβής είναι η ανάλυση του ανοσολογικού συστήματος του γλοιώματος καθολικά, μελετώντας ταυτόχρονα παράγοντες της χυμικής και κυτταρικής ανοσίας, του συμπληρώματος, της απόπτωσης, αξιολογώντας ειδικούς ανοσολογικούς δείκτες και τους υποπληθυσμούς των λευκοκυττάρων. Επιχειρείται επίσης μια προσπάθεια συσχέτισης των παραγόντων αυτών με το βαθμό κακοήθειας του όγκου και την επιβίωση των ασθενών με γλοιοβλαστώματα. Σημαντικό μέρος της διατριβής αποτελεί και μια επιδημιολογική μελέτη του γλοιώματος στην ΒΔ Ελλάδα, τη στιγμή που μέχρι σήμερα δεν υπήρχαν επιδημιολογικά στοιχεία της νόσου που να αφορούν στη χώρα μας.

Η εκπόνηση της διδακτορικής διατριβής ολοκληρώθηκε μετά τις συνεχείς συμβουλές και την επίβλεψη του Καθηγητή κ. Κυρίτση Αθανάσιου, στον οποίο εκφράζω τις θερμές ευχαριστίες μου. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω και τον Καθηγητή κ. Πολυζωΐδη Κωνσταντίνο για τη συμπαράστασή του, κυρίως όταν χρειάστηκε να διευρύνουμε τις πηγές

συλλογής του υλικού-ασθενών και από το Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο 'ΑΧΕΠΑ' Θεσσαλονίκης από τον Φεβρουάριο του 2007 μέχρι τον Ιανουάριο του 2008.

Οφείλω ευχαριστίες στον επίκουρο Καθηγητή κ. Βούλγαρη Σπυρίδων και στην ομάδα της νευροχειρουργικής κλινικής Ιωαννίνων για τη βοήθειά τους καθόλη τη διάρκεια της διατριβής μου.

Η επιδημιολογική μελέτη ολοκληρώθηκε υπό την εποπτεία και τις οδηγίες του αναπληρωτή Καθηγητή κου Αλαμάνου Ιωάννη.

Σημαντική επιστημονική καθοδήγηση υπήρξε από την Καθηγήτρια κα Μπάη Μαρία και την επίκουρο Καθηγήτρια κα Γούσια Άννα, καθώς και από την επίκουρο Καθηγήτρια κα Βούλγαρη Παρασκευή, στις οποίες εκφράζω επίσης τις ευχαριστίες μου.

Την επεξεργασία των πειραμάτων για τους δείκτες αυτοανοσίας και το συμπλήρωμα διενήργησε η κα Σταύρου Πολυξένη, την οποία ευχαριστώ για τη βοήθειά της.

Τη συλλογή των δειγμάτων για ένα χρόνο από το 'ΑΧΕΠΑ' διεξήγαγε ο ειδικευόμενος νευροχειρουργικής κ. Αρζόγλου Βασίλειος, ο οποίος αξίζει τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου.

Θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στους γονείς μου Αννίτα και Δημήτρη για την ηθική τους συμπαράσταση και στους οποίους υπόσχομαι πολλές ακόμα γραπτές ευχαριστίες στο μέλλον.

Τέλος, αμέριστοι συμπαραστάτες τόσο επιστημονικά όσο και ηθικά υπήρξαν η αδερφή μου Παναγιώτα και η γυναίκα μου Μαρκέλλα, χωρίς τη βοήθεια των οποίων δεν θα μπορούσε να είχε ολοκληρωθεί η μελέτη.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Α ΜΕΡΟΣ

| | |
|---|----|
| 1.ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ | 11 |
| 1.1.ΠΕΡΙΓΡΑΦΙΚΗ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ | 11 |
| 1.2.ΕΠΙΠΤΩΣΗ | 14 |
| 1.3.ΗΛΙΚΙΑ | 14 |
| 1.4.ΦΥΛΟ | 19 |
| 1.5.ΦΥΛΗ | 20 |
| 1.6.ΕΝΤΟΠΙΣΗ | 21 |
| 1.7.ΚΟΙΝΩΝΙΚΟΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗ ΤΑΞΗ, ΜΟΡΦΩΤΙΚΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΚΑΙ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΝΑΣΧΟΛΗΣΗ | 23 |
| 1.8.ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΑΛΛΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ | 24 |
| 2.ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ | 25 |
| 2.1.ΙΟΝΙΖΟΥΣΑ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ | 25 |
| 2.2.ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟΤΗΤΑ | 25 |
| 3. ΠΙΘΑΝΟΙ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ | 27 |
| 3.1.ΔΙΑΤΡΟΦΗ | 27 |
| 3.2.ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ | 27 |
| 3.3.ΑΒΟ ΟΜΑΔΑ | 27 |
| 3.4.ΦΑΡΜΑΚΑ | 28 |
| 3.5.ΤΡΑΥΜΑ ΚΕΦΑΛΗ | 28 |

| | |
|---|----|
| 3.6.ΑΛΚΟΟΛ | 28 |
| 3.7.ΝΙΚΟΤΙΝΗ | 29 |
| 3.8.ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΑ ΠΕΔΙΑ | 29 |
| 3.9.ΧΡΗΣΗ ΚΙΝΗΤΟΥ ΤΗΛΕΦΩΝΟΥ | 30 |
| 4.ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ | 31 |
| 5.ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ | 33 |
| 6.ΔΙΑΓΝΩΣΗ | 35 |
| 7.ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ | 35 |
| 8.ΘΕΡΑΠΕΙΑ | 37 |
| 8.1.ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ | 37 |
| 8.2.ΑΚΤΙΝΟΘΕΡΑΠΕΙΑ | 39 |
| 8.3.ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ | 41 |
| 9.ΠΡΟΓΝΩΣΗ | 43 |
| 10.ΑΝΟΣΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΓΛΟΙΩΜΑΤΟΣ | 49 |
| 10.1. ΧΥΜΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑ | 49 |
| 10.2. ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑ | 49 |
| 10.3.ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑ | 50 |
| 10.4.ΕΛΛΕΙΨΕΙΣ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΣΤΑ ΓΛΟΙΩΜΑΤΑ | 51 |
| 10.5.ΑΝΟΣΟΔΙΕΓΕΡΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΕΣ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ | 52 |
| 10.5.1.IL2 ΚΑΙ TNF-a | 52 |
| 10.5.2.IL10 | 53 |
| 10.5.3.IL16 | 53 |
| 10.6.ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ | 54 |
| 10.6.1.Granzyme-b | 54 |
| 11.ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ | 55 |

| | |
|--|-----|
| 12.ΜΕΘΟΔΟΙ | 57 |
| 12.1.ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΗΤΗ ΡΟΗΣ | 57 |
| 12.2.ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑΣ ΡΟΗΣ | 69 |
| | |
| B ΜΕΡΟΣ | |
| | |
| 1.ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ | 77 |
| 2.ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ | 79 |
| 2.1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ | 81 |
| 2.2.ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ | 83 |
| 2.3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ | 87 |
| 2.4.ΣΥΖΗΤΗΣΗ | 91 |
| 2.5.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ | 99 |
| 2.6 ABSTRACT | 101 |
| 2.7.SYNOPSIS | 103 |
| 2.8.ΠΕΡΙΛΗΨΗ | 105 |
| 3.ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ | 107 |
| 3.1 ΑΣΘΕΝΕΙΣ | 109 |
| 3.2.ΜΕΘΟΔΟΙ | 113 |
| 3.2.1.ELISA | 113 |
| 3.2.2.ΑΚΤΙΝΩΤΗ ΑΝΟΣΟΔΙΑΧΥΣΗ | 114 |
| 3.2.3.LATEX TEST | 114 |
| 3.2.4.ΕΜΜΕΣΟΣ ΑΝΟΣΟΦΘΟΡΙΣΜΟΣ | 115 |
| 3.2.5.ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ | 116 |

| | |
|--|-----|
| 3.3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ | 121 |
| 3.4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ | 123 |
| 3.4.1. ΜΕΤΡΗΣΗ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ | 123 |
| 3.4.2. ΜΕΤΡΗΣΗ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΝΟΣΟΣΦΑΙΡΙΝΩΝ | 131 |
| 3.4.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ | 141 |
| 3.4.4 ΔΕΙΚΤΕΣ ΑΥΤΟΑΝΟΣΙΑΣ | 155 |
| 3.4.5. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ | 158 |
| 3.5. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ ΤΙΜΩΝ ΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΜΕ ΤΟ ΒΑΘΜΟ ΚΑΚΟΗΘΕΙΑΣ ΤΟΥ ΟΓΚΟΥ ΚΑΤΑ WHO | 165 |
| 3.5.1 ΕΛΕΓΧΟΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΦΥΛΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ ΣΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΩΝ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ | 176 |
| 3.5.2 ΠΟΛΥΜΕΤΑΒΛΗΤΗ ΑΝΑΛΥΣΗ | 187 |
| 3.6. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΤΩΝ ΓΛΟΙΟΒΛΑΣΤΩΜΑΤΩΝ | 189 |
| 3.7. ΚΛΙΝΙΚΟΙ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΤΩΝ ΓΛΟΙΟΒΛΑΣΤΩΜΑΤΩΝ | 193 |
| 3.7.1. ΜΟΝΟΜΕΤΑΒΛΗΤΗ ΑΝΑΛΥΣΗ | 193 |
| 3.7.1.1. ΕΠΙΒΙΩΣΗ | 193 |
| 3.7.1.2. ΗΛΙΚΙΑ | 195 |
| 3.7.1.3. ΕΥΡΟΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΑΦΑΙΡΕΣΗΣ | 197 |
| 3.7.1.4. ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ | 199 |
| 3.7.1.5 ΑΚΤΙΝΟΘΕΡΑΠΕΙΑ | 201 |
| 3.7.2. ΠΟΛΥΜΕΤΑΒΛΗΤΗ ΑΝΑΛΥΣΗ | 203 |

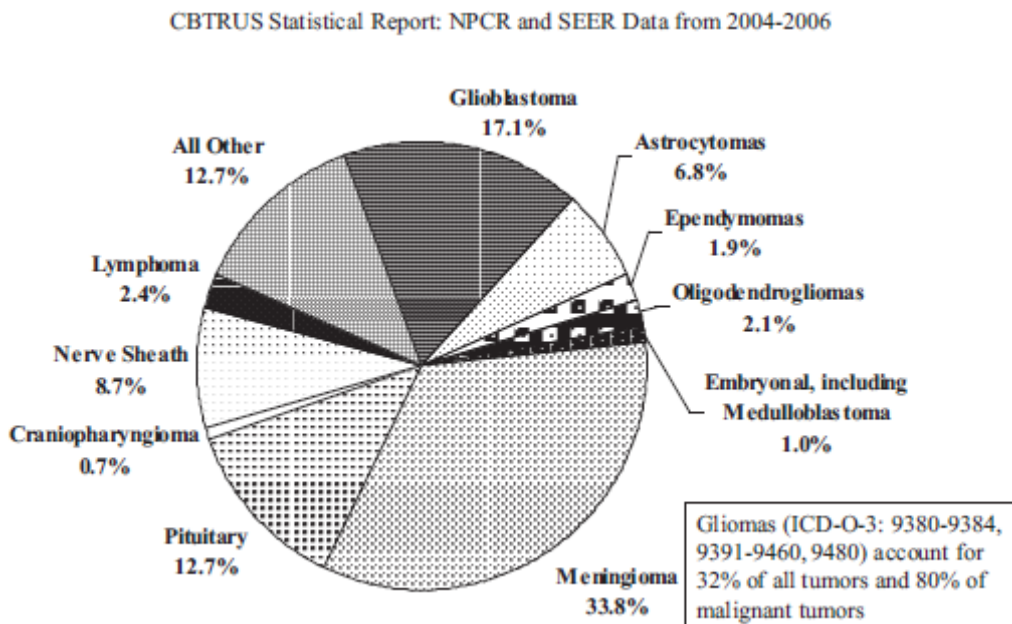
| | |
|-------------------|---------|
| 3.8.ΣΥΖΗΤΗΣΗ | 205 |
| 3.9. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ | 215 |
| 3.10. ABSTRACT | 217 |
| 3.10. SYNOPSIS | 219 |
| 3.11.ΠΕΡΙΛΗΨΗ | 221 |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ | 223-241 |

A ΜΕΡΟΣ

1.ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

1.1.ΠΕΡΙΓΡΑΦΙΚΗ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

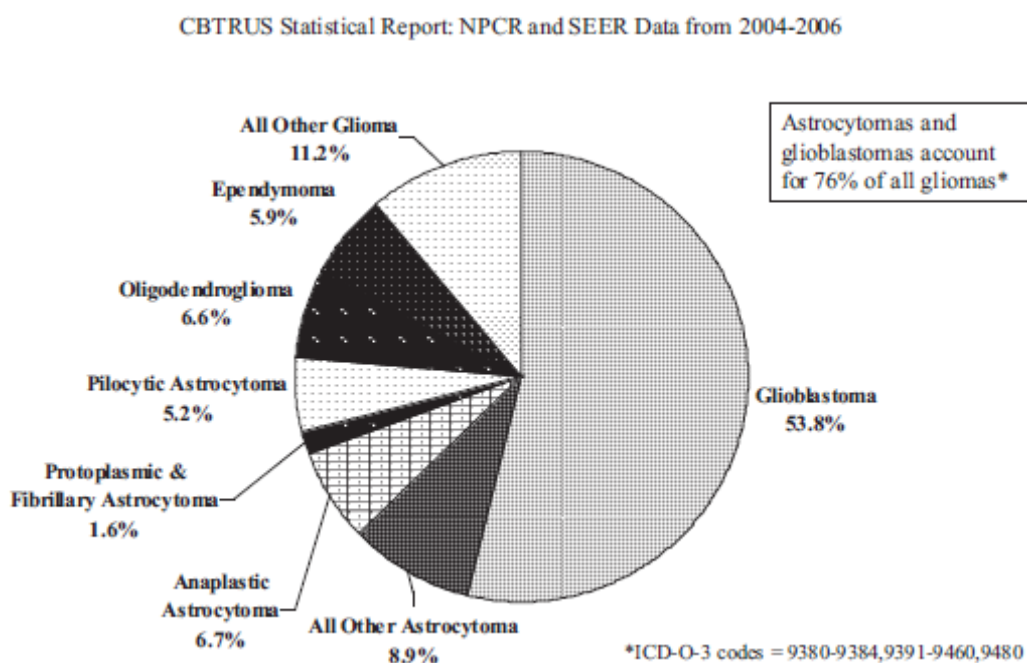
Τα γλοιώματα αποτελούν το 32% όλων των πρωτοπαθών όγκων του ΚΝΣ και το 80% των κακοήθων (CBTRUS Statistical Reports 2010) (Γράφημα 1). Ωστόσο η αιτιολογία καθώς και οι προδιαθεσικοί παράγοντες της νόσου παραμένουν ακόμα αδιευκρίνιστοι. Μέχρι σήμερα η διεθνής βιβλιογραφία περιορίζεται στην επιδημιολογία των πρωτοπαθών όγκων του ΚΝΣ συνολικά, ενώ πολύ λιγότερες είναι οι αναφορές συγκεκριμένα στα γλοιώματα.



Γράφημα 1.

Συχνότητα με την οποία εμφανίζονται οι πρωτοπαθείς όγκοι εγκεφάλου

Ακόμα πιο λίγες αναφορές υπάρχουν για υποτύπους των γλοιωμάτων, όπως για το γλιοβλάστωμα, που αποτελεί τον συχνότερο υπότυπο από τα γλοιώματα (Γράφημα 2)



Γράφημα 2.

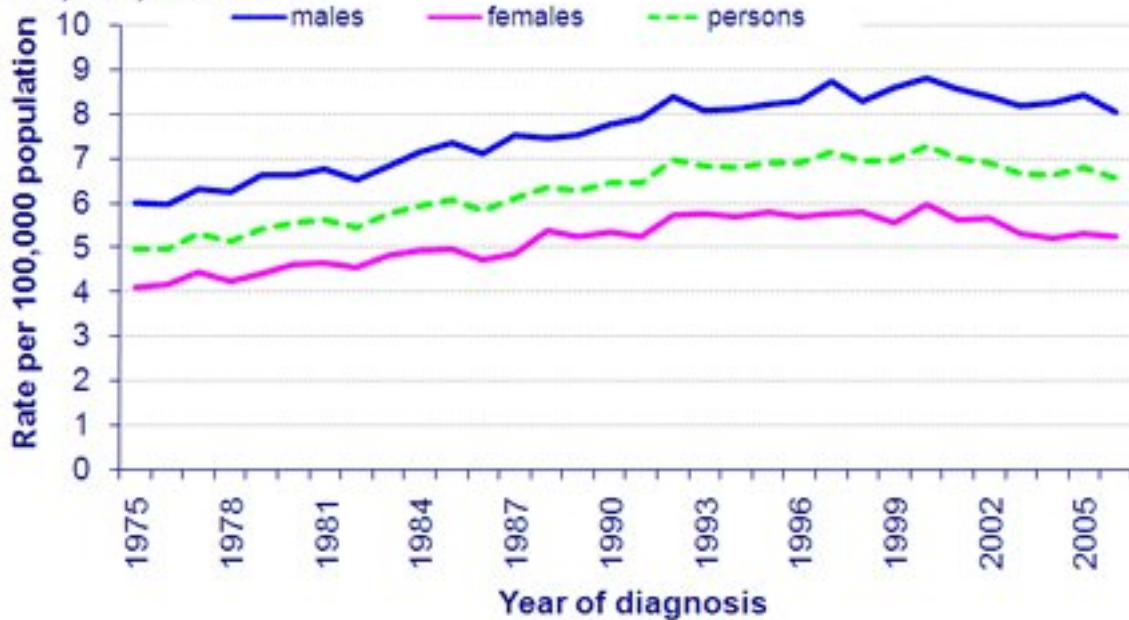
Συχνότητα με την οποία παρουσιάζονται οι διάφοροι υπότυποι του γλοιώματος.

Κάθε χρόνο στις ΗΠΑ αποβιώνουν 12900 ασθενείς με κακοήθεις πρωτοπαθείς όγκους από την νόσο. Την πλειονότητα των περιστατικών αυτών αποτελούν τα γλοιώματα (CBTRUS 2010 Statistical Reports and Tables).

Οι επιδημιολογικές μελέτες για τα γλοιώματα έχουν αρχίσει να συστηματοποιούνται από τη δεκαετία του '70, ειδικά στις ΗΠΑ. Οι ρυθμοί επίπτωσης των

γλοιωμάτων στις σύγχρονες μελέτες παρουσιάζονται αυξημένοι σε σύγκριση με τις προηγούμενες. (Deorah S et al 2006, Hess KR et al 2004, Jukich PJ 2001) (Γράφημα 3)

Figure 1.2: Age standardised (European) incidence rates, brain and other central nervous system tumours, by sex, GB, 1975-2006



Γράφημα 3.

Αυξητικές τάσεις στους ρυθμούς επίπτωσης των όγκων του ΚΝΣ ανά φύλο στην Μεγ.Βρετανία από το 1975 μέχρι το 2006

Είναι επισφαλές ωστόσο να μιλήσουμε για μια πραγματική αύξηση στην επίπτωση του γλοιώματος, αφού με την πάροδο του χρόνου έχουν αναπτυχθεί καινούριες μέθοδοι για την εντόπιση των περιστατικών των γλοιωμάτων καθώς επίσης και η ιστολογική επιβεβαίωση εφαρμόζεται σε μεγαλύτερο ποσοστό ασθενών, γεγονός που υποδηλώνει μια υποεκτίμηση των περιστατικών στο παρελθόν. Το ίδιο μπορούμε να ισχυρισθούμε και για τις μειωμένες επιπτώσεις που παρατηρούνται σε υπανάπτυκτες και αναπτυσσόμενες χώρες της Αφρικής και της Ασίας.

1.2.ΕΠΙΠΤΩΣΗ

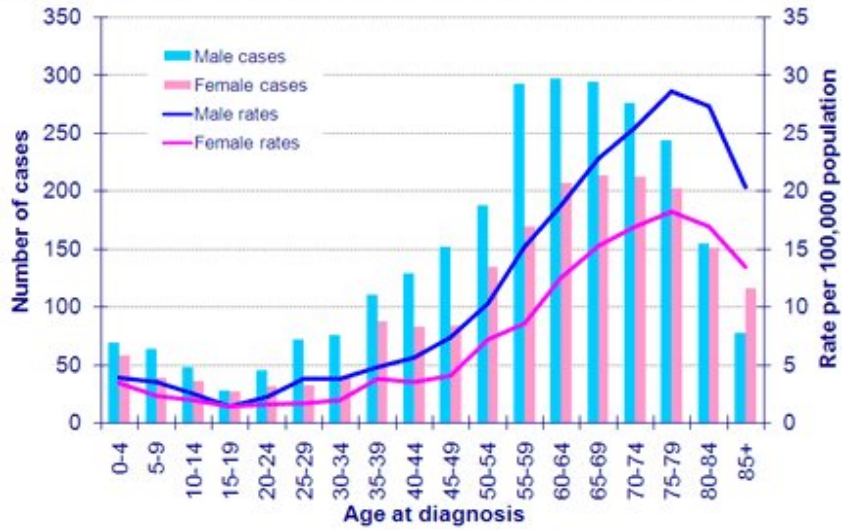
Η επίπτωση στις περισσότερες μελέτες υπολογίζεται ως νέα περιστατικά ανά 100000 μόνιμων κατοίκων της περιοχής.

Αυξημένοι ρυθμοί επίπτωσης έχουν παρατηρηθεί σε πολιτείες των ΗΠΑ και στις Σκανδιναβικές χώρες, ενώ μειωμένες στην Αφρική και στην Ασία. Παρόμοιοι ρυθμοί γύρω από τον παγκόσμιο μέσο όρο (μ.ο) παρατηρούνται στην κεντρική Ευρώπη, Καναδά, Βραζιλία και Αυστραλία. Η επίπτωση ανά ιστολογικό υπότυπο φαίνεται Πίνακα 1.

1.3. ΗΛΙΚΙΑ

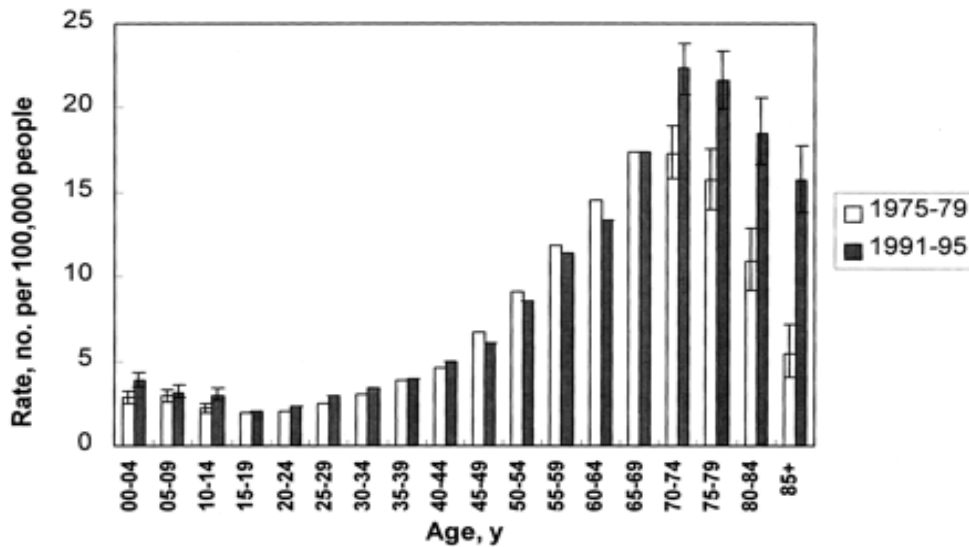
Ο μέσος ρυθμός ετήσιας επίπτωσης ανά ηλικία καθώς και οι αυξητικές τους τάσεις απεικονίζονται στα Γραφήματα 4, 5 και 6. Από τα σχήματα διαπιστώνουμε 2 κορυφές και για τα δύο φύλα, μία μικρή στην ηλικία των 10 ετών και μια μεγαλύτερη στα 75 έτη.

Figure 1.1: Numbers of new cases and age specific incidence rates, by sex, brain and other central nervous system tumours, UK 2006



Γράφημα 4.

Ρυθμοί επίπτωσης των όγκων του ΚΝΣ προσαρμοσμένες στις ηλικιακές ομάδες της Μεγ. Βρετανίας του 2006 ανά φύλο.



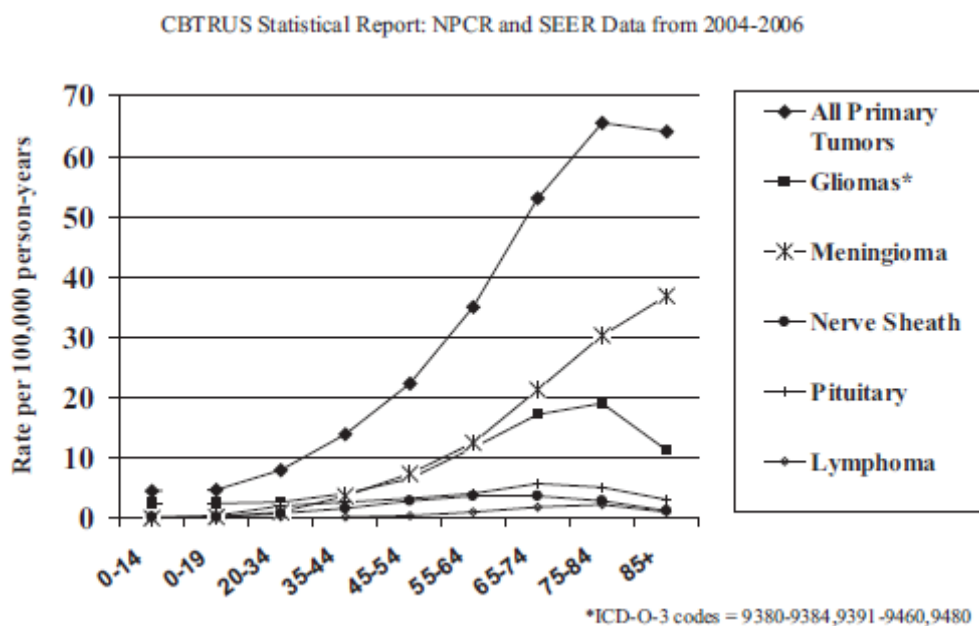
Γράφημα 5.

Ρυθμοί επίπτωσης όγκων εγκεφάλου και του κεντρικού νευρικού συστήματος προσαρμοσμένες ανά ηλικιακή ομάδα για το διάστημα 1975-79 και 1991-95 (Surveillance, Epidemiology, and End Results Program).

Πίνακας 1. Ρυθμοί επίπτωσης (I.R), και σχέσης φύλου και ηλικίας ανά βαθμό κακοήθειας

| Μελέτη | Έτος | Περιοχή | Μέση ηλικία | | Κλάσμα στη διάγνωση | Α/Θ |
|---------------------|------------|-------------------------------------|-------------------|--------|------------------------|------|
| | | | I.R(/100000/έτος) | | | |
| Schoenberg BS et al | 1955-1964 | Connecticut | grI-II | 0,63 | | |
| | | | grIII-IV | 2,34 | | |
| Levi F et al | 1981-1987 | Switzerland (canton of Vaud) | gliomas | male | 2,71 | |
| | | | | female | 1,77 | |
| Fleury A et al | 1983-1990 | France | gliomas | | 3,17 | |
| | | | GBM | | 2,38 | |
| Zulch KJ et al | 1978-1980 | Southern Finland | gliomas | | 3,8 | |
| | | | GBM | | 2,6 | |
| Helseth A et al | 1955-1984 | Norway | gliomas | | 3,5 | |
| | | | GBM | | 2,4 | |
| CBTRUS | 1990-1994 | USA (11 state cancer registries) | GBM | male | 3,24 | |
| | | | | female | 2,07 | |
| Ohgaki et al | 1992-1997* | USA | grI | 0,23 | 17 | |
| Okamoto et al | | | grII | 0,74 | 45 | |
| | | | grIII | 0,89 | 49 | |
| | | | GBM | 2,96 | 62 | 1,26 |
| Okamoto et al | 1992-1997* | Zurich | grI | 0,39 | 20 | |
| Ohgaki et al | | | grII | 0,79 | 42 | |
| | | | grIII | 0,70 | 46 | |
| | | | GBM | 3,39 | 61 | 1,28 |

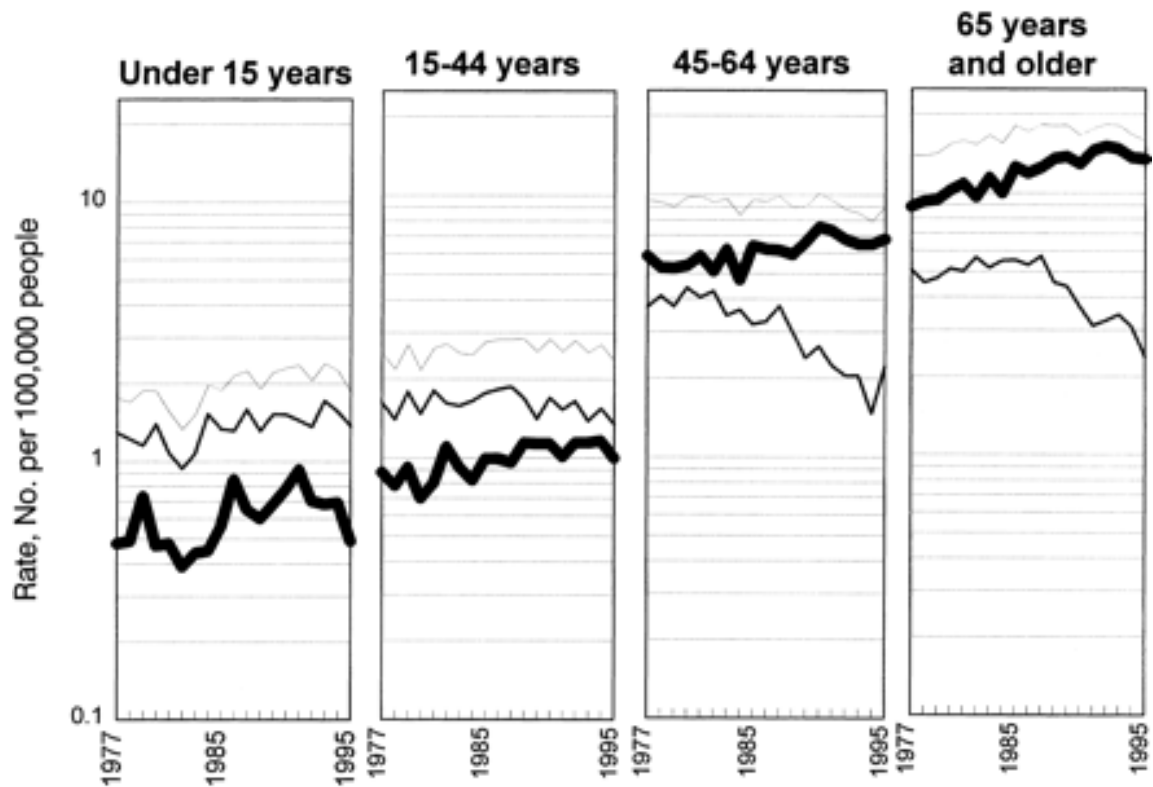
*οι ρυθμοί επίπτωσης βασίζονται στον πληθυσμό των ΗΠΑ του 2000



Γράφημα 6.

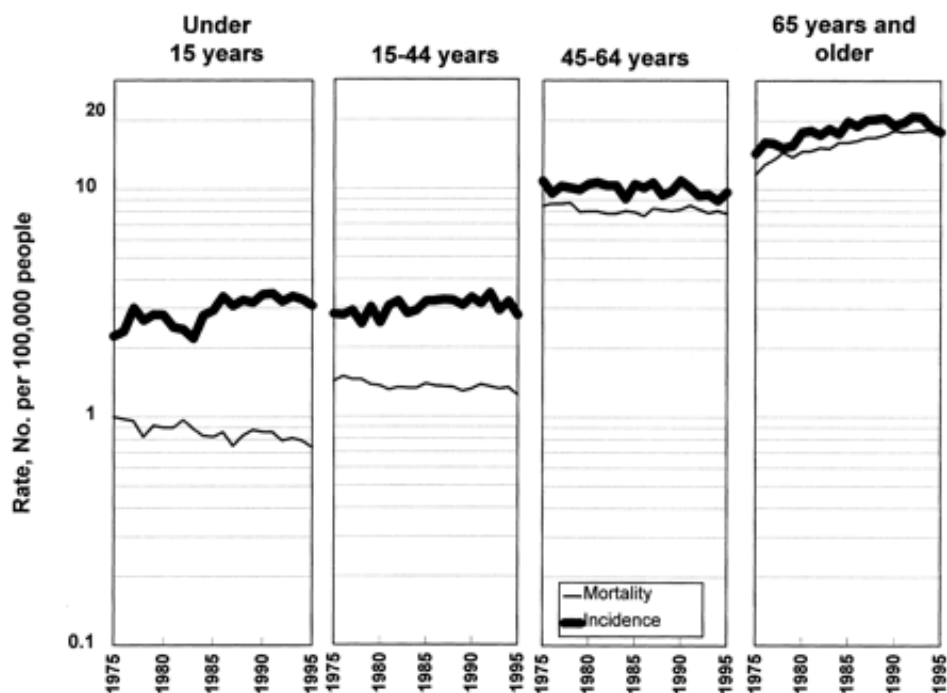
Ρυθμοί επίπτωσης ανά ηλικιακές ομάδες για τους πρωτοπαθείς όγκους και τους κυριότερους υποτύπους τους.

Στις τελευταίες μελέτες παρατηρείται αύξηση στην επίπτωση στις μεγαλύτερες ηλικίες (Γράφημα 7 και 8). Αυτό μπορεί ωστόσο να αιτιολογηθεί στην καλύτερη φροντίδα την γηραιότερων τελευταίως και στις απεικονιστικές μεθόδους, που πλέον διαγιγνώσκουν ως γλοιώματα περιπτώσεις που στο παρελθόν αξιολογούνταν ως εγκεφαλικά επεισόδια ή λοιπές νευρολογικές παθήσεις. Ο μ.ο στην ηλικία της διάγνωσης για ιστολογικούς υπότυπους γλοιωμάτων φαίνεται στον Πίνακα 1.



Γράφημα 7.

Αύξηση στους ρυθμούς επίπτωσης των γλοιωμάτων σύμφωνα με το grade και την ηλικία. (Surveillance, Epidemiology, and End Results Program, 1977-1995).
Λεπτή γραμμή = χαμηλής και υψηλής κακοήθειας γλοιώματα, **κανονική γραμμή** = χαμηλής κακοήθειας γλοιώμα, **παχιά γραμμή** = υψηλής κακοήθειας γλοιώμα.



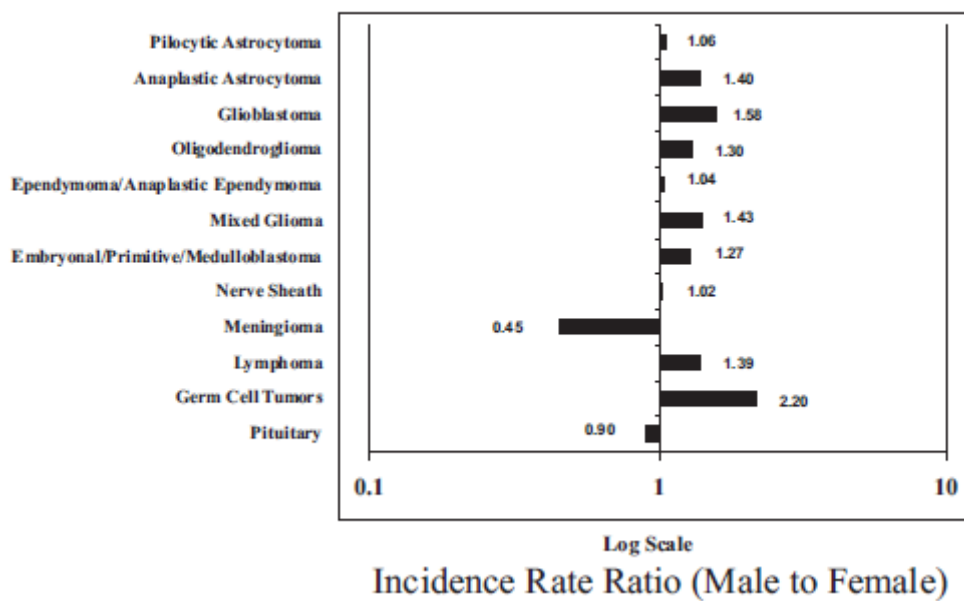
Γράφημα 8.

Τάσεις στους ρυθμούς επίπτωσης (Surveillance, Epidemiology, and End Results Program, 1975-1995) και θνητότητας (United States, 1975-1995) για κακοήθης όγκους εγκεφάλου και του λοιπού κεντρικού νευρικού συστήματος ανά ηλικία

1.4. ΦΥΛΟ

Γενικά παρατηρείται αυξημένη επίπτωση γλοιωμάτων στους άρρενες, όπως φαίνεται και από το Γραφήματα 3 και 9. Ωστόσο η αναλογία φύλου είναι διαφορετική ανάλογα με την ηλικία, ιστολογικό υπότυπο και γεωγραφική περιοχή.

CBTRUS Statistical Report: NPCR and SEER Data from 2004-2006

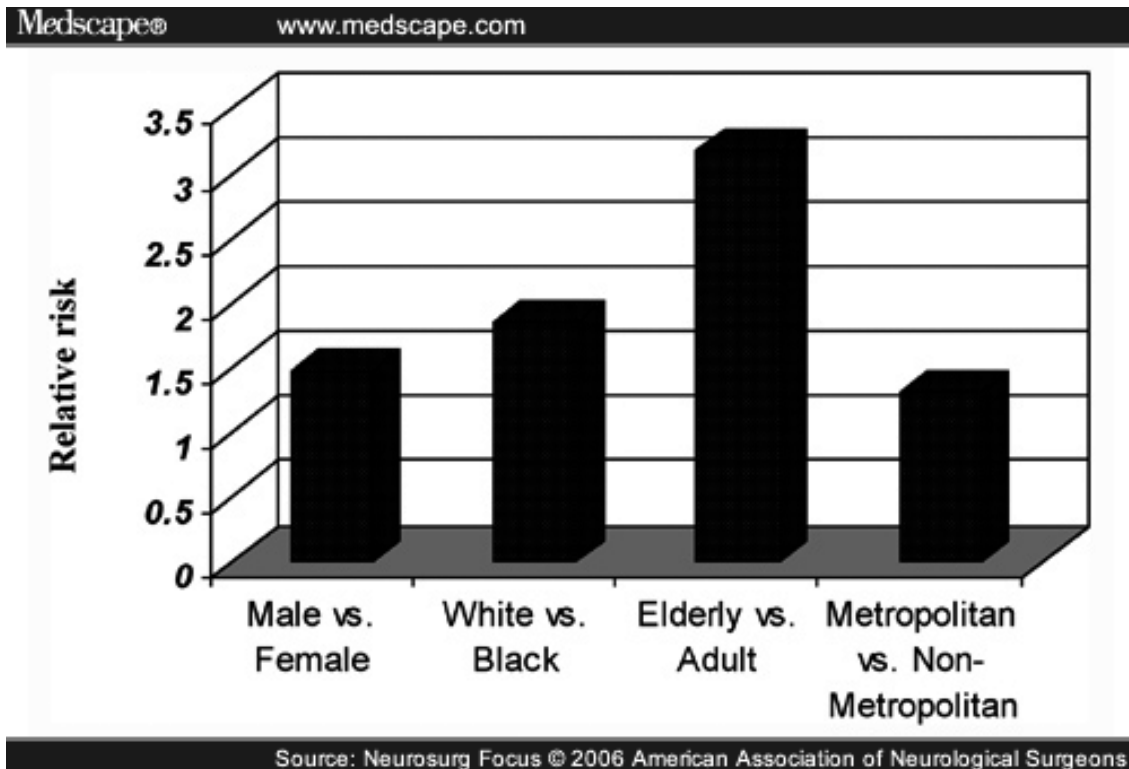


Γράφημα 9.

Λόγος Α/Θ των δεικτών επίπτωσης πρωτοπαθών όγκων του ΚΝΣ

1.5.ΦΥΛΗ

Η επίπτωση ακολουθεί αύξουσα με την εξής σειρά : Ασιάτες, Μαύροι, Λατίνοι και Λευκοί. (Γράφημα 10). Αυξημένη επίπτωση φυλών που έχουν μεταναστεύσει στις ΗΠΑ σε σύγκριση με τους ιθαγενείς έχει επίσης διαπιστωθεί.



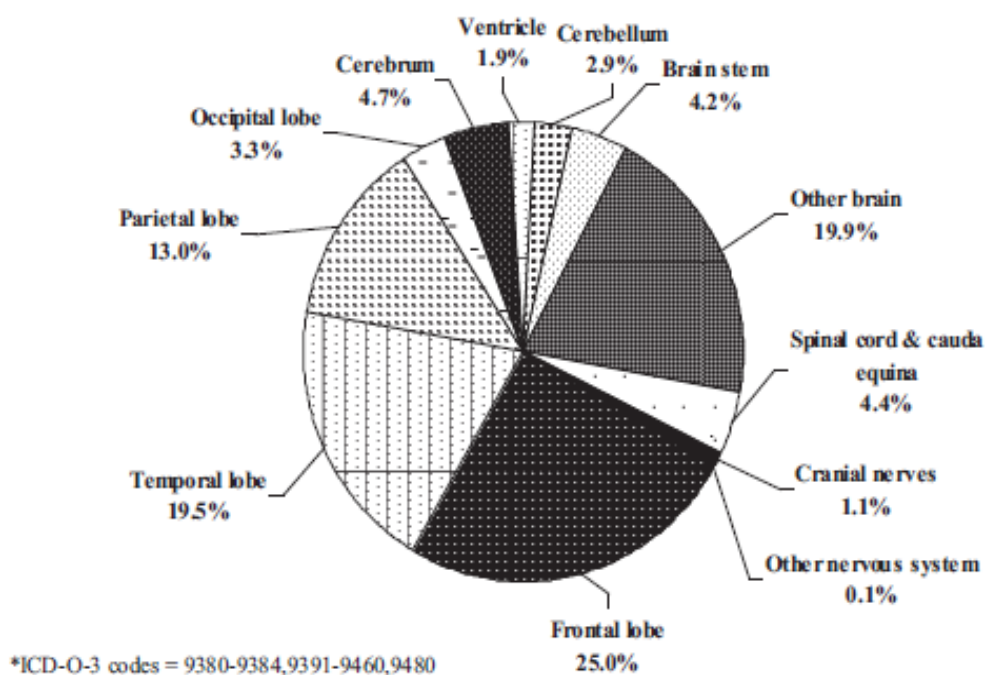
Γράφημα 10.

Γράφημα με μπάρες που δείχνει το σχετικό κίνδυνο σχηματισμού εγκεφαλικού όγκου ανάλογα με το φύλο, ηλικία, φυλή και αστική ή αγροτική κατοικία βασισμένο σε στοιχεία από αρχεία της SEER.

1.6. ΕΝΤΟΠΙΣΗ

Ο μετωπιαίος λοβός αποτελεί το λοβό με τη συχνότερη εντόπιση. Ακολουθούν ο βρεγματικός και ο κροταφικός. Λιγότερο συχνά εμφανίζεται στον ινιακό λοβό και στην παρεγκεφαλίδα (Γράφημα 11).

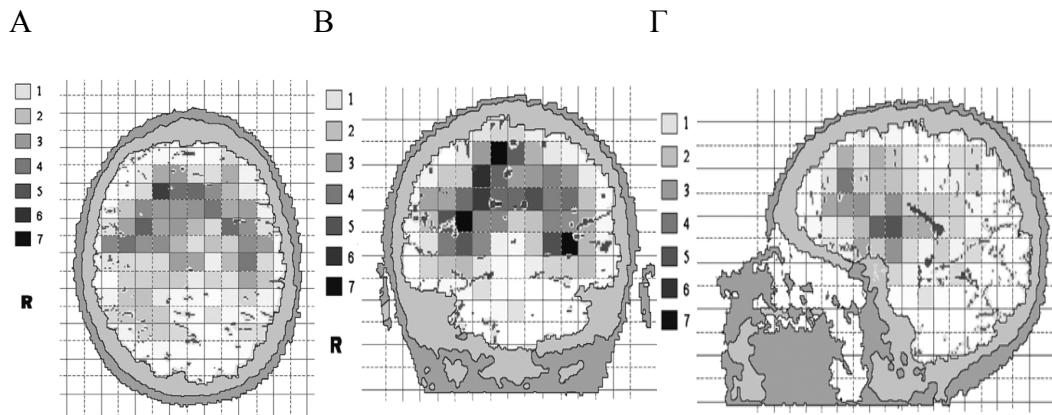
CBTRUS Statistical Report: NPCR and SEER Data from 2004-2006



Γράφημα 11.

Συχνότητα εντόπισης των γλοιωμάτων ανά ανατομική περιοχή

Η συχνότητα των γλοιωμάτων και στα δύο ημισφαίρια είναι ίδια (CBTRUS 2009). Στο Γράφημα 12 παρατηρούμε τις εντοπίσεις του όγκου σε αξονικό, οβελιαίο και στεφανιαίο επίπεδο σύμφωνα με μία μελέτη των Larjavaara S σχετικά με την συχνότητα των διαφόρων ανατομικών εντοπίσεων των γλοιωμάτων (Larjavaara S et al 2007).



Γράφημα 12.

Συχνότητα εντόπιση των γλοιωμάτων σε αξονικό, οβελιαίο και στεφανιαίο επίπεδο. Με πιο έντονο χρώμα απεικονίζονται οι πιο συχνές εντοπίσεις (Larjavaara S et al 2007).

1.7. ΚΟΙΝΩΝΙΚΟΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ, ΜΟΡΦΩΤΙΚΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΚΑΙ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΝΑΣΧΟΛΗΣΗ

Επαγγέλματα με υψηλότερη κοινωνικοοικονομική κατάσταση και μορφωτικό επίπεδο έχει φανεί να σχετίζονται με αυξημένη επίπτωση γλοιώματος σε γυναίκες στη Σουηδία (Navas-Acien A et al 2002). Επίσης στην πολιτεία του Λος Άντζελες υπάρχει θετική συσχέτιση του υψηλού κοινωνικοοικονομικού επιπέδου με την επίπτωση σε άντρες λευκούς, μαύρους και κινέζους. Επαγγέλματα όπως μηχανικοί, ιατροί, καθηγητές,οικονομολόγοι

σχετίζονται με σχετικά αυξημένο κίνδυνο για ανάπτυξη γλοιώματος (Brownson RC et al 1990).

1.8. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΑΛΛΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ

Μελέτες έχουν καταδείξει σημαντική ανάστροφη συσχέτιση μεταξύ γλοιώματος, αυτοάνοσων και αλλεργικών νόσων (Brenner AV et al 2002, Schlehofer B et al 1999, Schwartzbaum J et al 2003, Wiemels JL et al 2002). Επίσης ο Schlehofer υποστηρίζει μια αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ σακχαρώδη διαβήτη και γλοιώματος (Schlehofer et al 1992).

2. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ

2.1. ΙΟΝΙΖΟΥΣΑ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ

Αποδεδειγμένο αίτιο για γένεση γλοιώματος αποτελεί η ιονίζουσα ακτινοβολία. Μελέτες σε παιδιά που λάμβαναν προφυλακτική ακτινοβολία του ΚΝΣ (συνήθης δόση 2500 cGy) για οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία έχουν καταδείξει αυξημένο κίνδυνο για καρκινογένεση του ΚΝΣ. (Brustle O et al 1992, Little MP et al 1998, Nygaard R et al 1991, Relling MV et al 1999, Rosso P 1994, Walter AW et al 1998, Meadows AT et al 1985, Neglia et al JP 1991)

2.2. ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟΤΗΤΑ

Συσχέτιση γλοιωμάτων με φακωμάτωσης και ιδιαίτερα νευροινωμάτωση έχει καταγραφεί. Επίσης έχει ερευνηθεί η πιθανότητα οικογενούς ανάπτυξης γλοιώματος, ιδιαίτερα για τα γλοιοβλαστώματα (Farwell J et al 1984). Η ύπαρξη οικογενούς αστροκυττώματος υποστηρίζεται και από τον Malmer et al. (Malmer B et al 1999). Επίσης με επόμενη μελέτη του κατέδειξε ότι το 5% των περιστατικών γλοιωμάτων είχε οικογενειακό ιστορικό 1^{ου} βαθμού γλοιώματος, ενώ το 1% είχαν πιθανή επικρατούσα αυτοσωμική κληρονομικότητα. (Malmer B et al 2001)

3. ΠΙΘΑΝΟΙ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

3.1. ΔΙΑΤΡΟΦΗ

Τροφές πλούσιες σε N-νιτροζοανάλογα όπως μαγειρεμένο ζαμπόν, τηγανητό μπέικον, χοιρινό, ψάρια, μπύρα και ναρκωτικά σχετίζονται με υψηλότερο κίνδυνο (Blowers L et al 1997, Boeing H et al 1993, Lee M et al 1997, Lijinsky W et al 1992). Προστατευτικό ρόλο για ανάπτυξη γλοιώματος κατέχουν οι βιταμίνες C και E (φρούτα, λαχανικά), που αναστέλλουν το σχηματισμό των N-νιτροζο συμπλόκων από τα πρόδρομα μόρια, γεγονός που ενισχύει την υπόθεση της καρκινογένεσης για τα N-νιτροζο ανάλογα.(Blowers L et al 1997, Lee M et al 1997,Bilzer T et al 1989)

3.2. ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Ακολουθεί λεπτομερής αναφορά στη σελίδα 38-39.

3.3. ABO ΟΜΑΔΑ ΑΙΜΑΤΟΣ

Σε ασθενείς με αστροκύττωμα συναντούμε συχνότερα την ομάδα αίματος A σύμφωνα με τους παρακάτω αναφερόμενους μελετητές (Yates PO et al 1960, Selverstone B et al 1961).

3.4. ΦΑΡΜΑΚΑ

Υπάρχουν αναφορές για χρήση βαρβιτουρικών, διουρητικών, αντισταμινικών φαρμάκων κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης από μητέρες ασθενών με γλοιώματα (Preston-Martin S et al 1982, Gold E 1978, Howe GR et al 1989, Kuijten RR et al 1990)

3.5. ΤΡΑΥΜΑ ΚΕΦΑΛΗΣ

Έχουν αναφερθεί πολλά περιστατικά εμφάνισης γλοιώματος μετά από σοβαρή ΚΕΚ στην ίδια πλευρά (Bunin GR et al 1992, Inskipp et al 2008, Salvati et al 2004). Πιθανή αιτιολόγηση του φαινομένου μπορεί να υπάρξει μέσω του μηχανισμού της μετατραυματικής αστρογλίωσης της περιοχής.

3.6. ΑΛΚΟΟΛ

Δεν έχει παρατηρηθεί αποδεδειγμένη συσχέτιση μεταξύ κατανάλωσης αλκοόλ και ανάπτυξης γλοιώματος (Hu J et al 1999, Preston-Martin S et al 1989, Hurley SE et al 1996).

3.7. ΝΙΚΟΤΙΝΗ

Πολλές αντικρουόμενες μελέτες σχετικές με τον κίνδυνο του καπνίσματος έχουν γραφθεί. Σε ενήλικες δεν έχει ανευρεθεί καμία αιτιολογική σχέση μεταξύ καπνίσματος και γλοιώματος (Blowers L et al 1997, Zheng T et al 2001, Preston-Martin S et al 1989). Σημαντική δόσοεξαρτώμενη σχέση μόνο μεταξύ τσιγάρων χωρίς φίλτρο και καρκινογένεσης έχει βρεθεί σε 2 μελέτες στο Σαν Φρανσίσκο και στο Τορόντο (Lee M et al 1997, Ohshima H et al 1994). Επίσης έχει αναφερθεί το παθητικό κάπνισμα για τα παιδιά ως ασθενής προδιαθεσικός παράγοντας για παιδικό αστροκύττωμα (Cordier S et al 2004) σε αντίθεση με άλλες που δεν αναδεικνύουν καμία σχέση.(Norman MA et al 1996)

3.8. ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΑ ΠΕΔΙΑ

Έχουν αναφερθεί μελέτες για αυξημένο ρίσκο πρωτοπαθών όγκων εγκεφάλου σε επαγγέλματα σχετιζόμενα με ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία (Savitz DA et al 1995, Villeneuve PJ et al 2002, Marsh GM et al 1991, Thomas TL et al 1987) ενώ άλλες απέτυχαν να καταδείξουν τέτοια σχέση (Armstrong B et al 1994, Thierault G et al 1994). Επίσης όγκοι εμφανιζόμενοι στην παιδική και εφηβική ηλικία βρέθηκε σε μερικές μελέτες να σχετίζονται με έκθεση σε μαγνητικό πεδίο (Savitz DA et al 1993, Wertheimer et al 1979, Tomenius L 1986, Savitz DA et al 1988), ενώ σε άλλες όχι (Gurney JG et al 1996, Olsen JH et al 1993, Preston-Martin S et al 1996, Feychting M et al 1992).

3.9. ΧΡΗΣΗ ΚΙΝΗΤΟΥ ΤΗΛΕΦΩΝΟΥ

Η λειτουργία των κινητών συμβαίνει στο εύρος των ραδιοσυχνοτήτων καθώς και των συχνοτήτων των φούρνων μικροκυμάτων. Ενδιαφέρον έχει προκαλέσει η πιθανή σχέση της χρήσης των κινητών τηλεφώνων με τον κίνδυνο ανάπτυξης γλοιώματος. Ωστόσο είναι περιορισμένες οι δυνατότητες διερεύνησης της σχέσης αυτής, λόγω της ευρείας χρήσης του κινητού για λίγο περισσότερο από δύο δεκαετίες. Οι αρχικές μελέτες δεν έχουν αναδείξει σημαντική συσχέτιση (Ali Kahn A et al 2003, Cook A et al 2003, Frumkin H et al 2001, Johansen C et al 2001, Muscat JE et al 2000, Schuz et al 2006, Takebayashi T et al 2008, Hours et al 2003). Μία μελέτη μόνο στη Σουηδία με 649 ενήλικους με όγκους εγκεφάλου έχει καταδείξει θετική συσχέτιση μεταξύ χρήσης κινητού για πάνω από 10 χρόνια και εμφάνισης γλοιώματος (Hardell L et al 2002).

4. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

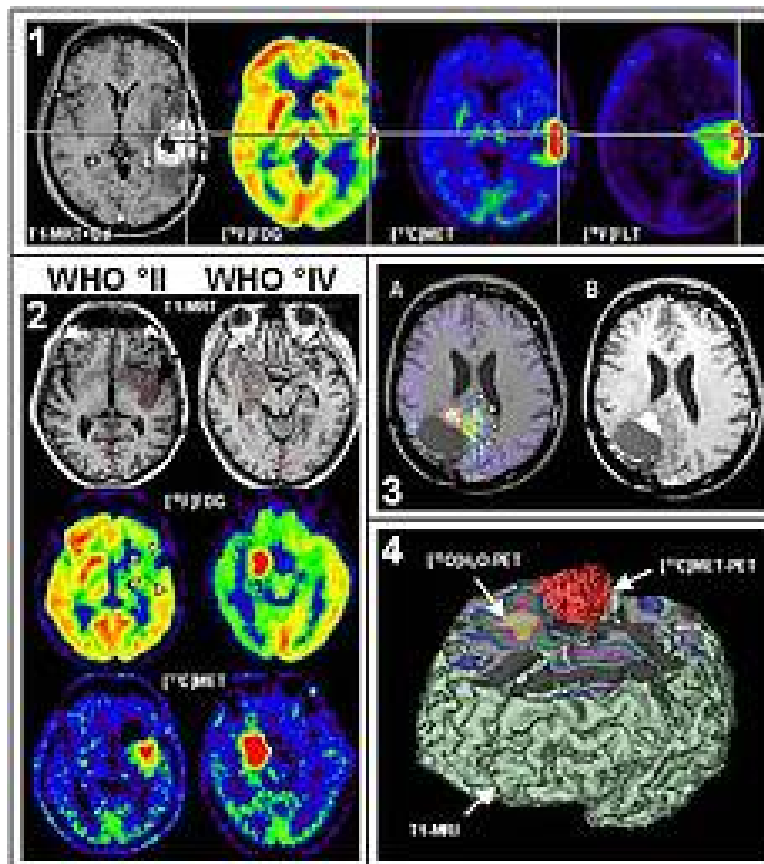
Η αντίστοιχη νευρολογική σημειολογία εμφανίζεται συνήθως όταν ο όγκος αποκτά χωροκατακτητικό χαρακτήρα. Σε αντίθετη περίπτωση, η διάγνωση του γλοιώματος μπορεί να αποτελέσει τυχαίο εύρημα. Η νευρολογική συμπτωματολογία διαμορφώνεται συνήθως προοδευτικά μέσα σε ορισμένες εβδομάδες έως μήνες. Όπως και στους λοιπούς όγκους εγκεφάλου η συμπτωματολογία εξαρτάται από την αντίστοιχη εντόπιση του όγκου, την ταχύτητα εξάπλωσης του και από τον όγκο του. Γενικά συμπτώματα, όπως κεφαλγίες, ναυτία, ζάλη και έμετος μπορούν να αποδοθούν στην αύξηση της ενδοκράνιου πίεσης. Συνήθως τα αρχικά συμπτώματα δεν είναι ειδικά. Περίπου στο ένα τρίτο των ασθενών μοναδικό και αρχικό σύμπτωμα αποτελεί η επιληψία. Επίσης αφασία (κινητική, αισθητική), ημιπάρεση, αλλαγή προσωπικότητας, αδυναμία μνήμης μπορούν να εμφανιστούν αρχικά. Τα συμπτώματα αυτά συνήθως βελτιώνονται με την χορήγηση κορτιζόνης προεγχειρητικά. Μετεγχειρητικά και όταν δεν προκύπτει κάποια μετεγχειρητική επιπλοκή, συνήθως επέρχεται ύφεση των συμπτωμάτων λόγω της μείωσης της χωροκατακτητικής εξεργασίας. Σε περίπτωση συνοδού ακτινοθεραπείας μετεγχειρητικά, σε περιπτώσεις κακοήθους γλοιώματος, μπορεί να εμφανιστούν οι τυπικές επιπλοκές τους, όπως π.χ ευκαιριακές λοιμώξεις λόγω λευκοπενίας, αιμορραγικές διαθέσεις λόγω θρομβοπενίας κτλ.

5. ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ

Σε κλινική υποψία όγκου εγκεφάλου η πρώτη συνήθης απεικονιστική επιλογή είναι η αξονική τομογραφία λόγω κυρίως της μεγαλύτερης διαθεσιμότητας της και του χαμηλότερου κόστους της σε σχέση με την μαγνητική τομογραφία σε πολλά περιφερικά κέντρα. Ωστόσο απεικόνιση επιλογής για τα γλοιώματα αποτελεί η μαγνητική τομογραφία. Συνήθως λοιπόν διενεργείται στην αρχική φάση της διαγνωστικής διαδικασίας μια αξονική τομογραφία και επί αναδείξεως μιας ύποπτης για γλοίωμα χωροκατακτητικής εξεργασίας ακολουθεί η μαγνητική τομογραφία.

Στην CT απεικονίζεται ένα κακοήθες γλοίωμα ως ανομοιόρφη υπόπυκνη βλάβη με περιφερικό δακτυλιοειδή εμπλουτισμό από σκιαγραφικό και ζώνη (penumbra) εγκεφαλικού οίδηματος. Στην MRI με και χωρίς σκιαγραφικό παρατηρείται ένας δακτύλιος εμπλουτισμού με σκιαγραφικό στην T1 ενώ στην T2 μπορούμε να απεικονίσουμε πιο εύκολα το περιβάλλον οίδημα εγκεφάλου. Ο κεντρικός υπόπυκνος πυρήνας αποτελεί την κεντρική νέκρωση. Ένα καλοήθες γλοίωμα από την άλλη δεν παρουσιάζει εμπλουτισμό από σκιαγραφικό.

Η χρήση της PET (positron emission tomography) ή της MRS (magnetic resonance spectroscopy) έχει θέση σε δύσκολες περιπτώσεις, όπως περιπτώσεις ακτινονέκρωσης ή αιμορραγίας (Εικόνα 1).



Εικόνα 1.

Χρήση της PET στη διάγνωση των γλοιωμάτων

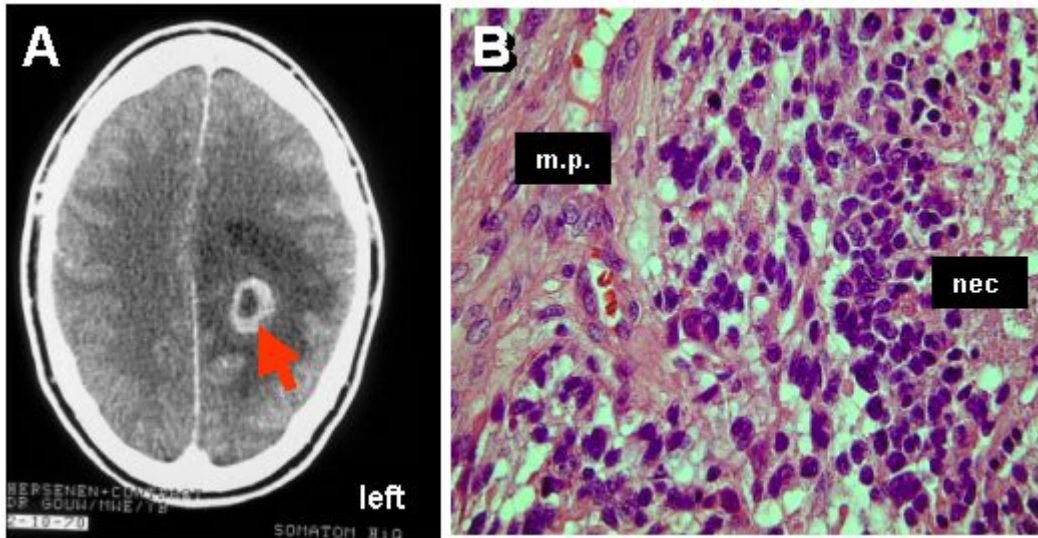
6. ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Σίγουρη διάγνωση τίθεται μόνο από την βιοψία.

7. ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

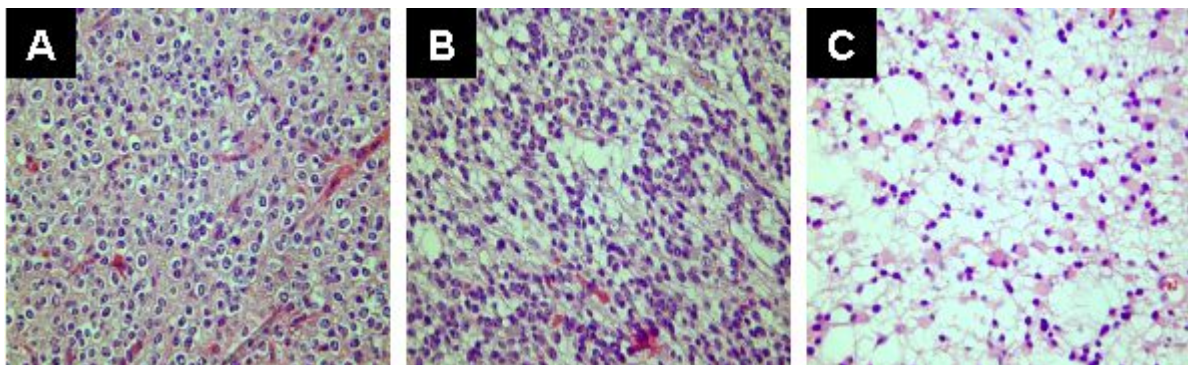
Η ιστολογική ταξινόμηση που χρησιμοποιείται από την πλειονότητα των κλινικών είναι αυτή κατά WHO, σύμφωνα με την οποία χωρίζονται τα γλοιώματα ανάλογα με τον βαθμό της αναπλασίας, διήθησης, νέκρωσης, πλειομορφισμού και μιτωτικής δραστηριότητάς τους σε καλοήγη (grade I και II) και κακοήγη (grade III και IV) (Εικόνα 2 και 3). Ωστόσο δεν μπορούμε να αγνοήσουμε σημαντικές σχολές όπως αυτή της Μασσαλίας, που χρησιμοποιεί τη δική της ταξινόμηση. Η ταξινόμηση ωστόσο των γλοιωμάτων υπόκειται σε μεγάλο βαθμό υποκειμενικότητας.

Τα γλοιώματα μπορούν επίσης να χωριστούν σε διηθητικούς (αστροκυττώματα, αναπλαστικά αστροκυττώματα, γλοιοβλαστώματα) και μη διηθητικούς αστροκυτταρικούς όγκους (πilocυτταρικά αστροκυττώματα, πλεομορφικά ξανθοαστροκυττώματα), σε ολιγοδενδρογλιακούς όγκους (ολιγοδενδρογλοιώματα και αναπλαστικά ολιγοδενδρογλοιώματα), σε επενδυμάτα και σε μικτά γλοιώματα (ολιγοαστροκύττωμα και αναπλαστικό ολιγοαστροκύττωμα).



Εικόνα 2.

CT ασθενούς με γλοίωμα (A). Αν και ο όγκος φαίνεται στην αξονική μας ως καλά περιγεγραμμένος (κόκκινο βέλος), ο όγκος έχει ήδη διηθήσει το περιβάλλον εγκεφαλικό παρέγχυμα σε βαθμό που ίσως να έχει επεκταθεί και στο δεξιό ημισφαίριο. Η ιστολογική εικόνα ενός τέτοιου γλοιοβλαστώματος αποτελείται στο κεντρικό μέρος του (υπόπυκνη περιοχή εσωτερικά του λευκού δακτυλίου στην εικόνα A) από αναπλαστικά καρκινικά κύτταρα της γλίας, νεοαγγειογένεση και νέκρωση.



Εικόνα 3.

Ιστολογική εικόνα τυπικού ολιγοδενδρογλοιώματος (A), τυπικού αστροκυττώματος (Γ) και ενός τύπου που δεν μπορεί να ταξινομηθεί ούτε ως καθαρό ολιγοδενδρογλοίωμα ούτε ως αστροκύττωμα και εμφανίζει χαρακτηριστικά και από τους δύο τύπους, με αποτέλεσμα να αποκαλείται μικτό ολιγο-αστροκύττωμα (B).

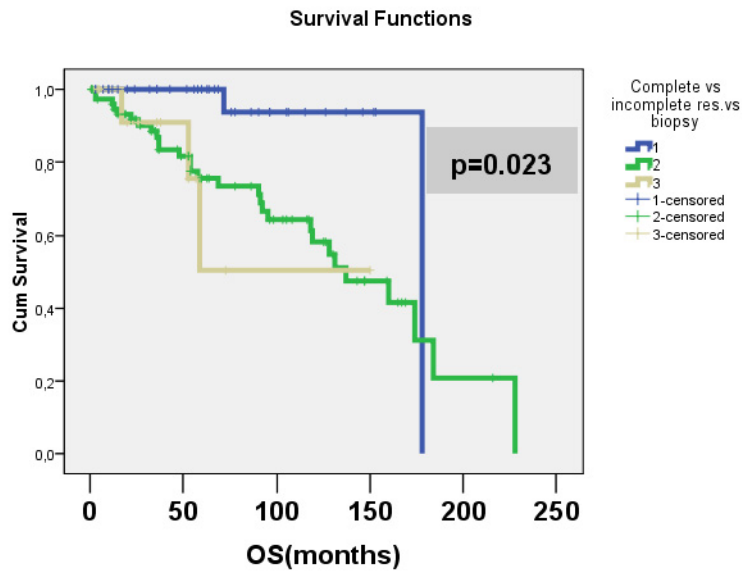
8. ΘΕΡΑΠΕΙΑ

8.1. ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ

Η χειρουργική αφαίρεση αποτελεί την αρχική θεραπεία των γλοιωμάτων. Μάλιστα αποτελεί και την μοναδική σε ότι αφορά στα χαμηλής κακοήθειας γλοιώματα (WHO grade I και II). Σε περίπτωση μη ολικής αφαίρεσης κάποιου γλοιώματος grade II είναι συζητήσιμη η συμπληρωματική ακτινοβολία του όγκου. Η θεραπεία των γλοιωμάτων υψηλής κακοήθειας προβλέπει μετά από τη χειρουργική αφαίρεση, τη διενέργεια χημειο- και ακτινοθεραπείας.

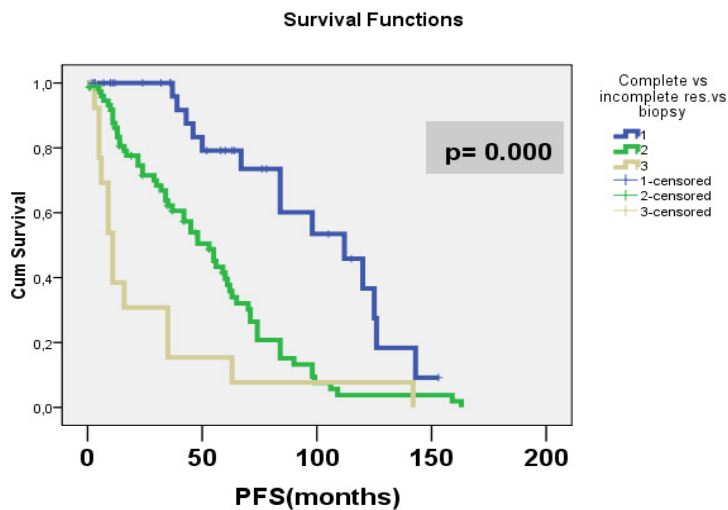


Η gross total resection αποτελεί τη εξαίρεση εκλογής, σε όλα τα grade των γλοιωμάτων, αφού βρέθηκε να σχετίζεται στατιστικά σημαντικά με καλύτερη επιβίωση και πρόγνωση των ασθενών σε σύγκριση με την μερική εξαίρεση ή τη βιοψία (Gousias et al, 2010) Ακολουθούν τα γράφηματα 13 και 14, τα οποία πραγματεύονται διηθητικά καλοήθη γλοιώματα.



Γράφημα 13.

Καμπύλη που δείχνει την επιβίωση ασθενών με γλοιώματα WHO grade II ανάλογα με το βαθμό της χειρουργικής εξαίρεσης. Η ολική εξαίρεση (μπλε γραμμή) υπερτερεί στατιστικά σημαντικά της μερικής αφαίρεσης (πράσινη) και βιοψίας (γκρι). (Gousias et al 2010)



Γράφημα 14.

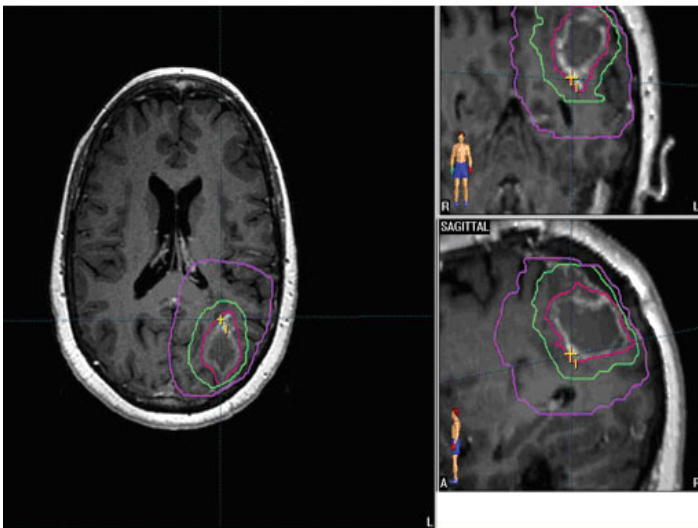
Ευνοϊκή επίδραση της ολικής χειρουργικής αφαίρεσης (μπλε) έναντι της μερικής (πράσινη) και βιοψίας (γκρι) στο χρονικό διάστημα μέχρι να υποτροπιάσουν τα γλοιώματα WHO grade II. (Gousias et al 2010).

8.2. ΑΚΤΙΝΟΘΕΡΑΠΕΙΑ

Ενδείκνυται ως συμπληρωματική θεραπεία τόσο των γλοιωμάτων υψηλής κακοήθειας όσο και σε μερικώς εξαιρεμένους όγκους grade II, ιδιαίτερα όταν η βιοψία φανερώνει υψηλό δείκτη μιτωτικής δραστηριότητας. Η ραδιοθεραπεία εφαρμόζεται σε μια περιοχή που περιλαμβάνει 2-3 εκατοστά περι του όγκου που αναγνωρίζεται στην MRI με σκιαγραφικό. Διάφορες μέθοδοι έχουν εφαρμοστεί για να διασφαλίσουν υψηλή εντόπιση της ραδιενεργού δόσης στον επιθυμητό όγκο με παράλληλο περιορισμό της δράσης της στο περιβάλλοντα υγιές παρέγχυμα, όπως η στερεοτακτική ραδιοχειρουργική (Εικόνα 4)

Εικόνα 4A

Figure 1. T1-Weighted MRI of 50-Year-Old Female with Left Parietal Glioblastoma



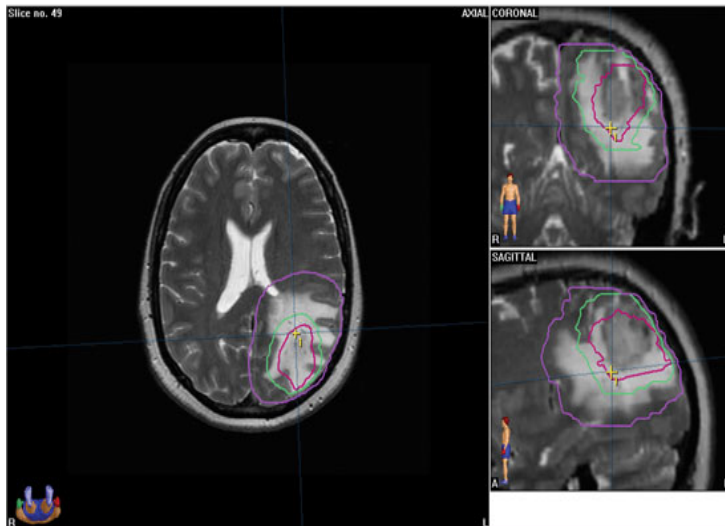
Red outline delineates the tumor volume.

MRI = magnetic resonance imaging.

Reprinted with permission from University of Colorado Denver.

Εικόνα 4B

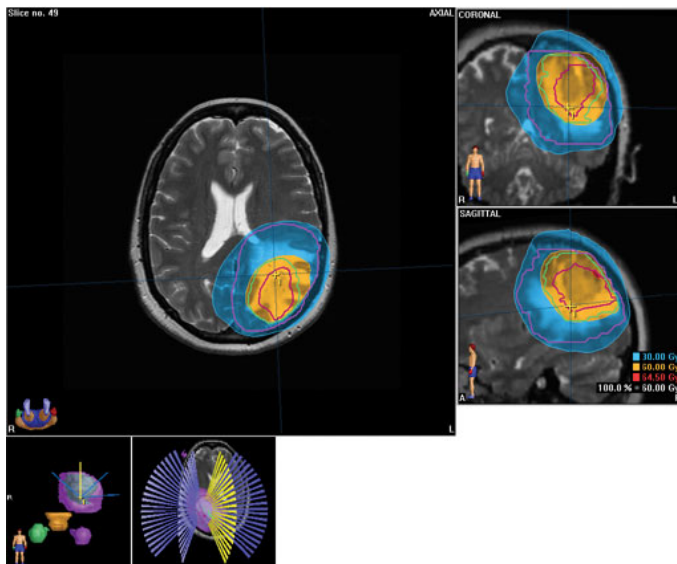
Figure 2. T2-Weighted MRI Demonstrating the Edema Around the Tumor



Red outlines the original tumor volume and purple indicates the increase in the area to be included in the treatment volume.
 MRI = magnetic resonance imaging.
 Reprinted with permission from University of Colorado Denver.

Εικόνα 4Γ

Figure 3. Radiation Therapy Treatment Plan Showing the Changes in Tumor Volume



Radiation therapy treatment plan for the same patient showing the changes in the tumor volume included in the high-dose region using T1- and T2-weighted MRI. Yellow splash indicates the final high-dose treatment area.
 MRI = magnetic resonance imaging.
 Reprinted with permission from University of Colorado Denver.

Εικόνα 4.

A T1 ακολουθία. Το κόκκινο περίγραμμα περιλαμβάνει τα όρια του όγκου

B T2 ακολουθία. Το κόκκινο περίγραμμα περιγράφει τα όρια του όγκου ενώ το μωβ την περιοχή του εγκεφάλου που θα λάβει την ραδιοθεραπεία.

Γ Πλάνο ραδιοθεραπείας για τον ίδιο ασθενή που δείχνει τις αλλαγές στον όγκο του γλοιώματος που θα λάβει την υψηλή δόση. Με κίτρινο περιβάλλεται η τελική περιοχή που θα λάβει την υψηλή δόση.

8.3. ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ

Εφαρμόζεται σε υψηλού βαθμού κακοήθειας γλοιώματα, όπως και σε υποτροπιάζοντα γλοιώματα χαμηλής κακοήθειας. Οι νιτροζουρίες είναι ευρέως εφαρμοζόμενη θεραπεία είτε ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με φάρμακα όπως βινκριστίνη, προκαρβαζίνη και λομουστίνη. Η τεμοζολομίδη αποτελεί εναλλακτική θεραπεία, που εμφανίζεται λιγότερο τοξική και για το λόγο αυτό αποτελεί πλέον την θεραπεία εκλογής.

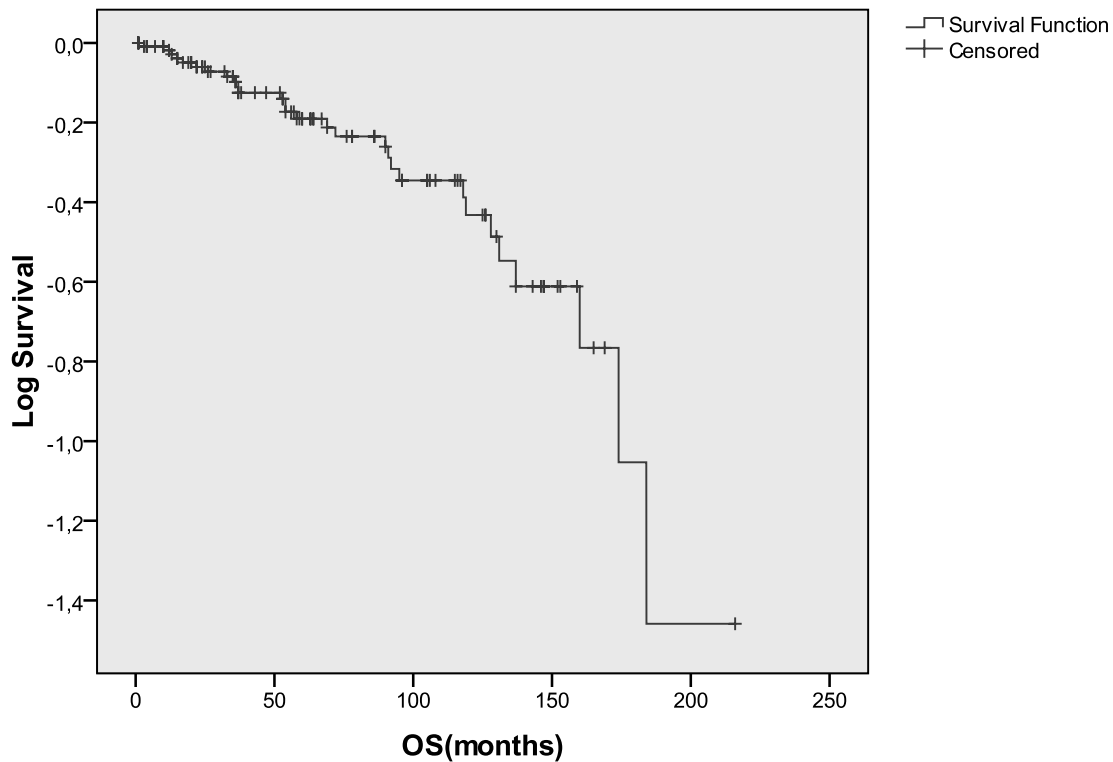
9. ΠΡΟΓΝΩΣΗ

Παρά την εφαρμογή ποικίλων νέων θεραπειών στις τελευταίες δεκαετίες παραμένει εξαιρετικά φτωχή η πρόγνωση ιδιαίτερα των ασθενών με κακοήθη γλοιώματα. Τα γλοιοβλαστώματα παρουσιάζουν μια μέση επιβίωση 3 μηνών χωρίς θεραπεία. Μετά από χειρουργική αφαίρεση, ακτινοθεραπεία και χημειοθεραπεία επιμηκύνεται η μέση επιβίωση στους 12 με 14 μήνες, με λιγότερο του 25% των ασθενών να επιβιώνουν πάνω από 2 χρόνια και με λιγότερο από 10% των ασθενών να έχουν 5ετή επιβίωση (CBTRUS 2009, Guidelines of German Neurosurgical Society 2009).

Βελτιωμένη είναι η μέση επιβίωση ασθενών με WHO grade III, ενώ ασθενείς με WHO grade II έχουν μέση επιβίωση 90 μηνών. (Gousias K et al 2010) (Γράφημα 15). Ασθενείς με γλοιόμα WHO grade I παρουσιάζουν αισθητά καλύτερη επιβίωση άνω των 10 ετών.

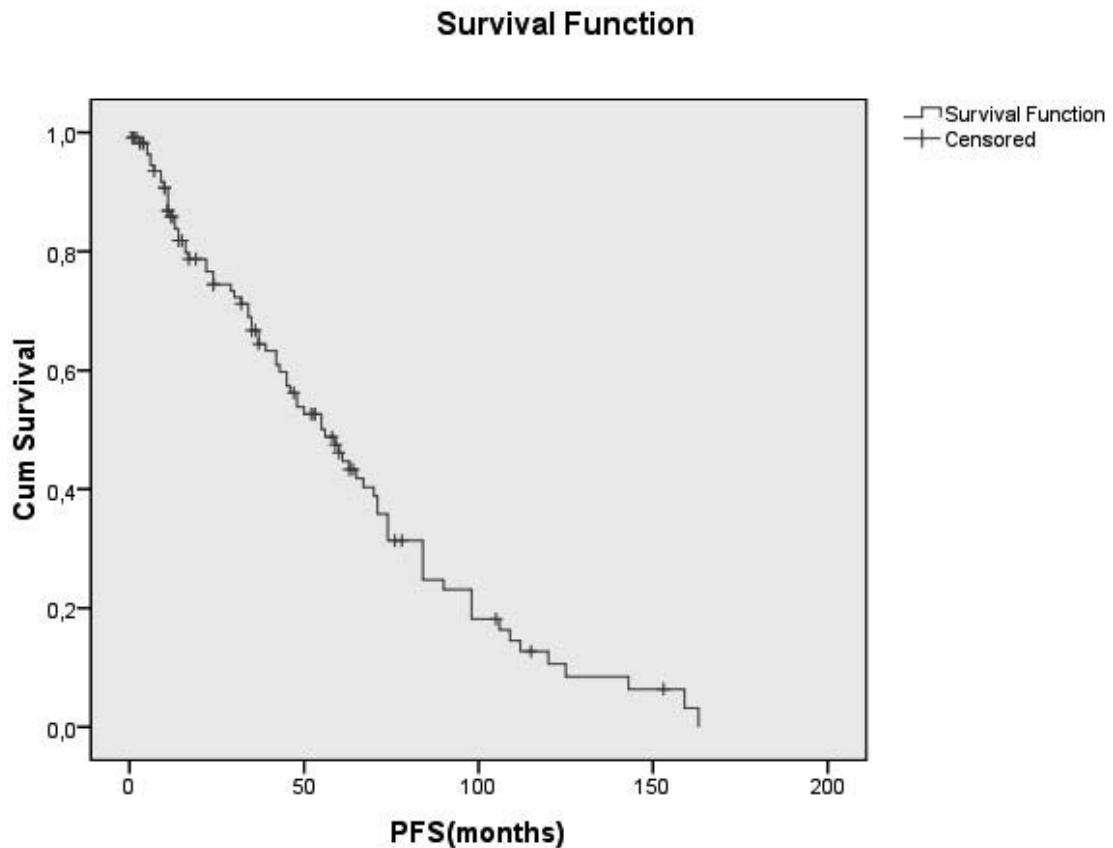
Αν και τα γλοιώματα WHO grade II χαρακτηρίζονται ως καλοήθη, η πραγματικότητα διαψεύδει την ονομασία τους. Σύμφωνα με μελέτη του παρόντος συγγραφέα σε 127 ενήλικες ασθενείς με αστροκυτώματα, ολιγοδενδρογλοιώματα και ολιγοαστροκυτώματα WHO grade II που χειρουργήθηκαν στην Νευροχειρουργική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου της Βόννης από το 1996 μέχρι το 2005, βρέθηκε πως το 70% των ασθενών αυτών παρουσίασαν υποτροπή και 15% διαφοροποίηση προς μεγαλύτερο βαθμό κακοήθειας σε ένα follow up 10 ετών (Gousias K et al 2009) (Γράφημα 16).

Log Survival Function



Γράφημα 15.

Επιβίωση ασθενών με γλοιώματα WHO grade II. Ως Overall Survival (OS) ορίζεται το χρονικό διάστημα απο την χειρουργική αφαίρεση μέχρι το θάνατο ή το τέλος του follow up (Gousias et al 2010)



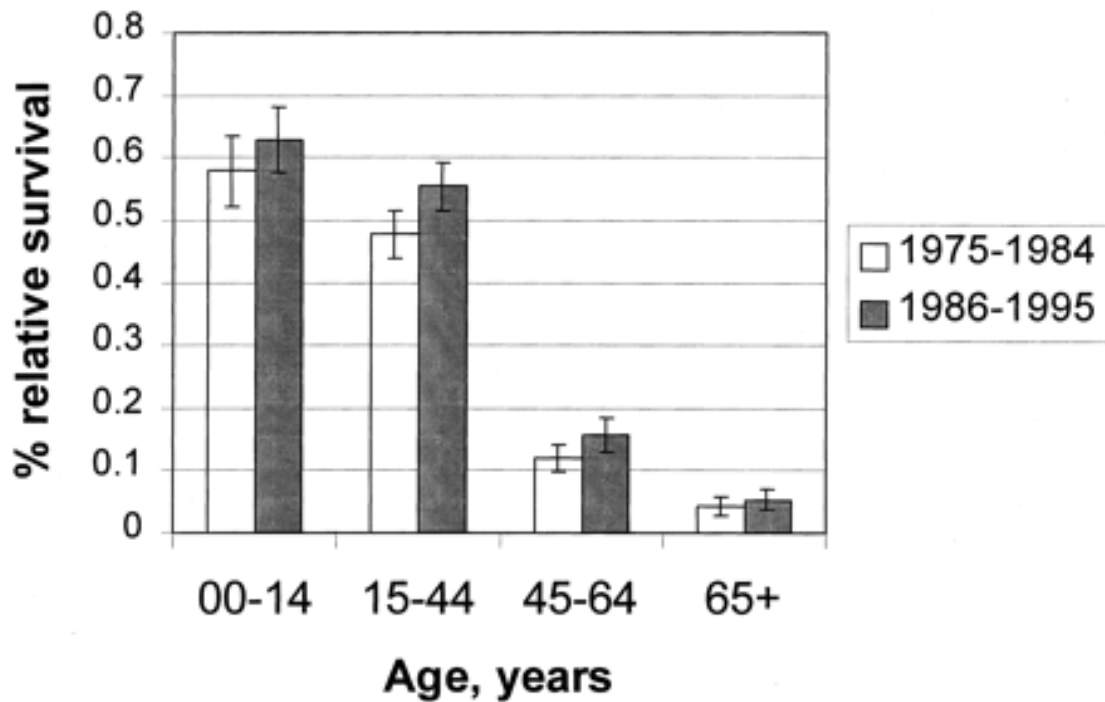
Γράφημα 16.

Καμπύλη Kaplan-Meier που απεικονίζει το PFS (Progression Free Survival) ασθενών με ιστολογικά επιβεβαιωμένη διάγνωση γλοιώματος WHO grade II. Ως PFS ορίζεται το διάστημα από την πρώτη χειρουργική επέμβαση (ολική, μερική αφαίρεση ή βιοψία) μέχρι την απεικονιστική επανεμφάνιση ενός υποτροπιάζοντος όγκου (ιδίου ή μεγαλύτερου grade). Από την καμπύλη παρατηρούμε ότι προβλέπεται ότι όλοι οι ασθενείς θα υποτροπιάσουν. Στην αντίστοιχη μελέτη του ΠΝ Βόννης το ποσοστό υποτροπής σε 10 χρόνια ανέρχεται σε 70%.

Ευνοϊκοί κλινικοί παράγοντες επιβίωσης αποτελούν η νεότερη ηλικία (Γράφημα 17), Karnofsky Score > 80% (KPS), η παρουσία συμπτωμάτων προεγχειρητικά

άνω των 6 μηνών ($\Delta\Sigma > 6$), η απουσία νευρολογικού ελλείματος, το μικρότερο μέγεθος του όγκου, η πλήρης χειρουργική αφαίρεση του όγκου (Gross total resection versus incomplete resection versus biopsy, GTR vs IR vs Biopsy). (Gousias K et al 2009)(Πίνακας 2).

(OS:Overall Survival, PFS:Progression Free Survival, MPFS: Malignant Progression Free Survival)



Γράφημα 17 .

5ετής σχετική επιβίωση για ασθενείς με κακοήθεις όγκους εγκεφάλου ανά ηλικία για τα διαστήματα 1975-1985 και 1986-1995.

Πίνακας 2.

Ευνοϊκοί παράγοντες επιβίωσης σε ασθενείς με γλοιώματα. Μελέτη της νευροχειρουργικής πανεπιστημιακής κλινικής της Βόννης σε 936 ασθενείς με διαφόρων βαθμών γλοιώματα (Gousias et al, 2009). Τα p values αναφέρονται σε ασθενείς με διηθητικά μη αναπλαστικά ολιγοδενδρογλοιώματα, αστροκυττώματα και ολιγοαστροκυττώματα.

| Στατιστική Ανάλυση | | | | |
|---------------------------------|---------------|----------------|----------------|--------------|
| <u>Univariate Analysis*</u> | | | | |
| | OS | PFS | MPFS | |
| | Log Rank | p | p | p |
| GTR vs IR vs Biopsy | | 0.023 | 0.000 | 0.002 |
| Ηλικία | | 0.046 | 0.240 | 0.137 |
| KPS | | 0.008 | 0.034 | 0.004 |
| Ιστοπαθολογία | | 0.667 | 0.197 | 0.320 |
| Απουσία νευρ.ελλ. | | 0.090 | 0.039 | 0.001 |
| ΔΣ > 6 μήνες | | 0.070 | 0.032 | 0.008 |
| Επιληψία | | 0.848 | 0.225 | 0.286 |
| Χημειοθεραπεία | | 0.294 | 0.357 | 0.243 |
| Ακτινοθεραπεία | | 0.937 | 0.400 | 0.227 |
| <u>Multivariate Analysis **</u> | | | | |
| GTR vs IR vs Biopsy | p=0.05 | p=0.000 | p=0.015 | |
| | HR=2.058 | HR=2.652 | HR=1.775 | |
| KPS | p=0.04 | | | |
| | HR=0.395 | | | |
| ΔΣ > 6 μήνες | | | p=0.037 | |
| | | | HR=0.463 | |

*Μέθοδος Kaplan-Meier και Log Rank test

**Μοντέλο Cox proportional hazards με διαδικασία backward stepwise

10. ΑΝΟΣΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΓΛΟΙΩΜΑΤΩΝ

10.1. ΧΥΜΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑ

Τα β-λεμφοκύτταρα παράγουν τα αντισώματα (ανοσοσφαιρίνες), που συνδέονται ειδικά με αντιγόνα του καρκινικού κυττάρου μετά από αναγνώριση από τον Fc υποδοχέα. Στη συνέχεια παρουσιάζουν το σύμπλεγμα σε NK κύτταρα ή μακροφάγα και επέρχεται λύση. Ορισμένοι τύποι IgG και IgM είναι ικανά για απευθείας λύση όταν συνεργαστούν με το συμπλήρωμα.

10.2. ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑ

Η κυτταρική ανοσία κατά του καρκίνου χρησιμοποιεί δύο μηχανισμούς α) την κυτταροτοξικότητα κατά συγκεκριμένου αντιγόνου μέσω υποδοχέων των T κυττάρων (TCR). Η αναγνώριση του αντιγόνου γίνεται με τη βοήθεια ειδικών MHC μορίων και β) κυτταροτοξικότητα, που δεν εξαρτάται από τα MHC μόρια.

α) Τα T λεμφοκύτταρα χωρίζονται σε CD8+ λεμφοκύτταρα (κυτοτοξικά), τα οποία είναι ικανά για απευθείας λύση του κύτταρου στόχου και σε CD4+ λεμφοκύτταρα (βοηθητικά), τα οποία προάγουν την ανοσολογική αντίδραση είτε μέσω κυτταρικών (Th1) ή μέσω χυμικών (Th2) μηχανισμών. Το T κύτταρο είναι ικανό να αναγνωρίσει αντιγόνα που παρουσιάζονται στην επιφάνεια μορίων του συμπλέγματος μέγιστης ιστοσυμβατότητας (MCH). Τα μόρια του MCH I (εκφράζονται στην επιφάνεια εμπύρηνων κυττάρων) και MCH II (επιφάνεια των αντιγονοπαρουσιαστικών, δενδριτικών κυττάρων, β λεμφοκυττάρων)

συνδέονται πάντα με υποδοχές των T κυττάρων (TCRs) που εκφράζονται από CD8+ και CD4+ κύτταρα, αντίστοιχα. Τα μόρια CD4 και CD8 είναι γλυκοπρωτείνες της κυτταρικής επιφάνειας. Μόλις ενεργοποιηθούν από το αντιγόνο, διαφοροποιούνται τα CD4+ κύτταρα σε Th1 κύτταρα τα οποία προάγουν την κυτταρική αντίδραση εκκρίνοντας IL2, IFN- γ , TNF- α ή σε Th2 κύτταρα εκκρίνοντας IL4, IL5, IL6, IL10.

β) Τα NK κύτταρα αποτελούν έναν μικρό υποπληθυσμό των λεμφοκυττάρων, που διαφοροποιούνται από τα T κύτταρα λόγω της έλλειψης του TCR υποδοχέα, λόγω της έκφρασης του CD56+ και του υποδοχέα για Fc μέρη των ανοσοσφαιρινών FcR+. Η εξόντωση των κυττάρων στόχων από τα NK κύτταρα γίνεται με μηχανισμούς παρόμοιους με αυτούς των κυτοτοξικών κυττάρων, χωρίς ωστόσο τη μεσολάβηση των MCH μορίων.

10.3. ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑ

Το σύστημα του συμπληρώματος είναι αναπόσπαστο τμήμα της μη ειδικής σε αντιγόνο ανοσοάμυνας. Μπορεί να ενεργοποιηθεί μέσω δύο οδών αντίδρασης, της κλασσικής οδού που ενεργοποιείται κυρίως από δεσμευμένα σε κύτταρα ανοσοσύμπλοκα και της εναλλακτικής οδού που ενεργοποιείται κυρίως από ξένα σώματα όπως οι μικροοργανισμοί. Το συστατικό του συμπληρώματος C3 είναι μια βασική πρωτεΐνη και στις δύο οδούς αντίδρασης, ενώ η C4 ανήκει στην κλασσική οδό ενεργοποίησης του συμπληρώματος. Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος σχετίζεται με την κατανάλωση των συστατικών C3 ή C4. Μειωμένες τιμές των τελευταίων παρατηρούνται σε νοσήματα από ανοσοσυμπλέγματα (ορονοσία).

10.4. ΕΛΛΕΙΨΕΙΣ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΣΤΑ ΓΛΟΙΩΜΑΤΑ

Οι Brooks et al αναφέρουν δερματική ανεργία σε κοινά βακτηριακά στελέχη και ανεπαρκή επιβραδυνόμενου τύπου υπερευαισθησία σε κοινά αντιγόνα σε ασθενείς με γλοιώματα.

Μια στροφή στην έκφραση των κυτταροκινών από Th1 σε Th2 τύπο είναι επίσης γνωστή (Brooks et al 1977, Dix AR et al 1999, Rapp M 2006))

Σχετικά με τους υποπληθυσμούς λευκοκυττάρων παρατηρείται μια λεμφοκυτταροπενία, με ιδιαίτερη μείωση των απόλυτων τιμών και ποσοστών CD4+ και του κλάσματος CD4+/CD8+, ενώ ο αριθμός CD8+ δεν μειώνεται στατιστικά σημαντικά. Αντικρουόμενα δεδομένα έχουν δημοσιευθεί σχετικά με τους αριθμούς των β λεμφοκυττάρων, NK κυττάρων, ανοσφαιρινών και τις τιμές του συμπληρώματος (Gasque et al 1993, Peracoli et al 1994, Manjula S et al 1992).

Σε ασθενείς με γλοιώματα παρατηρείται μειωμένη κυτοτοξική δραστηριότητα, η οποία μπορεί να οφείλεται είτε σε μειωμένο αριθμό NK κυττάρων ή σε μειωμένη δραστηριότητά τους. Δυστυχώς, διάφοροι μελετητές αναφέρουν αντίθετα δεδομένα σχετικά με τον αριθμό των NK κυττάρων σε ασθενείς με γλοιώματα (Dix AR et al 1999, Braun et al 1984))

10.5. ΑΝΟΣΟΔΙΕΓΕΡΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΕΣ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ

10.5.1. IL2 ΚΑΙ TNF-a

Πρόκειται για προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες. Η IL-2 κατέχει κεντρικό ρόλο στην ενεργοποίηση λεμφοκυττάρων μέσω αντιγόνων. Είναι μια 15 kDa γλυκοπρωτεΐνη και κωδικοποιείται από το γονίδιο που εντοπίζεται στην περιοχή q26-28 του 4^{ου} χρωμοσώματος (Henney et al 1981, Seigel et al 1984). Επίσης διεγείρει τη διαφοροποίηση των ενεργοποιημένων B-λεμφοκυττάρων και συμβάλλει στη δραστηριότητα των NK κυττάρων. Μειωμένες τιμές του υποδοχέα της IL2R έχουν βρεθεί σε ασθενείς με γλοιώματα.

Ο TNFa (Tumor Necrosis Factor Alpha) διεγείρει τη δράση των ουδετεροφίλων κατά τη φλεγμονή, ωστόσο προάγει και την απόπτωσή τους όταν συνδέεται με τον υποδοχέα TNF-R55 (Murray et al 1997). Κατέχει σημαντικό ρόλο στη νέκρωση ειδικών όγκων. Είναι μια πρωτεΐνη οξείας φάσεως που εκκινεί τον καταρράκτη των κυτταροκινών, αυξάνει την αγγειακή διαπερατότητα, προσελκύοντας μακροφάγα και ουδετερόφιλα στην περιοχή της φλεγμονής/όγκου.

10.5.2. IL10

Η IL10 είναι μια κυτταροκίνη 17-21 kDa που παράγεται από ενεργοποιημένα T και B λεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα, μακροφάγα και διάφορα καρκινικά κύτταρα. Είναι μία αντιφλεγμονώδη κυτταροκίνη και αναστέλλει τη σύνθεση της IFN- γ , TNF- α , IL1a, IL1b, IL-6, IL8, GM-CSF από ενεργοποιημένα μονοκύτταρα και λεμφοκύτταρα (Fiorentino et al 1991, Pisa et al 1992, Cassatella et al 1993). Η IL10 ελλοτώνει επίσης την αντιγονοπαρουσιαστική ικανότητα των μονοκυττάρων μειώνοντας την έκφραση του MCH II, εμποδίζοντας την παραγωγή της IL2. (Hishii et al 1995). Τα κύτταρα του γλοιώματος συνθέτουν και εκκρίνουν IL10. Η έκφραση του m RNA της IL10 αυξάνεται σημαντικά με την αύξηση του grade. 87, 5% των grade III-IV γλοιωμάτων εκφράζουν το m RNA, σε αντίθεση με το μόλις 4% των grade II αστροκυττωμάτων (Huettner et al 1997).

10.5.3. IL16

Παράγεται από ενεργοποιημένα μονοκύτταρα και είναι αλλιώς γνωστή ως λεμφοκυτταρικός χημειοτακτικός παράγοντας (lymphocyte chemoattractant factor, LCF). Θεωρείται ως προφλεγμονώδης κυτταροκίνη. Στον εγκέφαλο εκφράζεται σε μικρές ποσότητες στα μικρογλιακά κύτταρα (Bazan et al 1996) Η ομάδα του Liebrich από το ινστιτούτο brain research στο Düsseldorf απέδειξαν ότι η έκφραση της ιντερλευκίνης σε ιστό εκτιμημένη με ανοσοιστοχημεία είναι ανάλογη με το WHO grade στα αναπλαστικά και μή αστροκυττώματα. (Liebrich M et al 2007).

10.6. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ

10.6.1. GRANZYME-B

Το granzyme-b είναι μια πρωτεάση της οικογένειας της χυμοθρυψίνης που εκφράζεται τόσο από διαφοροποιημένα κυτοτοξικά Τ λεμφοκύτταρα (Petsch M et al 1994) όσο και από ενεργοποιημένα κερατινοκύτταρα (Berthon C et al 1997). Στα κυτοτοξικά κύτταρα, το granzyme b αποτελεί συστατικό των κυτοπλασματικών σωματιδίων (Masson D et al 1987). Απελευθερώνεται κατά την αναγνώριση του κυττάρου στόχου και στη συνέχεια εισέρχεται στο κύτταρο στόχο μέσω του υποδοχέα mannose 6 –phosphate receptor (Motyka B et al 2000). Επί παρουσίας της περφορίνης (Pinkoski H et al 1998), η οποία επίσης απελευθερώνεται από κυτολυτικά σωματίδια (Browne K et al 1999), διαφεύγει του ενδολυσosomal δικτύου και προσβάλλει πρωτείνες κλειδιά για την εκτέλεση του αποπτωτικού προγράμματος.

Το granzyme b έχει ένα ειδικό υπόστρωμα, το εξαπεπτίδιο IEPD/ xG που έχει ομοιότητες με το ιδανικό υπόστρωμα για την κασπάση 8, μια αρχική κασπάση που προάγει την αποπτωτική διαδικασία που ενεργοποιείται από τη σύνδεση του Fas death υποδοχέα (Harris J et al 1998). Αυτή η ομοιότητα εξηγεί και τις αποπτωτικές ιδιότητες του granzyme b. Συγκεκριμένα, η διάσπαση του Bid από το granzyme b ενεργοποιεί το μιτοχondριακό μονοπάτι του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (Heibein J et al 2000, Sutton VR et al 2000), η διάσπαση της κασπάσης 3 ενεργοποιεί την γενική δράση των κασπασών στο κυτόπλασμα (Darmon AJ et al 1995) και η ενεργοποιημένη από την κασπάση DNάση (CAD), απελευθερώνεται από τη διάσπαση της ανασταλτικής πρωτεΐνης ICAD από το granzyme b,

γεγονός που οδηγεί στο διαμελισμό του πυρηνικού DNA (Thomas D et al 2001, Sharif-Askari et al 2001).

Το granzyme b συμμετέχει στην παθολογία διάφορων ιικών λοιμώξεων (Mullbecker A et al 1998), αλλεργικών αντιδράσεων σε μη αποδοχή ξένου σώματος από το λαμβάνοντα οργανισμό (Pascoe et al 2000) και στη ρευματοειδή αρθρίτιδα (Tak PP et al 1994). Ξεχωριστό ρόλο κατέχει ωστόσο στην αντικαρκινική ανοσολογική αντίδραση, όπου το μονοπάτι περφορίνης/ granzyme b προκαλεί κυτταρικό θάνατο σε όγκους in vitro (Johnstone RW et al 1999, Shtil AA et al 1999).

10.7. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Ο κυτταρομεγαλοϊός και ο EBV ενοχοποιούνται για τη παθογένεια διαφόρων νεοπλασιών. Διάφοροι μελετητές έχουν επιχειρήσει να διερευνήσουν την πιθανή σχέση μεταξύ μικροβιολογικών παραγόντων και του σχηματισμού του γλοιώματος. Ο Cobbs et al μελέτησε την έκφραση γενετικών προϊόντων του CMV στον ανθρώπινο ιστό 27 γλοιωμάτων και παρατήρησε αυξημένη έκφρασή τους. Ο Wrensch et al διαπίστωσε αυξημένη πιθανότητα σε ορό ασθενών με γλοιώματα να υπάρχουν θετικά IgG για CMV και μειωμένη για τα αντίστοιχα για EBV. Ωστόσο, σε μετέπειτα μελέτη του, συνέχεια της προηγούμενης, αναιρεί τα προηγούμενα συμπεράσματά του, αφού πλέον δεν παρατηρεί διαφορές ανάμεσα σε γλοιώματα και υγιείς μάρτυρες σε ότι αφορά την έκφραση στο ορό του αίματος του IgG για CMV και EBV. Ο Lau et al δεν παρατήρησε διαφορές στην έκφραση του CMV σε ιστούς από 22 όγκους εγκεφάλου. Ο Mitschel et al κατέδειξε σε μια case-control μελέτη με 20 ασθενείς

και 17 μάρτυρες μια υποκλινική CMV ιαιμία στους ασθενείς (Cobbs et al 2002, Wrensch et al 2005, Lau et al 2005, Mitschell et al 2008).

Ο Schuman et al κατέγραψε μία θετική συσχέτιση αστροκυττωμάτων και θετικών τίτλων αντισωμάτων κατά του τοξοπλάσματος, ωστόσο ο Ryan P et al δεν επιβεβαίωσε αργότερα τη σχέση αυτή (Schuman et al 1967, Ryan P et al 1993).

Αναντίρρητα, μελλοντικές καλά οργανωμένες μελέτες είναι αναγκαίες στη διερεύνηση του ρόλου των μικροβιολογικών παραγόντων στο σχηματισμό των γλοιωμάτων.

11. ΜΕΘΟΔΟΙ

11.1. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΗΤΗ ΡΟΗΣ

Το περιεχόμενο του κειμένου καθώς και τα παρακάτω σχήματα παρουσιάστηκαν από τον κο Βαρθολομάτο Γεώργιο, στα πλαίσια των εκπαιδευτικών σεμιναρίων της Ελληνικής Εταιρίας Κλινικής Χημείας – Βιοχημείας το 2005 στο Αμφιθέατρο του Χαροκόπειου Πανεπιστημίου.

Ένας Κυτταρομετρητής Ροής αποτελείται από τρία συστήματα (σχήμα 1)

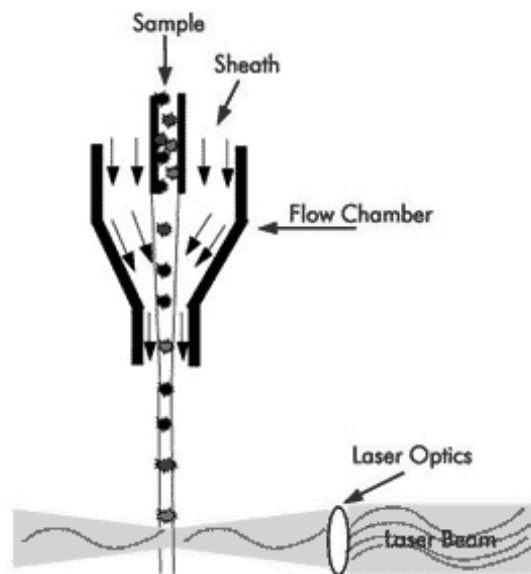
1. Σύστημα Ροής
2. Οπτικό Σύστημα
3. Σύστημα ανίχνευσης, επεξεργασίας και μετατροπής σε ηλεκτρονικό σήμα

11.1.1. ΣΥΣΤΗΜΑ ΡΟΗΣ

Πρόκειται για ένα υδραυλικό σύστημα, που εξαναγκάζει τα κύτταρα ή τα σωματίδια να ρέουν το ένα μετά το άλλο μπροστά από την ακτίνα Laser (από τα αρχικά *Light Amplification of Stimulated Emission of Radiation*), απορροφώντας τα από το εναιώρημα εργασίας. Αυτό επιτυγχάνεται με τη εισαγωγή του δείγματος στο κέντρο ενός καναλιού, στο οποίο ρέει ένα αδρανές υγρό (Sheath Fluid). Το κανάλι είναι κατάλληλα σχεδιασμένο προκειμένου το δείγμα να ρέει κατά μήκος του κεντρικού του άξονα, περιβαλλόμενο από το αδρανές υγρό χωρίς να αναμιγνύεται, δηλαδή σαν να βρίσκεται μέσα σε μια θήκη (sheath). Το κανάλι τοποθετείται μέσα στο θάλαμο ροής (flow chamber). Εκεί, ανάλογα με τις

υδροδυναμικές ρυθμίσεις, επιτυγχάνεται και η υδροδυναμική εστίαση, έτσι ώστε το κύτταρο ή το σωματίδιο να έρχεται σε επαφή με την ακτίνα Laser με προσέγγιση $+1\mu\text{m}$.

Οι θάλαμοι ροής διακρίνονται σε θαλάμους νηματικής ροής (Luminar Flow) και σε θαλάμους στροβιλώδους ορίου (turbulent boundary), ανάλογα με την υδροδυναμική τους αρχή (Σχήμα 1). Επίσης, οι θάλαμοι ροής διακρίνονται και σε θαλάμους ανάλυσης (analytical chambers), για κυτταρομετρητές μέτρησης της σκέδασης και του φθορισμού, και σε θαλάμους διαλογής (sorting chambers), γι' αυτούς που διαθέτουν και σύστημα διαλογής κυττάρων ή σωματιδίων.

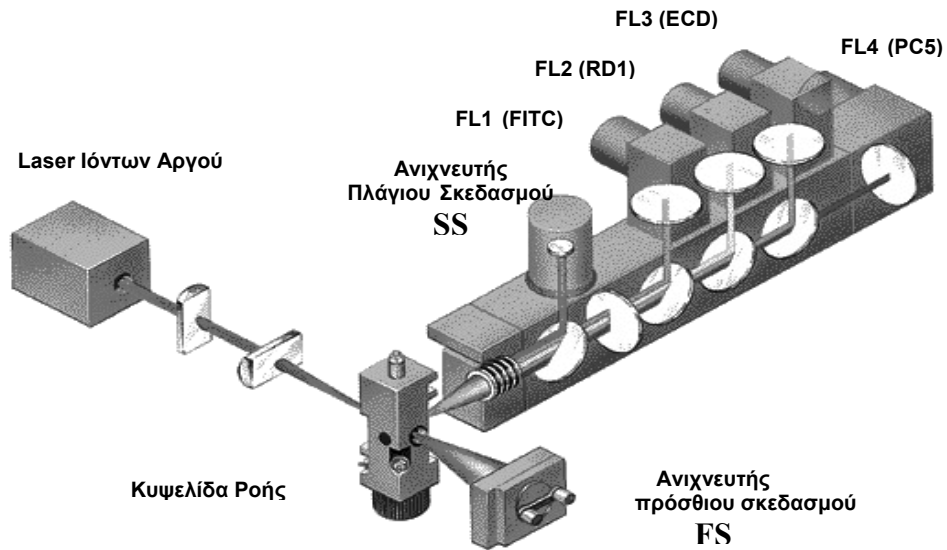


Σχήμα 1. Διάταξη κυψελίδας σε Κυτταρομετρητή Ροής. Διακρίνεται η κεντρική ροή του δείγματος, η περιβάλλουσα ροή (sheath), η προερχόμενη από laser φωτεινή δέσμη ακτινοβολίας και η σκέδαση της ακτινοβολίας μετά από πρόσπτωση σε ένα κύτταρο.

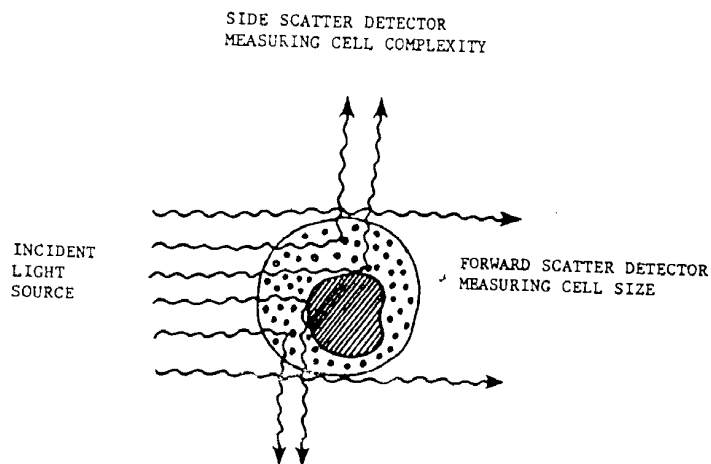
11.1.2. ΟΠΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Το σύστημα αυτό συλλέγει τα φωτεινά σήματα που εκπέμπονται από τα κύτταρα ή τα σωματίδια όταν προσπίπτει πάνω τους η φωτεινή δέσμη φωτός της λυχνίας. Στη συνέχεια αναλύεται η συλλεγόμενη ακτινοβολία, η οποία αντιστοιχεί στη **σκέδαση** του φωτός και στον εκπεμπόμενο **φθορισμό** καθορισμένης έντασης με βάση το φθοριόχρωμα.

Η σκέδαση του φωτός δημιουργείται όταν το κύτταρο ή το σωματίδιο δέχεται την κάθετη προς τη διεύθυνση ροής δέσμη της λυχνίας. Η προσπίπτουσα ακτινοβολία απορροφάται κατά ένα μέρος από το κύτταρο και κατά το υπόλοιπο σκεδάζεται προς όλες τις κατευθύνσεις. Η ακτινοβολία που σκεδάζεται στην κατεύθυνση της προέκτασης (ευθεία γραμμή) της ακτίνας Laser, με γωνία 1° - 20° , ονομάζεται πρόσθια σκεδαζόμενη ακτινοβολία (Forward Light Scatter, FSC) και είναι ανάλογη προς το μέγεθος του κυττάρου ή του σωματιδίου. Η ακτινοβολία που σκεδάζεται σε κατεύθυνση κάθετη προς τον άξονα της ακτίνας Laser, με γωνία 90° , ονομάζεται κάθετη ή πλάγια σκεδαζόμενη ακτινοβολία (Right Angle Scatter, ή Side Scatter, SSC) και είναι ανάλογη προς την κοκκίωση (granularity) του κυτταροπλάσματος του κυττάρου ή σωματιδίου (Σχήμα 2).



Σχήμα 2. Σχηματική απεικόνιση της οπτικής διάταξης ενός κυτταρομετρητή ροής. Διαθέτει μία φωτεινή πηγή Laser ιόντων Αργού (488 nm) και τέσσερις φωτοπολλαπλασιαστές για την ταυτόχρονη ανίχνευση 4 φθοριοχρωμάτων (FITC, PE, ECD/PI και PC5/PercP/PC5.5).

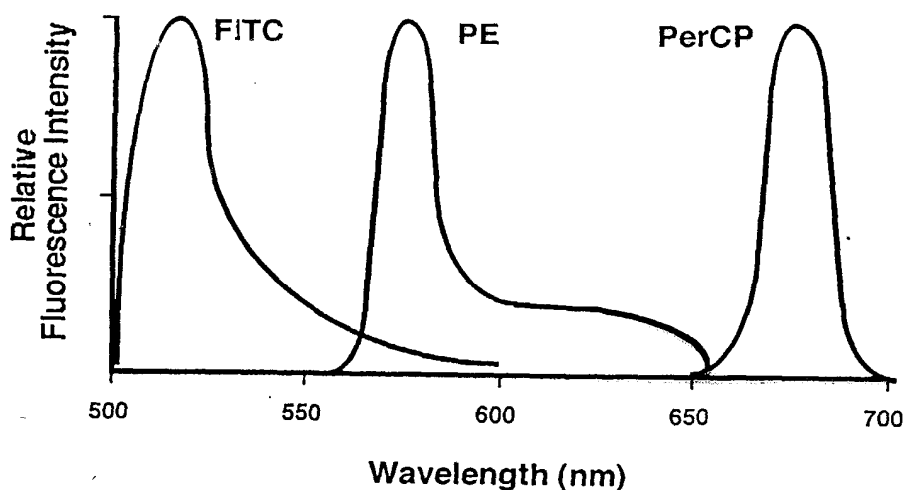


Σχήμα 3. Σχηματική ανάλυση κυττάρου ως προς την κοκκίωση (SSC) και το μέγεθος του (FSC)

Όταν κατά τη διαδικασία προετοιμασίας του δείγματος τα κύτταρα ή τα σωματίδια σημανθούν με φθορίζουσες ουσίες, όπως η ισοθειοκυανική φλουορεσκεΐνη **FITC (πράσινο)**, η τετραμεθυλοροδαμίνη, η R-φυκοερυθρίνη **PE (κόκκινο)**, η περιδινούχος χλωροφίλλη-A-πρωτεΐνη **PerCP, Texas Red** ή άλλες φθορίζουσες ουσίες προσδεδεμένες στα μονοκλωνικά αντισώματα, παράγεται φθορισμός. Τα φθοριοχρώματα αυτά διεγείρονται από την προσπίπτουσα ακτινοβολία (διεγείρουσα) και στη συνέχεια εκπέμπουν ακτινοβολία μεγαλύτερου μήκους κύματος της διεγείρουσας, το οποίο είναι χαρακτηριστικό για κάθε φθοριοχρώμα (πίνακας 3). Στο σχήμα 4 παρουσιάζονται τα φάσματα εκπομπής των φθοριοχρωμάτων FITC, PE και PerCP, που είναι τα περισσότερο διαδεδομένα δεσμευμένα φθοριοχρώματα στα αντισώματα του εμπορίου.

| ΦΘΟΡΙΖΟΥΣΑ ΟΥΣΙΑ | ΜΗΚΟΣ ΚΥΜΑΤΟΣ ΔΙΕΓΕΡΣΗΣ LASER (nm) | ΜΗΚΟΣ ΚΥΜΑΤΟΣ ΕΚΠΟΜΠΗΣ (nm) |
|------------------|------------------------------------|-----------------------------|
| FITC | 488 nm | 525 nm |
| PE | 488 nm | 578 nm |
| ECD | 488 nm | 613 nm |
| PerCP | 488 nm | 675 nm |
| Alexa Fluor 405 | 405, 407 | 421 |
| Alexa Fluor 430 | 405, 407 | 541 |
| Alexa Fluor 488 | 488 | 519 |
| Alexa Fluor 633 | 633, 635, 647 | 647 |
| Alexa Fluor 647 | 633, 635, 647 | 665 |
| Alexa Fluor 660 | 633, 635, 647 | 690 |
| Alexa Fluor 680 | 633, 635, 647 | 702 |
| APC | 633, 635, 647 | 661 |

Πίνακας 3: Φθοριοχρώματα που χρησιμοποιούνται στην ΚΡ



Fluorescence Emission Spectra

Σχήμα 4. Τα φάσματα εκπομπής των φθοριοχρωμάτων FITC, PE και PerCP

Από τα φθοριοχρώματα που αναφέρθηκαν, η FITC παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση και διεγείρεται στα 495 nm, ενώ η PE στα 495 nm και 550 nm. Ακτινοβολία μήκους κύματος 488 nm με Laser αργού διεγείρει και τις δύο χρωστικές και η μεν FITC εκπέμπει μέγιστο φθορισμό FL1 στα 520 nm (πράσινος φθορισμός), η δε PE εκπέμπει μέγιστο φθορισμό FL2 στα 575 nm (κόκκινος φθορισμός). Οι δύο διαφορετικοί φθορισμοί FL1 και FL2 συλλέγονται, αναλύονται και μετρούνται με κατάλληλα συστήματα διχροϊκών κατόπτρων και φίλτρων. Τα διχροϊκά κάτοπτρα είναι τοποθετημένα στην πορεία της φωτεινής δέσμης υπό γωνίαν 45° , ενώ τα φίλτρα είναι τοποθετημένα κάθετα.

Οι χρωστικές PE, FITC και PerCP μπορούν να συνδεθούν με κατάλληλα μονοκλωνικά ή πολυκλωνικά αντισώματα, που αναγνωρίζουν τις αντιγονικές καθορίζουσες της κυτταρικής επιφάνειας ή της ενδοκυττάριας επιφάνειας. Με αυτόν τον τρόπο δίνεται η δυνατότητα της ανίχνευσης των καθοριζουσών στην επιφάνεια του καθενός από τα μετρούμενα κύτταρα, με αποτέλεσμα την δυνατότητα χαρακτηρισμού και ταξινόμησης του κάθε κυττάρου σε υποπληθυσμούς, σύμφωνα με τους συνδυασμούς που έχουν σχεδιαστεί.

Με την ολοκλήρωση των μετρήσεων των φωτεινών σημάτων σκέδασης και φθορισμού, σε κάθε κύτταρο αντιστοιχεί μια τετράδα τιμών (FSC, SSC, FL1, FL2), η οποία μας δίνει τα δεδομένα για το μέγεθος, την κοκκίωση και το βαθμό έκφρασης των δύο αντιγονικών καθοριζουσών.

11.1.3. ΣΥΣΤΗΜΑ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ, ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΤΡΟΠΗΣ ΣΕ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ ΣΗΜΑ

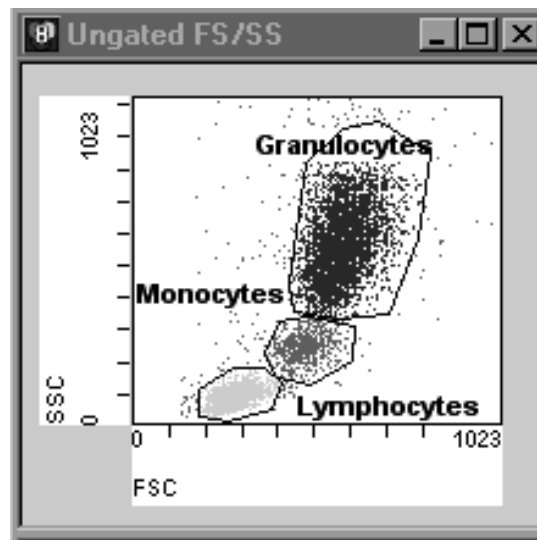
Στους κυτταρομετρητές χρησιμοποιούνται δύο συστήματα ανίχνευσης των φωτεινών δεδομένων που προέρχονται από την σκέδαση και το φθορισμό: α) οι φωτοδιόδοι (PIN diodes) και β) οι φωτοπολλαπλασιαστές (photomultiplier tubes. PMTs). Οι PIN έχουν ευαισθησία στις μετρήσεις FSC και SSC, ενώ παρουσιάζουν μειωμένη ευαισθησία στον φθορισμό. Οι PMTs, αν και μικρότερου φάσματος, διαθέτουν, συγκρινόμενες με τις PIN, μεγαλύτερη ευαισθησία, όχι μόνο στις μετρήσεις FSC και SSC, αλλά και στον φθορισμό. Το παλμικό σήμα που παράγεται μένει στην έξοδο για 15-120 μsec. Κατά τη διάρκεια αυτού του χρονικού διαστήματος, το οποίο λέγεται νεκρός χρόνος, δεν καταγράφονται άλλα σήματα στο σύστημα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα ο παρατεταμένος χρόνος να επηριάζει κυρίως τη διαλογή και σε μικρότερο βαθμό την αναλυτική ικανότητα του Κυτταρομετρητή.

Το παλμικό σήμα αναλύεται ως προς το ύψος, το πλάτος και την επιφάνεια, δίνοντας έτσι πληροφορίες για το μέγεθος, την κοκκίωση και τον φθορισμό των κυττάρων ή σωματιδίων. Η επεξεργασία μπορεί να γίνει είτε γραμμικά, είτε λογαριθμικά μετά από χρήση ενισχυτή (amplifier). Με αυτόν τον τρόπο έχουμε ενίσχυση των ασθενών σημάτων και

ταυτόχρονα περιορισμό των ενδείξεων που αντιστοιχούν στα ισχυρά σήματα. Έτσι, όλες οι τιμές λαμβάνονται στην ίδια κλίμακα.

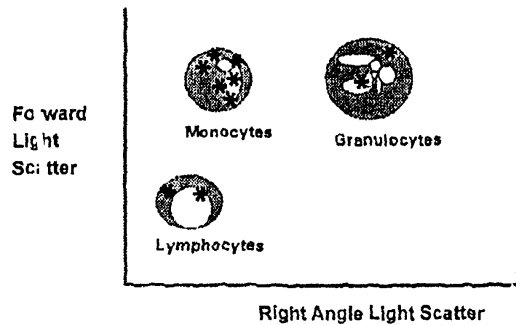
Τα δυαδικά αυτά σήματα μεταβιβάζονται στη μνήμη ηλεκτρονικού υπολογιστή, ώστε να ακολουθήσουν οι ανάλογες επεξεργασίες των δεδομένων.

Υπάρχουν διάφοροι τρόποι παρουσίασης των αποτελεσμάτων όπως τα **Κυτταρογράμματα (Dot Plot)**, τα οποία σχετίζουν δύο παραμέτρους και χρησιμοποιούνται ευρύτερα. Στο Σχήμα 5 ένα κυτταρογράμμα παρουσιάζει το μέγεθος και την κοκκίωση των κυττάρων του περιφερικού αίματος. Παρατηρούμε τους τρεις κύριους υποπληθυσμούς των λευκοκυττάρων (λεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα, πολυμορφοπύρηνα) (Σχήμα 6).



Σχήμα 5. Κυτταρογράμμα ως προς το μέγεθος FSS (άξονας χ) και την κοκκίωση SSC (άξονας ψ), μετά από λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων περιφερικού αίματος. Διακρίνονται οι τρεις βασικοί υποπληθυσμοί των λευκοκυττάρων

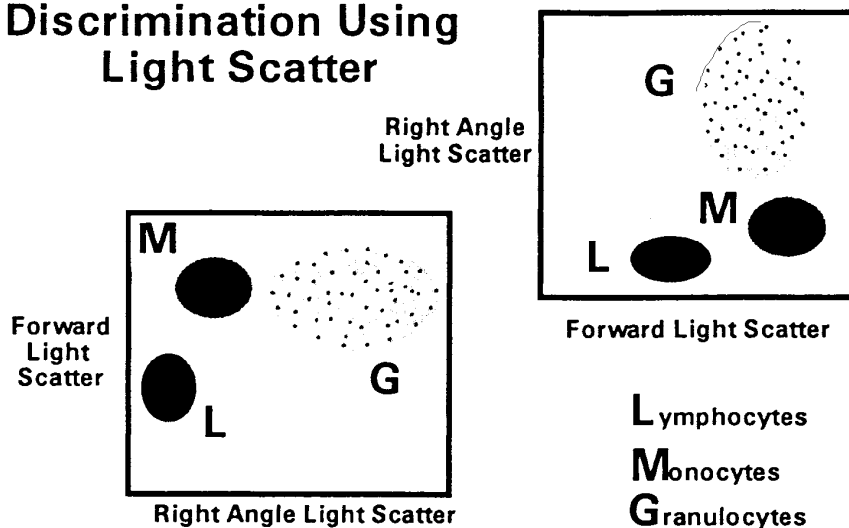
Morphologic Analysis



Σχήμα 6. Σχηματική απεικόνιση των τριών πληθυσμών των λευκοκυττάρων περιφερικού αίματος ως προς SSC, FSC

Στα κυτταρογράμματα ανάλογα με τα δεδομένα που δίνονται στις συντεταγμένες, είναι δυνατόν να παίρνουμε : α) την κοκκίωση στο άξονα των χ και το μέγεθος στον άξονα των ψ ή β) το αντίστροφο, όπως φαίνεται στο σχήμα 7.

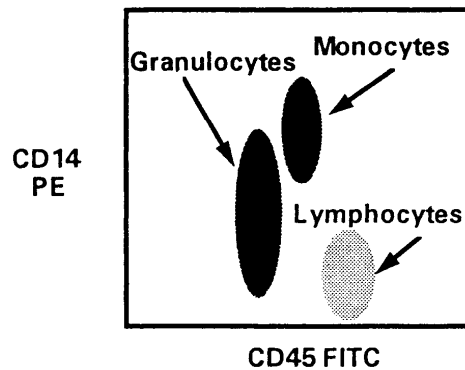
Morphologic Discrimination Using Light Scatter



Σχήμα 7. Σχηματική μορφολογική κατανομή των κυττάρων του περιφερικού αίματος σύμφωνα με το μέγεθος και την κοκκίωση (L –λεμφοκύτταρα, M-μονοκύτταρα, G-πολυμορφοπύρηνα) σε FSC, SSC.

Επίσης, είναι δυνατόν το κυτταρόγραμμα να παρουσιάζει την ένταση ανοσοφθορισμού της έκφραση του παν-λευκοκυτταρικού αντιγόνου CD45 FITC και του CD14 PE, όπως φαίνεται στο σχήμα 8.

CD45 vs CD14 Expression on Peripheral Blood Leukocytes



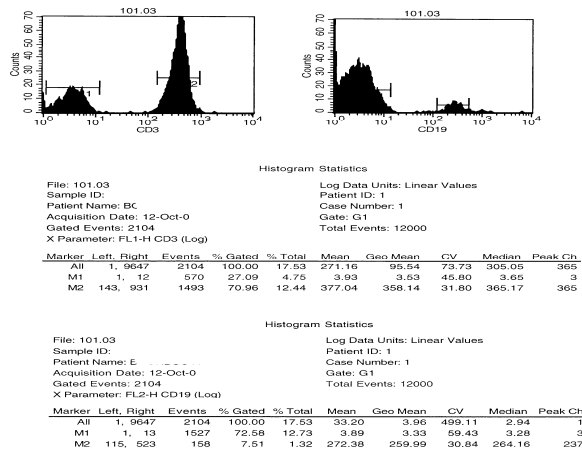
Σχήμα 8. Σχηματική κατανομή των κυττάρων του περιφερικού αίματος σύμφωνα με την ένταση του ανοσοφθορισμού με τα αντισώματα CD45 FITC και CD14 PE

β) *ισοϋψών καμπυλών (couter plot)* σχήμα 10,

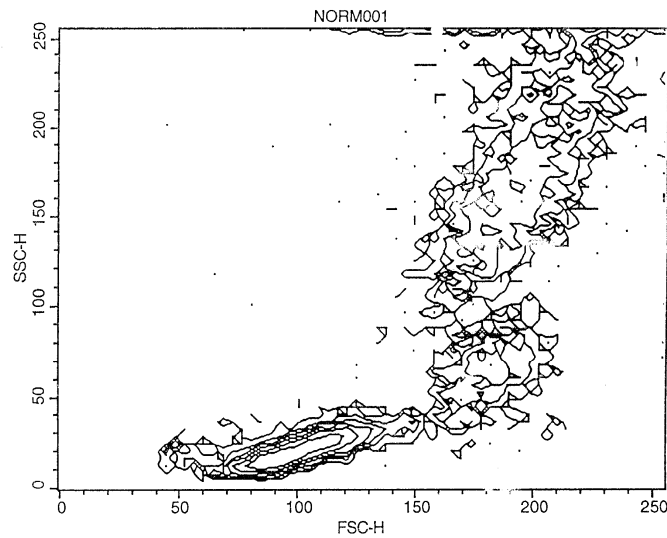
γ) *ισομετρικών (isometric plot)* σχήμα 11 και

δ) *όψης διαμαντιού (diamond view)* σχήμα 12.

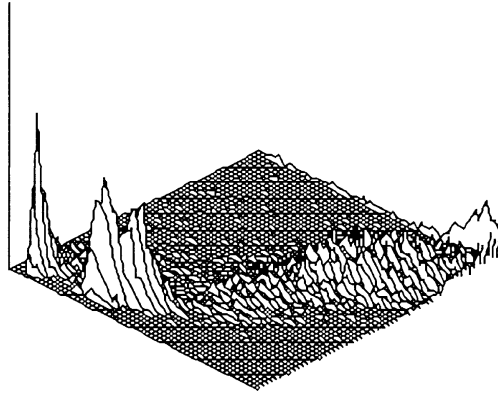
Τα διαγράμματα αυτά προσφέρουν στον ερευνητή τη δυνατότητα εντοπισμού και ανάλυσης ακόμη και του μικρότερου παθολογικού ή μη πληθυσμού.



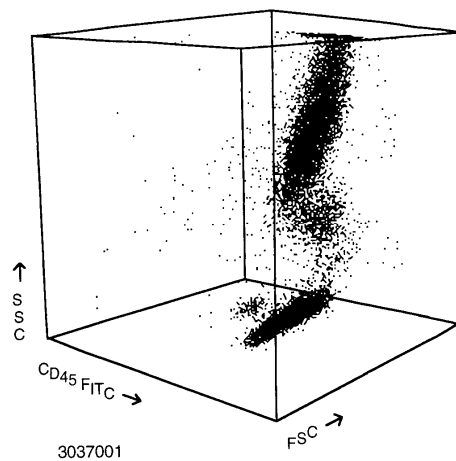
Σχήμα 9. Ιστογράμματα συχνότητας. Στον άξονα χ απεικονίζεται η ένταση του φθορισμού και στον άξονα ψ ο αριθμός των συμβάντων. Συγχρόνως παρουσιάζεται και η στατιστική ανάλυση των δεδομένων (CD3 αριθμός T-λεμφοκυττάρων, CD19 αριθμός B-λεμφοκυττάρων).



Σχήμα 10. Διάγραμμα ισοψών καμπυλών (counter plot) της FSC (άξονας χ) και SSC (άξονα ψ).



Σχήμα 11. Ισομετρικό διάγραμμα (isometric plot) της FSC (άξονας χ) έναντι του SSC (άξονας ψ) και του αριθμού των συμβάντων (άξονας z).



Σχήμα 12. Διαγράμματα όψης διαμαντιού (diamond view) Στο διάγραμμα αποδίδονται περισσότερα του ενός κυτταροδιαγράμματα

Στη συνέχεια ο ερευνητής, χρησιμοποιώντας τα προγράμματα στατιστικής ανάλυσης των δεδομένων και τη δυνατότητα οριοθέτησης ορισμένων περιοχών στα κυτταρογράμματα [**-gate - «παράθυρο»**], έχει την ευκαιρία να αναλύσει και να εξάγει σημαντικές παρατηρήσεις από την οριοθετημένη περιοχή. Η στατιστική ανάλυση βεβαίως αναφέρεται στο συγκεκριμένο υποπληθυσμό. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται ο εμπλουτισμός του εξεταζόμενου δείγματος σε κύτταρα ή σωματίδια. Στο σχήμα 11 έχει σχεδιαστεί ένα gate στην περιοχή εμφάνισης των λεμφοκυττάρων. Τα κύτταρα, των οποίων οι τιμές FSC, SSC βρίσκονται μέσα στα όρια του gate, θα αναλυθούν στη συνέχεια ως προς τις ανασοφαινοτυπικές παραμέτρους που έχουν σχεδιαστεί.

11.2.ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑΣ ΡΟΗΣ

Η **Κυτταρομετρία** χωρίζεται σε δύο βασικές κατηγορίες την **Κυτταρομετρία Ροής** (*Flow Cytometry*) και την **Κυτταρομετρία Ανάλυσης Εικόνας** (*Image Cytometry*).

Η **Κυτταρομετρία Ροής** είναι η τεχνολογία με την οποία γίνονται ποικίλες μετρήσεις και προσδιορισμοί σε κατάλληλα προετοιμασμένα κύτταρα ή οργανίδια κυττάρων (πυρήνες, χρωμοσώματα κ.λ.π.). Η προετοιμασία των κυττάρων ή οργανιδίων αυτών έγκειται στη σήμανσή τους με φθορίζουσες χρωστικές, όπως θα περιγραφεί παρακάτω. Τα υπό έλεγχο σωματίδια, ρέουν με μορφή εναιωρήματος μπροστά από μία φωτεινή ακτίνα LASER, δια μέσου θαλάμου με ταχύτητα αρκετών χιλιάδων ανά δευτερόλεπτο. Η μέτρηση, αναγνώριση και η διαλογή γίνεται με βάση τον εκπεμπόμενο φθορισμό και τη σκέδαση του φωτός. Τα

εκπεμπόμενα φωτεινά σήματα από το κάθε κύτταρο ή οργανίδιο αναλύονται, κατευθύνονται στους ανιχνευτές και στη συνέχεια μετατρέπονται σε ηλεκτρικά σήματα. Αυτά τα σήματα ενισχύονται, μετρούνται και τέλος διοχετεύονται υπό μορφή ψηφιακών ενδείξεων σε ηλεκτρονικό υπολογιστή, ο οποίος με ειδικό *soft word* τα επεξεργάζεται και τα παρουσιάζει. Στο κάθε κύτταρο ή οργανίδιο μετρούνται το μέγεθος, η κοκκίωση και τα άλλα χαρακτηριστικά της ενδοκυττάριας ή εξωκυττάριας επιφάνειας, που έχουν σημειωθεί με τις φθορίζουσες χρωστικές. Με βάση αυτά τα δεδομένα, τα κύτταρα ή τα σωματίδια ταξινομούνται σε σύνολα και υποσύνολα και στη συνέχεια γίνεται η στατιστική επεξεργασία τους.

Προέκταση της τεχνολογίας αυτής είναι ο **Κυτταροδιαχωρισμός Ροής** (*cell sorting*), κατά τον οποίο οποιοδήποτε μεμονωμένο κύτταρο ή σωματίδιο, που έχει τις προαναφερθείσες πληροφορίες, απομακρύνεται επιλεκτικά από το εναιώρημα. Αυτό επιτυγχάνεται με τον εγκλωβισμό τους σε σταγονίδια, τα οποία φορτίζονται ηλεκτρικά επιλεκτικά. Στη συνέχεια τα σταγονίδια οδηγούνται σε ηλεκτροστατικό πεδίο, όπου, εκείνα που επιλέχθηκαν, εκτρέπονται από την πορεία τους και οδηγούνται για να συλλεχθούν σε ειδικό χώρο.

Η σπουδαιότητα της μεθόδου έγκειται στο ότι εξασφαλίζει τη μέτρηση και ανάλυση των σημάτων του κάθε κυττάρου ή σωματιδίου τα οποία εστιάζονται ένα-ένα στο σημείο ανάλυσης, όπου γίνεται η μέτρηση των διαφόρων παραμέτρων.

Στην **Κυτταρομετρία Ανάλυσης Εικόνας** τα κύτταρα βρίσκονται ακινητοποιημένα σε κατάλληλα επεξεργασμένο επίχρισμα ενώ πάνω στα κύτταρα έχουν δεσμευτεί οι φθορίζουσες χρωστικές. Ο στόχος επιλέγεται είτε αυτόματα, είτε από τον παρατηρητή και κάθε κύτταρο εξετάζεται από το όργανο ξεχωριστά με ταχύτητα μερικών εκατοντάδων κυττάρων ανά δευτερόλεπτο.

Η Κυτταρομετρία Ροής είναι μία τεχνολογία με τεράστιες εφαρμογές, όπως:

- Διάγνωση νοσημάτων
- Καρυοτυπική ανάλυση
- Παρακολούθηση καρκινικής θεραπείας
- Κυτταρική κινητική
- Ανάλυση Κυτταρικής λειτουργίας
- Ανίχνευση Εμβρυϊκών κυττάρων
- Ταυτοποίηση καρκινικών κυττάρων
- Κυτταρογενετική
- Θεμελιώδης Κυτταρική Βιολογία

Όλες οι εφαρμογές, που αναφέρθηκαν παραπάνω, βασίζονται σε μερικές ιδιότητες των κυττάρων και των συστατικών τους, τις οποίες ο κυτταρομετρητής έχει την δυνατότητα να μετρά (πίνακας 4).

Γενικά, ο κυτταρομετρητής μπορεί να αναλύσει οποιοδήποτε κυτταρικό συστατικό στο οποίο μπορεί να προσδεθεί χρωστική. Εάν η σύνδεση της χρωστικής είναι στοιχειομετρική (δηλ. η ποσότητα της δέσμευσης της χρωστικής είναι ανάλογη της ποσότητας του κυτταρικού συστατικού), η μέτρηση είναι ποσοτική και υψηλής ακριβείας.

Πίνακας 4: Ιδιότητες και Συστατικά των κυττάρων που μετρώνται με ΚΡ

| ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ | ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ |
|---------------------|---------------------|
| Κυτταρική Διάμετρος | DNA |
| Κατανομή Χρωστικής | Πυρηνικά Αντιγόνα |
| Εσωτερική Δομή | Ένζυμα |
| Δυναμικό Μembrάνης | Πρωτείνες |
| Πυρηνική Διάμετρος | RNA |
| Εμβαδόν Επιφανείας | Ορμόνες |
| Όγκος | Αντιγόνα Επιφανείας |

Πίνακας 5. Χρησιμοποιούμενα αντισώματα για την μελέτη των υποπληθυσμών των λεμφοκυττάρων με κυτταρομετρία ροής.

| MoAb | υποπληθυσμός λεμφοκυττάρων |
|--------------|-----------------------------------|
| CD3+ | T |
| CD19+ | B |
| CD3-CD16/56+ | NK |
| CD3+CD4+ | T βοηθητικά |
| CD3+CD8+ | T κατασταλτικά/κυτταροτοξικά |

Πίνακας 6. Φυσιολογικές τιμές των απολύτων τιμών των λεμφοκυττάρων και των υποπληθυσμών τους στο αίμα ανά ηλικία (κύτταρα/μl).

| | 2 ημερών- 12 μηνών | 1-6 χρονών | 6-70 χρονών |
|-----------------------|-----------------------|------------|-------------|
| Λεμφοκύτταρα | 2700-5400 | 2900-5100 | 1000-3500 |
| T (CD3) | 1700-3600 | 1800-3000 | 1000-2500 |
| T4 (CD3+CD4+) | 1700-2800 | 1000-1800 | 500-1500 |
| T8 (CD3+CD8+) | 800-1200 | 800-1500 | 250-1000 |
| B (CD19) | 500-1500 | 300-500 | 100-500 |
| NK(CD3CD16+56) | 300-700 | 200-600 | 80-350 |
| T4/T8 | 1,5-2,9 | 1-1,6 | 1,2-2,6 |

ΜΕΡΟΣ Β

1.ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της διδακτορικής διατριβής είναι

1) Να ερευνηθεί η **επιδημιολογία** του γλοιώματος στη ΒΔ Ελλάδα. Να αναζητηθεί η επίπτωση καθώς και τα δημογραφικά επιδημιολογικά στοιχεία και οι πιθανοί προδιαθεσικοί παράγοντες, όπως ηλικία, φύλο, κατοικία, επάγγελμα, επίπεδο μόρφωσης, ιστορικό ΚΕΚ με συνοδό κάταγμα κρανίου, οικογενειακό ιστορικό Ca, εγκεφαλική εντόπιση της εξεργασίας, μικροβιολογικοί παράγοντες, αλκοόλ, κάπνισμα, χρήση κινητού.

2) Να μελετηθεί η κλινική εικόνα, η πορεία και έκβαση των ασθενών μετά από συγκεκριμένη χειρουργική θεραπεία.

3) Να γίνει εργαστηριακός έλεγχος των ασθενών που θα περιλαμβάνει γενική αίματος, βιοχημικό έλεγχο, μικροβιολογικό έλεγχο για λοιμώδεις παράγοντες(**CMV IgM και IgG, EBV IgM και IgG, Toxoplasma gondii IgM και IgG**), μέτρηση ανοσοσφαιρινών με ELISA (**IgA, IgE, IgG, IgM**), και προσδιορισμό ανοσολογικού προφίλ (**Rf, ANA, ENA, anti ds-DNA, anti-cardiolipin Ab**) με Latex test και έμμεσο ανοσοφθορισμό.

4) Να γίνει μέτρηση **υποπληθυσμών των λευκών** στο **περιφερικό αίμα** με **κυτταρομετρία ροής** καθώς και μέτρηση **κυτταροκινών και παραγόντων απόπτωσης** στον **ορό** με **ELISA** (προφλεγμονωδών και αντιφλεγμονωδών) προεγχειρητικά.

Συγκεκριμένα θα μετρήσουμε στο **περιφερικό αίμα** με **κυτταρομετρία ροής** τους εξής δείκτες: **CD3, CD4, CD8, CD19, CD56**. Επίσης στον **ορό** του αίματος θα μετρήσουμε με **ELISA** τους εξής φλεγμονώδεις πληθυσμούς : **IL-2, IL-10, IL16, TNF-a, granzyme-b** .

5) Να διενεργηθεί μια **case-control** μελέτη, με ασθενείς γλοιώματα διαφόρου βαθμού κακοήθειας και μάρτυρες υγιείς χωρίς παθολογία από τον εγκέφαλο, όπου θα

αναζητηθούν τυχούσες **στατιστικά σημαντικές διαφορές** στις τιμές στον ορό του αίματος παραμέτρων του ανοσολογικού συστήματος ανάμεσα στους **ασθενείς** και στους **υγιείς μάρτυρες**.

6) Να γίνει συσχέτιση του **ανοσολογικού προφίλ του όγκου** με το **grade του όγκου** και **την επιβίωση του ασθενούς**.

2.ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

Σχετική δημοσίευση

Neuro
epidemiology

Original Paper

Neuroepidemiology 2009;33:89–95
DOI: [10.1159/000222090](https://doi.org/10.1159/000222090)

Received: December 21, 2008
Accepted: March 4, 2009
Published online: May 30, 2009

Descriptive Epidemiology of Cerebral Gliomas in Northwest Greece and Study of Potential Predisposing Factors, 2005–2007

K. Gousias^{a, b} M. Markou^{c, d} S. Voulgaris^e A. Goussia^f P. Voulgari^g M. Bai^f
K. Polyzoidisⁱ A. Kyritsis^h Y. Alamanos^j

^aDepartment of Neurosurgery, University of Ioannina, Ioannina, Greece; ^bDepartment of Neurosurgery, University Hospital of Bonn, Bonn, Germany; ^cUniversity of Ioannina, Ioannina, Greece; ^dDepartment of Neurology, 'Godeshöhe' Klinik Bonn, Bonn, Germany; Departments of ^eNeurosurgery, ^fPathology, ^gInternal Medicine and ^hNeurology, University Hospital of Ioannina, Ioannina; ⁱDepartment of Neurosurgery, University Hospital of Thessaloniki 'AXEPA', Thessaloniki, and ^jDepartment of Public Health, University of Patras, Patras, Greece

2.ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

2.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα γλοιώματα αποτελούν τους πιο συχνούς πρωτοπαθείς όγκους του εγκεφάλου με εξαιρετικά πτωχή πρόγνωση (Polednak AP et al 1995, Prados M et al 2000, Berger SM et al 1999, Ohgaki H et al 2005). Ωστόσο, ελάχιστες από τις επιδημιολογικές μελέτες βασισμένες σε όγκους εγκεφάλου έχουν επικεντρωθεί επιλεγμένα στα γλοιώματα (Chakrabarti I et al 2005, Fleury A et al 1979, Hess KR et al 2004, McLendon RE et al 1985, Sadetzki S et al 2008), ενώ μόνο 2 μελέτες έχουν δημοσιευθεί προς το παρόν, οι οποίες πραγματεύονται την επιδημιολογία των εγκεφαλικών γλοιωμάτων στις νότιες ευρωπαϊκές χώρες (Tola MR et al 1994, Tuskan-Mohar L et al 2004). Η διερεύνηση του επιδημιολογικού προφίλ των γλοιωμάτων τόσο στη νότια Ευρώπη όσο και στις μεσογειακές χώρες θα ήταν ενδιαφέρουσα λόγω των πιθανών επιδράσεων των τοπικών περιβαλλοντικών παραγόντων και του ιδιαίτερου τρόπου ζωής στην εμφάνιση της ασθένειας.

Η αιτιολογία των γλοιωμάτων παραμένει ελάχιστα κατανοητή. Οι σχετικές μελέτες έχουν επισημάνει τη σημασία της αυξημένης ηλικίας, του αρσενικού φύλου και του καυκάσιου γένους ως παράγοντες κινδύνου. Η πιθανή συσχέτιση του κινητού τηλεφώνου, της κατανάλωσης αλκοόλ, του καπνίσματος και παλαιότερων κρανιοεγκεφαλικών κακώσεων παραμένουν αμφιλεγόμενες (Inskipp PD et al 1998, Holick CN et al 2007, Benson VS et al

2008, Lahkola A et al 2007, Hardell L et al 2008, Hours M et al 2007, Hardell L et al 2007, Schuez J et al 2006, Takebayashi T et al 2008, Salvati M et al 2004, Zampieri P et al 1994, Carpenter AV et al 1987, Wrensch M et al 2000). Σκοπός της μελέτης μας είναι να ερευνήσουμε τα επιδημιολογικά και κλινικά χαρακτηριστικά ασθενών με υπερσκηνίδια γλοιώματα σε μια καθορισμένη περιοχή της βορειοδυτικής Ελλάδας με πληθυσμό 500.000 μόνιμων κατοίκων. Επίσης, επιθυμούμε να ερευνήσουμε τον ρόλο πιθανών προδιαθεσικών παραγόντων (σοβαρή κρανιοεγκεφαλική κάκωση, οικογενειακό ιστορικό πρωτοπαθούς όγκου εγκεφάλου, κατάχρηση αλκοόλ, κάπνισμα και χρήση κινητού) σε μια προοπτική μελέτη, που περιλαμβάνει ασθενείς με γλοιώματα και υγιείς μάρτυρες.

2.2. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Σύμφωνα με την τελευταία Εθνική Απογραφή του 2001, η περιοχή της μελέτης μας περιλαμβάνει έναν πληθυσμό 488.435 κατοίκων. Περιλαμβάνει έξι νομούς, τέσσερις από τους οποίους ανήκουν στην ηπειρωτική Ελλάδα (νομοί Ιωαννίνων, Άρτης, Πρεβέζης και Θεσπρωτίας) ενώ δύο στα Επτάνησα (νομοί Κέρκυρας και Λευκάδας). Το 36,5 % του συνολικού πληθυσμού είναι αστικός. Στην περιοχή που μελετούμε λειτουργούν 7 νοσοκομεία (ένα Πανεπιστημιακό με έδρα τα Ιωάννινα και 6 νομαρχιακά νοσοκομεία σε καθένα από τους υπόλοιπους νομούς).

Η συλλογή των δειγμάτων μας έγινε από ασθενείς που παρουσιάστηκαν τόσο στην κλινική της Νευροχειρουργικής ή της Νευρολογίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων όσο και στις αντίστοιχες κλινικές των άλλων νοσοκομείων της περιοχής. Οι ασθενείς των οποίων τόσο το ιστορικό όσο και η νευρολογική εξέταση παρείχε ενδείξεις για ύπαρξη γλοιώματος υποβλήθηκαν σε αξονική ή μαγνητική τομογραφία εγκεφάλου με και χωρίς σκιαγραφικό μέσο, καθώς και SPECT εγκεφάλου. Η διάγνωση επιβεβαιώθηκε ιστολογικά σε 91% των ασθενών (βιοψία δε διενεργήθηκε σε 5 (8,9%) ασθενείς λόγω υψηλού περιεγχειρητικού κινδύνου ή άρνηση συγκατάθεσής τους). Σε ότι αφορά τους 5 αυτούς ασθενείς η διάγνωση τέθηκε με κλινικά και παρακλινικά κριτήρια, τα οποία εκπληρώθηκαν, όταν ίσχυαν όλα τα παρακάτω:

1. Εύρημα στη μαγνητική τομογραφία εγκεφάλου χωροκατακτητικής εξεργασίας άνω του σκηνιδίου, με ανομοιογενή πρόσληψη σκιαγραφικού μέσου, κεντρική νέκρωση και περιβάλλον οίδημα.

2. Υψηλή πρόσληψη Tc99 σε SPECT scan, χαρακτηριστικό υψηλού βαθμού κακοήθειας γλοιώματος.
3. Απουσία πιθανής πρωτοπαθούς εντόπισης καρκίνου στις αξονικές κοιλίας και θώρακα.
4. Απουσία κλινικών και παρακλινικών ενδείξεων εγκεφαλικού αποστήματος.
5. Προοδευτικά συμπτώματα για πάνω από ένα μήνα καθώς και
6. Πτωχή επιβίωση των ασθενών κάτω του 9μήνου.

Το δείγμα των ασθενών μας περιελάμβανε ασθενείς με αστροκυτταρικούς, ολιγοδενδρογλιακούς και μικτούς όγκους.

Ως ασθενής στην μελέτη μας ορίζεται κάθε ασθενής με πρόσφατη διάγνωση υπεσκηνίδιου γλοιώματος μεταξύ του χρονικού διαστήματος από 1^η Ιουνίου 2005 έως 31^η Μαΐου 2007, ο οποίος κατοικούσε στην περιοχή μελέτης για τουλάχιστον ένα έτος προ της διάγνωσης. Η case-control μελέτη περιλαμβάνει τους πρώτους 41 από τους συνολικά 56 ασθενείς και 82 υγιείς μάρτυρες. Για κάθε ασθενή επιλέχθηκαν 2 αντίστοιχοι ως προς το φύλο, την ηλικία (+2 έτη) και το νομό κατοικίας μάρτυρες. Η συλλογή των μαρτύρων έγινε μεταξύ ασθενών που νοσηλεύθηκαν στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ιωαννίνων με αυχενική σπονδυλική στένωση ή κήλη αυχενικού μεσοσπονδύλιου δίσκου, χωρίς οποιαδήποτε παθολογία εγκεφάλου στο ιστορικό τους. Κατά τη διάρκεια της συνέντευξης, τόσο οι ασθενείς όσο και οι μάρτυρες ρωτήθηκαν σχετικά με την κατάχρηση αλκοόλ, το κάπνισμα, τη χρήση του κινητού τηλεφώνου, την ύπαρξη ή μη σοβαρής κρανιοεγκεφαλικής κάκωσης στο ιστορικό τους καθώς και για την ύπαρξη ή μη πρωτοπαθούς όγκου εγκεφάλου σε συγγενή πρώτου βαθμού (Πίνακας 7).

Ως σοβαρή κρανιοεγκεφαλική κάκωση ορίστηκε οποιαδήποτε εγκεφαλικό τραύμα συνδυασμένο με κάταγμα του κρανίου και ενδοκράνιες επιπλοκές, που οδήγησαν σε παραμονή του ασθενή στο νοσοκομείου για τουλάχιστον μία ημέρα. Όλοι οι ασθενείς

συμφώνησαν να συμμετέχουν στη μελέτη μετά τη σχετική ενημέρωση, ενώ το πρωτόκολλο εργασίας ελέγχθηκε και έγινε δεκτό από την επιτροπή ανθρωπίνων ερευνών του νοσοκομείου.

Ως ρυθμός επίπτωσης (incidence rate, IR) υπολογίζεται ο αριθμός των ασθενών ανά 100.000 κατοίκους. Οι ρυθμοί προσαρμοσμένοι στην ηλικία (age-adjusted rates) υπολογίστηκαν με την άμεση μέθοδο χρησιμοποιώντας τον ελληνικό πληθυσμό σύμφωνα με την απογραφή του 2001. Το διάστημα εμπιστοσύνης 95% υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας την κανονική κατανομή. Στην ανάλυση logistic regression χρησιμοποιήσαμε τους ασθενείς και μάρτυρες ως εξαρτημένες μεταβλητές. Ως ανεξάρτητες μεταβλητές στο μοντέλο της ανάλυσης συμπεριλάβαμε τη χρήση αλκοόλ (gr / week), τη χρήση κινητού (min/years), το κάπνισμα (pack-years) και την ύπαρξη ιστορικού σοβαρής κρανιοεγκεφαλικής κάκωσης ή όχι. Ως στατιστική σημαντικότητα θεωρήσαμε $p < 0.05$. Για τη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα SPSS/PC Version 15.

Πίνακας 7.

Το ερωτηματολόγιο που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη

Ερωτηματολόγιο

Χρήση κινητού τηλεφώνου

όχι
 ναι χρόνος έναρξης____
 συχνότητα χρήσης (minute years*)____
 χρήση hands free ____

Κατανάλωση Αλκοόλ

όχι
 ναι χρόνος έναρξης____
 συχνότητα κατανάλωσης(gr/week)____
 Αλλαγή της κατανάλωσης την τελευταία δεκαετία?
 Εάν ναι, κατανάλωση
 αυξημένη ____
 μειωμένη ____

Κάπνισμα

όχι Εάν πρώην καπνιστής
 χρόνος έναρξης____
 χρόνος διακοπής____
 ένταση(pack years**)____
 ναι χρόνος έναρξης____
 ένταση(pack years**)____
 Αλλαγή της κατανάλωσης την τελευταία δεκαετία?
 Εάν ναι, κατανάλωση
 αυξημένη ____
 μειωμένη ____

Ιστορικό σοβαρής ΚΕΚ***

Ιστορικό πρωτοπαθούς όγκου εγκεφάλου σε συγγενείς 1^{ου} βαθμού

*minute years υπολογίζεται πολλαπλασιάζοντας τα λεπτά που μιλούνται καθημερινά επί τα χρόνια της χρήσης κινητού τηλεφώνου.

**pack years υπολογίζεται πολλαπλασιάζοντας τον αριθμό των πακετών (20 τσιγάρα) που καπνίζονται καθημερινά επί τον αριθμό των ετών καπνίσματος.

*** ως σοβαρή ΚΕΚ ορίζεται ένα κρανιακό τραύμα με κάταγμα κρανίου που οδήγησε στην παραμονή του ασθενούς για τουλάχιστον μία ημέρα σε νοσοκομείο.

2.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Συνολικά 56 ασθενείς διαγνώστηκαν στον γενικό πληθυσμό από την 1^η Ιουνίου 2005 μέχρι την 31^η Μαΐου 2007. Τα κύρια χαρακτηριστικά των ασθενών παρουσιάζονται στον πίνακα 8. 36 ασθενείς διαγινώσθησαν με γλοιοβλάστωμα GBM (grade IV), 13 με γλοίωμα grade III και 7 με γλοίωμα grade II. Η επίπτωση του γλοιώματος στην περιοχή της μελέτης υπολογίστηκε ως $5,73/10^5/\text{year}$ (95% CI: 3,47-7,99). Η επίπτωση προσαρμοσμένη στην ηλικία ήταν $5,64/10^5/\text{year}$. Η επίπτωση στους άρρενες ανήλθε σε $5,97/10^5/\text{year}$ (29 περιπτώσεις) ενώ στις θήλειες $5,50/10^5/\text{year}$ (27 περιπτώσεις). Οι επιπτώσεις στους διάφορους νομούς κυμάνθηκε σε παρόμοια επίπεδα (Πίνακας 8).

Πίνακας 8.

Ρυθμός επίπτωσης των γλοιωμάτων εγκεφάλου στις έξι επαρχίες της περιοχής μελέτης.

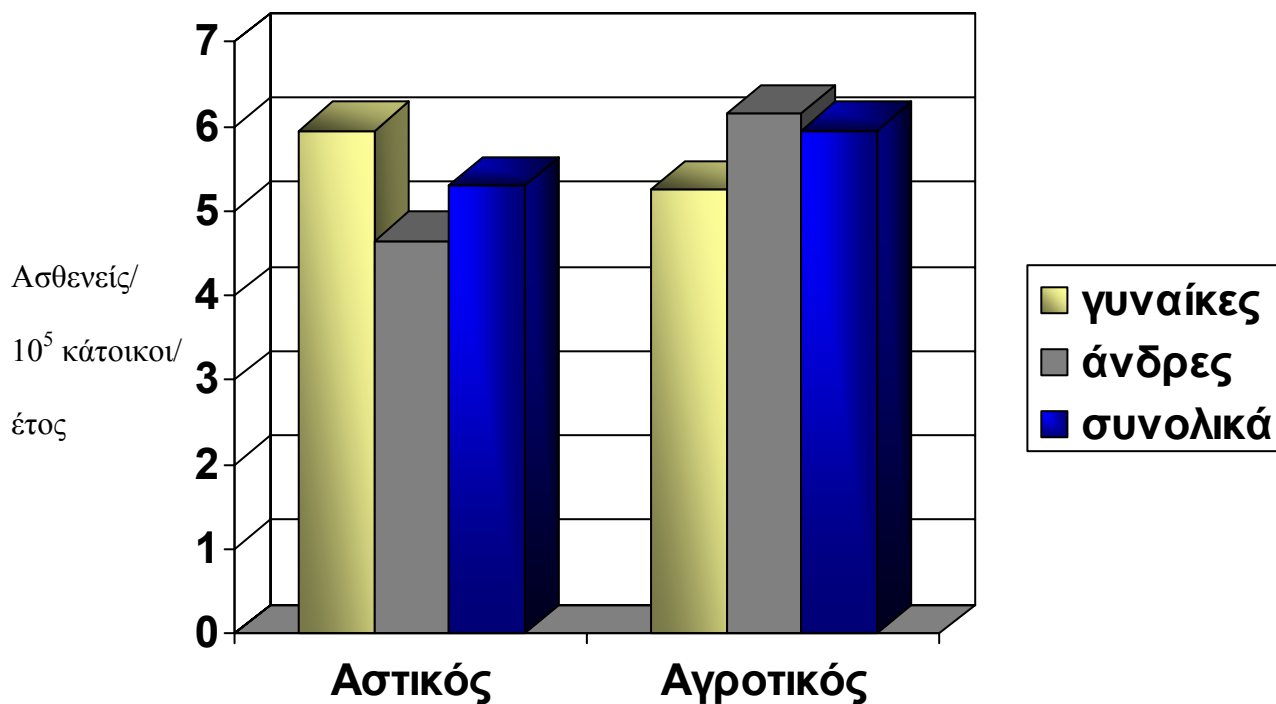
| Επαρχία | Περιπτώσεις | Περιπτώσεις/ 10^5 (95% CIs) |
|-----------|-------------|-------------------------------|
| Ιωάννινα | 19 | 5.4 (1.8-9.0) |
| Άρτα | 8 | 5.0 (0.1-11.2) |
| Θεσπρωτία | 6 | 6.5 (0.1-13.9) |
| Πρέβεζα | 7 | 5.7 (0.1-11.8) |
| Κέρκυρα | 12 | 5.6 (0.7-10.5) |
| Λευκάδα | 4 | 8.5 (0.1-19.4) |
| ΒΔ Ελλάδα | 56 | 5.6 (3.4-7.8) |

Η επίπτωση του γλοιώματος για τον αγροτικό και τον αστικό πληθυσμό της περιοχής υπολογίσθηκε ως $5,95/10^5/\text{year}$ και $5,30/10^5/\text{year}$ αντίστοιχα (Γράφημα 18).

Ο ρυθμός επίπτωσης του γλοιοβλαστώματος ήταν $3,69/10^5/\text{year}$. Μια ελαφρά υπεροχή του αρσενικού φύλου παρατηρήθηκε, με αναλογία αρρένων προς θήλεα 1,25. Ο ρυθμός επίπτωσης για τους άρρενες ήταν 4,12 ενώ για τις θύλεις $3,26/10^5/\text{year}$ αντίστοιχα. Η μεγαλύτερη επίπτωση και στα δύο φύλα και σε όλα τα grade παρουσιάστηκε στην ομάδα ηλικιών από 60-79. Το grade III ήταν πιο συχνό στις ηλικίες 40-69 ενώ το grade II μεταξύ 20-29 και 40-59 (Γράφημα 19). Ο μέσος όρος ηλικίας κατά τη διάγνωση ήταν 60,4 σε ό,τι αφορά τα γλοιώματα και 64,8 σε ό,τι αφορά τα γλοιοβλαστώματα (Πίνακας 9).

Γράφημα 18.

Ρυθμοί επίπτωσης ανάμεσα στον αστικό και αγροτικό πληθυσμό.



Πίνακας 9.

Χαρακτηριστικά των ασθενών με εγκεφαλικά γλοιώματα στην μελετημένη περιοχή της ΒΔ Ελλάδας από 01/06/2005 -31/05/2007.

| | | |
|--------------------------------------|------------------------|------------------------|
| <u>Αριθμός ασθενών</u> | 56 | |
| Άνδρες / Γυναίκες | 29/27 | |
| <u>Ηλικία διάγνωσης</u> | <u>Γλοιώματα</u> | <u>Γλοιοβλαστώματα</u> |
| Ασθενείς (μ.ο±τ.α, εύρος) | (60.38±12.10, 22-82) | (64.8±13.89, 48-82) |
| Γυναίκες (μ.ο±τ.α) | (62.89±10.08) | (67±11.39) |
| Άνδρες (μ.ο±τ.α) | (58.03±13.48) | (63±13.93) |
| <u>Κοινωνικοοικονομική κατάσταση</u> | <u>Αρ. περιπτώσεων</u> | <u>%</u> |
| Χαμηλή | 26 | 46.5 |
| Μεσαία | 14 | 25 |
| Υψηλή | 16 | 28.5 |
| <u>Grade γλοιώματος</u> | <u>Αρ. περιπτώσεων</u> | <u>%</u> |
| II | 7 | 12.5 |
| III | 13 | 23.2 |
| IV | 36 | 64.3 |
| <u>Εντόπιση</u> | <u>Αρ. περιπτώσεων</u> | <u>%</u> |
| Δεξιά | 24 | 42.9 |
| Αριστερά | 24 | 42.9 |
| Άμφω | 8 | 14.3 |
| Μετωπιαία | 11 | 19.7 |
| Βρεγματικά | 9 | 16 |
| Κροταφικά | 9 | 16 |
| Ινιακά | 0 | 0 |
| Κροταφοβρεγματικά | 9 | 16 |
| Μετωπιοβρεγματικά | 6 | 10.7 |
| Μετωπιοκροταφικά | 5 | 9 |
| Ινιοβρεγματικά | 4 | 7.1 |
| Μετωποκροταφοβρεγματικά | 3 | 5.4 |

Οι όγκοι παρουσιάστηκαν με την ίδια συχνότητα και στα δύο εγκεφαλικά ημισφαίρια μεταξύ των ασθενών. Ωστόσο, σε κάθε ημισφαίριο η πιο συχνή εντόπιση του όγκου ήταν στο μετωπιαίο λοβό. Αμέσως πιο συχνή εντόπιση ήταν ο κροταφικός και ο βρεγματικός λοβός, ενώ ελάχιστες περιπτώσεις εντοπίστηκαν στον ινιακό λοβό. Σε κανέναν από τους ασθενείς μας δεν παρουσιάστηκε όγκος στην παρεγκεφαλίδα. (Πίνακας 9).

Το 46,5% των ασθενών ανήκαν στην κατώτερη, 25% στη μεσαία και 28,5% στην ανώτερη κοινωνικοοικονομική τάξη.

Παρατηρήθηκε μια τάση θετικής συσχέτισης του ιστορικού σοβαρής εγκεφαλικής κάκωσης με το ρίσκο εμφάνισης γλοιώματος, ωστόσο η συσχέτιση αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Καμία σημαντική στατιστικά συσχέτιση δεν παρατηρήθηκε μεταξύ ρίσκου εμφάνισης γλοιώματος και καπνίσματος, χρήσης αλκοόλ και χρήσης κινητού τηλεφώνου λιγότερου ή ίσου μιας δεκαετίας (Πίνακας 10).

Πίνακας 10.

Logistic regression (εξαρτημένη μεταβλητή ασθενείς/μάρτυρες)

| Ανεξάρτητη μεταβλητή | Odds ratio | 95%CI | p |
|---|------------|------------|------|
| Αλκοόλ (gr/week) | 1.00 | 0.99-1.01 | 0.98 |
| Κάπνισμα (pack years) | 1.01 | 0.99-1.02 | 0.61 |
| Χρήση κινητού τηλεφώνου (minute years) | 1.00 | 0.99-1.01 | 0.56 |
| Τραύμα | 3.74 | 0.30-47.29 | 0.31 |
| Οικογεν.ιστορικό | 6.39 | 0.63-64.94 | 0.12 |

2.4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Προς το παρόν υφίστανται ελάχιστες επιδημιολογικές μελέτες που να πραγματεύονται την επίπτωση των εγκεφαλικών γλοιωμάτων. Οι μελέτες από Ευρώπη, Ασία και ΗΠΑ εμφανίζουν σημαντική γεωγραφική ποικιλία στους ρυθμούς επιπτώσεων (Ohgaki H et al 2005, Chakrabarti I et al 2005, Fleury A et al 1979, Hess KR et al 2004, McLendon RE et al 1985, Sadetzki S et al 2008, Ries LAG et al 2004, Ferlay J et al 1999, Kuratsu J et al 2001, cbtrus 2009, Fan KJ et al 1992). Η εμφάνιση του γλοιώματος επηρεάζεται από γενετικούς, φυλετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες. Τα γλοιώματα εμφανίζονται λιγότερο συχνά στους Ιάπωνες, τον Αφρικάνικο πληθυσμό και τους Λατινοαμερικάνους σε σχέση με την καυκάσια φυλή (Chakrabarti I et al 2005, McLendon RE et al 1985, Kuratsu J et al 2001, Fan KJ et al 1992).

Σχετική πληθυσμιακή μελέτη, βασισμένη σε πρωτοπαθή εγκεφαλικά γλοιώματα στην περιφέρεια του Kumamoto, συμπέρανε ότι τα γλοιώματα στην Ιαπωνία εμφανίζονται κατά 50 % σπανιότερα σε σχέση με τις ΗΠΑ (Ferlay J et al 1999). Σύμφωνα με τα δεδομένα του κεντρικού αρχείου των εγκεφαλικών όγκων για το 2000-2004 (CBTRUS), υπολογίσθηκε ο ρυθμός επίπτωσης για γλοιοβλαστώματα στη λευκή φυλή ($3,09/10^5/\text{year}$) ως διπλάσιος σχετικά με το ρυθμό για τον πληθυσμό των αφροαμερικάνων των ΗΠΑ ($1,65/10^5/\text{year}$) (cbtrus 2009). Ομοίως, ο Fan et al αναφέρει διπλάσιο ρυθμό επίπτωσης για γλοιοβλαστώματα στους λευκούς σε σύγκριση με τους μαύρους στην Washington D.C.,USA. Οι ρυθμοί επίπτωσης βρέθηκαν χαμηλότεροι στους λατινοαμερικάνους σε σύγκριση με τους καυκάσιους και υψηλότεροι σε σύγκριση με τους μαύρους (Chakrabarti I et al 2005). Η περιοχή της μελέτης μας αποτελείται από ομογενή καυκάσιο πληθυσμό. Σύμφωνα με τα

αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, ο ρυθμός επίπτωσης των γλοιωμάτων στην Βορειοδυτική Ελλάδα είναι σημαντικά υψηλότερος σε σύγκριση με τους λοιπούς αναφερθέντες λευκούς πληθυσμούς (Πίνακας 11).

Μολονότι η αιτιολογία του αυξημένου ρυθμού επίπτωσης της περιοχής παραμένει ανεξήγητη, θα μπορούσε μερικώς να σχετίζεται με ακαθόριστους περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως για παράδειγμα συχνότερη και πιο έντονη έκθεση στον ήλιο και στην υπεριώδη ακτινοβολία (Karipidis KK et al 2007). Επιπλέον έρευνες χρειάζονται ώστε να διερευνηθεί η επίπτωση των ειδικών περιβαλλοντικών παραγόντων και των γενετικών μεταλλάξεων της περιοχής στην προδιάθεση των γλοιωμάτων. Η υπόθεση ότι ο τρόπος ζωής της περιοχής προάγει την καρκινογένεση στο κεντρικό νευρικό σύστημα υποστηρίζεται από τον Ferlay et al, ο οποίος κατέδειξε έναν πολύ υψηλό δείκτη επίπτωσης των όγκων του κεντρικού νευρικού συστήματος στην Ελλάδα ($11,2/10^5/\text{year}$). Το αποτέλεσμα αυτό είναι συγκρίσιμο μόνο με τους αντίστοιχους ρυθμούς των σκανδιναβικών χωρών. Μια περιγραφική επιδημιολογική μελέτη πρωτοπαθών εγκεφαλικών όγκων στο Los Angeles (Preston-Martin S et al 1989) αναφέρει αυξημένους δείκτες επίπτωσης μεταξύ των κατοίκων της περιοχής οι οποίοι γεννήθηκαν στην νότια Ευρώπη και προΐδεάζουν σε μια σημαντική επίδραση των γενετικών ποικιλιών που υφίστανται στη νότια Ευρώπη. Ωστόσο, οι τοπικοί παράγοντες ζωής ίσως να μην είναι οι μόνοι που συνεισφέρουν στην αυξημένη επίπτωση που εμφανίζει η μελέτη μας. Θα πρέπει να συνυπολογίζουμε την διαρκώς αυξανόμενη τάση εμφάνισης των γλοιωμάτων γενικότερα και ειδικότερα των γλοιοβλαστωμάτων που επικρατεί στις τελευταίες δεκαετίες (Chakrabarti J et al 2005, Hess KR et al 2004, Ries LAG et al 2004, Ferlay J et al 1999, Kuratsu J et al 2001, Jukich PJ et al 2001, McCarthy BJ et al 2008) και το γεγονός πως η πλειονότητα των επιδημιολογικών μελετών, που πραγματεύονται το παρόν θέμα αναφέρεται συνήθως στην προηγούμενη δεκαετία (Πίνακας 11).

Πίνακας 11.

Προσαρμοσμένα στον πληθυσμό δεδομένα ρυθμών επιπτώσεως (I.R), ηλικία και φύλο ασθενών με γλοιώματα

| Μελέτη | Έτος | Περιοχή | I.R(/100000/έτος) | Μέση Ηλικία διάγνωσης | Κλάσμα Α/Θ |
|---------------------|-------------|------------------------------|-------------------|--------------------------|---------------|
| | | | grI-II | 0,63 | |
| Schoenberg BS et al | 1955-1964 | Κονέκτικατ | grIII-IV | 2,34 | |
| Levi F et al | 1981-1987 | Ελβετία (καντόνι τουVaud) | γλοιώμα | άρρεν 2,71 θύλη 1,77 | |
| Fleury A et al | 1983-1990 | Γαλλία | γλοιώμα | 3,17 | |
| | | | GBM | 2,38 | |
| | | | γλοιώμα | 3,8 | |
| Zulch KJ et al | 1978-1980 | Β.Φινλανδία | GBM | 2,6 | |
| | | | γλοιώμα | 3,5 | |
| Helseth A et al | 1955-1984 | Νορβηγία | GBM | 2,4 | |
| CBTRUS | 1990-1994 | ΗΠΑ (11 πολιτείες) | GBM | άρρεν 3,24 θύλη 2,07 | |
| Ohgaki et al | 1992-1997* | ΗΠΑ | grI | 0,23 | 17 |
| Okamoto et al | | | grII | 0,74 | 45 |
| | | | grIII | 0,89 | 49 |
| | | | GBM | 2,96 | 62 |
| Okamoto et al | 1992-1997* | Ζυρίχη | grI | 0,39 | 20 |
| Ohgaki et al | | | grII | 0,79 | 42 |
| | | | grIII | 0,70 | 46 |
| | | | GBM | 3,39 | 61 |
| Gousias et al | 2005-2007** | ΒΔ Ελλάδα | grII | 0,71 | 44,8 |
| (παρούσα μελέτη) | | | grIII | 1,33 | 56,6 |
| | | | GBM | 3,69 | 64,8 |
| | | | grI-IV | 5,73 | 60,4 |

*οι ρυθμοί επίπτωσης είναι προσαρμοσμένοι στον πληθυσμό των ΗΠΑ του 2000

**ρυθμοί επίπτωσης σύμφωνα με την εθνική απογραφή του 2001

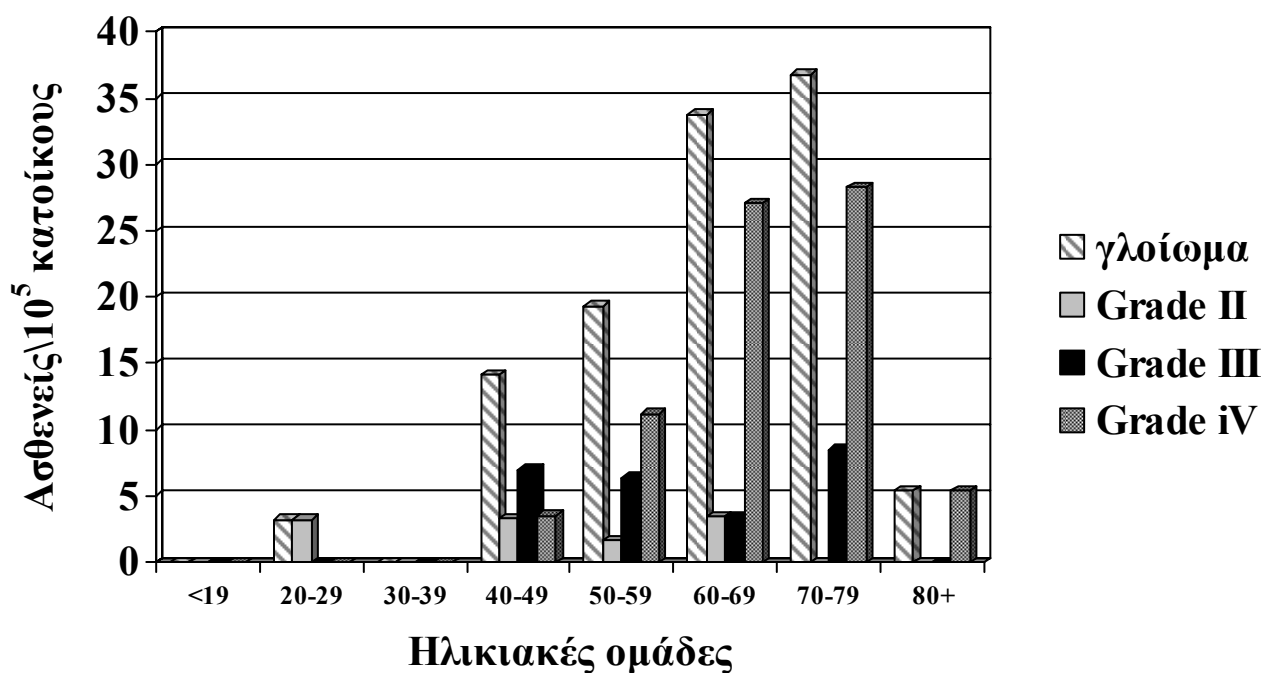
Λόγω της έλλειψης προηγούμενων επιδημιολογικών μελετών των εγκεφαλικών γλοιωμάτων στην Ελλάδα, ο υπολογισμός της τάσης εμφάνισής τους σε σύγκριση με προηγούμενες δεκαετίες είναι αδύνατος. Ωστόσο, αν λάβουμε υπόψη τις αυξημένες τάσεις που παρατηρούνται παγκόσμια σύμφωνα με τις πρόσφατες μελέτες, συμπεραίνουμε πως τα αποτελέσματά μας είναι προϊόν των τοπικών περιβαλλοντικών παραγόντων και τρόπου ζωής καθώς και της παγκόσμια παρατηρημένης τάσης προς αύξηση της εμφάνισης της νόσου.

Σύμφωνα με τα δεδομένα του CBTRUS, παρατηρείται μια υπεροχή των αρρένων στην ομάδα των γλοιοβλαστωμάτων (Πίνακας 11). Το κλάσμα αρρένων προς θήλεα για το 1992-1997 βρέθηκε 1,26. Ένα παρόμοιο κλάσμα (1,28) υπολογίστηκε για την ίδια χρονική περίοδο και για τον ελβετικό πληθυσμό (Ohgaki H et al 2005). Ο Sadetzki et al αναφέρει κλάσμα άρρενος προς θήλυ 1,4 για τα υψηλού βαθμού κακοήθειας γλοιώματα. Στη μελέτη μας το αντίστοιχο κλάσμα υπολογίστηκε ως 1,25. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί και σε διάφορες άλλες μελέτες σχετικά με το μέσο όρο ηλικίας κατά την διάγνωση και τους ανά ηλικία προσαρμοσμένους δείκτες επίπτωσης για γλοιοβλαστώματα και γλοιώματα (Fleury A et al 1997, Surawicz TS et al 1999) (Γράφημα 19).

Η κλινική πορεία των εγκεφαλικών γλοιωμάτων ίσως να επηρεάζεται από την εντόπισή τους. Αυξημένη επιβίωση για ασθενείς με γλοιοβλαστώματα του μετωπιαίου λοβού ή της παρεγκεφαλίδας έχει αναφερθεί σε διάφορες μελέτες (Simpson R et al 1993, Jeremic B et al 1994, www.cancerresearch.-uk.org). Ποικίλοι ρυθμοί επιβίωσης ανά ανατομική περιοχή εντόπισης έχουν επίσης αναφερθεί σε ασθενείς με γλοιώματα (Surawicz TS et al 1998). Η μελέτη μας καταδεικνύει το μετωπιαίο λοβό ως την πιο συχνή εντόπιση της γένεσης του γλοιώματος. Το εύρημα αυτό είναι σε συμφωνία με τις περισσότερες μελέτες που ερεύνησαν την επίπτωση των γλοιωμάτων ανά ανατομική περιοχή (Chakrabarti I et al 2005, Larjavaara S et al 2007).

Γράφημα 19.

Ρυθμοί επίπτωσης των γλοιωμάτων ανά ηλικιακές ομάδες ανάλογα με το grade.



Η παρούσα μελέτη βασίστηκε σε διάφορες πηγές επιβεβαίωσης περιπτώσεων στα πλαίσια συστηματικής καταγραφής, ώστε να μειωθεί η πιθανότητα υποεκτίμησης του δείκτη επίπτωσης και να αποφευχθεί το στατιστικό σφάλμα. Ωστόσο, ένας αριθμός γλοιωμάτων ίσως να έχει διαφύγει του συστήματος καταγραφής, ιδιαίτερα σε αγροτικές περιοχές, όπου οι υπηρεσίες υγείας είναι λιγότερο ανεπτυγμένες απ' ό,τι στις αστικές περιοχές. Αυτό θα ήταν δυνατό να έχει συμβεί ιδιαίτερα στο γηραιότερο πληθυσμό, όπου ένα γλοιώμα θα μπορούσε να διαγνωστεί λανθασμένα ως εγκεφαλικό επεισόδιο σε απουσία ακτινολογικής εξέτασης με βάση μόνο κλινικά χαρακτηριστικά. Από την άλλη πλευρά υπάρχει εύκολη και ελεύθερη

πρόσβαση για κάθε κάτοικο στα νευρολογικά και νευροχειρουργικά τμήματα της περιοχής. Συνεπώς δεν αναμένουμε κάποια σημαντική διαφυγή περιπτώσεων γλοιωμάτων στην περιοχή μελέτης και είμαστε πεπεισμένοι πως τα αποτελέσματά μας ανταποκρίνονται στην πραγματική εικόνα της περιοχής.

Αναντίρρητα πολύ συζήτηση έχει διεξαχθεί πάνω στο θέμα των κινητών τηλεφώνων. Παρά το γεγονός ότι πολλές μελέτες δεν αναφέρουν κάποιο αυξημένο κίνδυνο γένεσης γλοιώματος από τη χρήση κινητών τηλεφώνων, υπάρχει ανησυχία του κοινού για πιθανούς καρκινογόνους μηχανισμούς των κινητών τηλεφώνων (Lahkola A et al 2007, Hours M et al 2007, Takebayashi T et al 2008). Μερικές μελέτες αναφέρουν ό,τι η χρήση κινητών τηλεφώνων για πάνω από 10 χρόνια ίσως να σχετίζεται με αυξημένο ρίσκο γλοιώματος ομόπλευρα (Hardell L et al 2007 and 2008, Schuez J et al 2006). Στη μελέτη μας δε βρήκαμε κάποια στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ εμφάνισης γλοιώματος και χρήσης κινητού τηλεφώνου. Λόγω του γεγονότος ό,τι οι ασθενείς μας χρησιμοποιούσαν λιγότερο από μία δεκαετία κινητό δεν μπορούμε να αποκλείσουμε μία πιθανή σχέση μεταξύ γλοιώματος και μακροχρόνιας χρήσης κινητού τηλεφώνου. Παρομοίως, δε βρέθηκαν στατιστικά σημαντικοί συσχετισμοί μεταξύ καπνίσματος και χρήσης αλκοόλ με την ανάπτυξη γλοιώματος αποτέλεσμα που συμφωνεί με τις περισσότερες μελέτες βασισμένες στους παράγοντες τρόπου ζωής και τον παθογενετικό τους ρόλο στο γλοίωμα.

Η επίδραση σοβαρής κρανιοεγκεφαλικής κάκωσης στο σχηματισμό όγκου εγκεφάλου και ιδιαίτερα γλοιώματος μένει αμφιλεγόμενη. Ο Inskipp PD συμπεραίνει πως η σοβαρή κρανιοεγκεφαλική κάκωση αυξάνει ελαφρά τον σχετικό κίνδυνο εμφάνισης όγκου εγκεφάλου (Inskipp PD et al 1998). Παρομοίως, ο Salvati M υποστηρίζει μια αιτιολογική συσχέτιση μεταξύ σοβαρών ΚΕΚ και ανάπτυξης γλοιώματος (Salvati M et al 2004) ενώ

άλλοι (Zampieri P et al 1994, Carpenter AV et al 1987, Wrensch M et al 2000) αναφέρουν ότι δεν υπάρχει κάποια καθαρή σχέση μεταξύ κρανιακού τραύματος και επακόλουθου σχηματισμού γλοιώματος. Οι τελευταίες αυτές μελέτες, ωστόσο, συνυπολογίζουν όλους τους τύπους των εγκεφαλικών τραυμάτων (ελαφριά, μέτρια και βαριά κάκωση) και δεν μπορούν να αποκλείσουν τη ζητούμενη επίδραση, μεμονωμένα, μιας σοβαρής κάκωσης. Στην παρούσα μελέτη εξετάσαμε την επίδραση της σοβαρής εγκεφαλικής κάκωσης, η οποία βρέθηκε να είναι πιο συχνή ανάμεσα στους ασθενείς απ' ό,τι στους μάρτυρες, ωστόσο δε βρήκαμε κάποια στατιστικά σημαντική σχέση.

Ελάχιστες μελέτες έχουν ερευνήσει την πιθανή συσχέτιση της κληρονομικότητας με το ρίσκο εμφάνισης του εγκεφαλικού γλοιώματος. Οι Hill et al επισημαίνουν πως άτομα με ιστορικό καρκίνου, εκτός από όγκους εγκεφάλου, έχουν αυξημένο ρίσκο για εμφάνιση εγκεφαλικού γλοιώματος (Hill et al 2003). Οι Scheuerer et al υποστηρίζουν πως αυξημένο ρίσκο γλοιωματογένεσης εμφανίζουν ασθενείς με συγγενείς 1^{ου} βαθμού που να έχουν αναπτύξει διάφορους τύπους καρκίνου, ανάμεσα στους οποίους και γλοιώματα εγκεφάλου (Scheuerer et al 2007). Στην μελέτη μας δεν προέκυψε κάποια ένδειξη συσχέτισης ρίσκου εμφάνισης γλοιώματος με ιστορικό κάποιου τύπου καρκίνου εκτός ΚΝΣ. Ωστόσο, διαπιστώθηκε ισχυρή τάση συσχετισμού της γλοιωματογένεσης με το ιστορικό όγκου εγκεφάλου σε συγγενείς 1^{ου} βαθμού (Odds ratio: 6.39 (0.63-64.94), p=0.12).

2.5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Συμπεραίνουμε ότι η μελέτη μας παρουσιάζει έναν υψηλό δείκτη επίπτωσης του γλοιώματος και του γλοιοβλαστώματος στη βορειοδυτική Ελλάδα. Τοπικοί περιβαλλοντικοί παράγοντες καθώς και παράγοντες του τρόπου ζωής, σε συνδυασμό με την παγκόσμια παρατηρούμενη αυξητική τάση των γλοιωμάτων και ειδικότερα των γλοιοβλαστωμάτων εξηγούν το αποτέλεσμα αυτό. Παρατηρήθηκε μια τάση για θετική συσχέτιση μεταξύ ρίσκου εμφάνισης γλοιώματος και ιστορικού κρανιακού τραύματος καθώς και ιστορικού όγκου εγκεφάλου σε συγγενείς 1^{ου} βαθμού. Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ χρήσης αλκοόλ, καπνίσματος και κινητών τηλεφώνων. Περαιτέρω μελέτες είναι αναγκαίες ώστε να διερευνηθεί η πιθανή συσχέτιση γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων καθώς και του τρόπου ζωής με τον σχετικά υψηλό παρατηρούμενο δείκτη εμφάνισης του γλοιώματος στη βορειοδυτική Ελλάδα.

2.6. ABSTRACT

Background: To investigate the epidemiologic and clinical characteristics (age, sex, tumor location, socioeconomic status) and potential predisposing factors (alcohol, tobacco, mobile phone use, severe head trauma, familial gliomas) of cerebral gliomas in a defined area of Northwest Greece.

Methods: The study was conducted in patients with gliomas referred to all seven hospitals of our region that has a population of 488,435 inhabitants, from June 1, 2005 to May 31, 2007. Incidence rates (IR) were calculated as new cases diagnosed among residents of the study area during the study period per 100,000 inhabitants. A case-control study was carried out in order to study the possible association of the risk of glioma with smoking, alcohol, use of mobile phone, inheritance and severe cranial trauma. Statistical evaluation, including incidence rate (I.R.), age-adjusted rates and logistic regression, were performed with the software SPSS/PC VERSION 15.

Results: A total of 56 glioma incident cases were identified with I.R. of glioma and glioblastoma (GBM) at $5.73/10^5/\text{year}$ and $3.7/10^5/\text{year}$, respectively. A male to female ratio of 1.25 was observed in GBM group. I.Rs of glioma and gliomas for both males and females were higher in the age group 60-79. The most frequent anatomic location was the frontal lobe. 46,5% of the patients originated from the low, 25% from the middle and 28,5% from the high socioeconomic class. There was no significant association of glioma and alcohol consumption, smoking and light or moderate use of mobile phone. A trend for positive association between the risk of glioma and history of cranial trauma or familial cerebral gliomas was observed, but this association was not statistically significant.

Conclusion: The estimated I.R of glioma and GBM in this study was higher in compared with data from other studies carried out on European, Asian and US population. Further studies may be needed to assess the possible effect of genetic, environmental and lifestyle factors with the high occurrence of gliomas observed in this study.

2.7. SYNOPSIS

Ziel: Zweck unserer Studie war die Durchführung eines epidemiologischen Studiums in Nord West Griechenland. Weiterhin wurde eine Reserche sowohl der Inzidenz, der demografischen und epidemiologischen Daten (Alter, Geschlecht, Lokalisation des Tumors, sozioökonomischer Status) als auch der potentiellen Risikofaktoren (Alkohol Konsum, Rauchen, Handy Gebrauch, schweres Schädelhirntrauma in der Vorgeschichte, familiäre Hirntumoren) angestrebt.

Material und Methoden: Die Studie basierte auf Patienten, die sich in einer der sieben KH der Region vorgestellt haben (Ambulanz/ Station). Die Region zählt ungefähr 500000 Einwohner und die Studien-Periode war vom 1. Juni 2005 bis zum 31. Mai 2007. Als Krankheitsfall wurde jeder Patient definiert mit einer neuen Diagnose eines Glioms mit histologischer Bestätigung während der o.g Periode, der mindestens 1 Jahr vor der Diagnose Einwohner der Gegend war. Eine case-control Studie hat stattgefunden, um die potentiellen Korrelationen zwischen Rauchen, Alkohol Konsum, Handy Gebrauch und schweres SHT und des Risikos der Gliomen-Formation abzuklären. Die statistische Evaluation wurde mittels SPSS/PC Version 15 durchgeführt.

Ergebnisse: Unsere Studie zeigte 56 Gliompatienten mit einer Inzidenzrate für allgemeine Gliome und Glioblastome von $5.73/10^5/\text{Jahr}$ beziehungsweise $3.7/10^5/\text{Jahr}$. Das Verhältnis Mann zu Frau war 1.25 in der GBM Gruppe. Gliominzidenyraten sowohl für Männer als auch für Frauen war höher für die Altersgruppe zwischen 60-79. Der Gyrus frontalis war am häufigsten beteiligt. 46,5% der Patienten stammen aus der niedrigen, 25% von der mittleren and 28,5% von der höheren sozioökonomischen Klasse. Keine statistisch

signifikante Korrelation zwischen Alkoholkonsum, Rauchen und leicht bis mittelgradiger Gebrauch des mobilen Telefons wurde erkannt. Eine Tendenz zur positiven Korrelation der Gliomen-Formation mit der Vorgeschichte eines schweren SHT kombiniert mit einer Schädelfraktur sowie mit der familiären Hirntumoren wurde festgestellt.

Schlußfolgerung: Die Inzidenzrate des Glioms und Glioblastoms in unserer Studie war höher im Vergleich zu der in anderen Studien, die auf der Population in Asien, USA und Europa basierten. Weitere Studien sind notwendig um die mögliche Wirkung der lokalen genetischen und verschiedenen lifestyle-Faktoren der Umgebung auf die Inzidenzrate abzuklären.

2.8. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός: Η διεξαγωγή μιας επιδημιολογικής μελέτης του γλοιώματος στη ΒΔ Ελλάδα καθώς και η αξιολόγηση των κλινικών χαρακτηριστικών (ηλικία, φύλο, εντόπιση του όγκου, κοινωνικοοικονομικό επίπεδο) και των πιθανών προδιαθεσικών παραγόντων (χρήση αλκοόλ, κάπνισμα, χρήση κινητού, κληρονομικότητα και σοβαρή ΚΕΚ)

Υλικό και Μέθοδοι: Διενεργήθηκε μια case-control μελέτη, όπου οι ασθενείς συγκεντρώθηκαν από τα εξωτερικά ιατρεία και τις νευροχειρουργικές/νευρολογικές κλινικές των επτά νοσοκομείων της περιοχής, που απαριθμεί έναν πληθυσμό περίπου 500.000 κατοίκων στο χρονικό διάστημα από 1^η Ιουνίου 2005 μέχρι 31^η Μαΐου 2007. Ως περίπτωση ορίζεται κάθε ασθενής με νέα ιστολογικά επιβεβαιωμένη διάγνωση γλοιώματος στο χρονικό διάστημα της μελέτης, ο οποίος να κατοικεί τουλάχιστον 1 χρόνο στην περιοχή. Μελετούμε την πιθανή συσχέτιση της χρήσης αλκοόλ, κινητού, καπνίσματος, του οικογενειακού ιστορικού όγκου εγκεφάλου και σοβαρής ΚΕΚ με το σχηματισμό γλοιώματος. Για τη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό SPSS/PC Version 15.

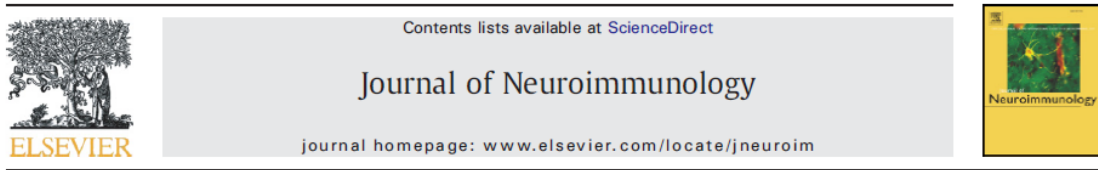
Αποτελέσματα : Συνολικά αναγνωρίστηκαν 56 ασθενείς με γλοιώμα. Ο δείκτης επίπτωσης για γλοιώματα και ειδικότερα γλοιοβλαστώματα $5.73/10^5/\text{χρόνο}$ και $3.7/10^5/\text{χρόνο}$, αντίστοιχα. Παρατηρήθηκε ένα κλάσμα άρρενος προς θήλη ίσο με 1.25 στην ομάδα του γλοιοβλαστώματος. Η επίπτωση του γλοιώματος ήταν τόσο στους άρρενες όσο και στις θήλεις υψηλότερη στην ηλικιακή ομάδα των 60-79. Η πιο συχνή εντόπιση του όγκου ήταν στο μετωπιαίο λοβό. 46,5% των ασθενών κατάγονται από χαμηλή, 25% από μεσαία και 28,5% από υψηλή κοινωνικοοικονομικό τάξη. Δεν παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ χρήσης αλκοόλ, καπνίσματος και ελαφράς ή μέσης χρήσης του κινητού με το σχηματισμό του γλοιώματος. Αντιθέτως, παρατηρείται τάση συσχέτισης του ιστορικού

σοβαρής ΚΕΚ με κάταγμα κρανίου καθώς και ύπαρξης συγγενή πρώτου βαθμού με όγκο εγκεφάλου με τη γένεση του γλοιώματος.

Συμπεράσματα : Ο δείκτης επίπτωσης της μελέτης μας τόσο για το γλοίωμα γενικά όσο και για το γλοιοβλάστωμα ειδικότερα είναι υψηλότερος από τους αντίστοιχους που αναφέρονται στους πληθυσμούς της Ασίας, Ευρώπης και Αμερικής. Περαιτέρω μελέτες είναι αναγκαίες ώστε να διερευνηθεί η πιθανή επίδραση γενετικών και τοπικών παραγόντων στον αυξημένο παρατηρημένο δείκτη επίπτωσης.

3. ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

Σχετικές Δημοσιεύσεις



Frequent abnormalities of the immune system in gliomas and correlation with the WHO grading system of malignancy

K. Gousias ^{a,b,*}, M. Markou ^c, V. Arzoglou ^d, S. Voulgaris ^a, G. Vartholomatos ^e, A. Kostoula ^f, P. Voulgari ^g, K. Polyzoidis ^d, A.P. Kyritsis ^h

Journal of Clinical Neuroscience 17 (2010) 412–413



Letters to the Editor

Comment on “Opportunistic cytomegalovirus infection in a patient receiving temozolomide for treatment of malignant glioma”

Neuro
epidemiology

Neuroepidemiology 2009;33:
DOI: [10.1159/000222090](https://doi.org/10.1159/000222090)

Gousias K, Arzoglou V, Markou M, Voulgaris S, Polyzoidis K, Alamanos Y, Kyritsis A, Opportunistic Microbiological Agents in Glioma Patients, Neuroepidemiology 33(2):179

Σχετικές Ανακοινώσεις σε Συνέδρια



Humoral and Cellular Immunological Profile of Patients with Gliomas

*Gousias K, Markou M, Artzoglou V, Voulgaris S, Polyzoidis K, Voulgari P, Kyritsis A
Dep. of Neurosurgery and Neurology, University Hospital of Ioannina, Greece*

Aim: To investigate the cellular and humoral immunity status of gliomas and their association with the WHO grading system.

Annual Meeting of European Association of Neurosurgical Societies, Groningen 2010



1st International Congress of Clinical Neurology and Epidemiology,
Munich, 27-30 August 2009

“Opportunistic microbiological agents in glioma patients”

Gousias K^{1,2}, Artzoglou V³, Markou M⁴, Voulgaris S¹, Polyzoidis K³, Alamanos Y⁵, Kyritsis A⁶

Αναρτημένες ανακοινώσεις στα Πανελλήνια Συνέδρια Νευροχειρουργικής 2009 και 2010

3. ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

3.1. ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Η συγκέντρωση του υλικού μας έγινε από τους ενήλικους ασθενείς που χειρουργήθηκαν τόσο στη Νευροχειρουργική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων από την 1η Ιουνίου 2005 μέχρι την 31η Ιανουαρίου 2008, όσο και στη Νευροχειρουργική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Θεσσαλονίκης (ΑΧΕΠΑ) από 1^η Φεβρουαρίου 2007 μέχρι 31 Ιανουαρίου 2008, με ιστολογικά επιβεβαιωμένη διάγνωση γλοιώματος. Από την μελέτη αποκλείστηκαν ασθενείς με υποτροπή γλοιώματος, με γνωστή νόσο του ανοσολογικού συστήματος και όσοι λάμβαναν αντιεπιληπτική αγωγή ή κορτιζόνη για πάνω από τρεις ημέρες. Η αιμοληψία, η λήψη του ιστορικού και η νευρολογική εξέταση έγινε προεγχειρητικά. Η κλινική τους παρακολούθηση έγινε με συχνές τηλεφωνικές συνομιλίες.

Όλοι οι ασθενείς πληροφορήθηκαν για το πρωτόκολλο της διδακτορικής διατριβής και συμφώνησαν προφορικά να συμμετέχουν στην μελέτη. Συνολικά συγκεντρώθηκαν 49 ασθενείς που να πληρούν τα κριτήρια εισαγωγής στη μελέτη μας. Για τη μελέτη των υποπληθυσμών λευκοκυττάρων μέσω κυτταρομετρίας ροής συγκεντρώθηκαν 33 ασθενείς.

Σε ότι αφορά την μελέτη των κυτταροκινών και των μικροβιολογικών παραγόντων επιλέχθηκαν 30 μάρτυρες (προσαρμοσμένοι στην αναλογία φύλου και στις ηλικιακές ομάδες των ασθενών) που χειρουργήθηκαν στη Νευροχειρουργική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων λόγω Αυχενικής Σπονδυλικής Στένωσης στο ίδιο χρονικό διάστημα, οι οποίοι δεν εμφάνιζαν ιστορικό εγκεφαλικής παθολογίας, νόσου του ανοσολογικού συστήματος και μακροχρόνια λήψη αντιεπιληπτικών φαρμάκων ή κορτιζόνης.

Για την μελέτη των ανοσφαιρινών, του συμπληρώματος και των ανοσολογικών παραγόντων Rf, ANA, ENA, anti ds-DNA, anti cardiolipin Ab, καθώς και των υποπληθυσμών λευκοκυττάρων χρησιμοποιήθηκαν ως τιμές αναφορές οι αντίστοιχες που δόθηκαν από τα εργαστήρια της Μικροβιολογίας, της Ανοσολογίας και της Αιματολογίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων.

Περίπου 30 ml ορός αίματος λήφθηκε από τους νηστικούς ασθενείς και μάρτυρες προεγχειρητικά σε πρωινές ώρες. Οι υποπληθυσμοί λευκοκυττάρων και ο προσδιορισμός των αντισωμάτων εναντίων των μελετούμενων μικροβιολογικών παραγόντων διενεργήθηκε την ημέρα της αιμοληψίας. Για τις λοιπές παραμέτρους κρατήθηκε κατεψυγμένος ορός αίματος σε θερμοκρασία $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ και ο προσδιορισμός τους διενεργήθηκε με το πέρας της συγκεντρώσεως του υλικού.

Στο υλικό μας συμπεριλήφθηκαν 26 ασθενείς με γλοίωμα WHO grade IV, 7 με WHO grade III και 16 με WHO grade II. 27 ασθενείς ήταν θήλειες και 22 άρρενες. Ο μέσος όρος ηλικίας συνολικά για τους ασθενείς ήταν 55.4 ± 14.2 (20-78), για τους άνδρες 54.6 ± 13.45 (23-75) και για τις γυναίκες 56.8 ± 14.9 (20-78). Ο μέσος όρος της ηλικίας κατά τη διάγνωση ήταν (59.5 ± 12.3) για τα γλοιοβλαστώματα, (53.0 ± 10.2) για τα αναπλαστικά και

(38.7±13.3) για τα μη αναπλαστικά αστροκυτώματα. Χειρουργική εξαίρεση του όγκου διενεργήθηκε σε 41 (83.6%) ασθενείς, ενώ στερεοτακτική βιοψία σε 8 (16.4%).

Προεγχειρητικά, 33 (67.3%) ασθενείς εμφάνισαν Karnofsky score > 80 %. Ιστορικό τουλάχιστον μίας επιληπτικής κρίσης υπήρχε σε 15 (34.6%) των ασθενών. Ο μετωπιαίος λοβός ήταν ο λοβός με την πιο συχνή εντόπιση του όγκου σε 20 (40.8%) ασθενείς. Τα χαρακτηριστικά των ασθενών μας παρουσιάζονται συνοπτικά στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 12).

Πίνακας 12.

Κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών της μελέτης μας

| Χαρακτηριστικά | n | % | ηλικία κατά τη διάγνωση (μ.ο±τ.α) | |
|--------------------|-----------|----|--------------------------------------|------------|
| | Ασθενείς | 49 | (100) | 55.4±14. |
| | Άνδρες | 22 | (44.8) | 54.6±13.45 |
| | Γυναίκες | 27 | (55.2) | 56.8±14.9 |
| WHO grade | II | 16 | 32.9 | 38.7±13.3 |
| | III | 7 | 14.1 | 53.0±10.2 |
| | IV | 26 | 53.0 | 59.5±12.3 |
| Εντόπιση όγκου | Μετωπιαία | 20 | (40.8) | |
| Ιστορικό επιληψίας | ναι | 17 | (34.6) | |
| Karnofsky score | >80% | 33 | (67.3) | |
| Τύπος αφαίρεσης | Ολική ή | | | |
| | Μερική | 41 | (83.6) | |
| | Στ.Βιοψία | 8 | (16.4) | |

3.2. ΜΕΘΟΔΟΙ

3.2.1. ELISA

Η χρήση της Enzyme-linked immunosorbent assay έγινε για τον ποσοτικό προσδιορισμό των IL-2, IL-10, TNF- α , IL-16, granzyme-b, total IgM, IgG, IgA, IgE, CMV IgM και IgG, EBV IgM και IgG, *Toxoplasma gondii* IgM και IgG (Bender MedSystems, Vienna, Austria and IBL, Hamburg, Germany) όπως επίσης και για anti-dsDNA, αντισώματα αντικαρδιολιπίνης και ENA. Οι βασικές αρχές της μεθόδου είναι οι ακόλουθες. Αρχικά γίνεται η απορρόφηση του ειδικού μονοκλωνικού αντισώματος από τις μικροκυψέλες. Το αντιγόνο που παρουσιάζεται στο δείγμα (ορός του αίματος) συνδέεται με το αντίσωμα που είναι προσροφημένο στις μικροκυψελίδες. Το πολυκλωνικό αντίσωμα βιοτίνης συνδέεται με το ανθρώπινο αντιγόνο που είναι συνδεδεμένο με το πρώτο μονοκλωνικό αντίσωμα. Ακολουθεί η σύνδεση της Στρεπταβιδίνης- HRP με το πολυκλωνικό αντίσωμα βιοτίνης. Μετά από επώαση απελευθερώνεται το πολυκλωνικό αντίσωμα βιοτίνης και μετά από πλύση αφαιρείται η στρεπταβιδίνη – HRP. Στη συνέχεια προστίθεται στις κυψέλες ένα διάλυμα με υπόστρωμα που αντιδρά με το HRP. Ένα έγχρωμο προϊόν σχηματίζεται, που είναι ανάλογο με την ποσότητα του διαλυτού αντιγόνου στο δείγμα. Η αντίδραση τερματίζεται με την πρόσθεση ενός οξέος και η απορρόφηση μετράται στα 450 nm ώστε να καθορισθεί η συγκέντρωση του δείγματος.

3.2.2. ΑΚΤΙΝΩΤΗ ΑΝΟΣΟΔΙΑΧΥΣΗ

C₄ και C₃ προσδιορίζονται μέσω ακτινωτής ανοσοδιάχυσης μέσω πλακών ανοσοδιάχυσης NOR PARTIGEN[®] C₃ και C₄ plates (Dade Behring, Marburg, Germany) για τον ορό του αίματος. Οι πλάκες ανοίγονται και παραμένουν σε θερμοκρασία δωματίου για περίπου 5 λεπτά προτού να προσθεθεί το δείγμα. 5 μl του δείγματος διανέμεται στην άδεια κυψέλη μέσω του μικροδιανεμητή. Το δείγμα διαχέεται μέσα σε ζέλη αγαρόζης, η πλάκα κλείνεται με το κάλυμμα και παραμένει σε θερμοκρασία δωματίου (+15-+25 C). Μετά τον απαιτούμενο χρόνο διάχυσης (48 ώρες), μετράται η διάμετρος του δακτυλίου καθίζησης υπό λανθάνον φωτισμό μπροστά από σκοτεινό παρασκήνιο. Η διάμετρος του δακτύλιου της ίζηματίνης είναι ευθέως ανάλογη προς τη συγκέντρωση της αντίστοιχης πρωτεΐνης στο δείγμα. Η μετατροπή στην αντίστοιχη συγκέντρωση πρωτεΐνης γίνεται μέσω ενός πίνακα τιμών αναφοράς.

3.2.3. LATEX TEST

Latex test (RapiTex[®] RF, Siemens) χρησιμοποιήθηκε ως τεστ ταχέως ποιοτικού και ήμιποσοτικού προσδιορισμού του ρευματοειδή παράγοντα στον ανθρώπινο ορό. Μόρια πολυεστερίνης επωασμένα με ανθρώπινη γ σφαιρίνη αναμιγνύονται με το δείγμα του ορού. Σε περίπτωση αυξημένης συγκέντρωσης του ρευματοειδή παράγοντα στον ορό παρατηρείται μια εμφανής συγκόλληση των μορίων.

3.2.4. ΕΜΜΕΣΟΣ ΑΝΟΣΟΦΘΟΡΙΣΜΟΣ

Έμμεσος ανοσοφθορισμός με κύτταρα Hep-2 (FluoroHepana test, MBL) χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση των ANA. Συγκεκριμένα μετά την προετοιμασία των αντιδραστηρίων και του δείγματος τοποθετείται μια σταγόνα (30-40 µl) από κάθε αραιωμένο ορό και από κάθε θετικό και αρνητικό ορό ελέγχου στα βυθίσματα αντιγόνου και ακολούθως σε υγρό θάλαμο. Ακολουθεί επώαση των πλακών σε υγρό θάλαμο επί 20 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Η διαδικασία της πλύσης γίνεται ως εξής : τοποθετούνται το PBS και το δοχείο χρώσης σε ένα δοχείο ζέσης 500 ml. Αφαιρούνται οι πλάκες από τον θάλαμο και γίνεται η πλύση του ορού μέσω πλαστικής φιάλης με PBS. Τοποθετούνται οι πλάκες στο δοχείο χρώσης που πλένεται για 5 λεπτά χρησιμοποιώντας μαγνήτη ανάδευσης. Μετά την πλύση γίνεται η πρόσθεση του συζεύγματος αντισώματος-ισοθειοκυανικής φλουορεσκεΐνης σε κάθε βύθισμα της πλάκας. Επιάζονται οι πλάκες στον υγρό θάλαμο επί 20 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί πλύση, όπως και σε προηγούμενο στάδιο, και στη συνέχεια αφαιρούνται οι πλάκες και τοποθετείται η καλυπτρίδα στη θέση της. Η μικροσκοπική εξέταση γίνεται με μικροσκόπιο φθορισμού σε μεγέθυνση 200X.

Για τον προσδιορισμό δεκατριών αντιπυρηνικών αντισωμάτων στον ορό χρησιμοποιήθηκε **το INNO-LIATM ANA Update (Innogenetics).**

3.2.5 ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ

Οι συχνότητες των λευκοκυτταρικών υποπληθυσμών, T- και B-λεμφοκύτταρα, T – βοηθητικά κύτταρα, T –κυτοτοξικά κύτταρα και NK κύτταρα προσδιορίστηκαν με τη χρήση δύο διαφορετικών fluorochromes. Η ανάλυση των αντιγόνων επιφάνειας μέσω κυτταρομετρίας ροής διενεργήθηκε μέσω της ισοθειοκυανική φλουορεσκεΐνη (FITC), της Ρ-φυκοερυθρίνης (PE), και των αντι ανθρώπινων μονοκλωνικών αντισωμάτων. Το Leucogate simulset CD45-FITC/CD 14-PE (HLe/LeuM3), και ο ισοτυπικός έλεγχος IgG1 FITC/IgG2 PE χρησιμοποιήθηκαν για τον καθορισμό της αυτόματης ανάλυσης και ως αρνητικός μάρτυρας, CD3- FITC /CD16+56- PE simulset (clone SK7; clone B73.1, clone NCAM 16.2), CD4-PE (clone SK3), CD8-PE (clone SK1), CD3-FITC (clone SK7), CD19-PE (clone SJ25C1) (Becton Dickinson Biosciences, San Jose, CA). Τα μονοκλωνικά αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν στην μελέτη μας ήταν τα ίδια και ο κυτταρομετρητής ροής μηδενιζόταν πριν από κάθε μέτρηση. Είκοσι μικρολίτρα από το κατάλληλο μονοκλωνικό αντίσωμα προστίθονται σε 100 mL ολικού αίματος σε σωληνάριο. Ακολουθεί η λεπτομερής ανάμιξη και επώαση για 2 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου σε σκοτεινό δωμάτιο. Δύο ml του διαλυτικού διαλύματος 1X FACS προστίθονται στο σωλήνα. Μετά από επώαση 10 λεπτών στις ίδιες συνθήκες, γίνεται η φυγοκέντρηση των σωλήνων στα 800 g για 10 λεπτά. Στη συνέχεια το υπερκείμενο εκχύλισμα αφαιρείται. Ακολουθεί η έκπλυση των κυττάρων με 1X νατριούχο ορό με φωσφορικά pH 7,5 (PBS) με 0.1% οξέα, και φυγοκεντρείται για 10 λεπτά στους 3000 rpm. Μια δεύτερη πλύση διεξάγεται και μετά την αφαίρεση του υπερκείμενου εκχυλίσματος, προστίθονται 0.5 mL του PBS στο σωλήνα και διενεργείται η ανάλυση του δείγματος. Ο κυτταρομετρητής FACScan cytometer (Becton Dickinson) μαζί με το κατάλληλο λογισμικό (CELL Quest, Becton Dickinson) χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση του πληθυσμού των λεμφοκυττάρων. Η ανάλυση της έντασης της φθορίωσης των

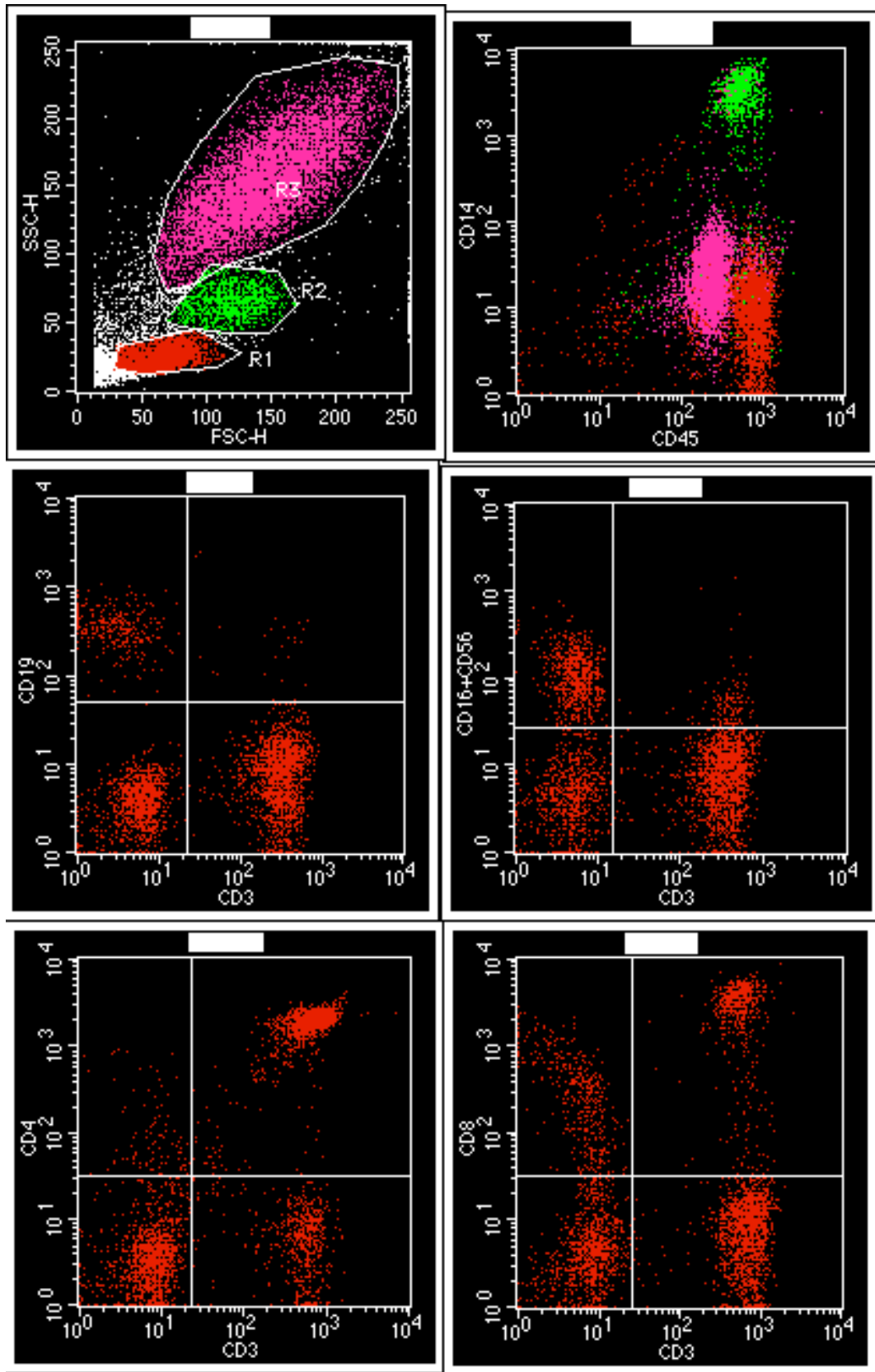
λευκοκυττάρων απεικονίζεται με κυτταρογράμματα (dot plot) και ιστογράμματα. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ποσοστά των θετικών προς το αντίσωμα κυττάρων στον ολικό πληθυσμό, ο οποίος προσδιορίζεται ως ο αριθμός των κυττάρων με συγκεκριμένη φθορίωση που να είναι υψηλότερη από αυτή του ιστοτυπικού ελέγχου και των αυτοφθορικών δειγμάτων (Εικόνα 5 και 6).

Εικόνα 5. Χαρακτηριστικά διαγράμματα των εκφράσεων CD στο περιφερικό αίμα των υποπληθυσμών T- λεμφοκυττάρων (CD3+), B-λεμφοκυττάρων (CD19+), T –βοηθητικών κυττάρων (CD4+), T –κυτοτοξικών κυττάρων (CD8+) και NK κυττάρων (CD16+56 positive) σε ασθενή με 43.6919.12%(CD8+) και κλάσμα $(CD4+)/ (CD8+) = 2.3$.

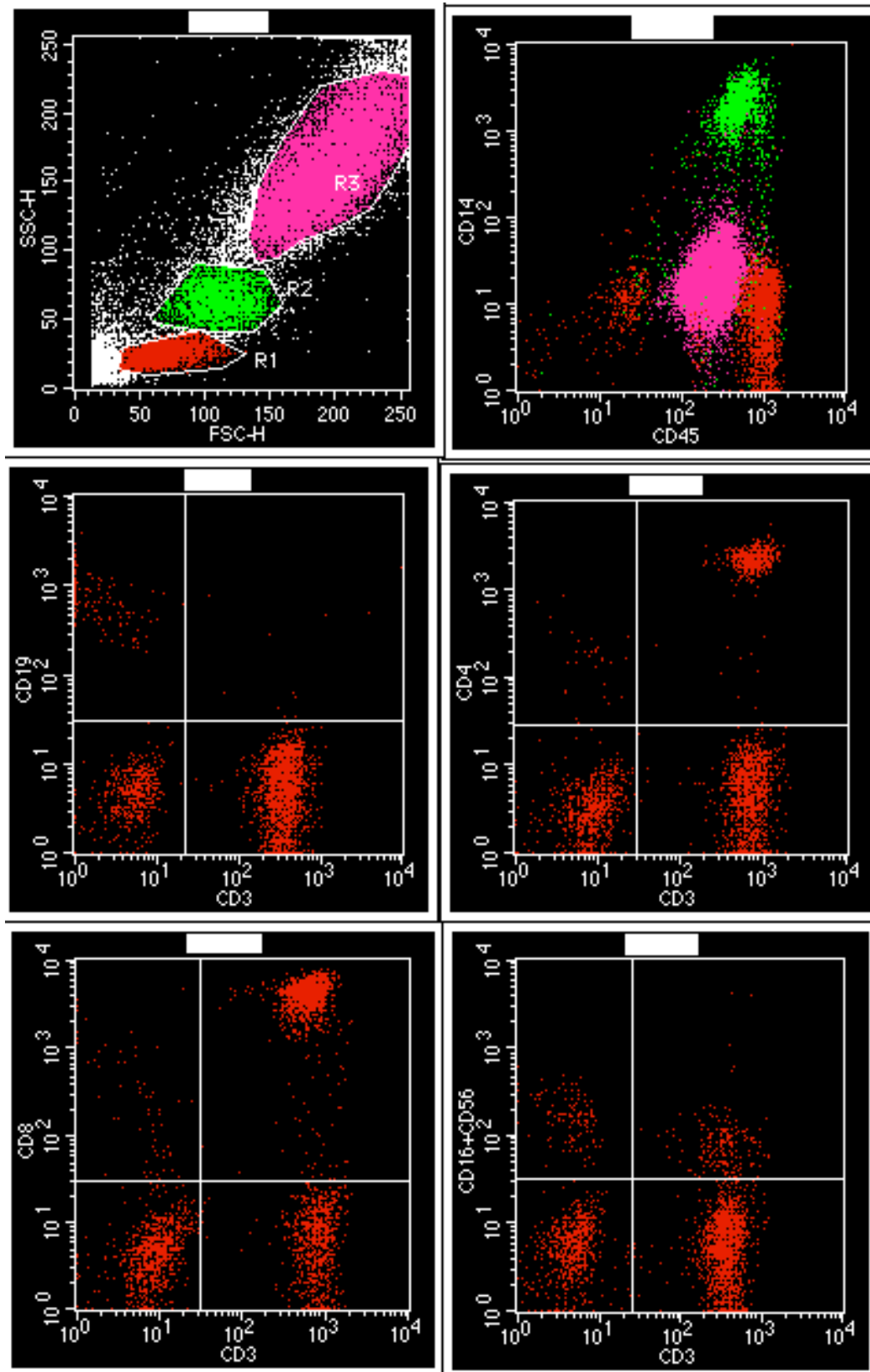
Ο άξονας χ αντιπροσωπεύει την έκφραση και ανοσοφθορισμό των CD3-FITC και ο άξονας γ την έκφραση και ανοσοφθορισμό των CD19, CD4, CD8, CD16+56.

Εικόνα 6. Χαρακτηριστικά διαγράμματα των εκφράσεων CD στο περιφερικό αίμα των υποπληθυσμών T- λεμφοκυττάρων (CD3+), B-λεμφοκυττάρων (CD19+), T –βοηθητικών κυττάρων (CD4+), T –κυτοτοξικών κυττάρων (CD8+) και NK κυττάρων (CD16+56 positive) σε ασθενή με 28.18% (CD4+), 44.59% (CD8+) και κλάσμα $(CD4+)/ (CD8+) = 0.63$.

Ο άξονας χ αντιπροσωπεύει την έκφραση και ανοσοφθορισμό των CD3-FITC και ο άξονας γ την έκφραση και ανοσοφθορισμό των CD19, CD4, CD8, CD16+56.



Εικόνα 5



Εικόνα 6

3.3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Οι διαφορές ανάμεσα στις μεταβλητές έκβασης ανάμεσα σε ασθενείς και μάρτυρες ερευνήθηκαν με τη χρήση του McNemar's test. Οι διαφορές στις συνεχόμενες μεταβλητές έκβασης ανάμεσα σε υψηλής και χαμηλής κακοήθειας γλοιώματα προέκυψαν μετά τη χρήση του Mann Whitney test. Πολυμεταβλητή ανάλυση έλαβε χώρα για να εξετασθεί τυχούσα επίδραση του βαθμού κακοήθειας του γλοιώματος στις συνεχόμενες μεταβλητές έκβασης, προσαρμοσμένες για ηλικία και φύλο. Stepwise Forward logistic regression χρησιμοποιήθηκε για να αναζητηθούν δυνητικοί προγνωστικοί παράγοντες για το grade του όγκου. Spearman rank order correlations και multivariate stepwise linear regression χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση των συσχετίσεων μεταξύ των τιμών των παραμέτρων του ανοσολογικού συστήματος. Σε ότι αφορά στον έλεγχο των πιθανών κλινικών και εργαστηριακών προγνωστικών παραμέτρων σε ασθενείς με γλοιωβλάστωμα, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Kaplan-Meier και Cox Proportional Hazard models backward stepwise procedure. P-values <0.05 θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές. Για τη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα λογισμικά, SPSS 15.0 και 17.0 (Chicago IL).

3.4.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.4.1.ΜΕΤΡΗΣΗ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ

Στη μελέτη που έγινε καταμετρήθηκαν για τους ασθενείς οι ακόλουθες μεταβλητές στον ορό.

granzymeβ,

IL2

IL10

IL16

TNFα

Το δείγμα περιγράφεται από τον πίνακα 14 που ακολουθεί.

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων των κυτταροκινών και του granzymeβ διαφαίνονται στον παρακάτω πίνακα 13

Πίνακας 13.

Αποτελέσματα της μετρήσεως των κυτταροκινών

| No | Ονοματεπώνυμο | Φύλο | GRADE | Ηλικία | granz- b | IL-2 | IL-10 | IL-16 | TNF-a |
|----|---------------|------|-------|--------|-------------|--------|---------|---------|---------|
| 1 | Π.Β | w | 4 | 62 | 0.018 | 9.688 | 0 | 81.394 | 13.74 |
| 2 | Τ.Κ | w | 4 | 40 | 0 | 7.02 | 62.242 | 136.642 | 235.782 |
| 3 | Σ.Π | w | 3 | 48 | 0.12 | 7.228 | 0 | 149.468 | 9.86 |
| 4 | Κ.Χ | m | 2 | 48 | 0.06 | 6.244 | 0 | 146.398 | 9.668 |
| 5 | Μ.Φ | m | 4 | 66 | 0 | 6.816 | 0 | 119.216 | 9.298 |
| 6 | Τ.Θ | w | 4 | 68 | 4 | 7.664 | 0 | 86.526 | 11.084 |
| 7 | Σ.Κ | w | 4 | 43 | 1.728 | 9.782 | 0 | 91.692 | 13.74 |
| 8 | Μ.Ν | m | 4 | 70 | 0.002 | 8.206 | 0 | 165.588 | 17.368 |
| 9 | Γ.Β | w | 4 | 78 | 0 | 7.158 | 0 | 377.712 | 11.084 |
| 10 | Π.Μ | w | 3 | 49 | 0 | 6.952 | 0 | 34.764 | 11.304 |
| 11 | Κ.Μ | w | 3 | 68 | 0 | 6.122 | 0 | 319.778 | 9.86 |
| 12 | Κ.Κ | w | 4 | 75 | 0.008 | 6.064 | 0 | 278.208 | 8.6 |
| 13 | Τ.Α | m | 4 | 52 | 0 | 6.556 | 286.822 | 479.79 | 605.592 |
| 14 | Γ.Α | w | 2 | 73 | 0 | 9.408 | 0 | 31.614 | 12.462 |
| 15 | Τ.Χ | m | 4 | 52 | 0 | 9.976 | 0 | 73.358 | 11.526 |
| 16 | Μ.Σ | m | 2 | 49 | 0 | 6.816 | 0 | 730.688 | 11.754 |
| 17 | Μ.Σ | m | 4 | 75 | 0.012 | 6.884 | 0 | 89.392 | 9.298 |
| 18 | Λ.Β | m | 4 | 53 | 0.14 | 6.75 | 0 | 44.338 | 9.86 |
| 19 | Μ.Σ | w | 4 | 54 | 0 | 6.428 | 0 | 232.042 | 9.298 |
| 20 | Ν.Ε | m | 2 | 53 | 0 | 6.75 | 0 | 663.27 | 9.86 |
| 21 | Κ.Σ | m | 3 | 53 | 0 | 6.209 | 0 | 172.298 | 11.59 |
| 22 | Μ.Α | w | 3 | 52 | 0 | 9.346 | 0 | 181.57 | 12.765 |
| 23 | Σ.Μ | m | 2 | 35 | 0 | 11.378 | 0 | 168.023 | 9.502 |
| 24 | Τ.Ε | w | 2 | 53 | 0 | 7.59 | 411.964 | 787.152 | 5467.9 |
| 25 | Σ.Σ | w | 4 | 60 | 0.322 | 8.786 | 0 | 44.874 | 11.754 |
| 26 | Ν.Α | w | 4 | 60 | 0 | 6.366 | 0 | 27.966 | 9.298 |
| 27 | Τ.Γ | w | 4 | 60 | 0.004 | 7.228 | 0 | 25.898 | 10.252 |
| 28 | Κ.Α | w | 3 | 51 | 0.212 | 8.126 | 0 | 16.23 | 10.66 |
| 29 | Κ.Σ | m | 4 | 58 | 0.06 | 7.74 | 0 | 85.954 | 10.66 |
| 30 | Μ.Γ | m | 4 | 69 | 0 | 8.368 | 0 | 63.988 | 9.668 |
| 31 | Κ.Μ | w | 2 | 73 | 0 | 9.594 | 0 | 56.272 | 10.454 |
| 32 | Τ.Χ | m | 2 | 33 | 0 | 8.206 | 0 | 69.556 | 11.084 |
| 33 | Λ.Α | w | 2 | 44 | 0.746 | 15.63 | 0 | 18.746 | 11.304 |
| 34 | Σ.Α | m | 4 | 65 | 0.008 | 9.782 | 0 | 15.23 | 10.66 |
| 35 | Σ.Α | m | 2 | 33 | 0.092 | 12.732 | 0 | 7.388 | 10.054 |
| 36 | Ι.Ε | w | 2 | 42 | 0 | 9.976 | 0 | 22.304 | 8.942 |
| 37 | Σ.Μ | w | 4 | 54 | 4 | 10.172 | 0 | 18.746 | 10.66 |
| 38 | Λ.Μ | w | 4 | 20 | 0.004 | 10.172 | 0 | 19.758 | 11.084 |
| 39 | Π.Δ | m | 4 | 68 | 0 | 11.662 | 21.856 | 1131.75 | 27.214 |
| 40 | Μ.Γ | m | 4 | 54 | 0 | 8.616 | 85.38 | 538.32 | 219.454 |
| 41 | Κ.Μ | w | 2 | 70 | 0 | 15.478 | 0 | 84.812 | 15.15 |
| 42 | Μ.Χ | w | 2 | 58 | 0.002 | 9.226 | 0 | 40.592 | 12.222 |
| 43 | Κ.Κ | m | 2 | | 0 | 8.96 | 0 | 34.236 | 10.66 |
| 44 | Γ.Ε | w | 4 | 70 | 0 | 9.782 | 0 | 140.288 | 11.754 |
| 45 | Κ.Π | w | 4 | 63 | 0 | 7.74 | 0 | 7.388 | 11.304 |
| 46 | Κ.Κ | m | 4 | 51 | 0 | 9.878 | 0 | 11.272 | 11.084 |
| 47 | Σ.Ε | w | 2 | 22 | 0 | 12.858 | 0 | 115.652 | 10.87 |
| 48 | Γ.Ε | m | 2 | 23 | 0 | 13.766 | 0 | 63.988 | 14.288 |
| 49 | Β.Θ | m | 3 | 65 | 0 | 9.36 | 0 | 190.65 | 12.45 |

Descriptive Statistics

| | N | Range | Minimum | Maximum | Mean | Std. Deviation |
|--------------------|----|----------|---------|----------|-----------|----------------|
| granzyme-b | 49 | 4,000 | ,000 | 4,000 | ,26312 | ,899254 |
| IL-2 | 49 | 9,414 | 6,064 | 15,478 | 8,66224 | 2,211500 |
| IL-10 | 49 | 411,964 | ,000 | 411,964 | 21,17717 | 78,299955 |
| IL-16 | 49 | 1124,364 | 7,388 | 1131,752 | 187,29405 | 252,294703 |
| TNF-a | 49 | 5459,332 | 8,600 | 5467,932 | 169,71576 | 854,300712 |
| Valid N (listwise) | 49 | | | | | |

Πίνακας 14

Επιπλέον καταγράφηκαν και οι τιμές 30 υγιών μαρτύρων που χρησιμοποιήθηκαν ως control. Τα χαρακτηριστικά αυτής της ομάδας παρουσιάζονται στον πίνακα 15.

Descriptive Statistics

| | N | Range | Minimum | Maximum | Mean | Std. Deviation |
|--------------------|----|---------|---------|---------|----------|----------------|
| granzyme-b | 30 | ,092 | ,000 | ,092 | ,00570 | ,018040 |
| IL-2 | 30 | 15,578 | 8,206 | 23,784 | 12,85157 | 3,389071 |
| IL-10 | 30 | ,000 | ,000 | ,000 | ,00000 | ,000000 |
| IL-16 | 30 | 124,500 | 12,748 | 137,248 | 65,08950 | 27,560904 |
| TNF-a | 30 | 8,762 | 9,298 | 18,060 | 12,83014 | 2,182527 |
| Valid N (listwise) | 30 | | | | | |

Πίνακας 15

Πραγματοποιείται σύγκριση των μέσων τιμών ασθενών – μαρτύρων (cases- controls) της ομάδας μεταβλητών (**granzyme b, IL2, IL10, IL16, TNFa**).

Case control συγκρίσεις.

Από τον πίνακα 16 φαίνεται ότι για καμία από τις μεταβλητές που εξετάζονται δεν ισχύει η υπόθεση της κανονικής κατανομής τόσο για τους ασθενείς όσο και για τους μάρτυρες. Επομένως θα πρέπει να διεξαχθούν μη παραμετρικοί έλεγχοι Mann Whitney.

Tests of Normality^b

| case control | | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|--------------|---------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| granzyme-b | case | ,433 | 49 | ,000 | ,320 | 41 | ,000 |
| | control | ,376 | 30 | ,000 | ,354 | 27 | ,000 |
| IL-2 | case | ,125 | 49 | ,104 | ,887 | 41 | ,001 |
| | control | ,175 | 30 | ,034 | ,906 | 27 | ,018 |
| IL-10 | case | ,485 | 49 | ,000 | ,304 | 41 | ,000 |
| IL-16 | case | ,291 | 49 | ,000 | ,691 | 41 | ,000 |
| | control | ,115 | 30 | ,200* | ,973 | 27 | ,675 |
| TNF-a | case | ,469 | 49 | ,000 | ,185 | 41 | ,000 |
| | control | ,138 | 30 | ,199 | ,952 | 27 | ,235 |

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

b. IL-10 is constant when case control = control. It has been omitted.

Πίνακας 16

| | case | control | Total |
|------------|---------|---------|---------|
| | Mean | Mean | Mean |
| granzyme-b | ,263 | ,006 | ,161 |
| IL-2 | 8,662 | 12,852 | 10,362 |
| IL-10 | 21,177 | ,000 | 12,584 |
| IL-16 | 187,294 | 65,090 | 137,704 |
| TNF-a | 169,716 | 12,830 | 106,052 |

Πίνακας 17

Ranks

| | case control | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|------------|--------------|----|-----------|--------------|
| granzyme-b | case | 49 | 37,18 | 1821,824 |
| | control | 30 | 30,43 | 912,90 |
| | Total | 79 | | |
| IL-2 | case | 49 | 24,43 | 1197,07 |
| | control | 30 | 50,48 | 1514,40 |
| | Total | 79 | | |
| IL-10 | case | 49 | 36,71 | 1798,79 |
| | control | 30 | 32,50 | 975,00 |
| | Total | 79 | | |
| IL-16 | case | 49 | 38,22 | 1872,78 |
| | control | 30 | 30,29 | 908,70 |
| | Total | 79 | | |
| TNF-a | case | 49 | 30,76 | 1507,24 |
| | control | 30 | 41,21 | 1236,30 |
| | Total | 79 | | |

Πίνακας 18

Test Statistics^a

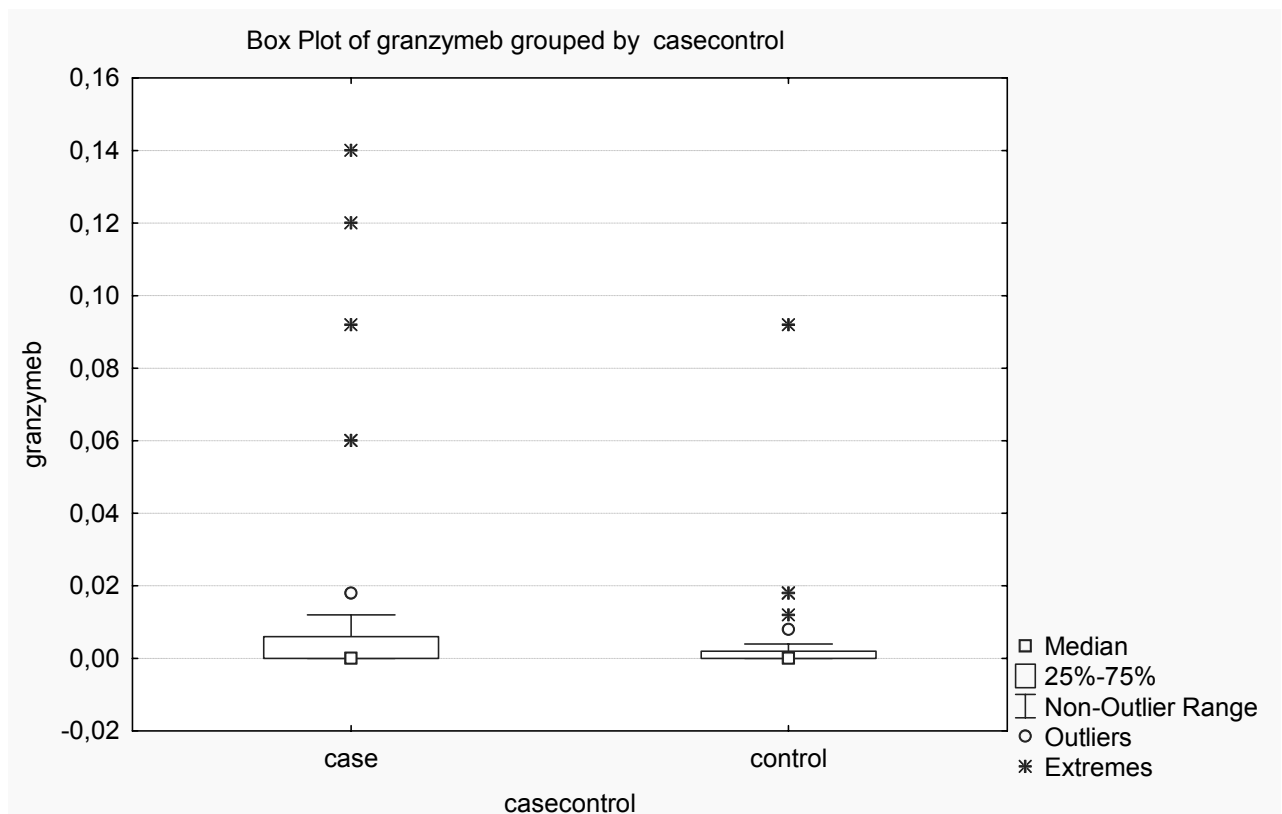
| | granzyme-b | IL-2 | IL-10 | IL-16 | TNF-a |
|------------------------|------------|----------|---------|---------|----------|
| Mann-Whitney U | 443,500 | 140,500 | 504,000 | 442,000 | 400,000 |
| Wilcoxon W | 821,500 | 1001,500 | 910,000 | 848,000 | 1261,000 |
| Z | -1,615 | -5,298 | -1,903 | -1,613 | -2,129 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | ,106 | ,000 | ,057 | ,107 | ,033 |

a. Grouping Variable: case control

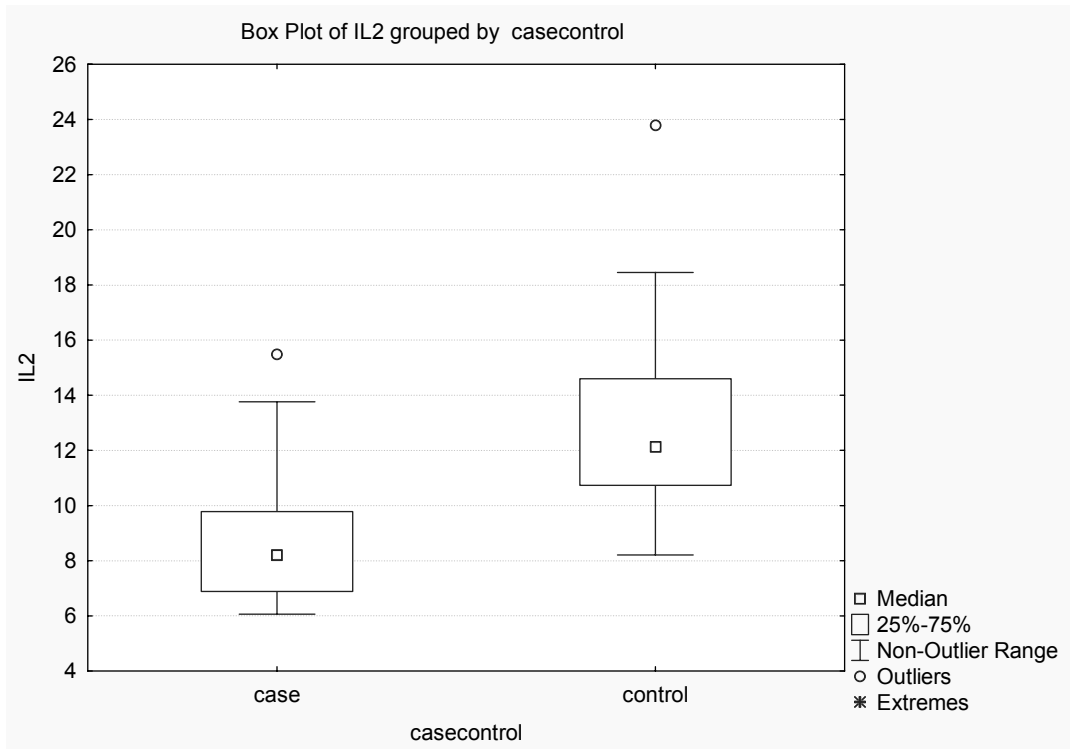
Πίνακας 19

Από τους πίνακες 17, 18 και 19 προκύπτει ότι για τις μεταβλητές **IL2** και **TNF α** εντοπίζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ cases και controls και συγκεκριμένα παρατηρούνται σημαντικά χαμηλότερες τιμές στη μεταβλητή **IL2** για τους ασθενείς σε σχέση με τις τιμές των μαρτύρων και σημαντικά χαμηλότερες τιμές για τη μεταβλητή **TNF α** στους ασθενείς σε σχέση με τους μάρτυρες. Το παρατηρούμενο επίπεδο σημαντικότητας (p-value) είναι 0.000 και 0.033 αντίστοιχα. Πρέπει να σημειωθεί ότι οριακή είναι η σημαντικότητα για την μεταβλητή **IL10** (p=0.057) και ότι η ομάδα control είχε σε όλες τις περιπτώσεις τιμή 0.

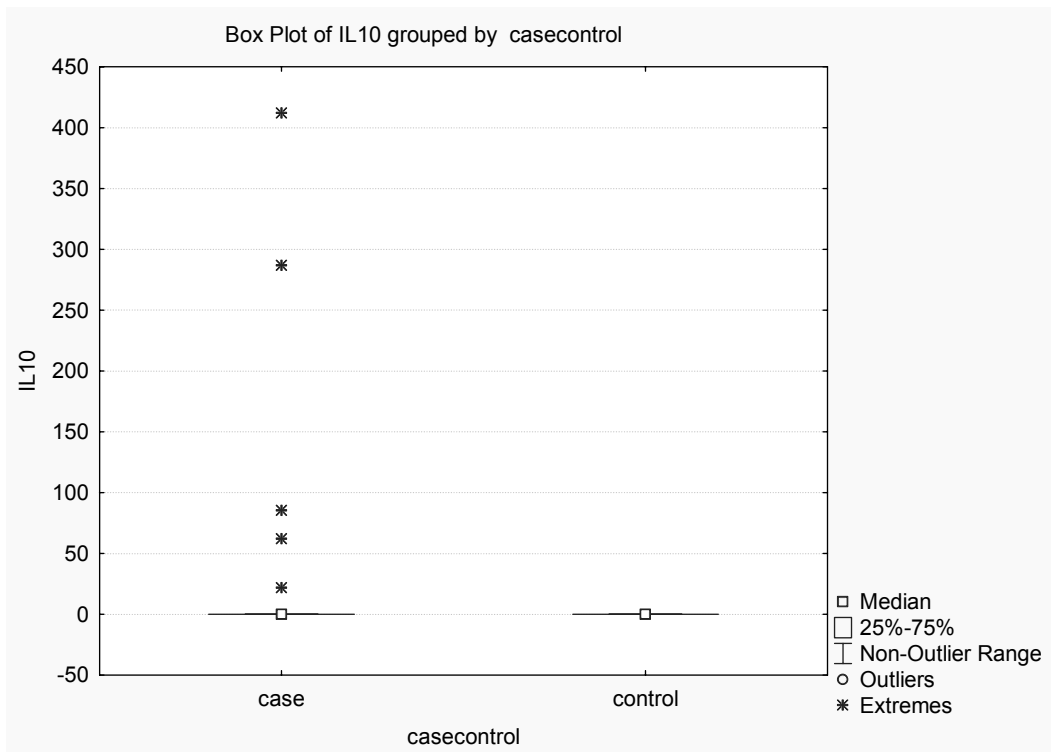
Για τις **granzyme b** και **IL16** δεν εντοπίζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ cases και controls (p=0.106 και 0.107 αντίστοιχα). Τα συμπεράσματα αυτά φαίνονται και στα γραφήματα που ακολουθούν.



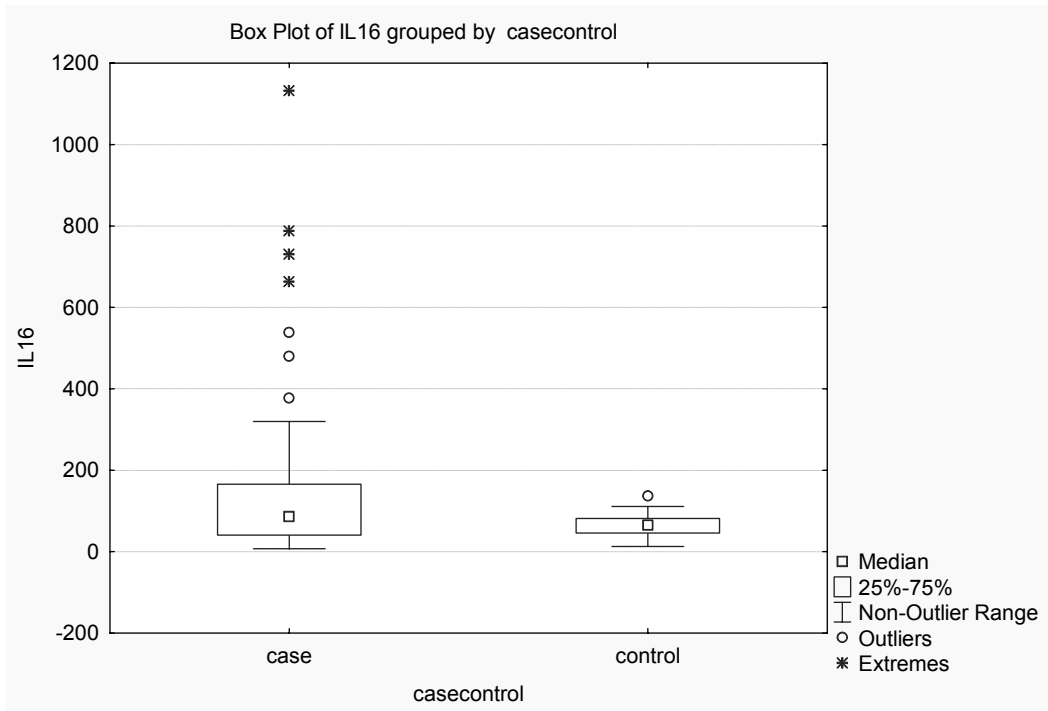
Γράφημα 20



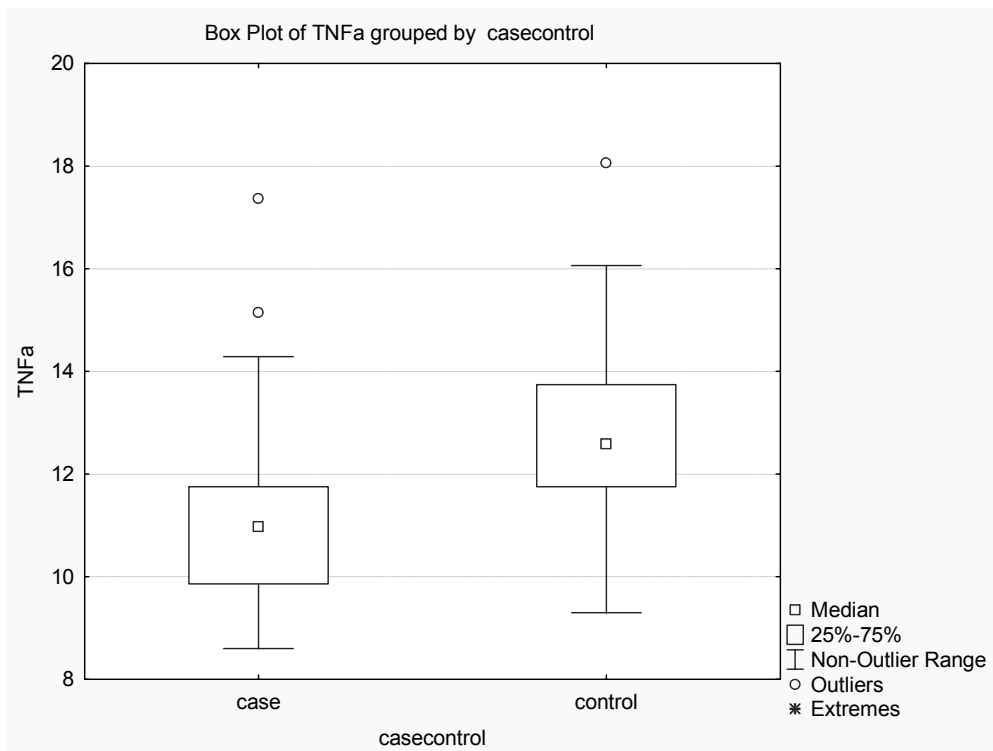
Γράφημα 21



Γράφημα 22



Γράφημα 23



Γράφημα 24

3.4.2. ΜΕΤΡΗΣΗ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΝΟΣΦΑΙΡΙΝΩΝ

Στη μελέτη μας καταμετρήθηκαν για τους ασθενείς οι ακόλουθες παράμετροι στον ορό αίματος.

IgA,

IgG,

IgM,

IgE,

C3,

C4

Το δείγμα περιγράφεται από τον πίνακα 20.

Descriptive Statistics

| | N | Range | Minimum | Maximum | Mean | Std. Deviation |
|--------------------|----|--------|---------|---------|---------|----------------|
| IgA | 49 | 515,9 | 68,1 | 584,0 | 248,139 | 123,5202 |
| IgG | 49 | 1584 | 366 | 1950 | 1054,39 | 326,084 |
| IgM | 49 | 1350,8 | 29,2 | 1380,0 | 172,961 | 205,7245 |
| IgE | 49 | 1286,0 | 4,0 | 1290,0 | 211,011 | 343,7879 |
| C3 | 49 | 191 | 24 | 215 | 130,76 | 47,392 |
| C4 | 49 | 36 | 7 | 43 | 24,02 | 9,642 |
| Valid N (listwise) | 49 | | | | | |

Πίνακας 20

Στη συνέχεια γίνεται σύγκριση των διαμέσων που καταγράφηκαν για τις μεταβλητές **IgA, IgG, IgM, IgE** και των μέσων τιμών για τις **C3, C4**.

Statistics

| | | IgA | IgG | IgM | IgE | C3 | C4 |
|----------------|---------|----------|---------|----------|----------|--------|-------|
| N | Valid | 49 | 49 | 49 | 49 | 49 | 49 |
| | Missing | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Mean | | 248,139 | 1054,39 | 172,961 | 211,011 | 130,76 | 24,02 |
| Median | | 198,000 | 1010,00 | 120,000 | 54,000 | 129,00 | 25,00 |
| Std. Deviation | | 123,5202 | 326,084 | 205,7245 | 343,7879 | 47,392 | 9,642 |
| Range | | 515,9 | 1584 | 1350,8 | 1286,0 | 191 | 36 |
| Minimum | | 68,1 | 366 | 29,2 | 4,0 | 24 | 7 |
| Maximum | | 584,0 | 1950 | 1380,0 | 1290,0 | 215 | 43 |

Πίνακας 21

Από τους ελέγχους κανονικότητας (πίνακας 22) φαίνεται ότι μόνο οι **C3** και **C4** μπορεί να προέρχονται από κανονικούς πληθυσμούς σύμφωνα με τους ελέγχους Shapiro Wilk και Kolmogorov Smirnov. Για τις μεταβλητές αυτές πραγματοποιείται σύγκριση μέσω των τιμών με τη χρήση του One Sample T-test ενώ για τις μεταβλητές που δεν ακολουθούν κανονική κατανομή γίνεται Signtest.

Tests of Normality

| | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|-----|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| IgA | ,170 | 49 | ,004 | ,914 | 49 | ,004 |
| IgG | ,139 | 49 | ,044 | ,964 | 49 | ,216 |
| IgM | ,303 | 49 | ,000 | ,416 | 49 | ,000 |
| IgE | ,319 | 49 | ,000 | ,630 | 49 | ,000 |
| C3 | ,094 | 49 | ,200* | ,973 | 49 | ,426 |
| C4 | ,093 | 49 | ,200* | ,966 | 49 | ,251 |

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Πίνακας 22

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων του συμπληρώματος και των ανοσοσφαιρινών παρουσιάζονται στον πίνακα 23.

Πίνακας 23. Αποτελέσματα των μετρήσεων του συμπληρώματος και των ανοσοσφαιρινών.

| No | Όνομ/μο | Φύλο | GRADE | Ηλικία | IgA | IgG | IgM | IgE | C3 | C4 |
|----|---------|------|-------|--------|-----------------|-------------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|
| | | | | | 82-453 mg/dl | 751-1560 mg/dl | 65-210 g/dl | 0-165 IU/ml | 79-180 mg/dl | 16-39 mg/dl |
| 1 | Π.Β | w | 4 | 62 | 236 | 893 | 134 | 13.5 | 117 | 24 |
| 2 | Τ.Κ | w | 4 | 40 | 121 | 716 | 86.5 | 22.1 | 160 | 25 |
| 3 | Σ.Π | w | 3 | 48 | 287 | 747 | 83.7 | 215 | 215 | 39 |
| 4 | Κ.Χ | m | 2 | 48 | 262 | 837 | 79.8 | 109 | 173 | 43 |
| 5 | Μ.Φ | m | 4 | 66 | 366 | 1180 | 181 | 135 | 79 | 16 |
| 6 | Τ.Θ | w | 4 | 68 | 198 | 366 | 87.2 | <5 | 106 | 31 |
| 7 | Σ.Κ | w | 4 | 43 | 187 | 937 | 118 | 44.2 | 25 | 13 |
| 8 | Μ.Ν | m | 4 | 70 | 163 | 913 | 168 | <5 | <25 | 9 |
| 9 | Γ.Β | w | 4 | 78 | 497 | 1350 | 75.6 | 11.1 | 95 | 24 |
| 10 | Π.Μ | w | 3 | 49 | 448 | 1030 | 211 | 143 | 45 | 10 |
| 11 | Κ.Μ | w | 3 | 68 | 182 | 739 | 110 | 873 | 129 | 21 |
| 12 | Κ.Κ | w | 4 | 75 | 355 | 1310 | 113 | 856 | 135 | 31 |
| 13 | Τ.Α | m | 4 | 52 | 135 | 1060 | 182 | 22.9 | 194 | 42 |
| 14 | Γ.Α | w | 2 | 73 | 237 | 1400 | 183 | 9.86 | 187 | 32 |
| 15 | Τ.Χ | m | 4 | 52 | 101 | 1010 | 29.2 | 16.3 | 180 | 26 |
| 16 | Μ.Σ | m | 2 | 49 | 68.1 | 806 | 105 | 132 | 208 | 39 |
| 17 | Μ.Σ | m | 4 | 75 | 322 | 1700 | 127 | 132 | 123 | 13 |
| 18 | Λ.Β | m | 4 | 53 | 150 | 848 | 111 | 166 | 167 | 30 |
| 19 | Μ.Σ | w | 4 | 54 | 116 | 953 | 105 | 24 | 89 | 10 |
| 20 | Ν.Ε | m | 2 | 53 | 196 | 862 | 70.4 | 75.5 | 194 | 26 |
| 21 | Κ.Σ | m | 3 | 53 | 251 | 999 | 172 | 95 | 126 | 22 |
| 22 | Μ.Α | w | 3 | 52 | 278 | 1054 | 115 | 211 | 124 | 21 |
| 23 | Σ.Μ | m | 2 | 35 | 227 | 1205 | 109 | 126 | 140 | 27 |
| 24 | Τ.Ε | w | 2 | 53 | 438 | 1560 | 358 | 1290 | 79 | 19 |
| 25 | Σ.Σ | w | 4 | 60 | 234 | 1190 | 92.9 | 14.7 | 187 | 13 |
| 26 | Ν.Α | w | 4 | 60 | 353 | 958 | 125 | 13 | 147 | 30 |
| 27 | Τ.Γ | w | 4 | 60 | 157 | 684 | 27.8 | 35 | 69 | 11 |
| 28 | Κ.Α | w | 3 | 51 | 190 | 623 | 91.9 | 11.7 | 95 | 7 |
| 29 | Κ.Σ | m | 4 | 58 | 187 | 928 | 158 | 1200 | 123 | 23 |
| 30 | Μ.Γ | m | 4 | 69 | 466 | 959 | 250 | 123 | 129 | 25 |
| 31 | Κ.Μ | w | 2 | 73 | 170 | 918 | 86.5 | 19 | 135 | 41 |
| 32 | Τ.Χ | m | 2 | 33 | 173 | 1040 | 107 | 977 | 123 | 27 |
| 33 | Λ.Α | w | 2 | 44 | 208 | 1280 | 104 | 12.6 | 95 | 16 |
| 34 | Σ.Α | m | 4 | 65 | 92.6 | 1070 | 1380 | 14 | 79 | 22 |
| 35 | Σ.Α | m | 2 | 33 | 147 | 581 | 120 | 54 | 79 | 12 |
| 36 | Ι.Ε | w | 2 | 42 | 299 | 1240 | 128 | 42.1 | 123 | 31 |
| 37 | Σ.Μ | w | 4 | 54 | 229 | 683 | 94.6 | 13.8 | 123 | 12 |
| 38 | Λ.Μ | w | 4 | 20 | 258 | 853 | 179 | 160 | 106 | 27 |
| 39 | Π.Δ | m | 4 | 68 | 170 | 1650 | 212 | 238 | 154 | 32 |
| 40 | Μ.Γ | m | 4 | 54 | 147 | 1040 | 113 | 485 | 129 | 17 |
| 41 | Κ.Μ | w | 2 | 70 | 229 | 1070 | 80.1 | 12.9 | 123 | 27 |
| 42 | Μ.Χ | w | 2 | 58 | 362 | 1340 | 161 | 32.4 | 160 | 30 |
| 43 | Κ.Κ | m | 2 | | 332 | 1550 | 131 | 229 | 79 | 16 |
| 44 | Γ.Ε | w | 4 | 70 | 584 | 1320 | 364 | 178 | 141 | 30 |
| 45 | Κ.Π | w | 4 | 63 | 294 | 1150 | 146 | 26.5 | 89 | 15 |
| 46 | Κ.Κ | m | 4 | 51 | 170 | 1120 | 205 | 670 | 167 | 19 |
| 47 | Σ.Ε | w | 2 | 22 | 197 | 1950 | 250 | <5 | 154 | 21 |
| 48 | Γ.Ε | m | 2 | 23 | 456 | 1570 | 157 | 106 | 194 | 32 |
| 49 | Β.Θ | m | 3 | 65 | 269 | 1067 | 172 | 175 | 124 | 21 |

C3

One-Sample Statistics

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|----|----|--------|----------------|-----------------|
| C3 | 49 | 130,76 | 47,392 | 7,401 |

Πίνακας 24

One-Sample Test

| | Test Value = 129.5 | | | | | |
|----|--------------------|----|-----------------|-----------------|---|-------|
| | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | 95% Confidence Interval of the Difference | |
| | | | | | Lower | Upper |
| C3 | ,170 | 49 | ,866 | 1,256 | -13,70 | 16,21 |

Πίνακας 25

Από τον έλεγχο One sample T- test προκύπτει ότι **δεν υπάρχει** στατιστικά σημαντική διαφορά στη μέση τιμή του C3 του δείγματος (130,76) και τη μέση τιμή του πληθυσμού 129.5 ($p=0.866$, πίνακας 25).

C4

One-Sample Statistics

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|----|----|-------|----------------|-----------------|
| C4 | 49 | 24,02 | 9,642 | 1,506 |

Πίνακας 26

One-Sample Test

| | Test Value = 27.5 | | | | | |
|----|-------------------|----|-----------------|-----------------|---|-------|
| | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | 95% Confidence Interval of the Difference | |
| | | | | | Lower | Upper |
| C4 | -2,308 | 49 | ,026 | -3,476 | -6,52 | -,43 |

Πίνακας 27

Από τον έλεγχο One sample T- test προκύπτει ότι **υπάρχει** στατιστικά σημαντική διαφορά στη μέση τιμή του C4 του δείγματος (24.02) που είναι σημαντικά μικρότερη από τη μέση τιμή του πληθυσμού 27.5 ($p=0.026$, πίνακας 27).

IgA

Signtest IgA = 267.5

Sign test

| sign | observed | expected |
|----------|----------|----------|
| positive | 17 | 24.5 |
| negative | 32 | 24.5 |
| zero | 0 | 0 |
| all | 49 | 49 |

One-sided tests:

Ho: median of IgA - 267.5 = 0 vs.

Ha: median of IgA - 267.5 > 0

Pr(#positive >= 17) =

$$\text{Binomial}(n = 49, x \geq 17, p = 0.5) = 0.9942$$

Ho: median of IgA - 267.5 = 0 vs.

Ha: median of IgA - 267.5 < 0

$$\text{Pr}(\#\text{negative} \geq 32) =$$

$$\text{Binomial}(n = 49, x \geq 32, p = 0.5) = 0.0138$$

Two-sided test:

Ho: median of IgA - 267.5 = 0 vs.

Ha: median of IgA - 267.5 \neq 0

$$\text{Pr}(\#\text{positive} \geq 32 \text{ or } \#\text{negative} \geq 32) =$$

$$\min(1, 2 * \text{Binomial}(n = 49, x \geq 32, p = 0.5)) = 0.0275$$

Από το Signtest προκύπτει ότι **υπάρχει** στατιστικά σημαντική διαφορά στη διάμεσο του **IgA** του δείγματος, που είναι σύμφωνα με τον πίνακα 21 ίση με 198, και είναι σημαντικά μικρότερη από τη διάμεσο του πληθυσμού 267.5 ($p=0.0275$).

IgG

Signtest IgG = 1155.5

Sign test

| sign | observed | expected |
|----------|----------|----------|
| positive | 16 | 24.5 |
| negative | 33 | 24.5 |
| zero | 0 | 0 |
| all | 49 | 49 |

One-sided tests:

Ho: median of IgG - 1155.5 = 0 vs.

Ha: median of IgG - 1155.5 > 0

$\Pr(\#positive \geq 16) =$

$$\text{Binomial}(n = 49, x \geq 16, p = 0.5) = 0.9978$$

Ho: median of IgG - 1155.5 = 0 vs.

Ha: median of IgG - 1155.5 < 0

$\Pr(\#negative \geq 33) =$

$$\text{Binomial}(n = 49, x \geq 33, p = 0.5) = 0.0058$$

Two-sided test:

Ho: median of IgG - 1155.5 = 0 vs.

Ha: median of IgG - 1155.5 \neq 0

$\Pr(\#positive \geq 33 \text{ or } \#negative \geq 33) =$

$$\min(1, 2 * \text{Binomial}(n = 49, x \geq 33, p = 0.5)) = 0.0115$$

Από το Signtest προκύπτει ότι **υπάρχει** στατιστικά σημαντική διαφορά στη διάμεσο του **IgG** του δείγματος, που είναι σύμφωνα με τον πίνακα 21 ίση με 1010, και είναι σημαντικά μικρότερη από τη διάμεσο του πληθυσμού 1155.5 ($p=0.0115$).

Signtest IgM =137.5

Sign test

| sign | observed | expected |
|----------|----------|----------|
| positive | 19 | 24.5 |
| negative | 30 | 24.5 |
| zero | 0 | 0 |
| all | 49 | 49 |

One-sided tests:

Ho: median of IgM - 137.5 = 0 vs.

Ha: median of IgM - 137.5 > 0

Pr(#positive >= 19) =

Binomial(n = 49, x >= 19, p = 0.5) = 0.9638

Ho: median of IgM - 137.5 = 0 vs.

Ha: median of IgM - 137.5 < 0

Pr(#negative >= 30) =

Binomial(n = 49, x >= 30, p = 0.5) = 0.0676

Two-sided test:

Ho: median of IgM - 137.5 = 0 vs.

Ha: median of IgM - 137.5 != 0

Pr(#positive >= 30 or #negative >= 30) =

min(1, 2*Binomial(n = 49, x >= 30, p = 0.5)) = 0.1352

Από το Signtest προκύπτει ότι **δεν υπάρχει** στατιστικά σημαντική διαφορά στη διάμεσο του **IgM** του δείγματος, που είναι ίση με 120, από τη διάμεσο του πληθυσμού που είναι 137.5 (p=0.1352).

IgE

Signtest IgE = 82.5

Sign test

| sign | observed | expected |
|----------|----------|----------|
| positive | 23 | 24.5 |
| negative | 26 | 24.5 |
| zero | 0 | 0 |
| all | 49 | 49 |

One-sided tests:

Ho: median of IgE - 82.5 = 0 vs.

Ha: median of IgE - 82.5 > 0

$\Pr(\#\text{positive} \geq 23) =$

$$\text{Binomial}(n = 49, x \geq 23, p = 0.5) = 0.7336$$

Ho: median of IgE - 82.5 = 0 vs.

Ha: median of IgE - 82.5 < 0

$\Pr(\#\text{negative} \geq 26) =$

$$\text{Binomial}(n = 49, x \geq 26, p = 0.5) = 0.3776$$

Two-sided test:

Ho: median of IgE - 82.5 = 0 vs.

Ha: median of IgE - 82.5 \neq 0

$\Pr(\#\text{positive} \geq 26 \text{ or } \#\text{negative} \geq 26) =$

$$\min(1, 2 * \text{Binomial}(n = 49, x \geq 26, p = 0.5)) = 0.7552$$

Από το Signtest προκύπτει ότι **δεν υπάρχει** στατιστικά σημαντική διαφορά στη διάμεσο του **IgE** του δείγματος, που είναι σύμφωνα με τον πίνακα 21 ίση με 54, από τη διάμεσο του πληθυσμού 82.5 ($p=0.7552$).

3.4.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑΣ ΡΟΗΣ

Καταμετρήθηκαν οι τιμές στον ορό αίματος των ασθενών για τις παρακάτω παραμέτρους

CD3,

CD4,

CD8,

CD4/CD8,

CD19,

LYMPHOCYTES ΚΑΙ

NK.

Στη συνέχεια γίνεται σύγκριση των διαμέσων για τις παραπάνω μεταβλητές:

Statistics

| | | CD3 (1000-2500) | CD4 (500-1500) | CD8 (200-1000) | CD4/CD8 (1.2-2.6) | CD19 (100-500) | Lymphocytes (1000-3500) | total NK (60-600) |
|----------------|---------|--------------------|-------------------|-------------------|----------------------|-------------------|----------------------------|----------------------|
| N | Valid | 33 | 33 | 33 | 33 | 33 | 49 | 33 |
| | Missing | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 0 | 16 |
| Mean | | 1059.8788 | 610.4242 | 404.0000 | 1.7067 | 245.9394 | 1469.1250 | 263.8939 |
| Median | | 828.0000 | 433.0000 | 349.0000 | 1.3600 | 195.0000 | 1287.5000 | 177.0000 |
| Std. Deviation | | 687.72886 | 503.28757 | 239.73449 | 1.45997 | 158.16624 | 849.77283 | 289.16787 |
| Range | | 3163.00 | 2100.00 | 1120.00 | 8.05 | 678.00 | 3670.00 | 1638.00 |
| Minimum | | 233.00 | 88.00 | 66.00 | .45 | 58.00 | 420.00 | 38.00 |
| Maximum | | 3396.00 | 2188.00 | 1186.00 | 8.50 | 736.00 | 4090.00 | 1676.00 |

Πίνακας 28

Από τους ελέγχους κανονικότητας (πίνακας 29) φαίνεται ότι καμία από τις μεταβλητές δε μπορεί να προέρχεται από κανονικό πληθυσμό σύμφωνα με τους ελέγχους Shapiro Wilk και Kolmogorov Smirnov. Πραγματοποιείται επομένως σύγκριση διαμέσων με τη χρήση του Signtest.

Tests of Normality

| | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|----------------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| CD3 (1000-2500) | .193 | 32 | .004 | .853 | 32 | .000 |
| CD4 (500-1500) | .215 | 32 | .001 | .775 | 32 | .000 |
| CD8 (200-1000) | .101 | 32 | .200* | .927 | 32 | .031 |
| CD4/CD8 (1.2-2.6) | .246 | 32 | .000 | .648 | 32 | .000 |
| CD19 (100-500) | .156 | 32 | .047 | .891 | 32 | .004 |
| Lymphocytes (1000-3500) | .155 | 32 | .049 | .902 | 32 | .007 |
| total NK (60-600) | .262 | 32 | .000 | .566 | 32 | .000 |
| IgM | .131 | 32 | .174 | .876 | 32 | .002 |

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Πίνακας 29

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων των υποπληθυσμών των λευκοκυττάρων μέσω κυτταρομετρίας ροής παρουσιάζονται στον πίνακα 30.

Πίνακας 30

Αποτελέσματα κυτταρομετρίας ροής

| No | Name | sex | GRADE | Age | Lymphocytes (1000-3500) | CD3% (50-89%) | CD3 (1000-2500) | CD4% (24-67%) | CD4 (500-1500) | CD8% (9-54%) | CD8 (200-1000) | CD4/CD8 (1.2-2.6) | CD19 (100-500) | total NK (60-600) |
|----|------|-----|-------|-----|----------------------------|------------------|--------------------|------------------|-------------------|-----------------|-------------------|----------------------|-------------------|----------------------|
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | Π.Β | w | 4 | 62 | 1340 | 80 | 1072 | 32 | 428 | 48 | 643 | 0.67 | 214 | 314 |
| 2 | Τ.Κ | w | 4 | 40 | 1275 | 64 | 816 | 34 | 433 | 38 | 485 | 0.89 | 280 | 138 |
| 3 | Σ.Π | w | 3 | 48 | 736 | 72 | 530 | 49 | 360 | 36 | 265 | 1.36 | 110 | 247 |
| 4 | Τ.Θ | w | 4 | 68 | 904 | 70 | 632 | 34 | 307 | 35 | 316 | 0.97 | 90 | 280 |
| 5 | M.N | m | 4 | 70 | 580 | 61 | 353 | 22 | 128 | 32 | 186 | 0.68 | 58 | 413 |
| 6 | Γ.Β | w | 4 | 78 | 440 | 53 | 233 | 40 | 176 | 15 | 66 | 2.67 | 101 | 197 |
| 7 | Τ.Α | m | 4 | 52 | 1376 | 66.1 | 909 | 42.2 | 580 | 12 | 165 | 3.51 | 275 | 444 |
| 8 | Γ.Α | w | 2 | 73 | 1800 | 92 | 1656 | 61 | 1098 | 35 | 630 | 1.74 | 126 | 712 |
| 9 | Τ.Χ | m | 4 | 52 | 1210 | 71 | 859 | 23 | 278 | 33 | 399 | 0.69 | 109 | 524 |
| 10 | M.Σ | m | 2 | 49 | 4090 | 83 | 3396 | 50 | 2045 | 29 | 1186 | 1.72 | 736 | 1776 |
| 11 | M.Σ | m | 4 | 75 | 1630 | 55 | 896 | 18 | 293 | 38 | 619 | 0.47 | 440 | 247 |
| 12 | M.Σ | w | 4 | 54 | 1300 | 54.2 | 704 | 35 | 455 | 32 | 416 | 1.08 | 195 | 412 |
| 13 | N.E | m | 2 | 53 | 1550 | 68.1 | 1055 | 42 | 651 | 12 | 186 | 3.5 | 310 | 317 |
| 14 | Τ.Ε | w | 2 | 53 | 1780 | 66.5 | 1183 | 43 | 765 | 18 | 320 | 2.38 | 534 | 242 |
| 15 | Σ.Σ | w | 4 | 60 | 2220 | 79.1 | 1756 | 42.6 | 945 | 24.2 | 537 | 1.76 | 421 | 277 |
| 16 | N.A | w | 4 | 60 | 1860 | 79.5 | 1478 | 48.7 | 906 | 30.8 | 573 | 1.58 | 353 | 249 |
| 17 | K.A | w | 3 | 51 | 1020 | 71.9 | 733 | 27.5 | 280 | 34.2 | 349 | 0.8 | 249 | 304 |
| 18 | K.Σ | m | 4 | 58 | 1650 | 49 | 808 | 29.2 | 482 | 20.2 | 333 | 1.44 | 289 | 512 |
| 19 | M.Γ | m | 4 | 69 | 3100 | 81.9 | 2538 | 70.6 | 2188 | 8.3 | 257 | 8.5 | 430 | 255 |
| 20 | K.M | w | 2 | 73 | 1050 | 72 | 756 | 45.2 | 475 | 14.7 | 154 | 3.07 | 210 | 194.5 |
| 21 | Σ.Α | m | 2 | 33 | 900 | 55.2 | 496 | 28.1 | 253 | 21.7 | 195 | 1.39 | 130 | 252 |
| 22 | Σ.Μ | w | 4 | 54 | 700 | 76.8 | 537 | 52.6 | 368 | 24.2 | 169 | 2.17 | 119 | 210 |
| 23 | Λ.Μ | w | 4 | 20 | 860 | 69.55 | 598 | 33.3 | 286 | 29.2 | 251 | 1.14 | 120 | 272 |
| 24 | Π.Δ | m | 4 | 68 | 1800 | 75.3 | 1355 | 42.7 | 768 | 28.2 | 508 | 1.51 | 346 | 197 |
| 25 | M.Γ | m | 4 | 54 | 1800 | 42.9 | 772 | 22.2 | 399 | 16.3 | 293 | 1.35 | 389 | 730 |
| 26 | K.M | w | 2 | 70 | 1971 | | 1267 | 41.9 | 825 | 37.8 | 745 | 1.1 | 115 | 336 |
| 27 | M.X | w | 2 | 58 | 3100 | 74 | 2300 | 51.3 | 1581 | 25.1 | 778 | 2.04 | 482 | 448 |
| 28 | Γ.Ε | w | 4 | 70 | 482 | 67.4 | 325 | 42.9 | 178 | 26 | 108 | 1.65 | 107 | 165 |
| 29 | K.Π | w | 4 | 63 | 935 | 76.1 | 712 | 31.7 | 294 | 46.2 | 432 | 0.68 | 137 | 282 |
| 30 | K.K | m | 4 | 51 | 1200 | 69 | 828 | 32 | 384 | 34 | 408 | 0.94 | 186 | 244 |
| 31 | Σ.Ε | w | 2 | 22 | 1698 | 74.9 | 1273 | 40.3 | 513 | 36.3 | 462 | 1.1 | 194 | 323 |
| 32 | Γ.Ε | m | 2 | 23 | 2558 | 69.1 | 1768 | 36.5 | 934 | 27.5 | 704 | 1.32 | 184 | 261 |
| 33 | B.Θ | m | 3 | 65 | 420 | 90.5 | 382 | 20.9 | 88 | 46.3 | 194 | 0.45 | 77 | 234 |

Sign test Lymphocytes = 2250

Sign test

| sign | observed | expected |
|----------|----------|----------|
| positive | 9 | 24.5 |
| negative | 40 | 24.5 |
| zero | 0 | 0 |
| all | 49 | 49 |

One-sided tests:

Ho: median of Lymphocytes - 2250 = 0 vs.

Ha: median of Lymphocytes - 2250 > 0

Pr(#positive >= 9) =

Binomial(n = 49, x >= 9, p = 0.5) = 1.0000

Ho: median of Lymphocytes - 2250 = 0 vs.

Ha: median of Lymphocytes - 2250 < 0

Pr(#negative >= 40) =

Binomial(n = 49, x >= 40, p = 0.5) = 0.0000

Two-sided test:

Ho: median of Lymphocytes - 2250 = 0 vs.

Ha: median of Lymphocytes - 2250 != 0

Pr(#positive >= 40 or #negative >= 40) =

min(1, 2*Binomial(n = 49, x >= 40, p = 0.5)) = 0.0000

Από το Signtest προκύπτει ότι **υπάρχει** στατιστικά σημαντική διαφορά στη διάμεσο του **Lymphocytes** του δείγματος, που είναι σύμφωνα με τον πίνακα 28 ίση με 1287.5, από τη διάμεσο του πληθυσμού που είναι 2250 ($p < 0.0001$).

Signtest CD3 = 1750

Sign test

| sign | observed | expected |
|----------|----------|----------|
| positive | 5 | 16.5 |
| negative | 28 | 16.5 |
| zero | 0 | 0 |
| all | 33 | 33 |

One-sided tests:

Ho: median of CD3 - 1750 = 0 vs.

Ha: median of CD3 - 1750 > 0

$\Pr(\#positive \geq 5) =$

$\text{Binomial}(n = 33, x \geq 5, p = 0.5) = 1.0000$

Ho: median of CD3 - 1750 = 0 vs.

Ha: median of CD3 - 1750 < 0

$\Pr(\#negative \geq 28) =$

$$\text{Binomial}(n = 33, x \geq 28, p = 0.5) = 0.0000$$

Two-sided test:

Ho: median of CD3 - 1750 = 0 vs.

Ha: median of CD3 - 1750 \neq 0

$$\text{Pr}(\#\text{positive} \geq 28 \text{ or } \#\text{negative} \geq 28) =$$

$$\min(1, 2 * \text{Binomial}(n = 33, x \geq 28, p = 0.5)) = 0.0001$$

Από το Signtest προκύπτει ότι **υπάρχει** στατιστικά σημαντική διαφορά στη διάμεσο του **CD3** του δείγματος, που είναι σύμφωνα με τον πίνακα 28 ίση με 828, και είναι μικρότερη από τη διάμεσο του πληθυσμού που είναι 1750 ($p=0.0001$).

Signtest CD4 = 1000

Sign test

| sign | observed | expected |
|----------|----------|----------|
| positive | 4 | 16.5 |
| negative | 29 | 16.5 |
| zero | 0 | 0 |
| all | 33 | 33 |

One-sided tests:

Ho: median of CD4 - 1000 = 0 vs.

Ha: median of CD4 - 1000 $>$ 0

$$\text{Pr}(\#\text{positive} \geq 4) =$$

$$\text{Binomial}(n = 33, x \geq 4, p = 0.5) = 1.0000$$

Ho: median of CD4 - 1000 = 0 vs.

Ha: median of CD4 - 1000 < 0

Pr(#negative >= 29) =

$$\text{Binomial}(n = 33, x \geq 29, p = 0.5) = 0.0000$$

Two-sided test:

Ho: median of CD4 - 1000 = 0 vs.

Ha: median of CD4 - 1000 != 0

Pr(#positive >= 29 or #negative >= 29) =

$$\min(1, 2 * \text{Binomial}(n = 33, x \geq 29, p = 0.5)) = 0.0000$$

Από το Signtest προκύπτει ότι **υπάρχει** στατιστικά σημαντική διαφορά στη διάμεσο του **CD4** του δείγματος, που είναι σύμφωνα με τον πίνακα 28 ίση με 433, και είναι μικρότερη από τη διάμεσο του πληθυσμού που είναι 1000 ($p < 0.0001$).

Signtest CD8 = 625

Sign test

| sign | observed | expected |
|----------|----------|----------|
| positive | 7 | 16.5 |
| negative | 26 | 16.5 |
| zero | 0 | 0 |
| all | 33 | 33 |

One-sided tests:

Ho: median of CD8 - 625 = 0 vs.

Ha: median of CD8 - 625 > 0

$$\Pr(\#positive \geq 7) = \\ \text{Binomial}(n = 33, x \geq 7, p = 0.5) = 0.9998$$

Ho: median of CD8 - 625 = 0 vs.

Ha: median of CD8 - 625 < 0

$$\Pr(\#negative \geq 26) = \\ \text{Binomial}(n = 33, x \geq 26, p = 0.5) = 0.0007$$

Two-sided test:

Ho: median of CD8 - 625 = 0 vs.

Ha: median of CD8 - 625 \neq 0

$$\Pr(\#positive \geq 26 \text{ or } \#negative \geq 26) = \\ \min(1, 2 * \text{Binomial}(n = 33, x \geq 26, p = 0.5)) = 0.0013$$

Από το Signtest προκύπτει ότι **υπάρχει** στατιστικά σημαντική διαφορά στη διάμεσο του **CD8** του δείγματος, που είναι σύμφωνα με τον πίνακα 28 ίση με 349, και είναι μικρότερη από τη διάμεσο του πληθυσμού που είναι 625 ($p=0.0013$).

Signtest CD4_CD8 = 1.9

Sign test

| sign | observed | expected |
|-------------|----------|----------|
| -----+----- | | |
| positive | 8 | 16.5 |
| negative | 25 | 16.5 |
| zero | 0 | 0 |
| -----+----- | | |
| all | 33 | 33 |

One-sided tests:

Ho: median of CD4_CD8 - 1.9 = 0 vs.

Ha: median of CD4_CD8 - 1.9 > 0

Pr(#positive >= 8) =

$$\text{Binomial}(n = 33, x \geq 8, p = 0.5) = 0.9993$$

Ho: median of CD4_CD8 - 1.9 = 0 vs.

Ha: median of CD4_CD8 - 1.9 < 0

Pr(#negative >= 25) =

$$\text{Binomial}(n = 33, x \geq 25, p = 0.5) = 0.0023$$

Two-sided test:

Ho: median of CD4_CD8 - 1.9 = 0 vs.

Ha: median of CD4_CD8 - 1.9 != 0

Pr(#positive >= 25 or #negative >= 25) =

$$\min(1, 2 * \text{Binomial}(n = 33, x \geq 25, p = 0.5)) = 0.0046$$

Από το Signtest προκύπτει ότι **υπάρχει** στατιστικά σημαντική διαφορά στη διάμεσο του **CD4_CD8** του δείγματος, που είναι σύμφωνα με τον πίνακα 28 ίση με 1.36, και είναι μικρότερη από τη διάμεσο του πληθυσμού που είναι 1.9 ($p=0.0046$).

Signtest CD19 = 300

Sign test

| sign | observed | expected |
|----------|----------|----------|
| positive | 10 | 16.5 |
| negative | 23 | 16.5 |
| zero | 0 | 0 |

-----+-----
 all | 33 33

One-sided tests:

Ho: median of CD19 - 300 = 0 vs.

Ha: median of CD19 - 300 > 0

Pr(#positive >= 10) =

$$\text{Binomial}(n = 33, x \geq 10, p = 0.5) = 0.9932$$

Ho: median of CD19 - 300 = 0 vs.

Ha: median of CD19 - 300 < 0

Pr(#negative >= 23) =

$$\text{Binomial}(n = 33, x \geq 23, p = 0.5) = 0.0175$$

Two-sided test:

Ho: median of CD19 - 300 = 0 vs.

Ha: median of CD19 - 300 != 0

Pr(#positive >= 23 or #negative >= 23) =

$$\min(1, 2 * \text{Binomial}(n = 33, x \geq 23, p = 0.5)) = 0.0351$$

Από το Signtest προκύπτει ότι **υπάρχει** στατιστικά σημαντική διαφορά στη διάμεσο του **CD19** του δείγματος, που είναι σύμφωνα με τον πίνακα 28 ίση με 195, και είναι μικρότερη από τη διάμεσο του πληθυσμού που είναι 300 ($p=0.0351$).

Signtest NK = 330

Sign test

sign | observed expected
 -----+-----

| | | |
|-------------|----|------|
| positive | 7 | 16.5 |
| negative | 26 | 16.5 |
| zero | 0 | 0 |
| -----+----- | | |
| all | 33 | 33 |

One-sided tests:

Ho: median of NK - 330 = 0 vs.

Ha: median of NK - 330 > 0

$\Pr(\#positive \geq 7) =$

$$\text{Binomial}(n = 33, x \geq 7, p = 0.5) = 0.9998$$

Ho: median of NK - 330 = 0 vs.

Ha: median of NK - 330 < 0

$\Pr(\#negative \geq 26) =$

$$\text{Binomial}(n = 33, x \geq 26, p = 0.5) = 0.0007$$

Two-sided test:

Ho: median of NK - 330 = 0 vs.

Ha: median of NK - 330 \neq 0

$\Pr(\#positive \geq 26 \text{ or } \#negative \geq 26) =$

$$\min(1, 2 * \text{Binomial}(n = 33, x \geq 26, p = 0.5)) = 0.0013$$

Από το Signtest προκύπτει ότι **δεν υπάρχει** στατιστικά σημαντική διαφορά στη διάμεσο του **NK** του δείγματος, που είναι σύμφωνα με τον πίνακα 28 ίση με 277, από τη διάμεσο του πληθυσμού που είναι 330.

Από το πίνακα 28 και τον έλεγχο κανονικότητας που διεξάγεται (πίνακας 31) φαίνεται ότι οι τιμές του CD4/CD8 δεν ακολουθούν κανονική κατανομή ($p=0.006$, Shapiro-Wilk).

Αυτό οφείλεται στις τρεις αρκετά μεγαλύτερες τιμές (εκτός από το 8,5) που εντοπίζονται για τους

| | |
|-------|--------|
| T. A. | (3,51) |
| N. E. | (3,50) |
| K. M. | (3,07) |

Tests of Normality

| | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|---------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| CD4/CD8 | ,150 | 29 | ,095 | ,891 | 29 | ,006 |

a. Lilliefors Significance Correction

Πίνακας 31

Από το μη παραμετρικό sign test που ακολουθεί προκύπτει ότι οι τιμές του CD4/CD8 είναι σημαντικά χαμηλότερες από 1.9, τιμή που αντιστοιχεί στο μέσο αλλά και διάμεσο των φυσιολογικών τιμών, δεδομένου ότι αυτές προέρχονται από πληθυσμό με κανονική κατανομή. Το p-value που υπολογίζεται είναι 0.0081.

Sign test

| | | |
|-------------|----------|----------|
| sign | observed | expected |
| -----+----- | | |
| positive | 7 | 14.5 |

| | | |
|-------------|----|------|
| negative | 22 | 14.5 |
| zero | 0 | 0 |
| -----+----- | | |
| all | 29 | 29 |

One-sided tests:

Ho: median of cd4cd8 - 1.9 = 0 vs.

Ha: median of cd4cd8 - 1.9 > 0

Pr(#positive >= 7) =

Binomial(n = 29, x >= 7, p = 0.5) = 0.9988

Ho: median of cd4cd8 - 1.9 = 0 vs.

Ha: median of cd4cd8 - 1.9 < 0

Pr(#negative >= 22) =

Binomial(n = 29, x >= 22, p = 0.5) = 0.0041

Two-sided test:

Ho: median of cd4cd8 - 1.9 = 0 vs.

Ha: median of cd4cd8 - 1.9 != 0

Pr(#positive >= 22 or #negative >= 22) =

min(1, 2*Binomial(n = 29, x >= 22, p = 0.5)) = 0.0081.

Αφαιρώντας αυτές τις μεγαλύτερες τιμές (και ειδικότερα τις δύο πρώτες) καταλήγουμε στο ότι οι καταγεγραμμένες τιμές του CD4/CD8 μπορεί να προέρχονται από κανονικό πληθυσμό, όπως φαίνεται και από τον πίνακα 32 (p=0.251, Shapiro-Wilk).

Tests of Normality

| | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|---------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| CD4/CD8 | ,123 | 26 | ,200* | ,951 | 26 | ,251 |

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Πίνακας 32

Η πληροφορία αυτή επιτρέπει τη χρήση παραμετρικού ελέγχου και συγκεκριμένα One Sample T-test. Από αυτόν, που φαίνεται και στον πίνακα 33, προκύπτει και πάλι ότι οι τιμές του CD4/CD8 είναι σημαντικά χαμηλότερες από 1.9 ($p=0.024$).

One-Sample Test

| | Test Value = 1.9 | | | | | |
|---------|------------------|----|-----------------|-----------------|---|--------|
| | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | 95% Confidence Interval of the Difference | |
| | | | | | Lower | Upper |
| CD4/CD8 | -2,391 | 28 | ,024 | -,37000 | -,6870 | -,0530 |

Πίνακας 33

Υπό την υπόθεση της κανονικής κατανομής για τις τιμές του CD4/CD8 που καταγράφηκαν, το 95% διάστημα εμπιστοσύνης για το λόγο CD4/CD8 είναι:

(1.0890, 1.5490)

3.4.4. ΔΕΙΚΤΕΣ ΑΥΤΟΑΝΟΣΙΑΣ

Μελετήθηκαν οι παρακάτω παράγοντες αυτοανοσίας στους 49 ασθενείς μας

Rf,

ANA,

ENA,

anti ds-DNA και

αντισώματα αντικαρδιολιπίνης

Δεν υπήρξαν υγιείς μάρτυρες. Για τους στατιστικούς μας έλεγχους χρησιμοποιήθηκαν ως τιμές αναφοράς, οι τιμές που δόθηκαν από το εργαστήριο της Ανοσολογίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων.

Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών για Rf, ANA, ENA, anti ds-DNA και αντισώματα αντικαρδιολιπίνης των 49 περιπτώσεων μας με γλοιώματα και των τιμών αναφοράς.

Τα αποτελέσματα των ασθενών μας φαίνονται στον παρακάτω πίνακα 34

Πίνακας 34. Ανοσολογικό προφίλ των ασθενών της μελέτης μας

| No | Όνοματεπώνυμο | Φύλο | GRADE | Ηλικία | ANA | ENA | anti ds-DNA | anti cardiolipin Ab | RF |
|----|---------------|------|-------|--------|-------|-----|-------------|---------------------|------|
| 1 | Π.Β | w | 4 | 62 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | Τ.Κ | w | 4 | 40 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | Σ.Π | w | 3 | 48 | 1/160 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | Κ.Χ | m | 2 | 48 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | Μ.Φ | m | 4 | 66 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | Τ.Θ | w | 4 | 68 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7 | Σ.Κ | w | 4 | 43 | 1/320 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 8 | Μ.Ν | m | 4 | 70 | 1/160 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 9 | Γ.Β | w | 4 | 78 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 10 | Π.Μ | w | 3 | 49 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 11 | Κ.Μ | w | 3 | 68 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 12 | Κ.Κ | w | 4 | 75 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 13 | Τ.Α | m | 4 | 52 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 14 | Γ.Α | w | 2 | 73 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 15 | Τ.Χ | m | 4 | 52 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 16 | Μ.Σ | m | 2 | 49 | 1/160 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 17 | Μ.Σ | m | 4 | 75 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 18 | Λ.Β | m | 4 | 53 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 19 | Μ.Σ | w | 4 | 54 | 1/160 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 20 | Ν.Ε | m | 2 | 53 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 21 | Κ.Σ | m | 3 | 53 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 22 | Μ.Α | w | 3 | 52 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 23 | Σ.Μ | m | 2 | 35 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 24 | Τ.Ε | w | 2 | 53 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1/40 |
| 25 | Σ.Σ | w | 4 | 60 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 26 | Ν.Α | w | 4 | 60 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 27 | Τ.Γ | w | 4 | 60 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 28 | Κ.Α | w | 3 | 51 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 29 | Κ.Σ | m | 4 | 58 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 30 | Μ.Γ | m | 4 | 69 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1/80 |
| 31 | Κ.Μ | w | 2 | 73 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 32 | Τ.Χ | m | 2 | 33 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 33 | Λ.Α | w | 2 | 44 | 1/160 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 34 | Σ.Α | m | 4 | 65 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 35 | Σ.Α | m | 2 | 33 | 1/160 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 36 | Ι.Ε | w | 2 | 42 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 37 | Σ.Μ | w | 4 | 54 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1/20 |
| 38 | Λ.Μ | w | 4 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 39 | Π.Δ | m | 4 | 68 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1/20 |
| 40 | Μ.Γ | m | 4 | 54 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 41 | Κ.Μ | w | 2 | 70 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 42 | Μ.Χ | w | 2 | 58 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 43 | Κ.Κ | m | 2 | | 1/160 | 0 | 0 | 0 | 1/40 |
| 44 | Γ.Ε | w | 4 | 70 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 45 | Κ.Π | w | 4 | 63 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 46 | Κ.Κ | m | 4 | 51 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 47 | Σ.Ε | w | 2 | 22 | 1/160 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 48 | Γ.Ε | m | 2 | 23 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 49 | Β.Θ | m | 3 | 65 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Στον παρακάτω πίνακα απεικονίζονται συνοπτικά οι σημαντικές διαφορές, ανάμεσα σε ασθενείς και υγείς μάρτυρες.

Πίνακας Α.

Σημαντικές διαφορές μεταξύ ασθενών και μαρτύρων

| | Ασθενείς | | Μάρτυρες | | p value |
|-------------------|--------------|----------------|--------------|----------------|--------------|
| | μ.ο | (τ.α) | μ.ο | (τ.α) | |
| IL2 | 8.66 | (2.21) | 12.85 | (3.38) | 0.000 |
| TNF-a | 169.71 | (854.3) | 12.83 | (2.18) | 0.033 |
| IL10 | 21.17 | (78.3) | 0.0 | (0.0) | 0.050 |
| <i>IL16</i> | <i>187.3</i> | <i>(252.2)</i> | <i>64,8</i> | <i>(27.56)</i> | <i>0.107</i> |
| <i>Granzyme-b</i> | <i>0.26</i> | <i>(0.89)</i> | <i>0.005</i> | <i>(0.018)</i> | <i>0.106</i> |
| IgA | 198 | (85) | 267,5 | (92.7) | 0.027 |
| IgG | 1010 | (227) | 1155.5 | (202.25) | 0.011 |
| C4 | 24 | (9.6) | 27.5 | (5.75) | 0.026 |
| CD3 | 1060 | (295) | 1749 | (375) | 0.001 |
| CD4 | 610 | (158) | 1002 | (250) | 0.000 |
| CD8 | 404 | (122.5) | 626 | (212.5) | 0.002 |
| CD4/CD8(CI 95%) | 1.3 | (1.08-1.54) | 1.9 | (1.2-2.6) | 0.004 |

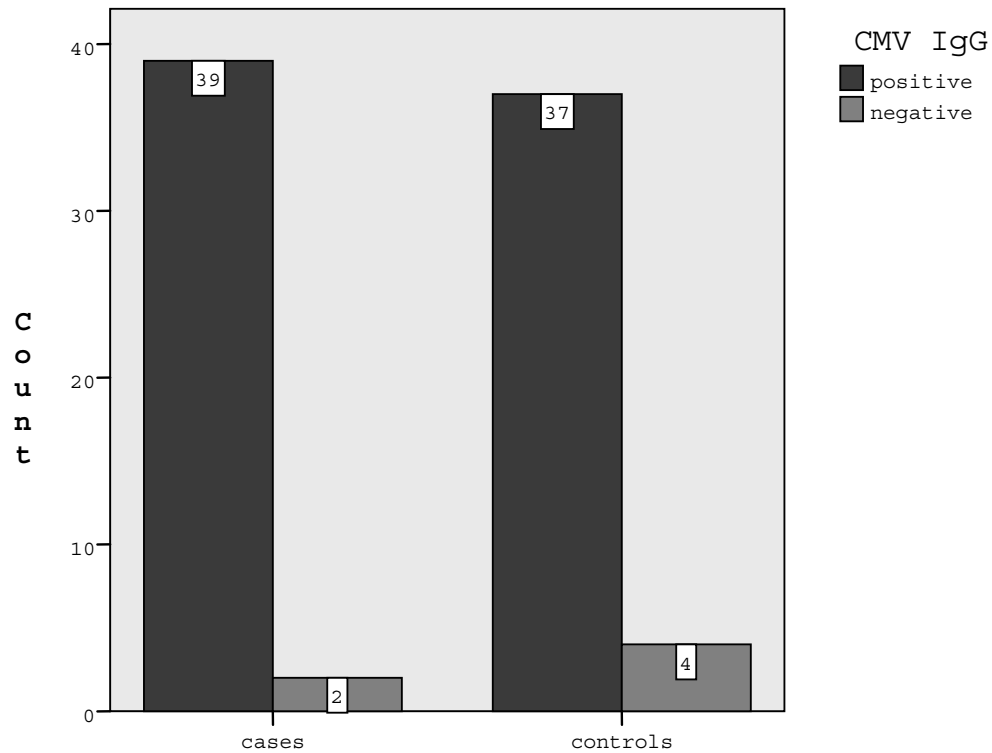
3.4.5. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Διενεργήθηκε μια case-control μελέτη με 41 ασθενείς και 41 προσαρμοσμένους στο φύλο και ηλικία μάρτυρες. Η μέτρηση των αντισωμάτων έγινε την ημέρα της αιμοληψίας. Τα αποτελέσματά μας διαφαίνονται στον παρακάτω πίνακα (σε κάθε στήλη φαίνεται ο αριθμός των ασθενών ή μαρτύρων που ήταν θετικοί για τα αντίστοιχα αντισώματα).

| | Ασθενείς | Μάρτυρες |
|-------------------|----------|----------|
| CMV IgM | 39 | 37 |
| CMV IgG | 5 | 2 |
| EBV IgM | 36 | 35 |
| EBV IgG | 4 | 2 |
| Toxopl.gondii IgM | 11 | 10 |
| Toxopl.gondii IgG | 0 | 0 |

Στη συνέχεια παρουσιάζουμε τα αποτελέσματα και τα στατιστικά συμπεράσματα γραφικά για κάθε αντίσωμα.

CMV IgG



CMV IgG cases * CMV IgG controls Crosstabulation

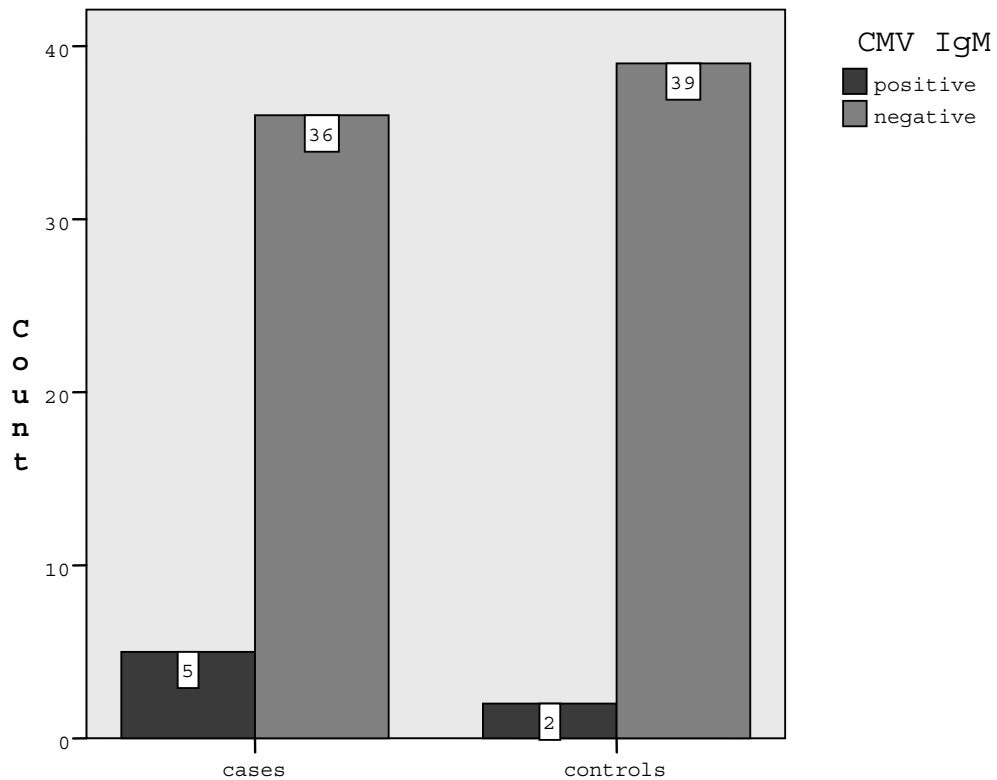
| | | CMV IgG controls | | Total |
|---------------|----------|------------------|----------|-------|
| | | positive | negative | |
| CMV IgG cases | positive | 37 | 2 | 39 |
| | negative | 0 | 2 | 2 |
| Total | | 37 | 4 | 41 |

Chi-Square Tests

| | Value | Exact Sig. (2-sided) |
|------------------|-------|----------------------|
| McNemar Test | | ,500 ^a |
| N of Valid Cases | 41 | |

a. Binomial distribution used.

Από το Mc Nemar's test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των θετικών και αρνητικών καταχωρήσεων σε cases και controls ($p=0.500$).

CMV IgM**CMV IgM cases * CMV IgM controls Crosstabulation**

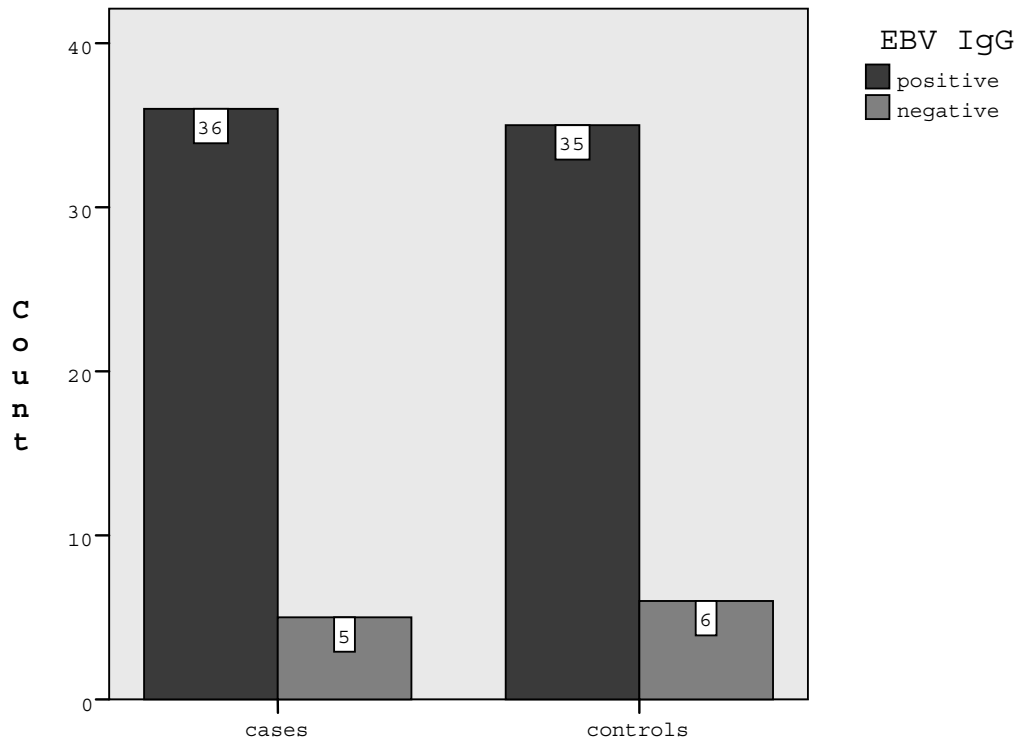
| Count | | CMV IgM controls | | Total |
|---------|----------|------------------|----------|-------|
| | | positive | negative | |
| CMV IgM | positive | 2 | 3 | 5 |
| cases | negative | 0 | 36 | 36 |
| Total | | 2 | 39 | 41 |

Chi-Square Tests

| | Value | Exact Sig. (2-sided) |
|------------------|-------|-------------------------|
| McNemar Test | | ,250 ^a |
| N of Valid Cases | 41 | |

a. Binomial distribution used.

Από το Mc Nemar's test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των θετικών και αρνητικών καταχωρήσεων σε cases και controls ($p=0.250$).

EBV IgG**EBV IgG cases * EBV IgG controls Crosstabulation**

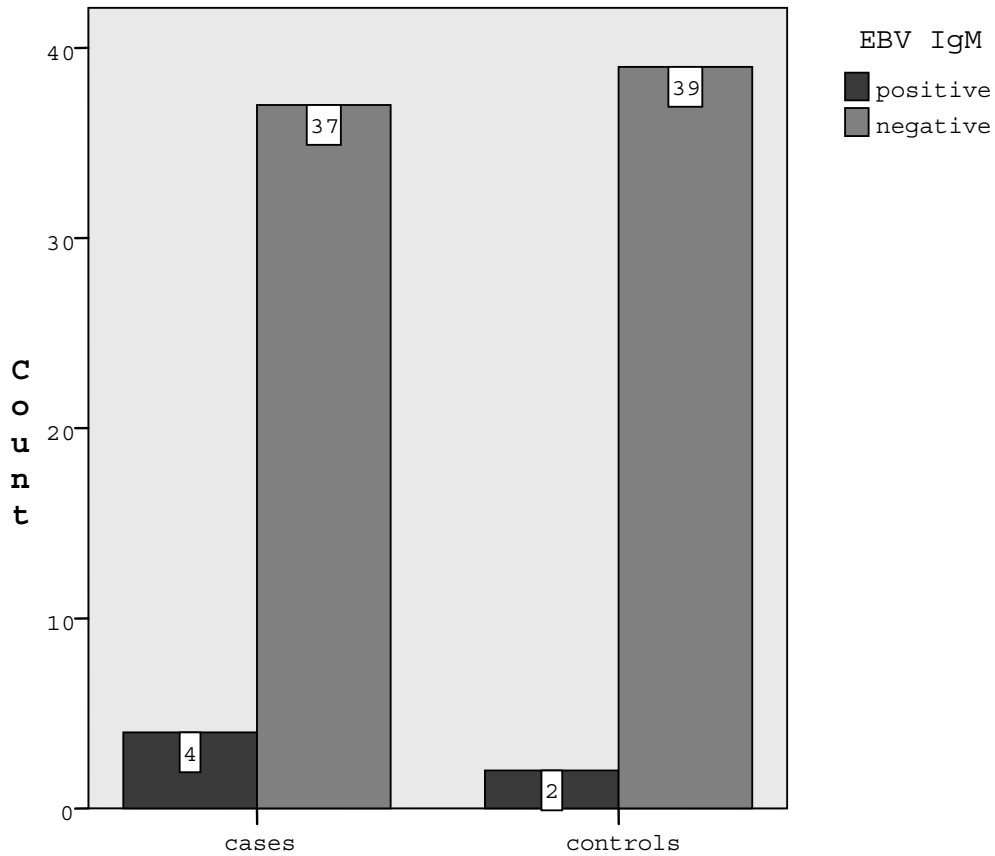
| Count | | EBV IgG controls | | Total |
|---------------|----------|------------------|----------|-------|
| | | positive | negative | |
| EBV IgG cases | positive | 35 | 1 | 36 |
| | negative | 0 | 5 | 5 |
| Total | | 35 | 6 | 41 |

Chi-Square Tests

| | Value | Exact Sig. (2-sided) |
|------------------|-------|----------------------|
| McNemar Test | | 1,000 ^a |
| N of Valid Cases | 41 | |

a. Binomial distribution used.

Από το Mc Nemar's test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των θετικών και αρνητικών καταχωρήσεων σε cases και controls ($p=1.000$).

EBV IgM**EBV IgM cases * EBV IgM controls Crosstabulation**

Count

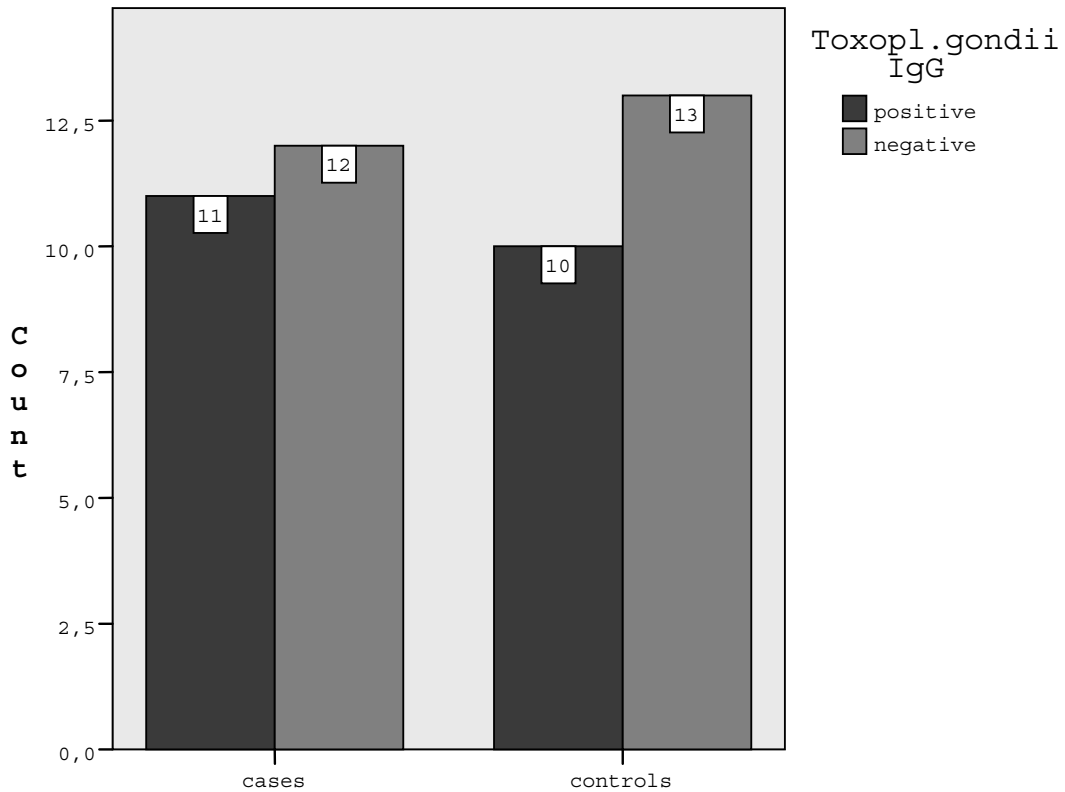
| | | EBV IgM controls | | Total |
|---------------|----------|------------------|----------|-------|
| | | positive | negative | |
| EBV IgM cases | positive | 2 | 2 | 4 |
| | negative | 0 | 37 | 37 |
| Total | | 2 | 39 | 41 |

Chi-Square Tests

| | Value | Exact Sig. (2-sided) |
|------------------|-------|----------------------|
| McNemar Test | | ,500 ^a |
| N of Valid Cases | 41 | |

a. Binomial distribution used.

Από το Mc Nemar's test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των θετικών και αρνητικών καταχωρήσεων σε cases και controls ($p=0.500$).

Toxopl.gondii IgG

Toxopl.gondii IgG cases * Toxopl.gondii IgG controls
Crosstabulation

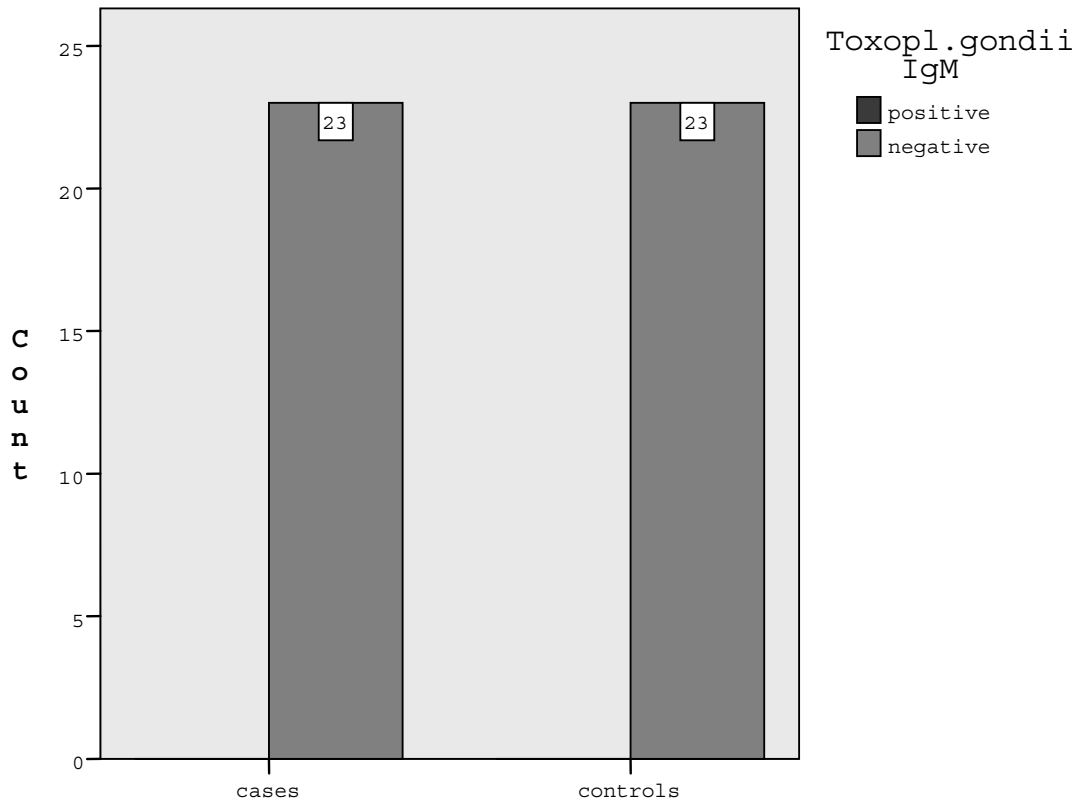
| Count | | Toxopl.gondii IgG controls | | Total |
|-------------------------|----------|----------------------------|----------|-------|
| | | positive | negative | |
| Toxopl.gondii IgG cases | positive | 8 | 3 | 11 |
| Toxopl.gondii IgG cases | negative | 0 | 12 | 12 |
| Total | | 8 | 15 | 23 |

Chi-Square Tests

| | Value | Exact Sig. (2-sided) |
|------------------|-------|----------------------|
| McNemar Test | | ,250 ^a |
| N of Valid Cases | 23 | |

a. Binomial distribution used.

Από το Mc Nemar's test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των θετικών και αρνητικών καταχωρήσεων σε cases και controls ($p=0.250$).

Toxopl.gondii IgM**Toxopl.gondii IgM cases * Toxopl.gondii IgM controls
Crosstabulation**

| | | Toxopl. gondii IgM controls | |
|-------------------------|----------|-----------------------------|-------|
| | | negative | Total |
| Toxopl.gondii IgM cases | negative | 23 | 23 |
| Total | | 23 | 23 |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymp. Sig. (2-sided) |
|---------------------|-------|----|-----------------------|
| McNemar-Bowker Test | . | . | . ^a |
| N of Valid Cases | 23 | | |

a. Computed only for a PxP table, where P must be greater than 1.

Δεν παράγονται στατιστικά αποτελέσματα γιατί δεν υπάρχουν διαφορές στις κατανομές των cases και των controls.

3.5. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ ΤΙΜΩΝ ΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΜΕ ΤΟ ΒΑΘΜΟ ΚΑΚΟΗΘΕΙΑΣ ΤΟΥ ΟΓΚΟΥ ΚΑΤΑ WHO

Μετά από την case control μελέτη, όπου ερευνήθηκαν οι διαφορές στις τιμές των παραμέτρων ανάμεσα σε ασθενείς με γλοιώματα και υγιείς μάρτυρες, επιχειρείται η προσπάθεια συσχέτισης των τιμών των μελετούμενων παραμέτρων με το βαθμό κακοήθειας του όγκου κατά WHO.

Για τις συγκρίσεις μας, ορίζουμε 2 υποομάδες, τους ασθενείς με γλοιώματα χαμηλής κακοήθειας (στην περίπτωση μας WHO grade II) και τους ασθενείς με γλοιώματα υψηλής κακοήθειας (στην περίπτωση μας WHO grade III και IV).

Από τον έλεγχο κανονικότητας Shapiro Wilk που ακολουθεί στον πίνακα 35 φαίνεται ότι κανονικές ανά grade μπορεί να θεωρηθούν οι μεταβλητές:

IL2 IgG C3 C4 Lymphocytes CD8

ενώ όχι οι

GRANZYME IL10 IL16 TNFA IgA IgM IgE CD3 CD4 CD4_CD8 CD19 NK.

Tests of Normality

| Sig. | GRADE | Shapiro-Wilk |
|----------------------------|--------------|--------------|
| granzyme-b | Grade 2 | .000 |
| | Grade 3 or 4 | .000 |
| IL-2 | Grade 2 | .264 |
| | Grade 3 or 4 | .198 |
| IL-10 | Grade 2 | .000 |
| | Grade 3 or 4 | .000 |
| IL-16 | Grade 2 | .002 |
| | Grade 3 or 4 | .000 |
| TNF-a | Grade 2 | .000 |
| | Grade 3 or 4 | .000 |
| IgA | Grade 2 | .442 |
| | Grade 3 or 4 | .027 |
| IgG | Grade 2 | .457 |
| | Grade 3 or 4 | .185 |
| IgM | Grade 2 | .016 |
| | Grade 3 or 4 | .035 |
| IgE | Grade 2 | .000 |
| | Grade 3 or 4 | .000 |
| C3 | Grade 2 | .183 |
| | Grade 3 or 4 | .375 |
| C4 | Grade 2 | .777 |
| | Grade 3 or 4 | .707 |
| Lymphocytes (1000-3500) | Grade 2 | .451 |
| | Grade 3 or 4 | .219 |
| CD3 (1000-2500) | Grade 2 | .393 |
| | Grade 3 or 4 | .004 |
| CD4 (500-1500) | Grade 2 | .514 |
| | Grade 3 or 4 | .000 |
| CD8 (200-1000) | Grade 2 | .250 |
| | Grade 3 or 4 | .853 |
| CD4/CD8 (1.2-2.6) | Grade 2 | .351 |
| | Grade 3 or 4 | .000 |
| CD19 (100-500) | Grade 2 | .093 |
| | Grade 3 or 4 | .036 |
| total NK (60-600) | Grade 2 | .000 |
| | Grade 3 or 4 | .004 |

Πίνακας 35

Στον πίνακα 36 που ακολουθεί παρουσιάζονται τα περιγραφικά μέτρα για τις μεταβλητές **IL2 IgG C3 C4 Lymphocytes CD8** ανά Grade.

Group Statistics

| | GRADE | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|----------------------------|--------------|----|-----------|----------------|-----------------|
| IL-2 | Grade 2 | 16 | 10.2156 | 3.12654 | .80727 |
| | Grade 3 or 4 | 33 | 8.1237 | 1.51206 | .27606 |
| IgG | Grade 2 | 16 | 1200.2667 | 370.86125 | 95.75596 |
| | Grade 3 or 4 | 33 | 999.3333 | 286.82210 | 52.36631 |
| C3 | Grade 2 | 16 | 140.4000 | 45.06155 | 11.63484 |
| | Grade 3 or 4 | 33 | 124.0345 | 44.37783 | 8.24076 |
| C4 | Grade 2 | 16 | 27.4667 | 9.39503 | 2.42579 |
| | Grade 3 or 4 | 33 | 21.5667 | 9.23144 | 1.68542 |
| Lymphocytes (1000-3500) | Grade 2 | 16 | 1982.4545 | 941.14944 | 283.76723 |
| | Grade 3 or 4 | 33 | 1274.4138 | 739.37177 | 137.29789 |
| CD8 (200-1000) | Grade 2 | 10 | 536.0000 | 333.10692 | 105.33766 |
| | Grade 3 or 4 | 23 | 346.6087 | 163.82994 | 34.16090 |

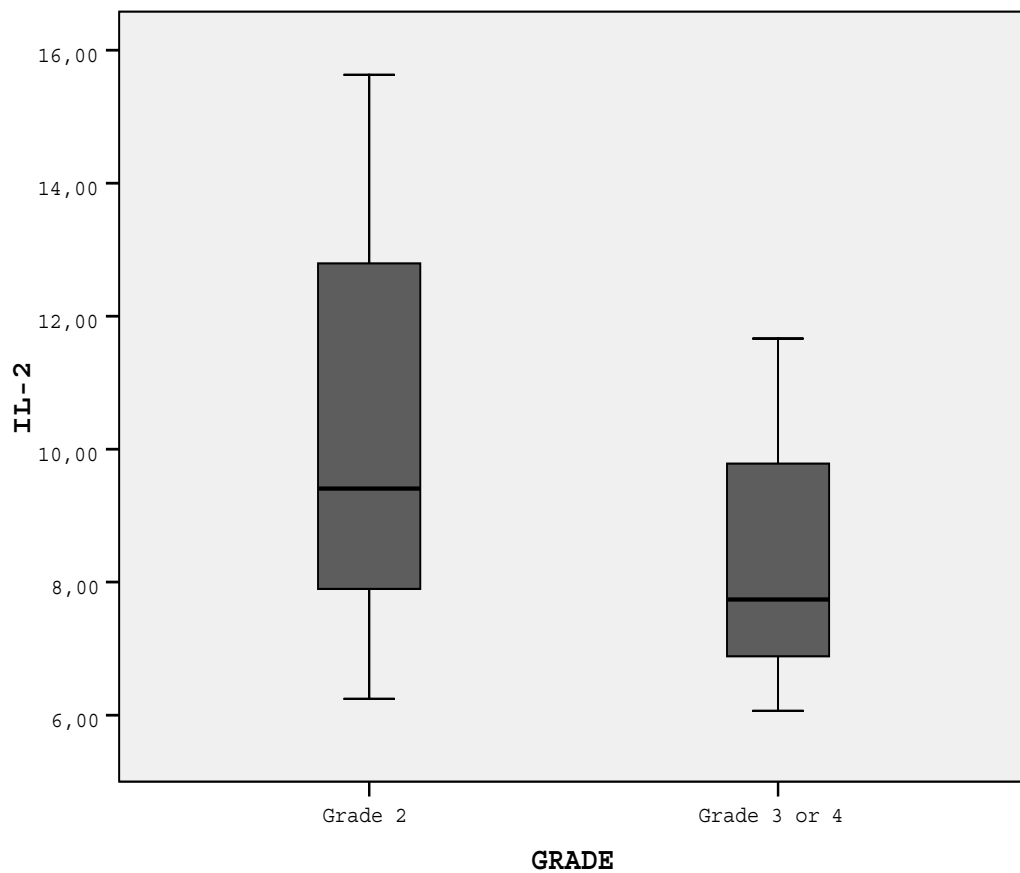
Πίνακας 36

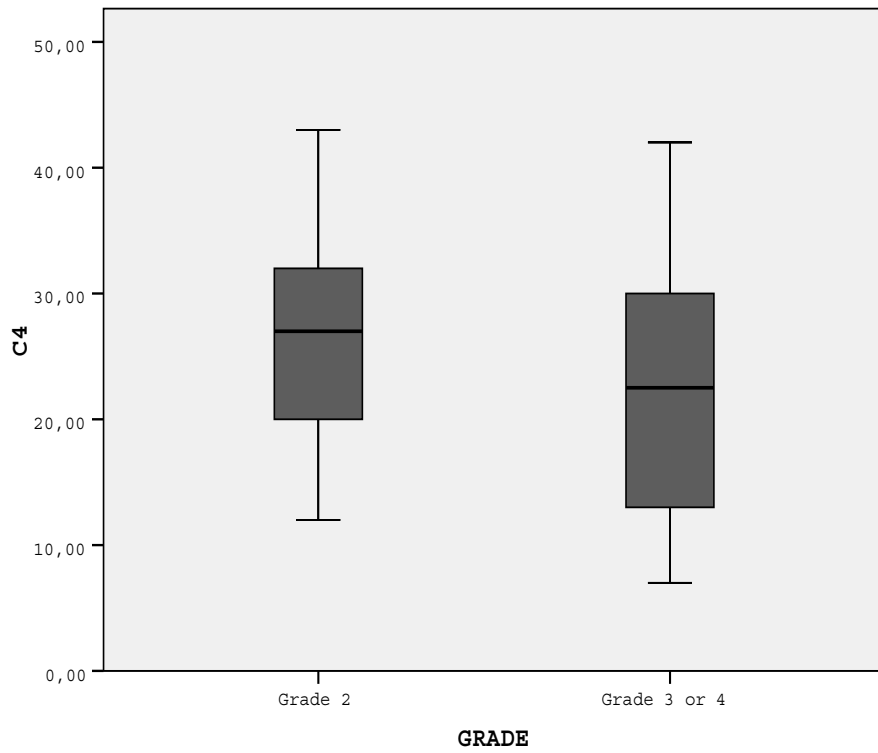
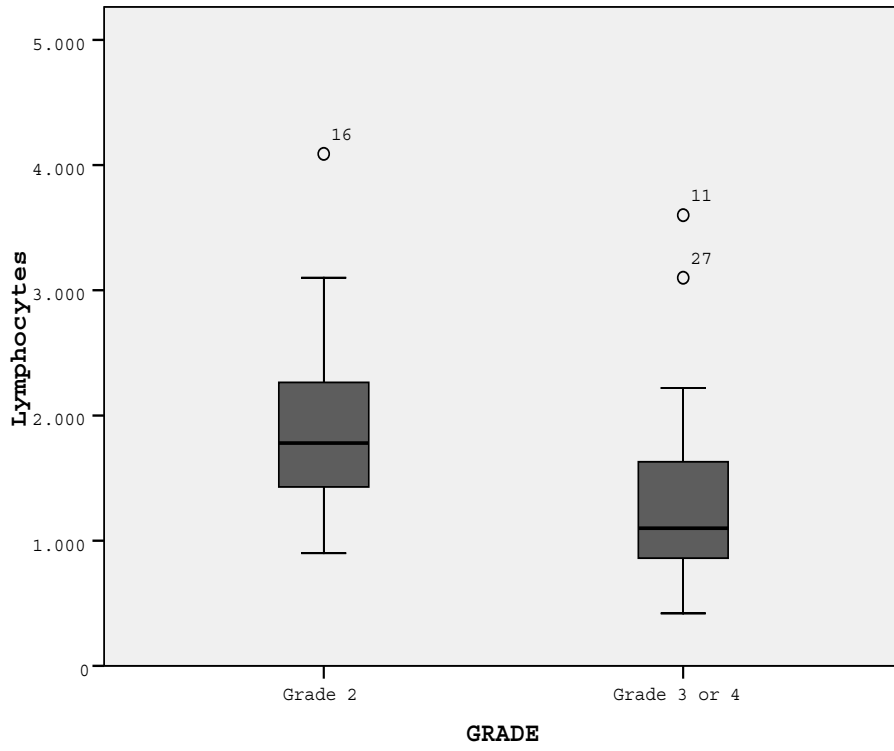
Σύμφωνα με τους κατάλληλους ελέγχους προκύπτει ότι παρατηρούνται σημαντικά μεγαλύτερες τιμές **IL-2** και **Lymphocytes** στους ασθενείς με Grade 2 σε σχέση με τους ασθενείς με Grade 3 ή 4. Οριακά σημαντική είναι και η διαφορά για τις **C4** και **IgG**, όπου και πάλι μεγαλύτερες τιμές εντοπίζονται για τους ασθενείς με Grade 2. Τα p-values που προκύπτουν από τα t-test είναι 0.025 0.017, 0.051 και 0.051 αντίστοιχα.

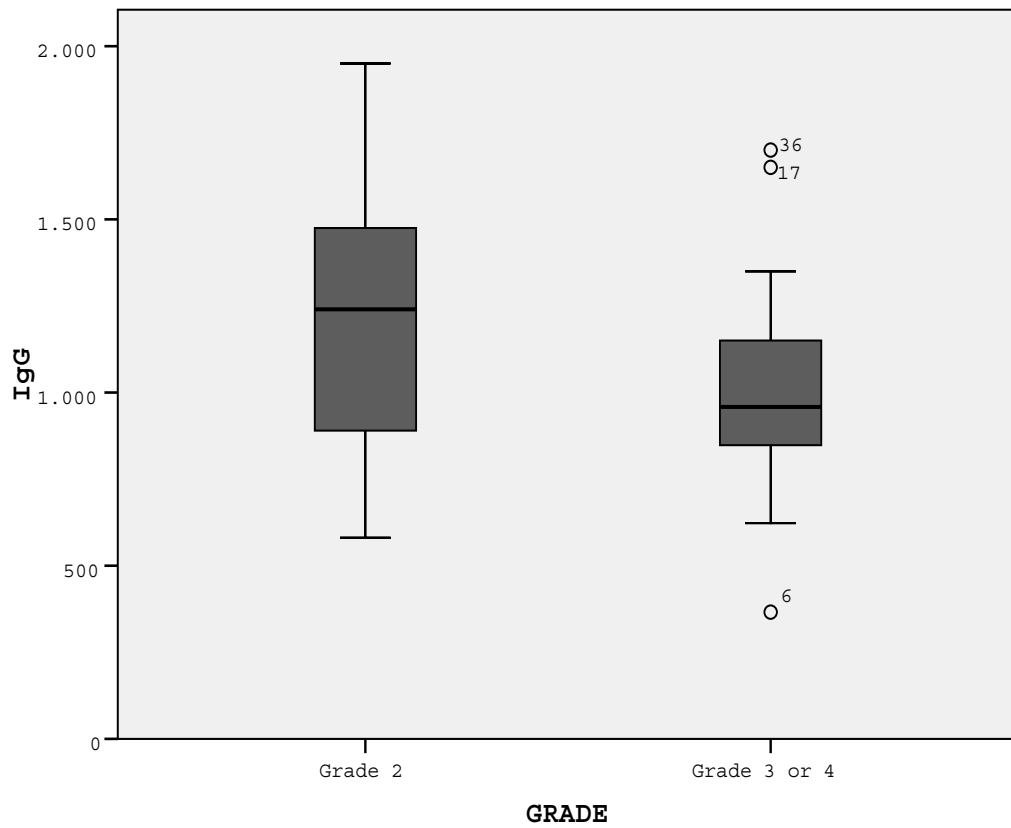
Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | | | |
|-------------------------|-----------------------------|---|------|------------------------------|--------|-----------------|-----------------|-----------------------|---|-----------|
| | | F | Sig. | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | 95% Confidence Interval of the Difference | |
| | | | | | | | | | Lower | Upper |
| IL-2 | Equal variances assumed | 13.605 | .001 | 3.043 | 47 | .004 | 2.09187 | .68736 | .70568 | 3.47805 |
| | Equal variances not assumed | | | 2.452 | 17.351 | .025 | 2.09187 | .85317 | .29461 | 3.88912 |
| IgG | Equal variances assumed | 2.356 | .132 | 2.007 | 47 | .051 | 200.93333 | 100.13100 | -1.00008 | 402.86675 |
| | Equal variances not assumed | | | 1.841 | 22.648 | .079 | 200.93333 | 109.13952 | -25.03317 | 426.89984 |
| C3 | Equal variances assumed | .240 | .627 | 1.154 | 47 | .255 | 16.36552 | 14.18678 | -12.26456 | 44.99559 |
| | Equal variances not assumed | | | 1.148 | 28.041 | .261 | 16.36552 | 14.25761 | -12.83794 | 45.56898 |
| C4 | Equal variances assumed | .035 | .852 | 2.009 | 47 | .051 | 5.90000 | 2.93618 | -.02137 | 11.82137 |
| | Equal variances not assumed | | | 1.997 | 27.667 | .056 | 5.90000 | 2.95383 | -.15393 | 11.95393 |
| Lymphocytes (1000-3500) | Equal variances assumed | .743 | .394 | 2.507 | 47 | .017 | 708.04075 | 282.37800 | 136.39637 | 1279.685 |
| | Equal variances not assumed | | | 2.246 | 14.938 | .040 | 708.04075 | 315.23730 | 35.88414 | 1380.197 |
| CD8 (200-1000) | Equal variances assumed | 9.584 | .004 | 2.208 | 31 | .035 | 189.39130 | 85.76134 | 14.47989 | 364.30272 |
| | Equal variances not assumed | | | 1.710 | 10.943 | .115 | 189.39130 | 110.73838 | -54.49698 | 433.27958 |

Πίνακας 37







Τα προηγούμενα γραφήματα παρουσιάζουν απεικονιστικά τις διαφορές των παραμέτρων ανάλογα με το βαθμό κακοήθειας. Από τα μεγέθη των κουτιών μπορούμε να αναγνωρίσουμε τον μέσο όρο, διάμεσο, εύρος διακύμανσης των τιμών.

Στον πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζονται τα περιγραφικά μέτρα για τις μεταβλητές

GRANZYME IL10 IL16 TNFA IgA IgM IgE CD3 CD4 CD4_CD8 CD19 NK ανά Grade.

Group Statistics

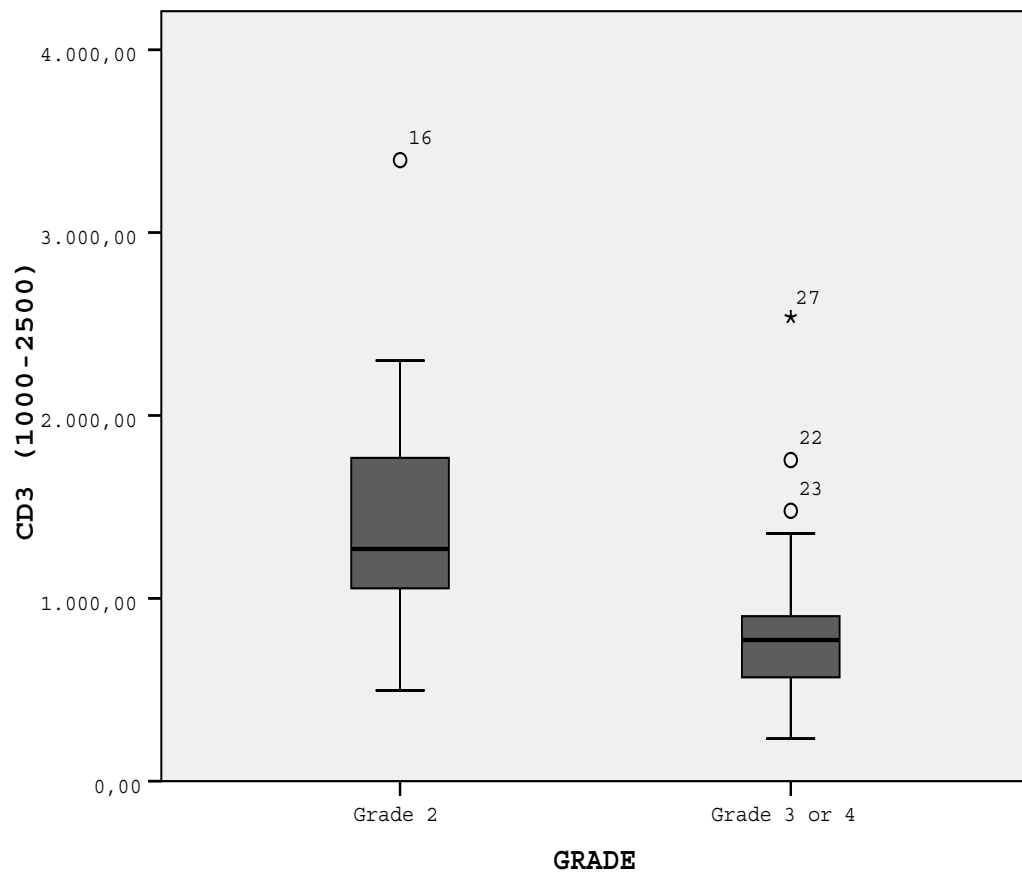
| | GRADE | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|-------------------|--------------|----|-----------|----------------|-----------------|
| granzyme-b | Grade 2 | 16 | .0600 | .19172 | .04950 |
| | Grade 3 or 4 | 33 | .3546 | 1.04057 | .18998 |
| IL-10 | Grade 2 | 16 | 27.4643 | 106.36865 | 27.46427 |
| | Grade 3 or 4 | 33 | 15.2100 | 54.76219 | 9.99816 |
| IL-16 | Grade 2 | 16 | 191.5112 | 280.57528 | 72.44423 |
| | Grade 3 or 4 | 33 | 163.5857 | 229.83999 | 41.96285 |
| TNF-a | Grade 2 | 16 | 375.1136 | 1408.88677 | 363.77300 |
| | Grade 3 or 4 | 33 | 45.7600 | 119.13714 | 21.75137 |
| IgA | Grade 2 | 16 | 251.6067 | 108.12654 | 27.91815 |
| | Grade 3 or 4 | 33 | 246.5200 | 126.74825 | 23.14096 |
| IgM | Grade 2 | 16 | 141.3867 | 76.21755 | 19.67929 |
| | Grade 3 or 4 | 33 | 178.7133 | 236.73338 | 43.22140 |
| IgE | Grade 2 | 16 | 221.5257 | 395.82454 | 105.78856 |
| | Grade 3 or 4 | 33 | 209.1714 | 313.86480 | 59.31487 |
| CD3 (1000-2500) | Grade 2 | 10 | 1515.0000 | 836.30205 | 264.46193 |
| | Grade 3 or 4 | 23 | 862.0000 | 516.47934 | 107.69339 |
| CD4 (500-1500) | Grade 2 | 10 | 914.0000 | 542.42665 | 171.53037 |
| | Grade 3 or 4 | 23 | 478.4348 | 433.54971 | 90.40136 |
| CD4/CD8 (1.2-2.6) | Grade 2 | 10 | 1.9360 | .82330 | .26035 |
| | Grade 3 or 4 | 23 | 1.6070 | 1.66996 | .34821 |
| CD19 (100-500) | Grade 2 | 10 | 302.1000 | 211.92895 | 67.01782 |
| | Grade 3 or 4 | 23 | 221.5217 | 126.32061 | 26.33967 |
| total NK (60-600) | Grade 2 | 10 | 386.1500 | 476.57797 | 150.70719 |
| | Grade 3 or 4 | 23 | 210.7391 | 137.70661 | 28.71381 |

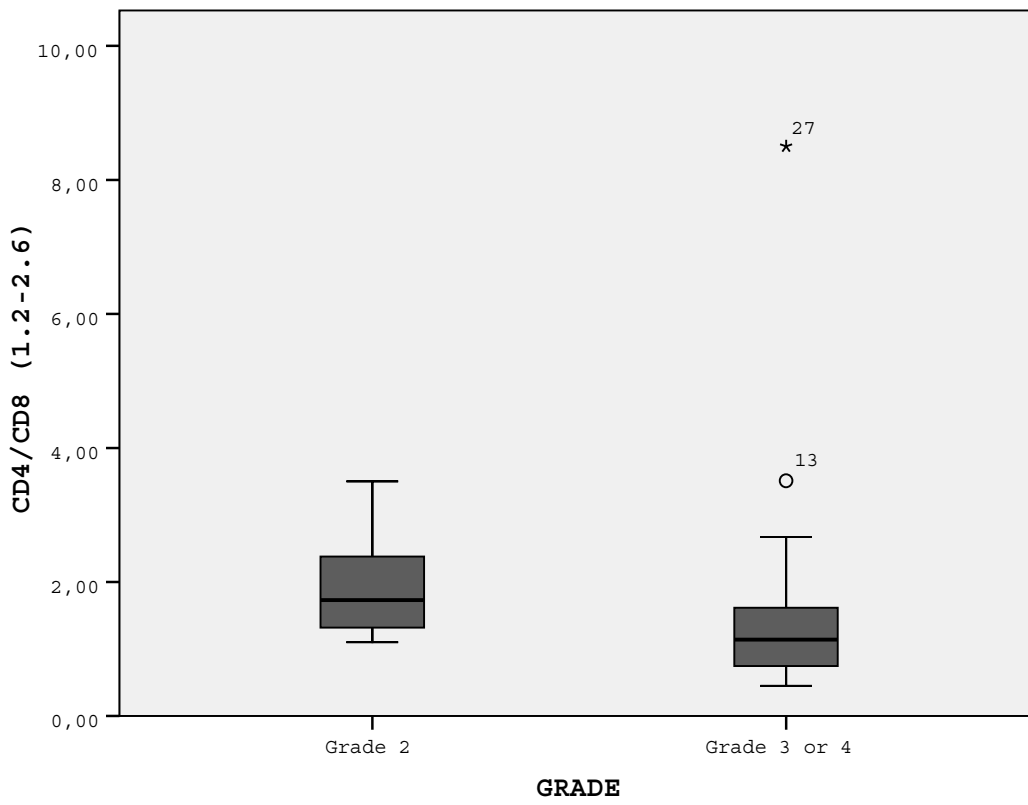
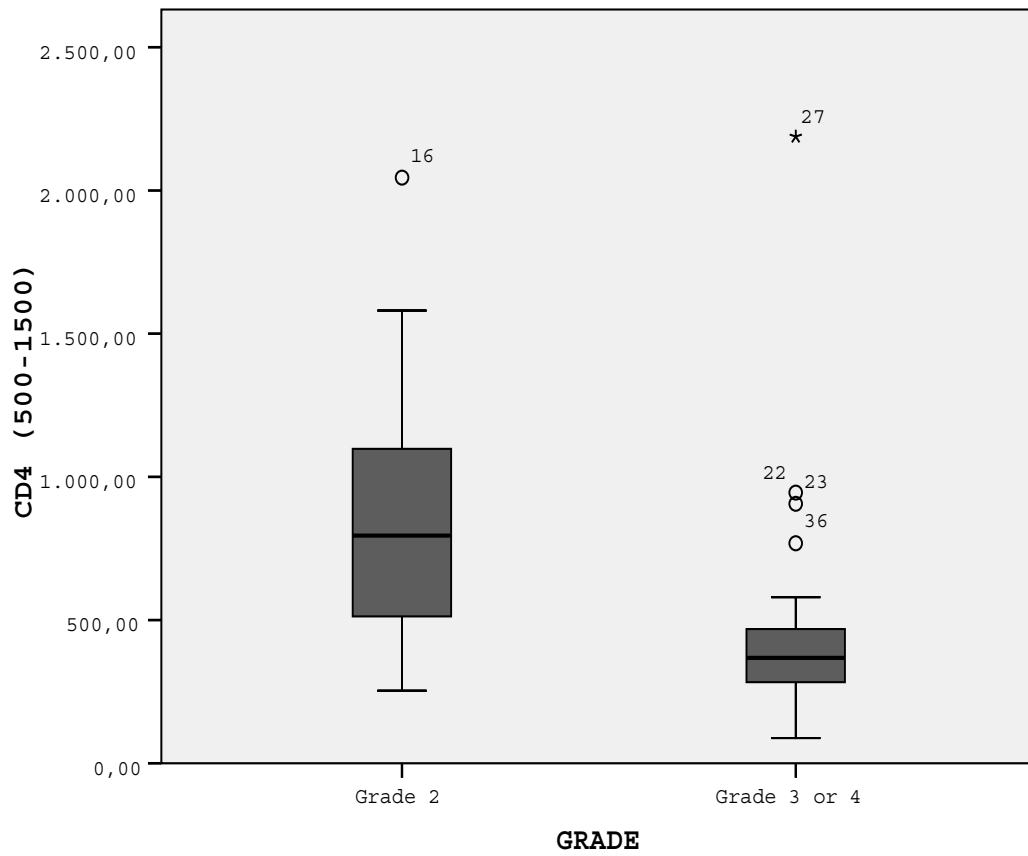
Πίνακας 38

Σύμφωνα με τους κατάλληλους ελέγχους προκύπτει ότι παρατηρούνται σημαντικά μεγαλύτερες τιμές **CD3** και **CD4** στους ασθενείς με Grade 2 σε σχέση με τους ασθενείς με Grade 3 ή 4. Σημαντική είναι η διαφορά για τη **CD4/CD8**, όπου και πάλι μεγαλύτερες τιμές εντοπίζονται για τους ασθενείς με Grade 2. Τα p-values που προκύπτουν από τα Mann Whitney tests είναι 0.013 0.006 και 0.025 αντίστοιχα.

| | Mann-Whitney U | Wilcoxon W | Z | Asymp. Sig. (2-tailed) | Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] |
|-----------------------|----------------|------------|--------|------------------------|-----------------------------------|
| granzyme-b | 170.500 | 290.500 | -1.461 | .144 | |
| IL-10 | 212.000 | 332.000 | -.574 | .566 | |
| IL-16 | 210.500 | 330.500 | -.349 | .727 | |
| TNF-a | 208.000 | 673.000 | -.410 | .682 | |
| IgA | 199.000 | 664.000 | -.626 | .531 | |
| IgM | 208.500 | 328.500 | -.397 | .691 | |
| IgE | 185.500 | 290.500 | -.280 | .779 | .782 ^a |
| CD3 (1000-2500) | 52.000 | 328.000 | -2.468 | .014 | .013 ^a |
| CD4 (500-1500) | 46.000 | 322.000 | -2.703 | .007 | .006 ^a |
| CD4/CD8 (1. 2-2.6) | 65.000 | 341.000 | -1.959 | .050 | .051 ^a |
| CD19 (100-500) | 86.000 | 362.000 | -1.136 | .256 | .269 ^a |
| total NK (60-600) | 85.000 | 361.000 | -1.175 | .240 | .253 ^a |

Πίνακας 39





Από τους έλεγχους που έγιναν φαίνεται ότι εντοπίζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάλογα με το grade για τις μεταβλητές

IL-2

C4

IgG

CD3

CD4 και

CD4/CD8.

Πίνακας Β.

Σημαντικές συσχετίσεις παραμέτρων του ανοσολογικού συστήματος με το βαθμό κακοήθειας του όγκου.

| | ΧΚΓ* | | ΥΚΓ** | | p value |
|---------|--------|---------|-------|---------|--------------|
| | μ.ο, | (τ.α) | μ.ο, | (τ.α) | |
| IL2 | 10.21 | (3.12) | 8.12 | (1.51) | 0.025 |
| C4 | 27.5 | (9.4) | 21.5 | (9.2) | 0.050 |
| IgG | 1200.3 | (370.8) | 999.3 | (286.8) | 0.050 |
| CD3 | 1515.4 | (836) | 862 | (516) | 0.013 |
| CD4 | 914.2 | (542) | 478 | (433) | 0.006 |
| CD4/CD8 | 1.936 | (0.8) | 1.607 | (1.66) | 0.025 |

* χαμηλής κακοήθειας γλοίωμα, ** υψηλής κακοήθειας γλοίωμα

3.5.1.ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΦΥΛΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ ΣΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΩΝ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ

Μέχρι στιγμής διαπιστώθηκαν ορισμένες διαφορές στις τιμές των παραμέτρων ανάμεσα σε ασθενείς με υψηλής και χαμηλής κακοήθειας γλοιώματα. Ωστόσο η αναλογία τού φύλου και ο μ.ο ηλικίας είναι διαφορετικοί στα διάφορα grade του όγκου. Συγκεκριμένα, μεγαλύτερος βαθμός κακοήθειας σχετίζεται με μεγαλύτερο μ.ο ηλικίας ασθενών καθώς και με αυξημένο πηλίκο αρρένων προς θήλεις.

Για τους παραπάνω λόγους ελέγχουμε στη συνέχεια την επίδραση της ηλικίας και του φύλου στα αποτελέσματά μας. Αρχικά, αξιολογούμε αν η ηλικία ή το φύλο επηρεάζουν στατιστικά σημαντικά τις παραμέτρους μας, σε επίπεδο μονομεταβλητής ανάλυσης. Στη συνέχεια διεξάγουμε τις προηγούμενες αναλύσεις μας, ελέγχοντας για ηλικία και φύλο. Τέλος, διεξάγουμε μια πολυμεταβλητή ανάλυση, όπου ορίζουμε ως εξαρτημένες μεταβλητές τις τιμές των παραμέτρων και ως ανεξάρτητες μεταβλητές το βαθμό κακοήθειας, το φύλο και την ηλικία, ώστε να υπολογίσουμε δυνητικούς προγνωστικούς παράγοντες για το βαθμό κακοήθειας.

Κανονικές ανά φύλο είναι οι μεταβλητές:

IgG C3 C4 CD8 ενώ όχι οι

GRANZYME IL2 IL10 IL16 TNFA IgA IgM IgE Lymphocytes CD3 CD4 CD4_CD8 CD19

NK

Tests of Normality

| Sig. | sex | Shapiro-Wilk |
|----------------------------|--------|--------------|
| granzyme-b | male | .000 |
| | female | .000 |
| IL-2 | male | .128 |
| | female | .005 |
| IL-10 | male | .000 |
| | female | .000 |
| IL-16 | male | .013 |
| | female | .000 |
| TNF-a | male | .000 |
| | female | .000 |
| IgA | male | .014 |
| | female | .129 |
| IgG | male | .121 |
| | female | .524 |
| IgM | male | .999 |
| | female | .000 |
| IgE | male | .001 |
| | female | .000 |
| C3 | male | .305 |
| | female | .375 |
| C4 | male | .777 |
| | female | .603 |
| Lymphocytes (1000-3500) | male | .031 |
| | female | .238 |
| CD3 (1000-2500) | male | .005 |
| | female | .191 |
| CD4 (500-1500) | male | .002 |
| | female | .018 |
| CD8 (200-1000) | male | .025 |
| | female | .681 |
| CD4/CD8 (1.2-2.6) | male | .001 |
| | female | .416 |
| CD19 (100-500) | male | .204 |
| | female | .006 |
| total NK (60-600) | male | .000 |
| | female | .004 |

Πίνακας 40

Στον πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζονται τα περιγραφικά μέτρα για το σύνολο των μεταβλητών που εξετάζονται.

Group Statistics

| | sex | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|-------------------------|--------|----|-----------|----------------|-----------------|
| granzyme-b | male | 22 | .0197 | .03952 | .00907 |
| | female | 27 | .4294 | 1.11198 | .21808 |
| IL-10 | male | 22 | 20.7399 | 67.43786 | 15.47131 |
| | female | 27 | 18.2387 | 81.22549 | 15.92963 |
| IL-16 | male | 22 | 238.6169 | 315.63532 | 72.41171 |
| | female | 27 | 124.8661 | 168.11582 | 32.97023 |
| TNF-a | male | 22 | 54.1605 | 141.79939 | 32.53101 |
| | female | 27 | 229.6328 | 1069.31534 | 209.70999 |
| IgA | male | 22 | 215.9842 | 117.92299 | 27.05339 |
| | female | 27 | 271.7692 | 117.53444 | 23.05040 |
| IgM | male | 22 | 204.5474 | 289.64240 | 66.44852 |
| | female | 27 | 138.3000 | 80.56085 | 15.79928 |
| IgE | male | 22 | 271.3722 | 342.19400 | 80.65590 |
| | female | 27 | 169.7275 | 336.29138 | 68.64519 |
| CD3 (1000-2500) | male | 14 | 1172.5000 | 860.25513 | 229.91285 |
| | female | 19 | 976.8947 | 537.80189 | 123.38022 |
| CD4 (500-1500) | male | 14 | 676.5000 | 654.85580 | 175.01757 |
| | female | 19 | 561.7368 | 367.00860 | 84.19755 |
| CD4/CD8 (1.2-2.6) | male | 14 | 1.9621 | 2.11177 | .56440 |
| | female | 19 | 1.5184 | .69307 | .15900 |
| CD19 (100-500) | male | 14 | 282.7857 | 182.60010 | 48.80193 |
| | female | 19 | 218.7895 | 136.23125 | 31.25359 |
| total NK (60-600) | male | 14 | 357.5714 | 408.70785 | 109.23177 |
| | female | 19 | 194.8684 | 127.11498 | 29.16218 |
| IL-2 | male | 22 | 8.6688 | 2.17419 | .49879 |
| | female | 27 | 8.9322 | 2.53824 | .49779 |
| IgG | male | 22 | 1090.7368 | 310.77123 | 71.29581 |
| | female | 27 | 1048.4615 | 343.91734 | 67.44774 |
| C3 | male | 22 | 143.0000 | 44.42178 | 10.47031 |
| | female | 27 | 120.3462 | 43.45751 | 8.52272 |
| C4 | male | 22 | 24.6842 | 9.94458 | 2.28144 |
| | female | 27 | 22.6923 | 9.44783 | 1.85287 |
| Lymphocytes (1000-3500) | male | 17 | 1572.5882 | 942.97290 | 228.70452 |
| | female | 23 | 1392.6522 | 786.78833 | 164.05671 |
| CD8 (200-1000) | male | 14 | 402.3571 | 282.50108 | 75.50159 |
| | female | 19 | 405.2105 | 211.02516 | 48.41249 |

Πίνακας 41

Σύμφωνα με τους κατάλληλους ελέγχους στους πίνακες που ακολουθούν, προκύπτει ότι παρατηρούνται σημαντικά μεγαλύτερες τιμές **IgA** για τους άνδρες και σημαντικά

μεγαλύτερες τιμές **IgG** για τις γυναίκες. Τα p-values που προκύπτουν από το Mann Whitney test είναι 0.042 και 0.014 αντίστοιχα.

Independent Samples Test

| | | Levene's Test for Equality of Variances | | t-test for Equality of Means | | | | | | |
|----------------|-----------------------------|---|------|------------------------------|--------|-----------------|-----------------|-----------------------|---|----------|
| | | F | Sig. | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Std. Error Difference | 95% Confidence Interval of the Difference | |
| | | | | | | | | | Lower | Upper |
| IgG | Equal variances assumed | .471 | .496 | .424 | 47 | .674 | 42.2753 | 99.7343 | -158.85 | 243.4087 |
| | Equal variances not assumed | | | .431 | 40.995 | .669 | 42.2753 | 98.1442 | -155.93 | 240.4823 |
| C3 | Equal variances assumed | .409 | .526 | 1.685 | 47 | .099 | 22.6538 | 13.4454 | -4.4802 | 49.7879 |
| | Equal variances not assumed | | | 1.678 | 36.188 | .102 | 22.6538 | 13.5005 | -4.7215 | 50.0292 |
| C4 | Equal variances assumed | .005 | .943 | .683 | 47 | .498 | 1.99190 | 2.9152 | -3.8871 | 7.87098 |
| | Equal variances not assumed | | | .678 | 37.751 | .502 | 1.99190 | 2.93907 | -3.9592 | 7.94302 |
| CD8 (200-1000) | Equal variances assumed | .288 | .595 | -.033 | 31 | .974 | -2.8533 | 85.7892 | -177.82 | 172.1150 |
| | Equal variances not assumed | | | -.032 | 23.071 | .975 | -2.8533 | 89.6898 | -188.35 | 182.6525 |

Πίνακας 42

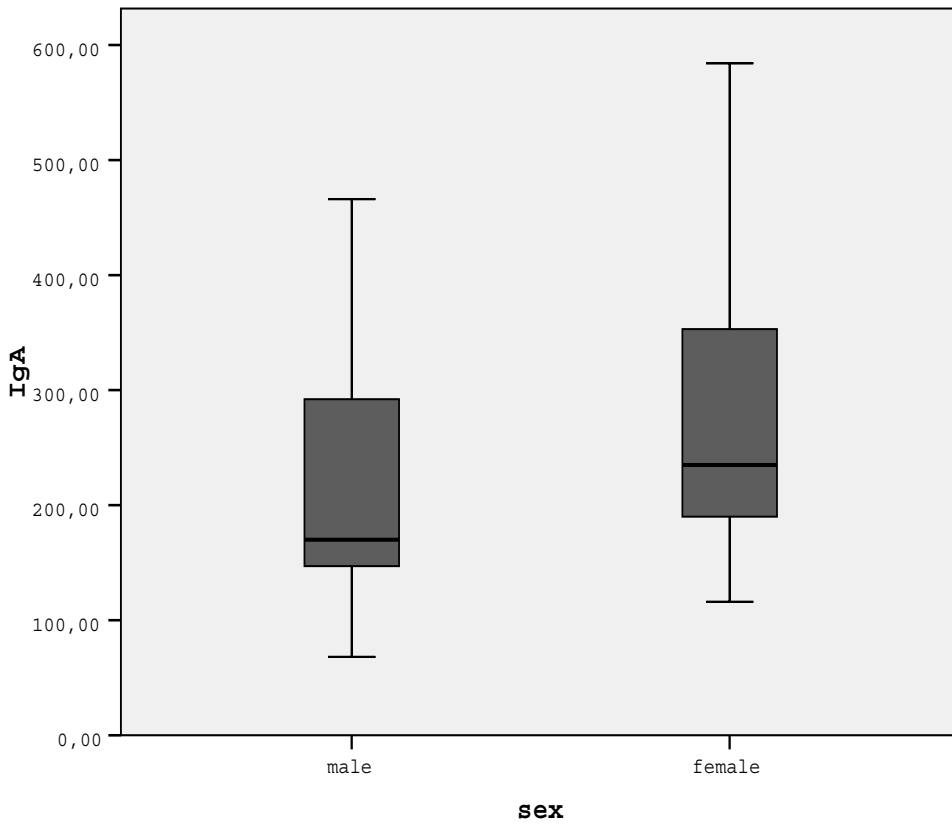
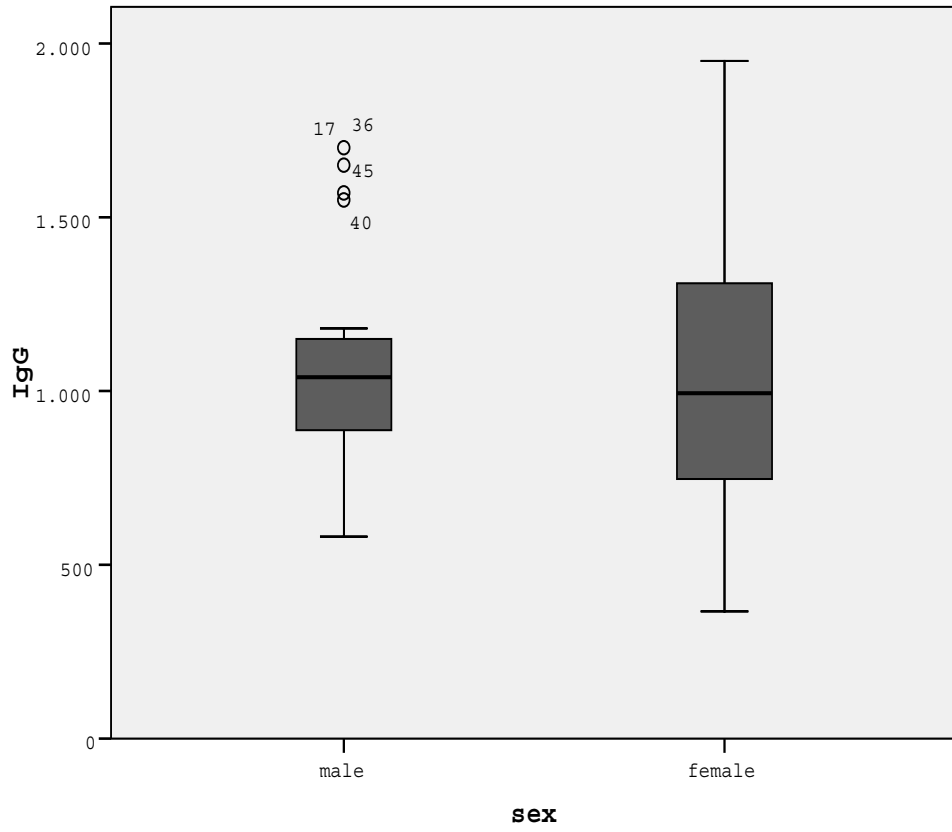
Test Statistics^b

| | Mann-Whitney U | Wilcoxon W | Z | Asymp. Sig. (2-tailed) | Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] |
|-------------------------|----------------|------------|--------|------------------------|--------------------------------|
| granzyme-b | 211.000 | 401.000 | -.921 | .357 | |
| IL-2 | 233.000 | 423.000 | -.322 | .748 | |
| IL-10 | 228.000 | 579.000 | -.800 | .424 | |
| IL-16 | 203.500 | 554.500 | -1.000 | .317 | |
| TNF-a | 237.000 | 427.000 | -.230 | .818 | |
| IgA | 158.500 | 348.500 | -2.034 | .042 | |
| IgM | 197.500 | 548.500 | -1.138 | .255 | |
| IgE | 119.000 | 419.000 | -2.465 | .014 | |
| Lymphocytes (1000-3500) | 174.500 | 450.500 | -.575 | .565 | .570 ^a |
| CD3 (1000-2500) | 114.000 | 304.000 | -.692 | .489 | .506 ^a |
| CD4 (500-1500) | 130.000 | 235.000 | -.109 | .913 | .928 ^a |
| CD4/CD8 (1.2-2.6) | 124.500 | 229.500 | -.310 | .757 | .760 ^a |
| CD19 (100-500) | 109.000 | 299.000 | -.874 | .382 | .397 ^a |
| total NK (60-600) | 99.000 | 289.000 | -1.239 | .215 | .226 ^a |

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: sex

Πίνακας 43



Από τους ελέγχους συσχετίσεων που διεξάγονται, μεταξύ της ηλικίας και των υπόλοιπων συνεχών μεταβλητών, με το συντελεστή συσχέτισης του Pearson αλλά και με το συντελεστή συσχέτισης Spearman's Rho, αντίστοιχα στους δύο ακόλουθους πίνακες, φαίνεται ότι μεγαλύτερες ηλικίες αντιστοιχούν σε χαμηλότερες τιμές της IL-2 ($p=0.033$). Το αποτέλεσμα αυτό όμως δεν επαληθεύεται από το 2^ο πίνακα ($p=0.140$). Η σχέση μεταξύ ηλικίας και IL-2 φαίνεται και στο γράφημα από το οποίο προκύπτει ότι η συσχέτιση οφείλεται στις τιμές της IL-2 που είναι μεγαλύτερες από 11, αφαίρεση των οποίων αλλάζει και τη σημαντικότητα που εντοπίστηκε από το συντελεστή Pearson. Πιο αξιόπιστη συνεπώς θεωρείται η p -value =0.140 σύμφωνα με την οποία στα δεδομένα της μελέτης δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ ηλικίας και IL-2 και τελικά με καμία από τις καταγεγραμμένες μεταβλητές.

Correlations

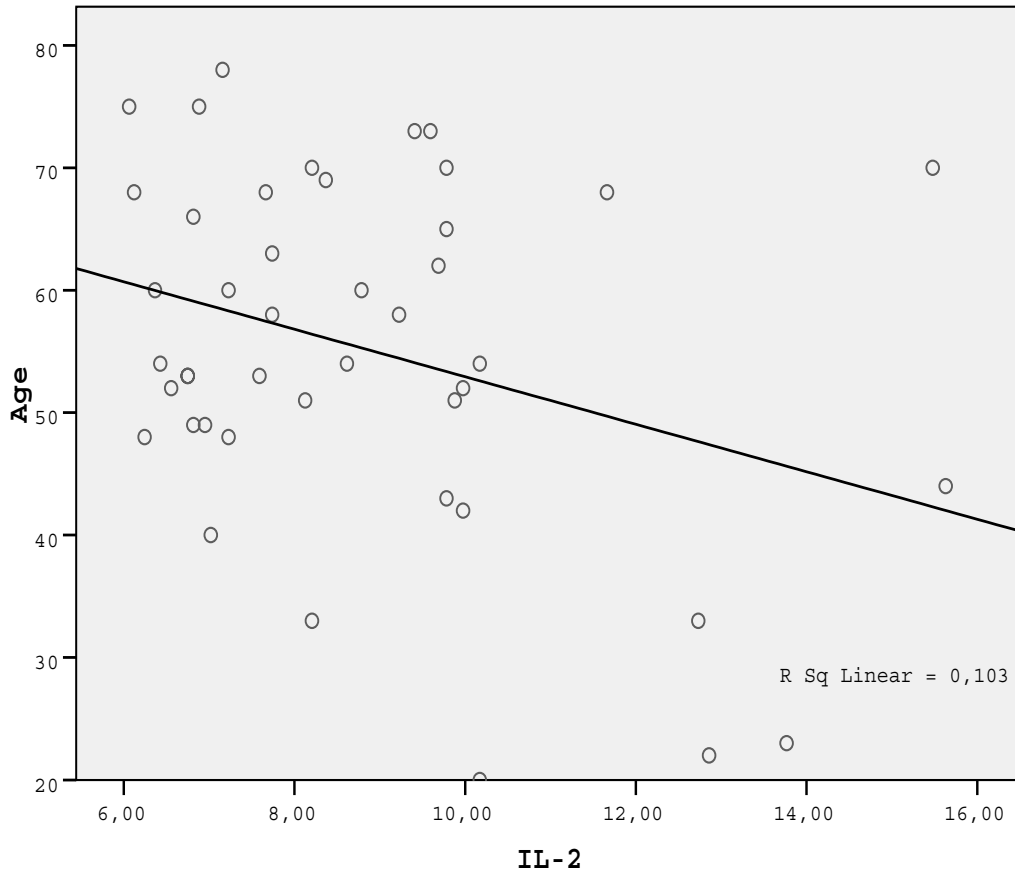
| Age | Pearson Correlation | Sig. (2-tailed) | N |
|-------------------------|---------------------|-----------------|----|
| Age | 1 | | 45 |
| granzyme-b | .026 | .865 | 44 |
| IL-2 | -.322* | .033 | 44 |
| IL-10 | -.056 | .720 | 44 |
| IL-16 | .140 | .365 | 44 |
| TNF-a | -.034 | .825 | 44 |
| IgA | .186 | .226 | 44 |
| IgG | .022 | .885 | 44 |
| IgM | .093 | .550 | 44 |
| IgE | -.007 | .967 | 41 |
| C3 | -.064 | .682 | 43 |
| C4 | .010 | .949 | 44 |
| Lymphocytes (1000-3500) | -.040 | .806 | 40 |
| CD3 (1000-2500) | -.064 | .725 | 33 |
| CD4 (500-1500) | .032 | .860 | 33 |
| CD8 (200-1000) | -.093 | .606 | 33 |
| CD4/CD8 (1.2-2.6) | .179 | .319 | 33 |
| CD19 (100-500) | .003 | .987 | 33 |
| total NK (60-600) | -.050 | .784 | 33 |

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Correlations

| Age | | Correlation Coefficient | Sig. (2-tailed) | N |
|----------------|-------------------------|-------------------------|-----------------|----|
| Spearman's rho | Age | 1.000 | . | 49 |
| | granzyme-b | -.089 | .564 | 48 |
| | IL-2 | -.226 | .140 | 48 |
| | IL-10 | -.089 | .564 | 48 |
| | IL-16 | .193 | .209 | 48 |
| | TNF-a | -.089 | .564 | 48 |
| | IgA | .218 | .155 | 48 |
| | IgG | .220 | .152 | 48 |
| | IgM | .047 | .764 | 48 |
| | IgE | -.146 | .362 | 48 |
| | C3 | -.082 | .602 | 48 |
| | C4 | .013 | .936 | 48 |
| | Lymphocytes (1000-3500) | -.045 | .784 | 48 |
| | CD3 (1000-2500) | -.092 | .610 | 33 |
| | CD4 (500-1500) | -.057 | .752 | 33 |
| | CD8 (200-1000) | -.103 | .568 | 33 |
| | CD4/CD8 (1.2-2.6) | .076 | .674 | 33 |
| | CD19 (100-500) | -.137 | .448 | 33 |
| | total NK (60-600) | -.147 | .415 | 33 |

Πίνακας 45



Από τους έλεγχους που έγιναν προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάλογα με το φύλο για τις **IgG** και **IgA**.

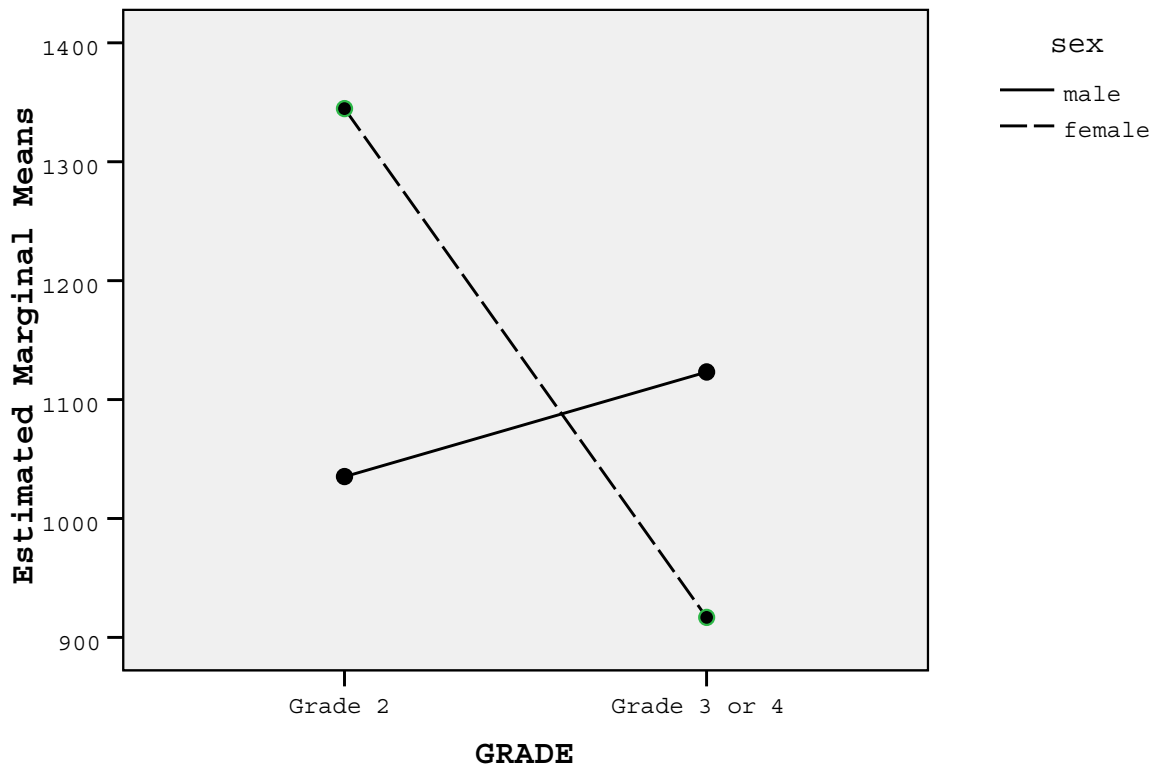
Η πολυμεταβλητή ανάλυση (GLM) για το IgG έδειξε ότι στατιστικά σημαντική είναι η διαφορά στις τιμές του IgG για τους ασθενείς με Grade 2 και τους ασθενείς με grade 3 ή 4 ($p=0.039$) και όχι το φύλο ($p=0.64$) αλλά η αλληλεπίδραση του grade με το φύλο. Φαίνεται συγκεκριμένα ότι οι γυναίκες με grade 3 ή 4 διαφέρουν από τις γυναίκες με grade 2 ($p=0.0085$) ενώ για τους άνδρες δεν εντοπίζεται διαφορά μεταξύ των δύο κατηγοριών grade

($p=0.92$). Τα παραπάνω φαίνονται στους πίνακες που ακολουθούν και απεικονίζονται στο ακόλουθο γράφημα.

| Tukey HSD test; variable IgG Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MSE = 88944., df = 41.000 | | | |
|--|--------------|----------|----------|
| Cell No. | Grade2 | {1} | {2} |
| | | 1200.3 | 999.33 |
| 1 | Grade 2 | | 0.039271 |
| 2 | Grade 3 or 4 | 0.039271 | |

| Tukey HSD test; variable IgG Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MSE = 88944., df = 41.000 | | | |
|--|--------|----------|----------|
| Cell No. | gender | {1} | {2} |
| | | 1090.7 | 1048.5 |
| 1 | male | | 0.641204 |
| 2 | female | 0.641204 | |

| Tukey HSD test; variable IgG Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MSE = 88944., df = 41.000 | | | | | | |
|--|--------|--------------|----------|----------|----------|----------|
| Cell No. | gender | Grade2 | {1} | {2} | {3} | {4} |
| | | | 1035.1 | 1123.2 | 1344.8 | 916.78 |
| 1 | male | Grade 2 | | 0.924979 | 0.202603 | 0.809589 |
| 2 | male | Grade 3 or 4 | 0.924979 | | 0.374829 | 0.262411 |
| 3 | female | Grade 2 | 0.202603 | 0.374829 | | 0.008545 |
| 4 | female | Grade 3 or 4 | 0.809589 | 0.262411 | 0.008545 | |

Estimated Marginal Means of IgG

Γράφημα 25

Στη συνέχεια επαναλαμβάνουμε τη στατιστική μας ανάλυση σχετικά με τις διαφορές στις τιμές ανάμεσα στις 2 υποομάδες μας (υψηλής και χαμηλής κακοήθειας γλοιώματα), ελέγχοντας για ηλικία και φύλο κάθε φορά.

Παρατηρούμε ότι οι διαφορές που διαπιστώσαμε προηγουμένως παραμένουν στατιστικά σημαντικές.

Επιπρόσθετα, διαπιστώνουμε μια ακόμα παράμετρο, τον αριθμό CD8 στον ορό του αίματος, που διαφέρει πλέον στατιστικά σημαντικά ανάμεσα στις 2 υποομάδες (Πίνακας Γ).

Πίνακας Γ

Σημαντικές διαφορές ανάμεσα σε ΧΚΓ και ΥΚΓ προσαρμοσμένες σε ηλικία και φύλο.

| Μεταβλητή | ΧΚΓ* | ΥΚΓ** | p value | p value*** |
|-----------------------|--------|-------|--------------|--------------|
| | μ.ο | μ.ο | | |
| IL2 pg/ml | 10.21 | 8.12 | 0.025 | 0.018 |
| C4 mg/dl | 27.5 | 21.5 | 0.050 | 0.020 |
| IgG mg/dl | 1200.3 | 999.3 | 0.050 | 0.050 |
| CD3 c/mm ³ | 1515.4 | 862.0 | 0.013 | 0.011 |
| CD4 c/mm ³ | 914.2 | 478.0 | 0.006 | 0.015 |
| CD8 c/mm ³ | 536.0 | 346.6 | 0.115 | 0.048 |
| CD4/CD8 | 1.94 | 1.61 | 0.025 | 0.027 |

*χαμηλής κακοήθειας γλοίωμα, **υψηλής κακοήθειας γλοίωμα,

*** p value προσαρμοσμένες σε ηλικία και φύλο

3.5.2.ΠΟΛΥΜΕΤΑΒΛΗΤΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Από τη λογιστική παλινδρόμηση φαίνεται ότι η καλύτερη δυνατή πρόβλεψη για το Grade ενός ασθενούς μπορεί να προκύψει από το παρακάτω μοντέλο. Στο μοντέλο αυτό στατιστικά σημαντικοί είναι οι παράγοντες CD4 και IL 2. Η προσαρμογή του μοντέλου είναι επαρκής (Πίνακες 46 και 47) και με βάση τις δύο αυτές παραμέτρους κατηγοριοποιείται σωστά το 84.4% των ασθενών που καταγράφηκαν (Πίνακας 48). Τα p-values για CD4 και IL2 είναι 0.031 και 0.030 αντίστοιχα (Πίνακας 49). Από τον ίδιο πίνακα προκύπτει ότι για κάθε εκατό μονάδες αύξησης του CD4 αυξάνεται κατά 20% περίπου η πιθανότητα να έχει κάποιος ασθενής grade 2 σε σχέση με το να έχει grade 3 ή 4. Ανάλογα για κάθε μία μονάδα αύξησης της IL2 αυξάνεται κατά 67% περίπου η πιθανότητα να έχει κάποιος ασθενής grade 2 σε σχέση με το να έχει grade 3 ή 4.

Model Summary

| Step | -2 Log likelihood | Cox & Snell R Square | Nagelkerke R Square |
|------|---------------------|----------------------|---------------------|
| 1 | 34.000 ^a | .164 | .231 |
| 2 | 28.392 ^b | .299 | .420 |

Πίνακας 46

Hosmer and Lemeshow Test

| Step | Chi-square | df | Sig. |
|------|------------|----|------|
| 1 | 8.931 | 8 | .348 |
| 2 | 8.119 | 8 | .422 |

Πίνακας 47

Classification Table ^a

| Observed | | | Predicted | | |
|----------|--------------------|--------------|-----------|--------------|--------------------|
| | | | GRADE | | Percentage Correct |
| | | | Grade 2 | Grade 3 or 4 | |
| Step 1 | GRADE | Grade 2 | 4 | 6 | 40.0 |
| | | Grade 3 or 4 | 1 | 21 | 95.5 |
| | Overall Percentage | | | | 78.1 |
| Step 2 | GRADE | Grade 2 | 7 | 3 | 70.0 |
| | | Grade 3 or 4 | 2 | 20 | 90.9 |
| | Overall Percentage | | | | 84.4 |

a. The cut value is .500

Πίνακας 48

Variables in the Equation

| | B | S.E. | Wald | df | Sig. | Exp(B) | 95.0% C.I. for EXP(B) | | |
|--------|----------|--------|-------|-------|------|--------|-----------------------|-------|-------|
| | | | | | | | Lower | Upper | |
| Step 1 | IL2 | .518 | .238 | 4.716 | 1 | .030 | 1.678 | 1.052 | 2.678 |
| | CD4 | .002 | .001 | 4.626 | 1 | .031 | 1.002 | 1.000 | 1.004 |
| | Constant | -6.922 | 2.514 | 7.583 | 1 | .006 | .001 | | |

a. Variable(s) entered on step 1: IL2, CD4.

Πίνακας 49

Οι μεταβλητές **CD4** και **IL2**, αποτελούν ισχυρούς παράγοντες πρόβλεψης του **grade**.

3.6. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΤΩΝ ΓΛΟΙΟΒΛΑΣΤΩΜΑΤΩΝ

Μετά τη συσχέτιση των τιμών με το βαθμό κακοήθειας του όγκου επιχειρείται η συσχέτιση των αποτελεσμάτων μας με την επιβίωση των ασθενών. Για το σκοπό αυτό μελετήσαμε τους ασθενείς με γλοιοβλαστώματα, που έχουν τόσο πτωχό προσδόκιμο επιβίωσης, που να επιτρέπει την εξαγωγή των αντίστοιχων στατιστικών συμπερασμάτων μετά από κλινική παρακολούθηση που διήρκησε στο μέγιστο της όσο διήρκησε και η εκπόνηση της διατριβής. Η μελέτη των αναπλαστικών αστροκυττωμάτων και πόσο μάλλον των χαμηλής κακοήθειας γλοιωμάτων δε θα μπορούσε να ολοκληρωθεί και να οδηγήσει σε στατιστικά σημαντικά συμπεράσματα λόγω του αισθητά μεγαλύτερου προσδόκιμου επιβίωσης, που υπερβαίνει το χρόνο εκπόνησης της διατριβής.

Για κάθε παράμετρο του ανοσολογικού συστήματος καθορίσαμε 2 υποομάδες σύγκρισης (με τιμές άνω και κάτω του μέσου όρου της αντίστοιχης παραμέτρου).

Στη συνέχεια έγινε έλεγχος μέσω μεθόδου Kaplan-Meier τυχούσας συσχέτισης των υποομάδων για IgG, IgM, IgA, IgE, IL2, IL10, IL16, TNF-a, Granz.b, C3, C4, CD3, CD4, CD4/CD8, CD8, CD56 με την επιβίωση.

Δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των αντίστοιχων τιμών και της επιβίωσης των ασθενών με γλοιοβλαστώματα.

Στη συνέχεια συγκρίναμε τους ασθενείς που ήταν ισχυρά ανοσοκατασταλμένοι με αριθμό Τ-βοηθητικών κυττάρων κάτω από 200 ανά μλ με ασθενείς με μεγαλύτερο αριθμό Τ-βοηθητικών κυττάρων και βρήκαμε μια πολύ **ισχυρή συσχέτιση (p=0.001)** σε βάρος των ανοσοκατασταλμένων ασθενών.

Παρακάτω παρουσιάζουμε αναλυτικά τα αποτελέσματά μας.

Case Processing Summary

| CD4unde r200 | Total N | N of Events | Censored | |
|-----------------|---------|-------------|----------|---------|
| | | | N | Percent |
| ,00 | 4 | 4 | 0 | ,0% |
| 1,00 | 13 | 11 | 2 | 15,4% |
| Overall | 17 | 15 | 2 | 11,8% |

Means and Medians for Survival Time

| CD4unde r200 | Mean ^a | | | | Median | | | |
|-----------------|-------------------|------------|-------------------------|-------------|----------|------------|-------------------------|-------------|
| | Estimate | Std. Error | 95% Confidence Interval | | Estimate | Std. Error | 95% Confidence Interval | |
| | | | Lower Bound | Upper Bound | | | Lower Bound | Upper Bound |
| | ,00 | 5,500 | ,645 | 4,235 | 6,765 | 5,000 | 1,000 | 3,040 |
| 1,00 | 14,221 | 2,104 | 10,097 | 18,345 | 13,000 | ,877 | 11,281 | 14,719 |
| Overall | 12,169 | 1,845 | 8,554 | 15,785 | 12,000 | 3,382 | 5,371 | 18,629 |

a. Estimation is limited to the largest survival time if it is censored.

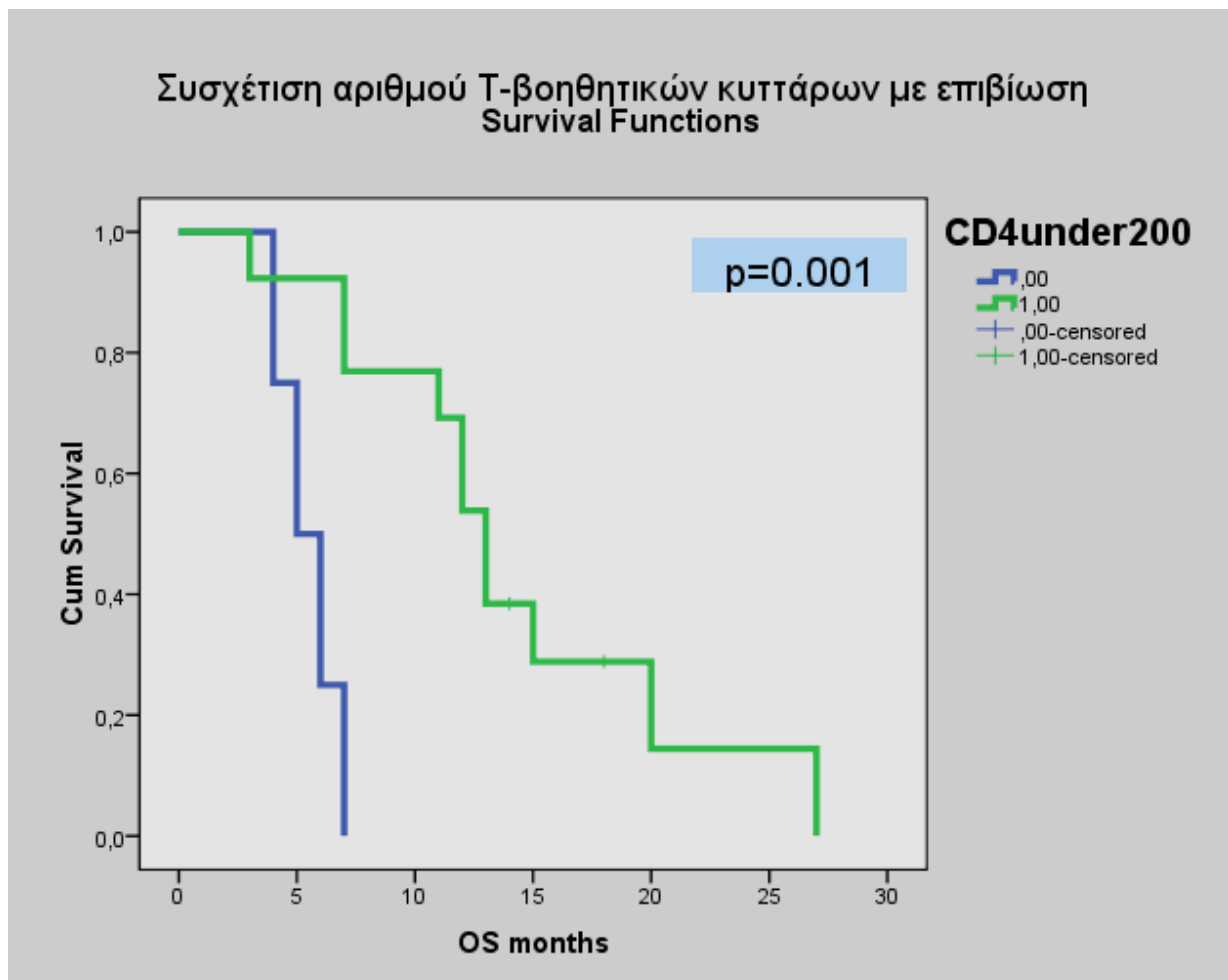
Overall Comparisons

| | Chi-Square | df | Sig. |
|-----------------------|------------|----|------|
| Log Rank (Mantel-Cox) | 10,454 | 1 | ,001 |

Overall Comparisons

| | Chi-Square | df | Sig. |
|-----------------------|------------|----|------|
| Log Rank (Mantel-Cox) | 10,454 | 1 | ,001 |

Test of equality of survival distributions for the different levels of CD4under200.



Kaplan-Meier που παριστάνει γραφικά ότι οι ασθενείς με αριθμό CD4 θετικών κυττάρων κάτω από 200/μl (μπλε γραμμή) έχουν σημαντικά πτωχότερη επιβίωση (p value=0.001).

3.7. ΚΛΙΝΙΚΟΙ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΤΩΝ ΓΛΟΙΟΒΛΑΣΤΩΜΑΤΩΝ

3.7.1. ΜΟΝΟΜΕΤΑΒΛΗΤΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

3.7.1.1.ΕΠΙΒΙΩΣΗ

Η επιβίωση των ασθενών μας με διάγνωση γλοιοβλαστώματος φαίνεται στον παρακάτω πίνακα.

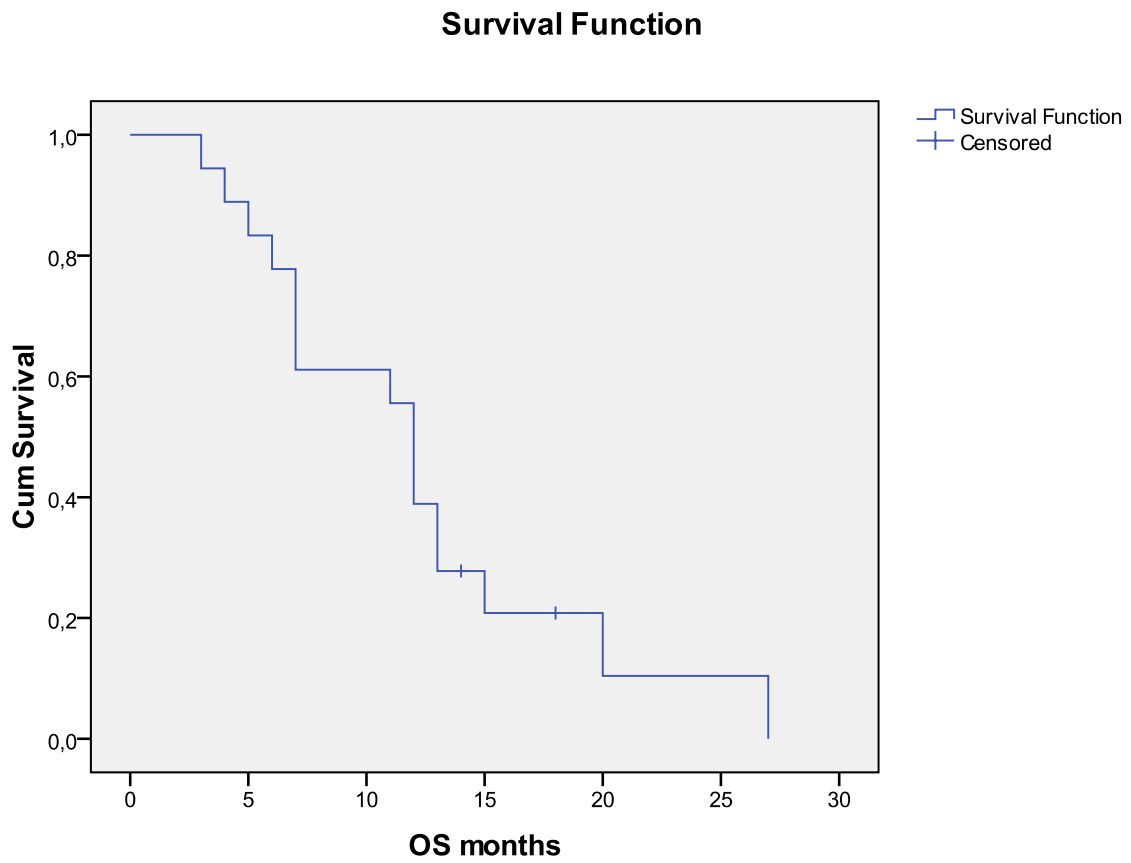
Means and Medians for Survival Time

| Mean ^a | | | | Median | | | |
|-------------------|------------|-------------------------|-------------|----------|------------|-------------------------|-------------|
| Estimate | Std. Error | 95% Confidence Interval | | Estimate | Std. Error | 95% Confidence Interval | |
| | | Lower Bound | Upper Bound | | | Lower Bound | Upper Bound |
| 12,160 | 1,738 | 8,753 | 15,567 | 12,000 | ,689 | 10,649 | 13,351 |

a. Estimation is limited to the largest survival time if it is censored.

Οι ασθενείς της μελέτης μας παρουσίασαν μέσο όρο επιβίωσης 12,16 μήνες (8,75-15,56), ενώ ο διάμεσος ήταν 12 μήνες (10,65-13,35).

Η παρακάτω καμπύλη Kaplan-Meier απεικονίζει γραφικά την επιβίωση των ασθενών από την ημέρα της χειρουργείου.



3.7.1.2. ΗΛΙΚΙΑ

Συγκρίναμε τους ασθενείς κάτω και άνω των 60 ετών (μ.ο των ασθενών με γλοιοβλαστώματα) σχετικά με την επιβίωσή τους. Παρακάτω φαίνονται τα στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα $p=0.020$, με τους νεαρότερους ασθενείς να έχουν καλύτερο προσδόκιμο επιβίωσης.

Case Processing Summary

| ageover60 | Total N | N of Events | Censored | |
|-----------|---------|-------------|----------|---------|
| | | | N | Percent |
| ,00 | 10 | 8 | 2 | 20,0% |
| 1,00 | 8 | 8 | 0 | 0,0% |
| Overall | 18 | 16 | 2 | 11,1% |

Means and Medians for Survival Time

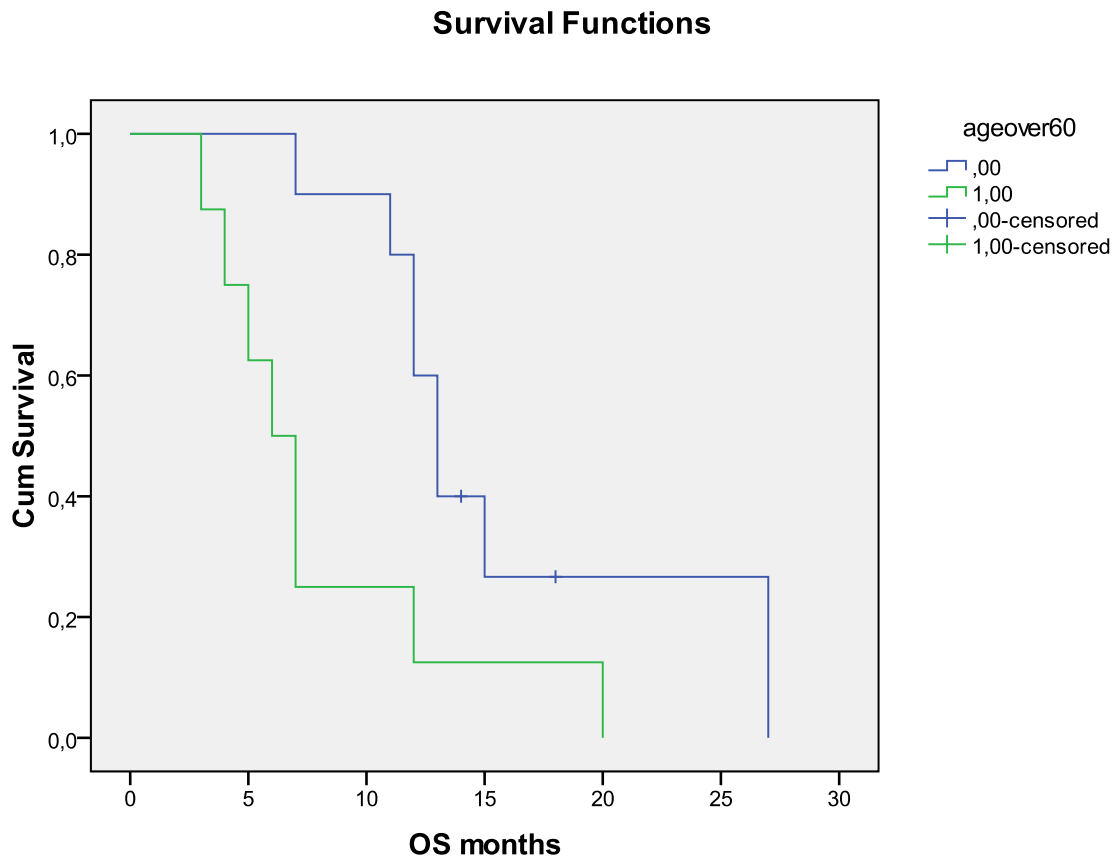
| ageover60 | Mean ^a | | | | Median | | | |
|-----------|-------------------|------------|-------------------------|-------------|----------|------------|-------------------------|-------------|
| | Estimate | Std. Error | 95% Confidence Interval | | Estimate | Std. Error | 95% Confidence Interval | |
| | | | Lower Bound | Upper Bound | | | Lower Bound | Upper Bound |
| ,00 | 16,000 | 2,444 | 11,210 | 20,790 | 13,000 | ,775 | 11,482 | 14,518 |
| 1,00 | 8,000 | 1,964 | 4,151 | 11,849 | 6,000 | ,943 | 4,152 | 7,848 |
| Overall | 12,160 | 1,738 | 8,753 | 15,567 | 12,000 | ,689 | 10,649 | 13,351 |

a. Estimation is limited to the largest survival time if it is censored.

Overall Comparisons

| | Chi-Square | df | Sig. |
|-----------------------|------------|----|------|
| Log Rank (Mantel-Cox) | 5,383 | 1 | ,020 |

Test of equality of survival distributions for the different levels of ageover60.



Καμπύλη Kaplan-Meier που απεικονίζει την καλύτερη επιβίωση των ασθενών που είναι νεότεροι από 60 ετών συγκριτικά με τους γηραιότερους (p value=0.020).

3.7.1.3. ΕΥΡΟΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΑΦΑΙΡΕΣΗΣ

Συγκρίναμε τους ασθενείς στους οποίους διενεργήθηκε χειρουργική μερική ή ολική αφαίρεση του όγκου με τους ασθενείς στους οποίους διενεργήθηκε μια στερεοτακτική βιοψία για τη διάγνωση του βαθμού κακοήθειας του όγκου. Οι πρώτοι ασθενείς έχουν καλύτερη επιβίωση με $p=0.042$. Περαιτέρω σύγκριση ασθενών με ολική και ασθενών με μερική χειρουργική αφαίρεση δεν κατέστη δυνατή, για το λόγο ότι δεν υπήρχε σε όλους τους ασθενείς αυτούς μια μετεγχειρητική μαγνητική με T2 Flair ακολουθία μέσα στο 1^ο τρίμηνο, ώστε να διαπιστώσουμε το εύρος της αφαίρεσης.

Case Processing Summary

| resection | Total N | N of Events | Censored | |
|-----------|---------|-------------|----------|---------|
| | | | N | Percent |
| ,00 | 2 | 2 | 0 | ,0% |
| 1,00 | 16 | 14 | 2 | 12,5% |
| Overall | 18 | 16 | 2 | 11,1% |

Means and Medians for Survival Time

| resection | Mean ^a | | | | Median | | | |
|-----------|-------------------|------------|-------------------------|-------------|----------|------------|-------------------------|-------------|
| | Estimate | Std. Error | 95% Confidence Interval | | Estimate | Std. Error | 95% Confidence Interval | |
| | | | Lower Bound | Upper Bound | | | Lower Bound | Upper Bound |
| ,00 | 5,500 | 1,500 | 2,560 | 8,440 | 4,000 | . | . | . |
| 1,00 | 12,992 | 1,850 | 9,366 | 16,618 | 12,000 | ,661 | 10,704 | 13,296 |
| Overall | 12,160 | 1,738 | 8,753 | 15,567 | 12,000 | ,689 | 10,649 | 13,351 |

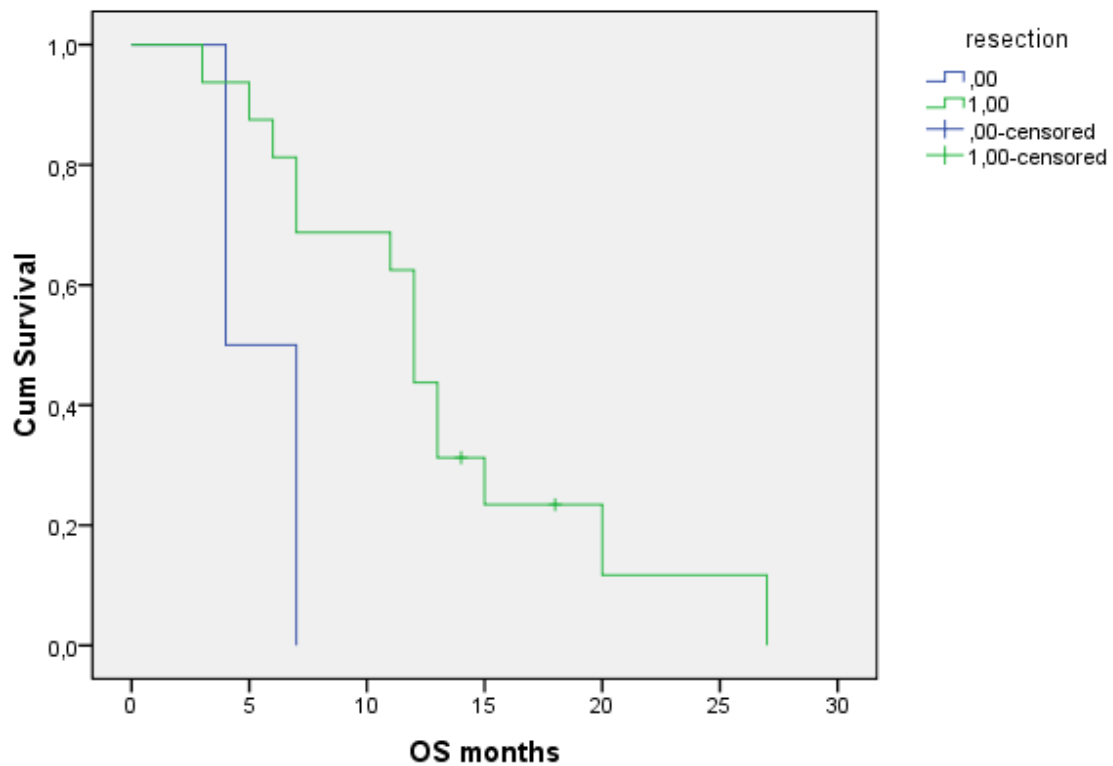
a. Estimation is limited to the largest survival time if it is censored.

Overall Comparisons

| | Chi-Square | df | Sig. |
|-----------------------|------------|----|------|
| Log Rank (Mantel-Cox) | 4,146 | 1 | ,042 |

Test of equality of survival distributions for the different levels of resection.

Survival Functions



Καμπύλη Kaplan-Meier που καταδεικνύει την καλύτερη επιβίωση ασθενών, που υπέστησαν χειρουργική αφαίρεση (πράσινη γραμμή) σε σύγκριση με ασθενείς με στερεοτακτική βιοψία (μπλε γραμμή) (p value= 0.042).

3.7.1.4. ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ

Ομοίως, συγκρίναμε την επιβίωση ασθενών που δέχθηκαν μετεγχειρητικά χημειοθεραπεία με αυτούς που για κάποιον λόγο δε δέχθηκαν. Οι πρώτοι υπερεβίωσαν στατιστικά των τελευταίων $p=0.028$.

Case Processing Summary

| chemotherapy | Total N | N of Events | Censored | |
|--------------|---------|-------------|----------|---------|
| | | | N | Percent |
| ,00 | 5 | 5 | 0 | 0,0% |
| 1,00 | 8 | 6 | 2 | 25,0% |
| Overall | 13 | 11 | 2 | 15,4% |

Means and Medians for Survival Time

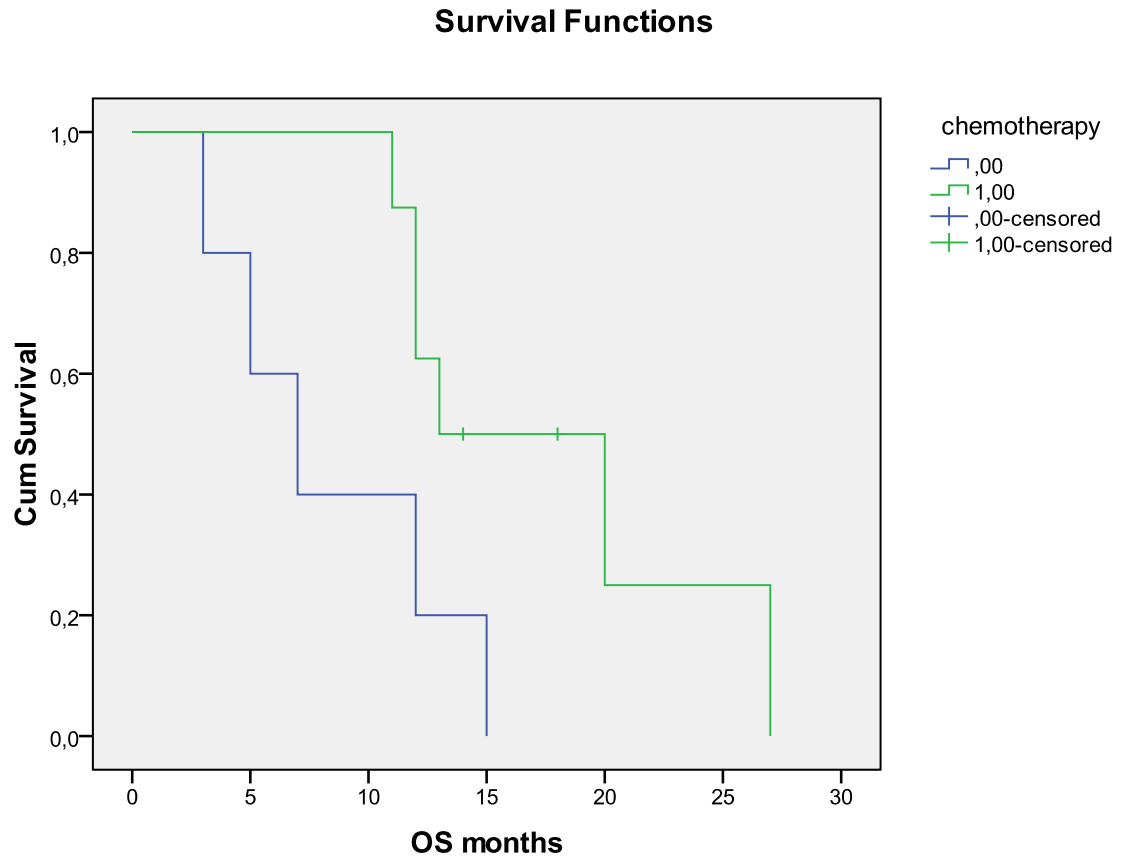
| chemotherapy | Mean ^a | | | | Median | | | |
|--------------|-------------------|------------|-------------------------|-------------|----------|------------|-------------------------|-------------|
| | Estimate | Std. Error | 95% Confidence Interval | | Estimate | Std. Error | 95% Confidence Interval | |
| | | | Lower Bound | Upper Bound | | | Lower Bound | Upper Bound |
| ,00 | 8,400 | 2,227 | 4,035 | 12,765 | 7,000 | 2,191 | 2,706 | 11,294 |
| 1,00 | 17,750 | 2,614 | 12,626 | 22,874 | 13,000 | 3,771 | 5,608 | 20,392 |
| Overall | 13,990 | 2,158 | 9,760 | 18,221 | 12,000 | ,899 | 10,239 | 13,761 |

a. Estimation is limited to the largest survival time if it is censored.

Overall Comparisons

| | Chi-Square | df | Sig. |
|-----------------------|------------|----|------|
| Log Rank (Mantel-Cox) | 4,849 | 1 | ,028 |

Test of equality of survival distributions for the different levels of chemotherapy.



Καμπύλη Kaplan-Meier που απεικονίζει ότι οι ασθενείς στους οποίους διενεργήθηκε μετεγχειρητικά χημειοθεραπεία (πράσινη γραμμή) επιβιώνουν περισσότερο σε σχέση με τους ασθενείς χωρίς χημειοθεραπεία (μπλε γραμμή) (p value=0.028).

3.7.1.5. ΑΚΤΙΝΟΘΕΡΑΠΕΙΑ

Συγκρίναμε ασθενείς που δέχθηκαν μετά το χειρουργείο ακτινοθεραπεία με αυτούς που δε δέχθηκαν. Οι πρώτοι έχουν καλύτερο προσδόκιμο επιβίωσης με $p=0.002$.

Case Processing Summary

| radiotherapy | Total N | N of Events | Censored | |
|--------------|---------|-------------|----------|---------|
| | | | N | Percent |
| ,00 | 2 | 2 | 0 | 0,0% |
| 1,00 | 11 | 9 | 2 | 18,2% |
| Overall | 13 | 11 | 2 | 15,4% |

Means and Medians for Survival Time

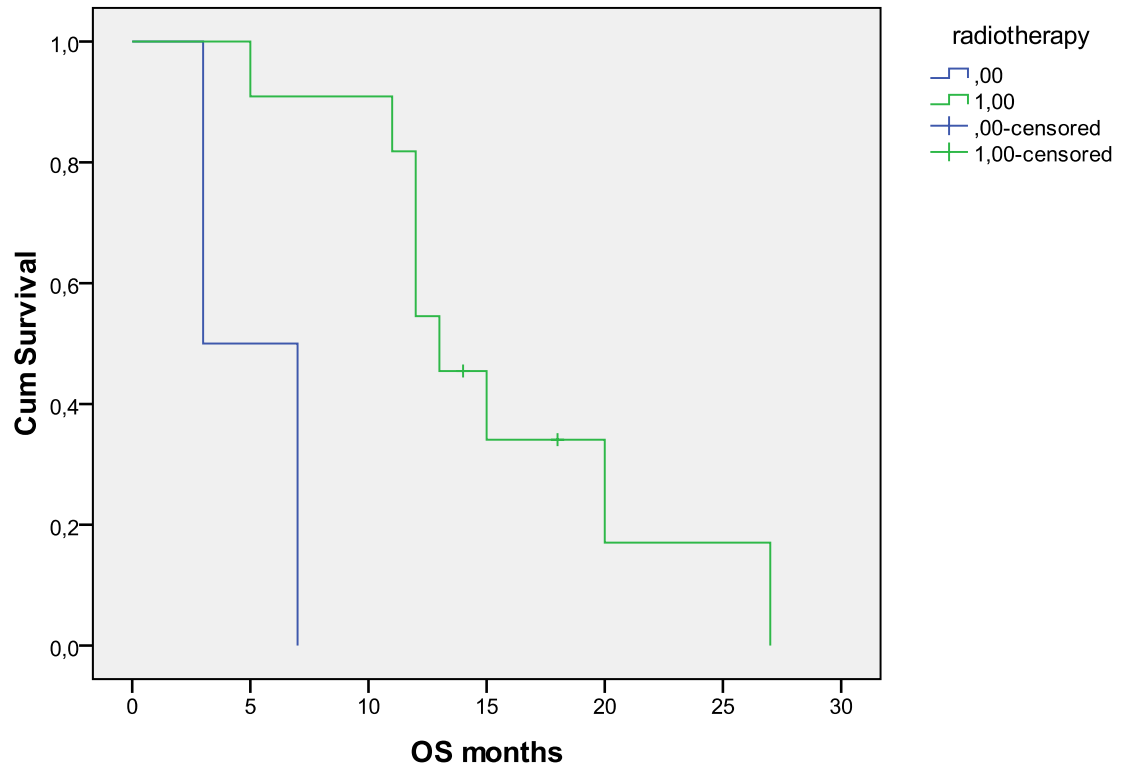
| radiotherapy | Mean ^a | | | | Median | | | |
|--------------|-------------------|------------|-------------------------|-------------|----------|------------|-------------------------|-------------|
| | Estimate | Std. Error | 95% Confidence Interval | | Estimate | Std. Error | 95% Confidence Interval | |
| | | | Lower Bound | Upper Bound | | | Lower Bound | Upper Bound |
| ,00 | 5,000 | 2,000 | 1,080 | 8,920 | 3,000 | . | . | . |
| 1,00 | 15,625 | 2,192 | 11,329 | 19,921 | 13,000 | 1,258 | 10,534 | 15,466 |
| Overall | 13,990 | 2,158 | 9,760 | 18,221 | 12,000 | ,899 | 10,239 | 13,761 |

a. Estimation is limited to the largest survival time if it is censored.

Overall Comparisons

| | Chi-Square | df | Sig. |
|-----------------------|------------|----|------|
| Log Rank (Mantel-Cox) | 9,665 | 1 | ,002 |

Test of equality of survival distributions for the different levels of radiotherapy.

Survival Functions

Καμπύλη Kaplan-Meier που απεικονίζει την καλύτερη επιβίωση ασθενών που υποβλήθηκαν μετεγχειρητικά σε ακτινοθεραπεία (πράσινη γραμμή) σε σχέση με αυτούς που δεν υποβλήθηκαν (μπλε γραμμή) (p value= 0.002).

3.7.2. ΠΟΛΥΜΕΤΑΒΛΗΤΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Διενεργήσαμε μια πολυμεταβλητή ανάλυση Cox Regression Hazard Models backward stepwise procedure όπου ως ανεξάρτητες μεταβλητές ορίσαμε την ηλικία άνω και κάτω των 60 ετών, τη χειρουργική αφαίρεση έναντι της λήψης στερεοτακτικής βιοψίας, την υποβολή ή όχι σε συμπληρωματική μετεγχειρητική χημειοθεραπεία ή/καί ακτινοθεραπεία, το Karnofsky score άνω και κάτω του 80%, την ύπαρξη ή όχι επιληψίας προεγχειρητικά, τον αριθμό CD4 θετικών κυττάρων άνω και κάτω των 200 ανά μl, το φύλο και την εντόπιση του όγκου.

Ως ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες στο δείγμα μας βρέθηκαν η εφαρμογή χημειοθεραπείας με $p=0.041$ και ο αριθμός των CD4 θετικών κυττάρων με $p=0.034$.

3.8. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η μελέτη του ανοσολογικού προφίλ ασθενών με γλοιώματα εγκεφάλου προκαλεί αδιαμφισβήτητο ενδιαφέρον κυρίως λόγω του υποσχόμενου ρόλου της ανοσοθεραπείας, ως συμπληρωματικής μεθόδου θεραπείας (Mitschell D et al 2008). Ελλείψεις στην ανοσία των ασθενών αυτών είναι καλά καταγεγραμμένες εδώ και τρεις δεκαετίες. Μία στροφή προς αντίδραση Th2 τύπου κυτταροκινών, μειωμένος αριθμός CD4+ κυττάρων και παραλλαγές στην επιβραδυνόμενη τύπου υπερευαισθησία είναι γνωστές (Dix AR et al 1999, Tada M et al 1996, Zisakis A et al 2007). Ωστόσο, αμφισβητήσιμο παραμένει το status των ανοσοσφαιρινών, του συμπληρώματος, της δράσης των β λεμφοκυττάρων και του καταρράκτη της απόπτωσης (Gasque P et al 1992 and 1993, Weiss JF et al 1979, Manjula S et al 1992, Hekim N et al 1981, Yuceer N et al 2000, Nakao S et al 1977, McIlroy D et al 2003). Επιπλέον έχουν δημοσιευθεί πολλές αντικρουόμενες μελέτες σχετικά με τον ρόλο διαφόρων μικροβιολογικών παραγόντων στο σχηματισμό του γλοιώματος (Cobbs CS et al 2008 and 2002, Lau S et al 2005, Wrench M et al 2005 and 2001, Reuter JD et al 2004, van den Pol AN et al 2002). Μέχρι στιγμής, δεν υπάρχουν σχετικές μελέτες βασισμένες στη θέση ανοσολογικών παραγόντων στο γλοίωμα, όπως Rf, ANA, anti ds-ENA, αντισώματα αντικαρδιολιπίνης.

Στόχος της μελέτης μας είναι η διερεύνηση του ανοσολογικού συστήματος των ασθενών αυτών στο σύνολό του. Επιχειρούνται μελέτες που θα αποκαλύψουν τυχούσες συσχετίσεις μεταξύ των διαφόρων συστατικών του ανοσολογικού συστήματος καθώς και επιδράσεις του βαθμού κακοήθειας του όγκου πάνω στις παρατηρούμενες ελλείψεις.

Διάφορες μελέτες έχουν δημοσιευθεί πραγματεύοντας το γλοιώμα με την πλειονότητα των τελευταίων να επικεντρώνεται στην ανοσολογία των T λεμφοκυττάρων (Rapp M et al 2006, Kempuraj D et al 2004, Bhondeley MK et al 1988, Learn CA et al 2006, Fecci PE et al 2006). Σύμφωνα με τις γνώσεις μας η μελέτη αυτή είναι η πρώτη που εξετάζει τόσο ευρέως την αντίδραση στον ορό της χυμικής και κυτταρικής ανοσίας, των ανοσολογικών και μικροβιολογικών παραγόντων, του συμπληρώματος και των υποπληθυσμών των λευκοκυττάρων στη γένεση του γλοιώματος. Σκοπός της εργασίας μας είναι η διερεύνηση του κατά πόσο αρμονικά αντιδρά το ανοσολογικό σύστημα ως σύνολο καθώς και το αν οι ελλείψεις του συστήματος σχετίζονται σημαντικά με το grade του όγκου.

Καλά καταγεγραμμένη είναι η στροφή στην παραγωγή των κυτταροκινών υπέρ του Th2- τύπου κυτταροκινών (Elliott LH et al 1984, Ausiello CM et al 1991, Roussel E et al 1996, Zou JP et al 1999). Τα αποτελέσματά μας καταδεικνύουν σημαντικά μειωμένη παραγωγή της TNF- α και IL2 (προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, Th1- τύπος) και αυξημένη παραγωγή της IL10 (αντιφλεγμονώδης κυτταροκίνη, Th2- τύπος) έρχοντας σε συμφωνία με την υπάρχουσα βιβλιογραφία.

Η IL16, γνωστή ως λεμφοκυτταρικός χημειοτακτικός παράγοντας (lymphocyte chemoattractant factor, LCF), αποτελεί φυσικό σύνδεσμο για τα CD4+ κύτταρα, τα οποία συγκεντρώνει και ενεργοποιεί στα σημεία της φλεγμονής (Bazan JF et al 1996). Ο Liebrich et al μελέτησε την έκφρασή της σε ανθρώπινο ιστό από αστροκυτταρικό εγκεφαλικό όγκο μέσω ανοσοιστοχημείας και αναφέρει αυξημένη έκφρασή της σε σύγκριση με τον υγιή εγκεφαλικό ιστό. Επιπλέον, υπολόγισε μια θετική στατιστικά σημαντική συσχέτιση της ανοσοαντίδρασης της IL16 με το WHO grade (Liebrich M et al 2007). Μέχρι στιγμής δεν είχε μετρηθεί η IL16 στον ορό αίματος ασθενών με γλοιώμα. Σύμφωνα με τις μετρήσεις μας ο ορός των ασθενών εκφράζει μεγαλύτερες ποσότητες της ιντελευκίνης από όσο οι υγιείς μάρτυρες. Το

αποτέλεσμα αυτό ίσως να εξηγείται μερικώς από ένα φαινόμενο rebound λόγω του μειωμένου αριθμού των CD4+ κυττάρων.

Πίνακας 50.

Σημαντικές διαφορές μεταξύ ασθενών και μαρτύρων

| | Ασθενείς | | Μάρτυρες | | p value |
|-------------------|--------------|----------------|--------------|----------------|--------------|
| | μ.ο | (τ.α) | μ.ο | (τ.α) | |
| IL2 | 8.66 | (2.21) | 12.85 | (3.38) | 0.000 |
| TNF-a | 169.71 | (854.3) | 12.83 | (2.18) | 0.033 |
| IL10 | 21.17 | (78.3) | 0.0 | (0.0) | 0.050 |
| <i>IL16</i> | <i>187.3</i> | <i>(252.2)</i> | <i>64,8</i> | <i>(27.56)</i> | <i>0.107</i> |
| <i>Granzyme-b</i> | <i>0.26</i> | <i>(0.89)</i> | <i>0.005</i> | <i>(0.018)</i> | <i>0.106</i> |
| IgA | 198 | (85) | 267,5 | (92.7) | 0.027 |
| IgG | 1010 | (227) | 1155.5 | (202.25) | 0.011 |
| C4 | 24 | (9.6) | 27.5 | (5.75) | 0.026 |
| CD3 | 1060 | (295) | 1749 | (375) | 0.001 |
| CD4 | 610 | (158) | 1002 | (250) | 0.000 |
| CD8 | 404 | (122.5) | 626 | (212.5) | 0.002 |
| CD4/CD8(CI 95%) | 1.3 | (1.08-1.54) | 1.9 | (1.2-2.6) | 0.004 |

Το Granzyme-b είναι μια εξωγενής σερινοπρωτεάση της οικογένειας της χυμοθρυψίνης η οποία εκκρίνεται από κυτταροπλασματικά σωματίδια των κυτοτοξικών λεμφοκυττάρων και των NK κυττάρων. Όταν εισέρθουν στο κύτταρο στόχο με τη

μεσολάβηση της περφορίνης, ενεργοποιούν τον ενδοκυτταρικό καταράκτη των κασπασών, προάγοντας την απόπτωση του καρκινικού κυττάρου-στόχου (Froehlich CJ et al 1998). Αξιοσημείωτο είναι πως δεν εισέρχεται όλη η ποσότητα των granzymes στο κύτταρο στόχο, μια ποσότητα παραμένει στο περιφερικό αίμα. Αυτές οι διαλυτές μορφές των granzymes μπορούν να μετρηθούν με ELISAs. Ο Barcia et al αναφέρουν αυξημένες τιμές granzyme-b σε εγκεφαλικό ιστό ασθενών με γλοιώματα και προτείνουν ότι η ανοσολογική δράση των T κυτοτοξικών κυττάρων κατέχει σημαντικό ρόλο στην αντίδραση του ανοσολογικού συστήματος απέναντι στα καρκινικά γλοιικά κύτταρα. (Barcia CJr et al 2009, Bhaskara VK et al 2009). Ωστόσο, μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν μελέτες που να μετρούν την ποσότητα των granzyme-b στον ορό ασθενών με γλοιώματα. Χρησιμοποιήσαμε την τεχνική της ELISA για να καθορίσουμε τα επίπεδα στον ορό της διαλυτής granzyme-b και παρατηρήσαμε ότι οι ασθενείς μας παρουσιάζουν υψηλότερες τιμές από τους μάρτυρες, καθώς και ότι ασθενείς με υψηλότερο grade έχουν επίσης υψηλότερες τιμές. Η συσχέτιση αυτή δεν έφτασε το σημείο της στατιστικής σημαντικότητας ($p=0.106$), αποτελεί ωστόσο ισχυρή τάση. Τα αποτελέσματά μας αποτελούν ένδειξη σημαντικής συμμετοχής των κυτοτοξικών και NK κυττάρων στην παθογένεση του γλοιώματος.

Οι ανοσολογικοί δείκτες της αυτοανοσίας, Rf, ANA, ENA, anti-dsDNA και αντισώματα anti-cardiolipin, μπορεί να παρουσιάζονται θετικοί σε διάφορους συμπαγείς όγκους, όπως σε καρκίνους του στήθους, των ωοθηκών και σε πλακώδες καρκίνωμα των πνευμόνων (Twomey et al., 1976). Ήταν ενδιαφέρον να μελετήσουμε τους δείκτες αυτούς σε ασθενείς με γλοίωμα, αφού μέχρι στιγμής δεν έχουν αναφερθεί σχετικές συσχετίσεις. Επιπρόσθετα, τα ευρήματα της αυξημένης IL-10 και της στροφής της ανοσολογικής απόκρισης από Th1 σε Th2 θα μπορούσε να επιδράσει στη θετικότητα των δεικτών αυτοανοσίας, με δεδομένο πως η IL-10 δρα ως παράγοντας αύξησης και διαφοροποίησης για τα B λεμφοκύτταρα και προάγει την ανάπτυξη κυττάρων, υπεύθυνων για τη δημιουργία

αντισωμάτων, και αν συνυπάρχει δυσλειτουργία του ανοσολογικού συστήματος, την ανάπτυξη κυττάρων, υπεύθυνων για τη δημιουργία αυτοαντισωμάτων. Στην παρούσα μελέτη δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές σε RF, ANA, ENA, anti-dsDNA και αντισώματα anti-cardiolipin μεταξύ ασθενών και μαρτύρων.

Αμφιλεγόμενο παραμένει η κατάσταση των ανοσοσφαιρινών στη διεθνή (Weiss JF et al 1979, Manjula S et al 1992, Hekim N et al 1981, Yuceer N et al 2000, Nakao S et al 1977, Bhodndeleay MK et al 1988). Σύμφωνα με μια μελέτη από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Tufts της Βοστώνης παρατηρούνται μειωμένες τιμές των ανοσοσφαιρινών IgG και IgA προεγχειρητικά σε ασθενείς με γλοιώματα (Kempuraj D et al 2004). Τα αποτελέσματά μας υποστηρίζουν τα παραπάνω ευρήματα, φανερώνοντας πως ελλείψεις και στη χυμική ανοσία είναι παρούσες.

Προς το παρόν δεν έχουν αναφερθεί ελλείψεις του συστήματος συμπληρώματος σε ασθενείς με γλοιώματα. (Gasque P et al 1992 and 1993, Friese MA et al 2004). Σύμφωνα με την παρούσα μελέτη παρατηρούνται μειωμένες τιμές της C4 υποδηλώνουν ενεργοποίηση του συμπληρώματος μέσω ανοσοσυμπλόκων, συνεισφέροντας στην γενικευμένη ανοσοκαταστολή.

Στατιστικά σημαντικά μειωμένος αριθμός ολικών λεμφοκυττάρων, T-λεμφοκυττάρων, T-βοηθητικών και T-κυτοτοξικών λεμφοκυττάρων, B-λεμφοκυττάρων και μειωμένο κλάσμα CD4+/CD8+ παρατηρήθηκε στις περιπτώσεις μας. Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές σχετικά με τον αριθμό των NK κυττάρων. Η εικόνα αυτή επιβεβαιώνει κατά μεγάλο ποσοστό τη διεθνή (Dix AR et al 1999, Fecci PE et al 2006, Rapp M et al 2006, Peracoli MST et al 1999) και προτείνει πως η υπάρχουσα ανοσοκαταστολή στους ασθενείς αυτούς

προκαλείται από πολλούς παράγοντες με κυριότερο την μείωση των CD4+ κυττάρων. Από τους 26 ασθενείς μας με γλοιοβλαστώματα το 23 % παρουσιάζει αριθμό CD4+ κυττάρων κάτω από 200 / μl, που αποτελεί το όριο για την χορήγηση προφυλακτικής αντιβίωσης κατά της πνευμονοκύστης *carinii* σε HIV+ ασθενείς.

Αντικρουόμενα δεδομένα έχουν δημοσιευθεί σχετικά με την έκφραση σε ορό και ιστό ασθενών με γλοιώματα ευκαιριακών μικροβιολογικών παραγόντων όπως ο CMV, ο EBV και το *Toxoplasma gondii* καθώς και με το ρόλο τους στην καρκινογένεση (Cobbs CS et al 2002 and 2008, Lau S et al 2005, Wrensch M et al 2005 and 2001, Reuter JD et al 2004, van den Pol AN et al 2002). Ο Cobbs et al υποστηρίζει μια αιτιολογική σχέση μεταξύ CMV και γλοιωματογένεσης ενώ άλλες αναφορές αρνούνται την ύπαρξη τέτοιας συσχέτισης (Cobbs et al 2008, Lau et al 2005). Ο Mitchell et al σε μια case-control μελέτη του αποτελούμενη από 20 ασθενείς με γλοιώματα και 17 μάρτυρες κατέδειξε μια υποκλινική αιμία με CMV στους ασθενείς (Mitchell et al 2004) Δεν αποκαλύψαμε μια σημαντική διαφορά ανάμεσα σε ασθενείς και μάρτυρες, ωστόσο αναφέρουμε μια ελαφρά τάση ασθενών να είναι πιο πιθανό να παρουσιάζουν θετικά αντισώματα για CMV και EBV. Θεωρούμε ότι τα αποτελέσματα αυτά είναι συμβατά είτε με μια επανεργοποίηση της λανθάνουσας κατάστασης των ιών στα πλαίσια της γενικευμένης ανοσοκαταστολής ή μια όντως προδιαθεσική δραστηριότητα των παραπάνω ιών στην παθογένεση του γλοιώματος. Ωστόσο, με βάση το γεγονός ότι όλοι οι ασθενείς με θετικά IgM για CMV και EBV εμφανίζουν μειωμένους αριθμούς CD4+ κυττάρων, κλίνουμε στην υποστήριξη της πρώτης θεωρίας.

Ποικίλες αλληλεπιδράσεις παρατηρούνται μεταξύ των συστατικών του ανοσολογικού συστήματος (Πίνακας 51A, B). Μεταξύ άλλων, παρατηρούμε αρμονικές συμμεταβολές στους υποπληθυσμούς των λευκοκυττάρων. Ο αριθμός των τελευταίων

σχετίζεται σημαντικά και με τις μεταβολές των τιμών του συμπληρώματος. Ενδιαφέρουσα είναι η συσχέτιση της IL10, κυτταροκίνης που προάγει την ενεργοποίηση των β λεμφοκυττάρων και των CD19+ κυττάρων. Ομοίως, υπάρχουν θετικές εσωτερικές συσχετίσεις στην ομάδα των ανοσοσφαιρινών καθώς και θετικών και αρνητικών μέσα στην ομάδα των κυτταροκινών, όπως αναμενόταν (στροφή Th1 προς Th2). Τα ευρύματά μας καταδεικνύουν ότι το ανοσολογικό σύστημα αντιδρά αρμονικά ως σύνολο απέναντι στην καρκινογένεση του γλοιώματος

Πίνακας 51A

| | granzyme-b | IL2 | IL10 | IL16 | TNF-a | IgA | IgG | IgM | IgE | C3 | C4 | Lymphocytes | CD3 | CD4 | CD8 | CD4/CD8 | CD19 | NK |
|----------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------------|-------|-------|-------|---------|-------|------|
| granzyme | NS | NS | NS | NS | NS | NS | 0.004 | NS | NS | NS | NS | 0.02 | NS | NS | NS | NS | NS | NS |
| IL2 | NS | NS | NS | 0.002 | 0.01 | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS |
| IL10 | NS | NS | NS | 0 | 0.000 | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | 0.03 | NS |
| IL16 | NS | 0.002 | 0 | NS | NS | NS | NS | NS | 0.02 | NS | NS | NS | 0.004 | NS | NS | NS | NS | NS |
| TNF-a | NS | 0.01 | 0.000 | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS |
| IgA | NS | NS | NS | NS | NS | NS | 0.001 | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | 0.03 |
| IgG | 0.000 | NS | NS | NS | NS | 0.001 | NS | 0.000 | NS | NS | NS | NS | 0.02 | NS | NS | NS | NS | NS |
| IgM | NS | NS | NS | NS | NS | NS | 0.000 | NS | 0.03 | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS |
| IgE | NS | NS | NS | 0.02 | NS | NS | NS | 0.03 | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS |
| C3 | NS | NS | NS | 0.04 | NS | NS | NS | NS | NS | NS | 0.000 | 0.04 | 0 | 0.01 | NS | NS | NS | NS |
| C4 | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | 0.000 | NS | NS | NS | 0.01 | NS | 0.02 | NS | NS |
| Lymphocy | 0.02 | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | 0.04 | NS | NS | 0.000 | 0.000 | 0.000 | NS | 0.000 | 0.01 |
| CD3 | NS | NS | NS | NS | NS | NS | 0.02 | NS | NS | 0 | NS | 0.000 | NS | 0.000 | 0.000 | NS | 0.000 | NS |
| CD4 | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | 0.01 | 0.02 | 0.000 | 0.000 | NS | 0.000 | 0 | 0.000 | NS |
| CD8 | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | 0.000 | 0.000 | 0.000 | NS | NS | 0.01 | 0.04 |
| CD4/CD8 | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | 0.02 | NS | NS | 0 | NS | NS | 0.04 | NS |
| CD19 | NS | NS | 0.03 | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.01 | 0.04 | NS | NS |
| NK | NS | NS | NS | NS | NS | 0.03 | NS | NS | NS | NS | NS | 0.01 | NS | NS | 0.04 | NS | NS | NS |

Εσωτερικές συσχετίσεις του ανοσολογικού συστήματος. P values <0.05 θεωρούνται σημαντικές. (Με μπλε μαρκάρονται οι θετικές ενώ με κόκκινο οι αρνητικές συσχετίσεις)

Πίνακας 51B.

| Variable | Spearman Rank Order Correlations (gousias 2010) | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------|-------|-------|-------|---------|-------|-------|
| | GRANZYME | IL2 | IL10 | IL16 | TNFA | IgA | IgG | IgM | IgE | C3 | C4 | Lymphocytes | CD3 | CD4 | CD8 | CD4_CD8 | CD19 | NK |
| GRANZYME | 1.00 | 0.07 | -0.29 | -0.28 | -0.16 | -0.08 | -0.42 | -0.26 | -0.15 | -0.17 | -0.22 | -0.37 | -0.32 | -0.31 | -0.08 | -0.21 | -0.15 | -0.02 |
| IL2 | 0.07 | 1.00 | -0.09 | -0.44 | 0.38 | -0.01 | 0.26 | 0.23 | -0.22 | -0.10 | -0.06 | 0.01 | 0.04 | -0.05 | 0.09 | -0.13 | -0.34 | -0.08 |
| IL10 | -0.29 | -0.09 | 1.00 | 0.47 | 0.55 | -0.22 | 0.14 | 0.19 | 0.20 | 0.11 | 0.12 | 0.20 | 0.11 | 0.15 | -0.09 | 0.18 | 0.37 | -0.10 |
| IL16 | -0.28 | -0.44 | 0.47 | 1.00 | 0.20 | -0.06 | 0.10 | -0.08 | 0.36 | 0.31 | 0.28 | 0.15 | 0.05 | 0.10 | -0.12 | 0.19 | 0.20 | 0.08 |
| TNFA | -0.16 | 0.38 | 0.55 | 0.20 | 1.00 | -0.15 | 0.20 | 0.21 | -0.11 | 0.12 | 0.04 | 0.20 | 0.21 | 0.15 | 0.20 | -0.03 | 0.02 | 0.16 |
| IgA | -0.08 | -0.01 | -0.22 | -0.06 | -0.15 | 1.00 | 0.46 | 0.26 | 0.09 | -0.12 | 0.08 | -0.05 | 0.09 | 0.01 | 0.23 | -0.03 | -0.38 | |
| IgG | -0.42 | 0.26 | 0.14 | 0.10 | 0.20 | 0.46 | 1.00 | 0.51 | 0.09 | 0.05 | 0.09 | 0.28 | 0.42 | 0.29 | 0.30 | 0.10 | 0.21 | -0.03 |
| IgM | -0.26 | 0.23 | 0.19 | -0.08 | 0.21 | 0.26 | 0.51 | 1.00 | 0.33 | -0.13 | -0.03 | 0.13 | 0.24 | 0.20 | 0.05 | 0.10 | 0.21 | -0.03 |
| IgE | -0.15 | -0.22 | 0.20 | 0.36 | -0.11 | 0.09 | 0.09 | 0.33 | 1.00 | 0.02 | 0.09 | 0.01 | -0.03 | 0.00 | -0.13 | 0.00 | 0.32 | -0.10 |
| C3 | -0.17 | -0.10 | 0.11 | 0.31 | 0.12 | -0.12 | 0.05 | -0.13 | 0.02 | 1.00 | 0.68 | 0.34 | 0.49 | 0.47 | 0.24 | 0.25 | 0.15 | 0.18 |
| C4 | -0.22 | -0.06 | 0.12 | 0.28 | 0.04 | 0.08 | 0.09 | -0.03 | 0.09 | 0.68 | 1.00 | 0.19 | 0.33 | 0.42 | 0.10 | 0.40 | -0.00 | -0.01 |
| Lymphocytes | -0.37 | 0.01 | 0.20 | 0.15 | 0.20 | -0.05 | 0.28 | 0.13 | 0.01 | 0.34 | 0.19 | 1.00 | 0.95 | 0.91 | 0.71 | 0.31 | 0.76 | 0.42 |
| CD3 | -0.32 | 0.04 | 0.11 | 0.05 | 0.21 | 0.09 | 0.42 | 0.24 | -0.03 | 0.49 | 0.33 | 0.95 | 1.00 | 0.90 | 0.72 | 0.29 | 0.70 | 0.34 |
| CD4 | -0.31 | -0.05 | 0.15 | 0.10 | 0.15 | 0.09 | 0.29 | 0.20 | 0.00 | 0.47 | 0.42 | 0.91 | 0.90 | 1.00 | 0.57 | 0.54 | 0.67 | 0.29 |
| CD8 | -0.08 | 0.09 | -0.09 | -0.12 | 0.20 | 0.01 | 0.30 | 0.05 | -0.13 | 0.24 | 0.10 | 0.71 | 0.72 | 0.57 | 1.00 | -0.29 | 0.43 | 0.35 |
| CD4_CD8 | -0.21 | -0.13 | 0.18 | 0.19 | -0.03 | 0.23 | 0.10 | 0.10 | 0.00 | 0.25 | 0.40 | 0.31 | 0.29 | 0.54 | -0.29 | 1.00 | 0.35 | -0.07 |
| CD19 | -0.15 | -0.34 | 0.37 | 0.20 | 0.02 | -0.03 | 0.21 | 0.21 | 0.32 | 0.15 | -0.00 | 0.76 | 0.70 | 0.67 | 0.43 | 0.35 | 1.00 | 0.15 |
| NK | -0.02 | -0.08 | -0.10 | 0.08 | 0.16 | -0.38 | -0.03 | -0.03 | -0.10 | 0.18 | -0.01 | 0.42 | 0.34 | 0.29 | 0.35 | -0.07 | 0.15 | 1.00 |

Εσωτερικές συσχετίσεις του ανοσολογικού συστήματος ταξινομημένες ανά κατάταξη Spearman. Με κόκκινο μαρκάρονται οι σημαντικές συσχετίσεις (P values <0.05). Με – επισημαίνονται οι αρνητικές συσχετίσεις.

Σύμφωνα με τις γνώσεις μας, αυτή είναι η πρώτη μελέτη που αποδεικνύει μια καθαρή συσχέτιση των ελλείψεων της ανοσίας με το WHO grade. Μέχρι στιγμής έχει αναφερθεί μια μεγαλύτερη ανεργία απέναντι στα δερματικά τεστ και μια φτωχότερη αντίδραση σε μιτογόνα σε αναπλαστικά γλοιώματα σε σύγκριση με χαμηλής κακοήθειας γλοιώματα (Mahaley MSJr et al 1977, Palma L et al 1978, Young HF et al 1976) καθώς και μια συσχέτιση της τιμής του IL10 mRNA στον εγκεφαλικό ιστό με το βαθμό κακοήθειας του όγκου (Huettner et al 1997). Στη μελέτη μας αναγνωρίζουμε στατιστικά σημαντικά μειωμένες τιμές της IL2, του συμπληρώματος και ανοσοσφαιρινών ενώ το WHO grade αυξάνει. Παρομοίως, οι τιμές των CD2, CD3, CD4 και του κλάσματος CD4/CD8 σχετίζονται αντιστρόφως στατιστικά σημαντικά με το grade του όγκου (Πίνακας 52).

Πίνακας 52

Σημαντικές διαφορές ανάμεσα σε ΧΚΓ και ΥΚΓ προσαρμοσμένες σε ηλικία και φύλο.

| Μεταβλητή | ΧΚΓ* | ΥΚΓ** | p value | p value*** |
|-----------------------|--------|-------|--------------|--------------|
| | μ.ο | μ.ο | | |
| IL2 pg/ml | 10.21 | 8.12 | 0.025 | 0.018 |
| C4 mg/dl | 27.5 | 21.5 | 0.050 | 0.020 |
| IgG mg/dl | 1200.3 | 999.3 | 0.050 | 0.050 |
| CD3 c/mm ³ | 1515.4 | 862.0 | 0.013 | 0.011 |
| CD4 c/mm ³ | 914.2 | 478.0 | 0.006 | 0.015 |
| CD8 c/mm ³ | 536.0 | 346.6 | 0.115 | 0.048 |
| CD4/CD8 | 1.94 | 1.61 | 0.025 | 0.027 |

*χαμηλής κακοήθειας γλοίωμα, **υψηλής κακοήθειας γλοίωμα,

*** p value προσαρμοσμένες σε ηλικία και φύλο

Ισχυρή μας πεποίθηση αποτελεί η άποψη πως τα παραπάνω ευρύματα πρέπει να χρησιμοποιηθούν στην υπηρεσία της προεγχειρητικής διάγνωσης ασθενών με καρκίνο εγκεφάλου. Η προεγχειρητική εκτίμηση της ανοσολογικής κατάστασης του ασθενή, κυρίως του αριθμού CD4 +, μπορεί να βοηθήσει στην εργαστηριακή ταξινόμηση και αξιολόγηση των ασθενών. Ο αριθμός CD4+ και οι τιμές της IL2 στον ορό του αίματος προεγχειρητικά, αποτελούν σημαντικούς παράγοντες πρόβλεψης του grade. Υποστηρίζουμε πως οι παραπάνω αξιολογήσεις έχουν θέση στην προεγχειρητική διάγνωση των γλοιωμάτων, ιδιαίτερα στις περιπτώσεις αυτές που υπάρχουν αντικρουόμενα κλινικά και παρακλινικά δεδομένα.

Στην μελέτη μας επίσης παρατηρούμε μια ισχυρή αντίστροφη σχέση του αριθμού των T-βοηθητικών κυττάρων με την επιβίωση των ασθενών με γλοιοβλαστώματα. Είναι η πρώτη φορά που καταδεικνύεται μια τέτοια σχέση. Ωστόσο, παραμένουμε επιφυλακτικοί λόγω του μικρού αριθμού των περιπτώσεών μας και περιμένουμε μελλοντικές έρευνες να ξεκαθαρίσουν το σημείο αυτό.

Γνωστοί προγνωστικοί παράγοντες όπως η μικρότερη ηλικία, η ευρύτερη χειρουργική αφαίρεση, η συμπληρωματική ακτινοθεραπεία και χημειοθεραπεία επιβεβαιώθηκαν από τα αποτελέσματά μας. Αντίθετα αποτύχαμε να καταδείξουμε στη μελέτη μας στατιστικά σημαντικούς άλλους καθιερωμένους προγνωστικούς παράγοντες, όπως είναι το Karnofsky score προεγχειρητικά.

3.9. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Οι ασθενείς με γλοιώμα εμφανίζουν διάφορες ελλείψεις του ανοσολογικού συστήματος σε σύγκριση με φυσιολογικούς μάρτυρες. Οι κυριότερες είναι οι ακόλουθες :Οι ασθενείς με γλοιώματα παρουσιάζουν μειωμένες τιμές των IL2 (p=0.000), TNFa (p=0.033), IgG(p=0.011), IgA(p=0.027), C4 (p=0.026), CD3 (p=0.001), CD4 (p=0.000), CD8 (p=0.002), κλάσμα CD4/CD8 (p=0.000), CD19 (p=0.04) και αυξημένες για IL10 (p=0.05) σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες. Δεν παρατηρήθηκε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ ασθενών και μαρτύρων σχετικά με τους μικροβιακούς παράγοντες, ολικά NK-κύτταρα, IgM, IL16, granzyme-b, RF, ANA, ENA, anti-dsDNA και αντισώματα της αντικαρδιολιπίνης.
- Διάφορες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δομών του ανοσολογικού συστήματος παρατηρούνται επίσης.
- Ο υψηλότερος βαθμός WHO grade σχετίζεται με μειωμένο αριθμό των ολικών T λεμφοκυττάρων (p=0.011), CD4 (p=0.015), CD8 (p=0.048), του κλάσματος CD4/CD8 (p=0.027), όπως επίσης με μειωμένες τιμές IL2 (p=0.018), C4 (p=0.02) και IgG (p=0.05).
- Οι αριθμοί CD4 και οι τιμές IL2 στον ορό του αίματος αποτελούν σημαντικούς παράγοντες πρόβλεψης του βαθμού κακοήθειας του όγκου.

- Προγνωστικοί παράγοντες καλύτερης επιβίωσης σε ασθενείς με γλοιοβλαστώματα είναι η νεαρότερη ηλικία, η ευρύτερη χειρουργική αφαίρεση, η διενέργεια συμπληρωματικής ακτινο- και χημειοθεραπείας, ο μεγαλύτερος βαθμός ανοσοκαταστολής εκφρασμένος σε αριθμό T-βοηθητικών κυττάρων. Ο αριθμός CD4 <200 κύτταρα / mm³ αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα επιβίωσης.

3.10. ABSTRACT

Aim: To investigate the cellular and humoral immunity status of gliomas, and their association with the WHO grading system and Overall Survival.

Material and Methods: We have conducted a case – control study of 49 patients with gliomas and 30 healthy controls referred to the University Hospital of Ioannina. Blood sample was undertaken preoperative. We used ELISA assays to estimate IL2, IL10, IL16, TNF-a, granzyme-b, IgM, IgG, IgA, IgE, CMV IgM and IgG, EBV IgM and IgG, and toxoplasma gondii IgM and IgG. In addition, we evaluated C3 and C4 complement (radial immunodiffusion), ANA (indirect immunofluorescence), RF (Latex test), ENA (ELISA and line immunoassay), anti-dsDNA (ELISA), and anti-cardiolipin antibodies (ELISA). Flow cytometry was performed to measure CD3, CD4, CD8, CD19, CD16+56 positive cells and ratio CD4/CD8.

Results: Patients with glioma had significantly reduced amounts of IL2 (p=0.000), TNFa (p=0.033), IgG(p=0.011), IgA(p=0.027), C4 (p=0.026), CD3 (p=0.001), CD4 (p=0.000), CD8 (p=0.002), ratio CD4/CD8 (p=0.000), CD19 (p=0.04) and elevated IL10 (p=0.05) compared with healthy controls. No statistically significant differences were observed concerning viral agents, total NK-cells, IgM, IL16, granzyme-b, RF, ANA, ENA, anti-dsDNA and anti-cardiolipin antibodies. A higher WHO grade was associated with decreased number of CD3 (p=0.011), CD4 (p=0.015), CD8 (p=0.048) and ratio CD4/CD8 (p=0.027), as well as with decreased IL2 (p=0.018), C4 (p=0.02), and IgG (p=0.05). CD4 counts and IL2 values are independent significant predictors of WHO grade. Beneficial prognostic factors are younger age at diagnosis (p=0.020), surgical resection vs biopsy

($p=0.042$), adjuvant chemo ($p=0.028$) and radiotherapy ($p=0.002$) and CD4 counts over 200 /mm³ ($p=0.001$). Various interactions between the counterparts of the immune system were revealed. CD4 counts over 200 /mm³ is an independent beneficial prognostic factor of overall survival.

Conclusions: A shift from Th1 to Th2, a CD3 and CD19 lymphocytopenia, a diminished fraction CD4/CD8 and a reduced amount of immunoglobulins and complement were observed in the patients with gliomas. A higher WHO grade of the tumor was associated with greater impairments of immunity. CD4 counts and IL2 values are independent significant predictors of WHO grade. CD4 counts correlate inversely with a better outcome of patients with GBM. Defects of the humoral and cellular immunity were equally observed. A preoperative evaluation of the immune system of patients with gliomas is being proposed.

3.11. SYNOPSIS

Ziel : Die Reserche der zellulären und humoralen Immunität von Gliomen und der Korrelationen zwischen der o.g. Komponenten und des WHO Grades sowie des Überlebens.

Material und Methoden : Wir haben eine case-control Studie durchgeführt, die aus 49 Gliompatienten und 30 gesunden Kontrollpatienten besteht. Die Patienten wurden an einem Gliom in der neurochirurgischen Abteilung der Uni-Klink von Ioannina operiert. Die Blutabnahme (30 ml) hat präoperativ stattgefunden. Wir evaluierten IL2, IL10, IL16, TNF-a, Granzyme-b, IgM, IgG, IgA, IgE, CMV IgM, CMV IgG, EBV IgM, EBV IgG, Toxoplasma gondii IgM, Toxoplasma gondii IgG, ENA, anti-cardiolipin Antikörpern, anti ds-DNA mittels ELISA, C3 und C4 mittels Immunodiffusion, Rf mittels Latex test, und ANA mittels Immunofluorence. Weiterhin, Fluß Zytometrie war durchgeführt zur Evaluation von CD3, CD4, CD8, CD19, CD16+56 positive Zellen und Ratio CD4/CD8.

Ergebnisse: Gliompatienten verfügen über statistisch reduzierte Werte von IL2 (p=0.000), TNFa (p=0.033), IgG(p=0.011), IgA(p=0.027), C4 (p=0.026), CD3 (p=0.001), CD4 (p=0.000), CD8 (p=0.002), Ratio CD4/CD8 (p=0.000), CD19 (p=0.04) und höhere Werte von IL10 (p=0.05) im Vergleich zu den Kontrollen. Keine signifikante Unterschiede bezüglich viralen Faktoren, totalen NK-Zellen, IgM, IL16, granzyme-b, RF, ANA, ENA, anti-dsDNA und anti-cardiolipin Antikörpern. Je höher der WHO Grad ist, desto geringer sind die Werte von CD3 (p=0.011), CD4 (p=0.0015), CD8 (p=0.048) und Ratio CD4/CD8 (p=0.027), IL2 (p=0.018), C4 (p=0.02), und IgG (p=0.05). CD4 und IL2 sind signifikante Prädiktoren des WHO Grades. Günstige prognostische Faktoren sind jungeres Alter (p=0.020), Resektion vs Biopsie(p=0.042), adjuvante Chemotherapie (p=0.028) und Radiatio (p=0.002) und CD4

Menge über 200 /mm³ (p=0.001). CD4 Menge ist ein unabhängiger prognostischer Faktor von Überleben. Verschiedene Korrelationen zwischen den Komponenten des Immunsystems wurden festgestellt.

Schlußfolgerung: Ein Verschiebung der Th1 zur Th2 Reaktion, eine CD3 und CD19 Lymphozytopenie, ein reduziertes Verhältnis CD4/CD8 und reduzierte Immunoglobulinen und Complement sind in Gliompatienten vorhanden. Ein höherer WHO Grad korreliert mit größeren Defiziten der Immunität. CD4 und IL2 sind signifikante Prädiktoren des WHO Grades. Die CD4 Zellenmenge korreliert negativ mit einem besseren Outcome. Sowohl zelluläre als auch humorale Defizite finden statt. Eine präoperative laborparametrische Evaluation des Immunsystems der Gliompatienten wird vorgeschlagen.

3.12 ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός: Η διερεύνηση της κυτταρικής και χυμικής ανοσίας των ασθενών με γλοιώματα και η εύρεση πιθανών συσχετίσεων μεταξύ των στοιχείων του ανοσολογικού συστήματος καθώς και των τελευταίων με το σύστημα ιστολογικής κατάταξης του WHO και την επιβίωση των ασθενών.

Υλικό και Μέθοδος : Διεξάγαμε μια case-control μελέτη, που αποτελούνταν από 49 ασθενείς που χειρουργήθηκαν στη Νευροχειρουργική Κλινική του ΠΝ Ιωαννίνων και 30 υγιείς μάρτυρες. Η αιμοληψία (30 ml) έγινε προεγχειρητικά. Χρησιμοποιήσαμε ELISA για τον ποσοτικό προσδιορισμό των IL2, IL10, IL16, TNF-a, granzyme-b, IgM, IgG, IgA, IgE, CMV IgM και IgG, EBV IgM και IgG, toxoplasma gondii IgM και IgG, anti-dsDNA, ENA και αντισώματα αντι-καρδιολιπίνης. Επιπρόσθετα αξιολογήσαμε τους παράγοντες C3 και C4 του συμπληρώματος μέσω ακτινωτής ανοσοδιάχυσης, ANA με έμμεση, RF μέσω Latex test. Κυτταρομετρία ροής εφαρμόστηκε για τον καθορισμό των CD3, CD4, CD8, CD19, CD16+56 θετικών κυττάρων και κλάσματος CD4/CD8.

Αποτελέσματα: Οι ασθενείς με γλοιώματα παρουσιάζουν μειωμένες τιμές των IL2 (p=0.000), TNFa (p=0.033), IgG(p=0.011), IgA(p=0.027), C4 (p=0.026), CD3 (p=0.001), CD4 (p=0.000), CD8 (p=0.002), κλάσμα CD4/CD8 (p=0.000), CD19 (p=0.04) και αυξημένες για IL10 (p=0.05) σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες. Δεν παρατηρήθηκε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ ασθενών και μαρτύρων σχετικά με τους μικροβιακούς παράγοντες, ολικά NK-κύτταρα, IgM, IL16, granzyme-b, RF, ANA, ENA, anti-dsDNA και αντισώματα της αντικαρδιολιπίνης. Ο υψηλότερος βαθμός WHO grade σχετίζεται με μειωμένο αριθμό των CD3 (p=0.011), CD4 (p=0.015), CD8 (p=0.048) του κλάσματος CD4/CD8 (p=0.027), όπως επίσης με μειωμένες τιμές IL2 (p=0.018), C4 (p=0.02) και IgG

($p=0.05$). Οι αριθμοί CD4 και οι τιμές της IL2 αποτελούν σημαντικούς παράγοντες πρόβλεψης του βαθμού κακοήθειας κατά WHO. Ευνοϊκοί προγνωστικοί παράγοντες είναι η νεότερη ηλικία κατά τη διάγνωση ($p=0.020$), χειρουργική αφαίρεση vs στερεοτακτικής βιοψίας ($p=0.042$), συμπληρωματική χημειοθεραπεία ($p=0.028$) και ακτινοθεραπεία ($p=0.002$), καθώς και αριθμός CD4 θετικών κυττάρων άνω των 200 /mm³ ($p=0.001$). Ο τελευταίος αποτελεί και ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα επιβίωσης. Επίσης παρατηρούνται διάφορες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δομών του ανοσολογικού συστήματος.

Συμπεράσματα: Μια στροφή από την Th1 προς την Th2 αντίδραση, μια τόσο CD3 όσο και CD19 λυμφοπενία, μειωμένο κλάσμα CD4/CD8 και μειωμένος αριθμός ανοσοσφαιρινών και συμπληρώματος παρατηρούνται στους ασθενείς με γλοιώματα. Υψηλότερο WHO grade σχετίζεται με μεγαλύτερες ελλείψεις της ανοσίας. Οι τελευταίες είναι παρούσες τόσο στη χυμική όσο και στην κυτταρική ανοσία. Η ποσότητα των CD4 και οι τιμές της IL2 αποτελούν σημαντικούς παράγοντες πρόβλεψης του βαθμού κακοήθειας κατά WHO. Ο αριθμός των CD4 θετικών κυττάρων σχετίζεται αντίστροφα με μια καλύτερη επιβίωση ασθενών με γλοιοβλάστωμα. Προτείνουμε μια προεγχειρητική αξιολόγηση του ανοσολογικού συστήματος σε ασθενείς με γλοιώματα.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) Ali Kahn A, O'Brien DF, Kelly P et al. The anatomical distribution of cerebral gliomas in mobile phone users. *Ir Med J* 2003;96:240-242
- 2) Armstrong B, Thierault G, Guenel P et al. Association between exposure to pulsed electromagnetic fields and cancer in electric utility workers in Quebec, Canada and France. *Am J Epidemiol* 1994;140:805-820.
- 3) Ausiello CM, Palma C, Maleci A et al, Cell mediated cytotoxicity and cytokine production in peripheral blood mononuclear cells of glioma patients. *Eur J Cancer* 1991;27:646-650.
- 4) Barcia CJr, Gomez A, Gallego-Sanchez JM Infiltrating CTLs in human glioblastoma establish immunological synapses with tumorigenic cells. *Am J Pathol* 2009;175(2):786-798
- 5) Bazan JF and Schall TJ, Interleukin-16 or not? *Nature* 1996;381:29-30.
- 6) Benson VS, Pirie K, Green J, Casabonne D, Beral V: Lifestyle factors and primary glioma and meningioma tumors in the Million Women Study cohort. *Br J Cancer* 2008 Jul ;99(1):185-190
- 7) Berger S.M, Wilson B.C: *The Gliomas*, 1999
- 8) Berthou C, Michel L, Soulie A et al. Acquisition of granzyme-b and Fas ligand proteins by human keratinocytes contributes to epidermal cell defense. *Immunology* 1997;159:5293-5300
- 9) Bhaskara VK, Challa S, Panigrahi et al, Differential PARP cleavage: an indication for existence of multiple forms of cell death in human gliomas. *Neurol India* 2009; 57(3):264-8.

- 10) Bhondeley MK, Mehra RD, Mehra NK et al, Imbalances in T cell subpopulations in human gliomas. *J Neurosurg* 1988;68(4):589-593.
- 11) Bilzer T, Reifenberger G, Wechsler W. Chemical induction of brain tumors in rats by nitrosoureas: Molecular biology and neuropathology, *Neurotoxicol Teratol* 1989;11:551
- 12) Blowers L, Preston-Martin S, Mack WJ. Dietary and other lifestyle factors of women with brain gliomas in Los Angeles County, *Cancer Causes Control* 1997, 8:5-12
- 13) Boeing H, Schlehofer B, Blettner M et al. Dietary carcinogens and the risk fro glioma and meningioma in Germany, *Int J Cancer* 1993, 53:561-565
- 14) Boring CC, Squires TS, Tong T. Cancer statistics, 1992, *CA* 1992;41:19
- 15) Braun DP, Penn RD, Harris JE. Regulation of natural killer cell function by glass-adherent patients with primary intracranial malignancies. *Neurosurgery* ;15:29-33.
- 16) Brenner AV, Linet MS, Fine HA et al. History of allergies and autoimmune diseases and risk of brain tumors in adults. *Int J Cancer*, 2002, 99:252-259
- 17) Browne KA, Blink E, Sutton WR et al. Cytosolic delivery of granzyme-b by bacterial toxins: evidence that endosomal disruption in additon to transmembrane pore formation
- 18) Brownson RC, Reif JS, Chang JC. An analysis of occupational risks fro brain cancer. *Am J Public Health*, 1990, 80:169-172
- 19) Brustle O, Ohgaki H, Schmitt HP et al. Primitive neuroectodermal tumors after prophylactic central nervous system irradiation in children. Association with an activated K-ras gene. *Cancer* 1992, 69:2385-2392
- 20) Bunin GR, Kuijten RR, Boesel CP et al. Maternal diet and risk of astrocytoma in children: A report from the Childrens Cancer group. In Kuijten RR (ed): *Risk factors for Childhood Brain Tumors*. University of Amsterdam, 1992, p 133

- 21) Cancer Research UK. www.cancerresearchuk.org/
- 22) Carpenter AV, Flanders WD, Frome EL, Cole P, Fry SA: Brain cancer and nonoccupational risk factors: a case-control study among workers at two nuclear facilities. *Am J Public Health*. 1987 Sep;77(9):1180-1182.
- 23) Cassatella MA, Meda L, Bonora S et al. IL-10 inhibits the release of proinflammatory cytokines from human polymorphonuclear leucocytes. Evidence for an autocrine role of tumor necrosis factor and IL-1 beta in mediating the production of IL-8 triggered by lipopolysaccharide. *J Exp Med* 1993;178:2207-2211.
- 24) Chakrabarti I, Cockburn M, Cozen W, Wang Y, Preston-Martin S: A population-based description of glioblastoma multiforme in Los Angeles county, 1974-1999. *Cancer* 2005;104(12):2798-2806.
- 25) Cobbs CS, Harkins L, Minu S et al. Human cytomegalovirus infection and expression in human malignant glioma. *Cancer Res* 2002;62:3347-3350
- 26) Cobbs CS, Harkins L, Samanta M et al, Human Cytomegalovirus Infection and Expression in Human Malignant Glioma. *Cancer Res* 2002;62:3347-3350.
- 27) Cobbs CS, Soroceanu L, Denham S et al, Modulation of oncogenic phenotype in human glioma cells by cytomegalovirus IE1-mediated mitogenicity. *Cancer Res* 2008; 68(3):724-730.
- 28) Cook A, Woodward A, Pearce N et al. Cellular telephone use and time trends for brain, head and neck tumors. *N J Med* 2003;116:457
- 29) Cordier S, Monfort C, Filippini G et al. Parental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and the risk of childhood brain tumors: The SEARCH International Childhood Brain Tumor Study, *Am J Epidemiol* 2004;159:1109-1116.
- 30) Darmon AJ, Nicholson DW, Bliackley RC, et al, Activation of the apoptotic protease CPP32 by cytotoxic T cell derived granzyme b. *Nature* 1995;377:446-448

- 31) Deorah S, Lynch CF, Sibenaller ZA et al. Trends in brain cancer incidence and survival in the United States: Surveillance, Epidemiology, and End Results Program, 1973 to 2001, *Neurosurg Focus*, 2006, 15;20(4)E1
- 32) Dix AR, Brooks WH, Roszman TL et al, Immune defects observed in patients with primary malignant brain tumors. *J Immunol* 1999;100:216-232.
- 33) Elliott LH, Brooks WH, Roszman TL. Cytokinetic basis for the impaired activation of lymphocytes from patients with primary intracranial tumors. *J Immunol* 1984;132:1208-15.
- 34) Fan KJ, Pezeshkpour GH (1992): Ethnic distribution of primary central nervous system tumors in Washington, DC, 1971 to 1985. *J Natl Med Assoc* 84:858-863
- 35) Farwell J, Flannery JT. Cancer in relatives of children with central nervous system neoplasms. *N Engl J Med* 1984;311:749
- 36) Fecci PE, Mitchell DA, Whitesides JF et al, Increased Regulatory T-Cell Fraction Amidst a Diminished CD4 Compartment Explains Cellular Immune Defects in Patients with Malignant Glioma. *Cancer Res* 2006;66 (6):3294-3302.
- 37) Ferlay J, Bray F, Sankila R, Parkin DM(1999) *EUCAN 1999: Cancer, incidence, mortality and prevalence in the European Union*. IARC Press, Lyon.
- 38) Feychting M, Albolm A. Magnetic fields and cancer in people residing near Swedish high voltage power lines. *IMM-raport* 1992, Stockholm, 6/92
- 39) Fiorentino DF, Zlotnik A, Vieira P et al. IL-10 acts on the antigen-presenting cell to inhibit cytokine production of Th1 cells. *J Immunol* 1991;146:3444-3451
- 40) Fleury A, Menegoz F, Grosclaude P, Daures J, Henry-Amar M, Raverdy N, Schaffer P, Poisson M, Delattre J: Descriptive epidemiology of cerebral gliomas in France. *Cancer* 197;79:1195-1202

- 41) Fleury A, Menegoz F, Grosclaude P, Daures JP, Henry-Amar M, Raverdy N, Schaffer P, Poisson M, Dellattre JY: Descriptive epidemiology of cerebral gliomas in France. *Cancer* 1997;79(6):1195-1202.
- 42) Friese MA, Steinle A, Weller M, The Innate Immune Response in the Central Nervous System and its Role in Glioma Immune Surveillance. *Onkologie* 2004;27:487-491.
- 43) Froelich CJ, Dixit VM, Yang X et al Lymphocyte granule-mediated apoptosis: matters of viral mimicry and deadly proteases. *Immunol Today* 1998;19:30-36.
- 44) Frukin H, Jacobson A, Gansler T et al. Cellular phones and risk of brain tumors. *CA Cancer J Clin* 2001;51:137-141
- 45) Gasque P, Ischenko A, Legoedec J et al, Expression of the Complement Classical Pathway by Human Glioma in Culture. *J Biol Chem* 1993;268:25068-25074.
- 46) Gasque P, Julien N, Ischenko A et al, Expression of Complement Components of the Alternative Pathway by Glioma Cell Lines. *J Immunol* 1992;149:1381-1387.
- 47) Gold E, Gordis L, Tonascia J et al. Increased risk of brain tumors in children exposed to barbiturates, *JNCI* 1978;61:1031
- 48) Gousias K, Arzoglou V, Markou M et al. Opportunistic Microbiological Agent in Glioma Patients, *Neuroepidemiology* 2009; 33(2):179.
- 49) Gousias K, Schramm J, Simon M. Resektionsausmass und Prognose bei niedriggradigen Gliomen. Annual Meeting of German Society of Neurooncology, Bonn, 2009
- 50) Gousias K, Schramm J, Simon M. Degree of resection and survival in a series of 126 supratentorial infiltrative low grade gliomas, *Acta Neurochir* 2010;152 (4):745.
- 51) Gousias K. Schramm J, Simon M. Prognostic factors and genetic alterations in LGG. *J Neurosurg* 2010 (under review)

- 52) Gousias K, Markou M, Arzoglou V et al. Frequent abnormalities of the immune system in gliomas and correlation with the WHO grading system of malignancy, *J Neuroimmunol* 2010 (article in press)
- 53) Gousias K, Markou M, Voulgaris S et al. Descriptive Epidemiology of Cerebral Gliomas in Northwest Greece and Study of Potential Predisposing Factors, 2005-2007, *Neuroepidemiology* 2009; 33(2):89-96.
- 54) Gousias K, Kyritsis A. Opportunistic cytomegalovirus infection in a patient receiving temozolomide for treatment of malignant glioma, *J Clin Neurosc* 2010; 17(3):412.
- 55) Gurney JG, Mueller BA, Davis S et al. Childhood brain tumor occurrence in relation to residential power line configurations, electric heating sources, and electric appliance use. *Am J Epidemiol* 1996;143:120-128
- 56) Hardell L, Carlberg M, Soedergvist F, Hansson Mild K, Morgan L: Long-term use of cellular phones and brain tumors :increased risk associated with use for > or =10 years. *Occup. Environ. Med* 2007 ;64(9):626-632
- 57) Hardell L, Carlberg M, Soedergvist F, Hansson Mild K: Meta-analysis of long-term mobile phone use and the association with brain tumors. *Int J Oncol* 2008 ;32(5):1097-1103.
- 58) Hardell L, Mild KH, Carlberg M. Case-control study on the use of cellular and cordless phones and the risk fro malignant brain tumours.*Int J Radiat Biol* 2002;78:931-936
- 59) Harris JL, Peterson EP, Hudig D. Definition and re-design of the extended substrate specificity of granzyme b *J Biol Chem* 1998;273:27364-27373
- 60) Heilbein JA, Goping IS, Bari M et al. Granzyme-b –mediated cytochrome c release is regulated by the Bcl-2 family members Bid and Bax.*Exp Med* 2000;192:1391-1402

- 61) Hekim N, Sayin E, Demirkaya E et al, Serum IgM Level as an Index of Malignancy in Brain Tumours. *Acta Neurochir* 1981;59:227-230.
- 62) Helseth A, Mork SJ: Neoplasms of the central nervous system in Norway. III. Epidemiological characteristics of intracranial gliomas according to histology. *APMIS* 1989;97:547-555
- 63) Hess KR, Broglio KR, Bondy ML: Adult glioma incidence trends in the United States, 1977-2000. *Cancer* 2004;101(10):2293-2299
- 64) Hess KR, Broglio KR, Bondy ML. Adult glioma incidence trends in the United States, 1977-2000, *Cancer*, 2004, 15;101(10):2293-9
- 65) Hill DA, Inskip PD, Shapiro WR, Selker RG, Fine HA, Black PM, Linet MS: Cancer in first-degree relatives and risk of glioma in adults. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003 Dez;12(12):1443-1448
- 66) Hishii M, Nitta T, Ishida H et al. Human glioma-derived interleukin 10 inhibits antitumor immune response in vitro. *Neurosurgery* 1995;37:1160-1166.
- 67) Holick CN, Giovanucci EL, Rosner B, Stampfer MJ, Michaud DS: Prospective study of cigarette smoking and adult glioma: dosage, duration and latency. *Neuro Oncol* 2007Jul; 9(3):326-334
- 68) Hours M, Bernard M, Montestrucq L, Arslan M, Bergeret A, Deltour I, Cardis E: Cell Phones and the risk of brain and acoustic nerve tumors:the French INTERPHONE case-s0ntrol study. *Rev. Epidemiol. Sante Publique* 2007;55(5):321-332
- 69) Howe GR, Burch JD, Chiarelli AM et al. An explotary case-control study of brain tumors in children, *Cancer Res* 1989;49:4349
- 70) <http://www.cbtrus.org>
- 71) Hu J, La Vecchia C, Negri E et al. Diet and brain cancer in adults: a case-control study in Northeast China. *Int J Cancer* 1999;81:20-23.

- 72) Huettner C, Czub S, Kerkau S et al, Interleukin 10 is expressed in human gliomas in vivo and increases glioma cell proliferation and motility in vivo. *Anticancer Res* 1997 ;(17):3217-3224.
- 73) Huettner C, Czub S, Kerkau S et al. Interleukin 10 is expressed in human gliomas in vivo and increases glioma cell proliferation and motility in vitro. *Anticancer Res* 1997;17:3217-3224.
- 74) Hurley SE, McNeil JJ, Donnan GA et al. Tobacco smoking and alcohol consumption as risk factors for glioma: a case-control study in Melbourne, Australia. *J Epidemiol Community Health* 1996;50:442-446.
- 75) Inskip PD, Mellekjær L, Gridley G, Olsen JH: Incidence of intracranial tumors following hospitalization for head injuries (Denmark). *Cancer Causes Control* 1998;9(1):109-116
- 76) is an important function of perforin. *Mol Cell Biol* 1999;19:8604-8615
- 77) Jeremic B, Grujicic D, Antunovic V, Djuric L, Stojanovic M, Shibamoto Y: Influence of extent of surgery and tumor location on treatment outcome of patients with glioblastoma multiforme treated with combined modality approach. *J Neuro-Oncol.* 1994;21:177-185.
- 78) Johansen C, Boice J Jr, McLaughlin J et al. Cellular telephones and cancer- a nationwide cohort study in Denmark. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:203-207
- 79) Johnstone RD, Credney E, Smyth MJ et al, P-glycoprotein protects leukemia cells against caspase-dependent, but not caspase-independent cell death. *Blood* 1999;93:1075-1085
- 80) Jukich PJ, McCarthy BJ, Surawicz TS, Freels S, David FG: Trends in incidence of primary brain tumour in the United States, 1985-1994. *Neuro Oncol* 2001;3(3):141-151.

- 81) Jukich PJ, McCarthy BJ, Surawitz TS et al. Trends in incidence of primary brain tumors in the United States, 1985-1994, *Neuro Oncol* 2001, :3 (3):141-51
- 82) Kempuraj D, Devi RS, Madhappan B et al, T lymphocyte subsets and immunoglobulins in intracranial tumor patients before and after treatment, and based on histological type of tumors. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2004;17(1):57-64.
- 83) Kuijten RR, Bunin GR, Nass CC et al. Gestational and familial risk factors for childhood astrocytoma: Results of a case-control atudy, *Cancer Res* 1990; 50:2608
- 84) Kuratsu J, Takeshima H, Ushio Y (2001): Trends in the incidence of primary intracranial tumors in Kumamoto, Japan. *Int J Clin Oncol* 6:183-191
- 85) Lahkola A, Auvinen A, Raitanen J et al : Mobile phone use and risk of glioma in 5 North European countries. *Int. J. Cancer* 2007;120: 1769-1775.
- 86) Larjavaara S, Mäntylä R, Salminen T et al. Incidence of gliomas by anatomic location *Neuro-Oncology* 2007 9(3):319-325
- 87) Lau KL, Chen YY, Chen WG et al. Lack of association of cytomegalovirus with human brain tumors, *Modern pathology* 2005;18:838-843
- 88) Lau S, Chen YY, Chen WG et al, Lack of association of cytomegalovirus with human brain tumors. *Modern Pathology* 2005;18:838-843.
- 89) Learn CA, Fecci PE, Schmittling RJ et al, Profiling of CD4+, CD8+, and CD4+CD25+CD45RO+FoxP3+ T cells in patients with malignant glioma reveals differential expression of the immunologic transcriptome compared with T cells from healthy volunteers. *Clin Cancer Res* 2006;12(24):7306-15.
- 90) Lee M, Wrensch M, Miike R. Dietary and tobacco risk factors for adult onset glioma in the San Fransisco Bay Area. *Cancer Causes Control* 1997, 8:13-24
- 91) Levi F, La Vecchia C: Trends in brain cancer. *Lancet* 1989;2:1272

- 92) Liebrich M, Guo LH, Schluesener HJ et al, Expression of Interleukin 16 by tumor-associated macrophages/activated microglia in high-grade astrocytic brain tumors. *Arch Immunol. Ther. Exp* 2007;55:41-47
- 93) Lijinsky W. *Chemistry and biology of N-nitroso compounds*, Cambridge University Press, New York, 1992
- 94) Little MP, De Vathaire F, Shamsaldin A et al. Risks of brain tumour following treatment for cancer in childhood: modification by genetic factors, radiotherapy and chemotherapy. *Int J Cancer* 1998, 78:269-275
- 95) Mahaley MSJr, Brooks WH, Roszman TL et al, Immunobiology of primary intracranial tumors. Part I. Studies of the cellular and humoral general immune competence of brain-tumor patients. *J Neurosurg* 1977;46:467-476.
- 96) Malmer B, Gronberg H, Bergenheim AT et al. Familial aggregation of astrocytoma in northern Sweden: an epidemiological cohort study. *Int J Cancer* 1999, 81:366-370
- 97) Malmer B, Iselius L, Holmberg E et al. Genetic epidemiology of glioma, *Br J Cancer* 2001, 84:429-434
- 98) Manjula S, Aroor AR, Raja A et al, Serum Immunoglobulins in Brain Tumours. *Acta Neurochir (Wien)*1992; 115:103-105.
- 99) Marsh GM, Enterline PE, McCraw D et al. Mortality patterns among petroleum refinery and chemical plant workers. *Am J Indust Med* 1991;19:29
- 100) Mason D, Tschopp G. A family of serine esterases in lytic granules of cytotoxic T-lymphocytes. *Cell* 1987;49:679-685
- 101) McIlroy D, Cartron PF, Tuffery P et al, A triple-mutated allele of granzyme B incapable of inducing apoptosis. *PNAS* 2003;100:2562-2567.
- 102) McLendon RE, Robinson JS Jr, Chambers DB, Grufferman S, Burger PC (1985): The glioblastoma multiforme in Georgia, 1977-1981. *Cancer* 56:894-897.

- 103) Meadows AT, Baum E, Fossati-Bellani F et al. Second malignants neoplasms in children: An update from the late effects study group. *J Clin Oncol* 1985; 3:532
- 104) Mitchell D, Fecci P., Sampson J. et al, Immunotherapy of malignant brain tumors. *Immunological Reviews* 2008; 222:70-100
- 105) Motyka B, Korbitt G, Pinkoski MJ et al. Mannose 6-Phosphate / Insulin-like growth factor 2 receptor is a death receptor for granzyme –b during cytotoxic T cell- induced apoptosis. *Cell* 2000;103:491-500
- 106) Mullbacher A, Waring P, Tha Hla R et al. Granzymes are the essential downstream effector molecules for the control of primary virus infections by cytolytic leucocytes *Proc Nat Acad Scie USA* 1999;13950-13955
- 107) Muscat JE, Malkin MG, Thompson S et al. Handheld cellular telephone use and risk of brain cancer. *JAMA* 2000;284:3001-3007
- 108) Nakao S, Terano M, Yamashita J et al, Serum immunoglobulin (IgG, IgM, IgA) levels in patients with primary brain tumors. *No To Shinkei* 1977;29(9):1005-1009.
- 109) Navas-Acien A, Pollan M, Gustavsson P et al. Occupation, exposure to chemicals and risk of gliomas and meningiomas in Sweden, *Am J Ind Med*, 2002, 42:214-227
- 110) Neglia JP, Meadows AT, Robison LL et al. Second neoplasms after acute lymphoblastic leukemia in childhood. *N Engl J Med* 1991: 325:1330
- 111) Norman MA, Holly EA, Ahn DK et al. Prenatal exposure to tobacco smoke and childhood brain tumors:results from the United States West Coast childhood brain tumor study, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996;5:127-133.
- 112) Nygaard R, Garwicz S, Haldorsen T et al. Second malignant neoplasms in patients treated for childhood leukemia. A population-based cohort study from the Nordic countries. The Nordic Society of Pediatric Oncology and Hematology, *Acta Paediatr Scand* 1991, 80:1220-1228

- 113) Ohgaki H, Dessen P, Jourde B, Horstmann S, Nishikawa T, Di Patre PL, Burkhard C, Maiorka P, Baeza N, Pisani P, Yonekawa Y, Yasargil MG, Lutolf U, Kleihues P : Pathways to glioblastoma: a population based study on incidence, survival rates and genetic alterations. *Cancer Res* 2004;64:6892-6899
- 114) Ohgaki H, Kleihues P: Epidemiology and etiology of gliomas. *Acta Neuropathol(Berl)* 2005;109(1):93-108
- 115) Ohsima H, Bartsch H. Chronic infections and inflammatory processes as cancer risk factors:possible role of nitric oxide in carcinogenesis., *Mutat Res* 1994;305:253-264
- 116) Okamoto Y, Diatre PL, Burkhard C, Horstmann S, Jourde B, Fahey M, Schuler D, Probst-Hensch NM, Yasargil MG, Yonekawa Y, Lutolf U, Kleihues P, Ohgaki H: Population-based study on incidence, survival rates, and genetic alterations of low-grade astrocytomas and oligodendrogliomas. *Acta Neuropathol* 2004;108:49-56
- 117) Olsen JH, Nielsen A, Schulgen G. Residence near high voltage facilities and risk of cancer in children. *Br Med J* 1993;307:891-895
- 118) Palma L, Di Lorenzo N, Guidetti B, Lymphocytic infiltrates in primary glioblastomas and recidivous gliomas, incidence, fate and relevance to prognosis in 228 operated cases. *J Neurosurg* 1978;49:854-861.
- 119) Pascoe MD, Marschall SE, Welsh KI et al, Increased accuracy of renal allograft rejection diagnosis using combined perforin granzyme b and Fas ligand fien-needle aspiration immunocytology. *Transplantation* 2000;69:2547-2553
- 120) Peitsch MC, Tschopp G. Granzyme-b. *Methods Enzymol* 1994;244:80-87
- 121) Peracoli MST, Montelli TCB, Scares AMVC et al, Immunological alterations in patients with primary tumors in central nervous system. *Arq Neuropsiquiatr* 1999;57:539-546.

- 122) Pinkoski MJ, Hoboman M, Heilbein JA et al. Entry and trafficking of granzyme-b in target cells during granzyme-b –perforing-mediated apoptosis. *Blood* 1998;92:1044-1054
- 123) Pisa P, Halapi E, Pisa EK et al. Selective expression of interleukin 10, interferon gamma, and granulocyte-macrophage colony stimulating factor in ovarian cancer biopsies. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:7708-7712.
- 124) Polednak AP, Flannery JT: Brain, other central nervous system and eye cancer. *Cancer* 1995;75:330-337.
- 125) Prados M: Neoplasms of the central nervous system; in Bast R, Kufe D, Pollock R, Weichselbaum R, Holland J, Frei E, (eds); *Cancer medicine*. 5th ed. Hamilton, Ontario: B.C. Decker, 2000: pp 1055-1082
- 126) Preston-Martin S, Mack W, Henderson BE. Risk factors for glioma and meningioma in males in Los Angeles County. *Cancer Res* 1989;49:6137-6143.
- 127) Preston-Martin S, Mack W, Henderson BE. Risk factors for gliomas and meningiomas in men in Los Angeles County, *Cancer Res* 1989;49:6137
- 128) Preston-Martin S, Navidi W, Thomas D et al. Los Angeles study of residential magnetic fields and childhood brain tumors. *Am J Epidemiol* 1996;143:105-119
- 129) Preston-Martin S, Yu MC, Benton B et al. N-nitroso compounds and childhood brain tumors: A case-control study, *Cancer Res* 1982;42:5240
- 130) Rapp M, Oscan Z, Steiger HJ et al, Cellular immunity of patients with malignant glioma: prerequisites for dendritic cell vaccination immunotherapy. *J Neurosurg* 2006;105(1):41-50
- 131) Relling MV, Rubnitz JE, Rivera GK et al. High incidence of secondary brain tumours after radiotherapy and antimetabolites. *Lancet* 1999.354:34-39

- 132) Reuter JD, Gomez DL, Wilson JH et al, Systemic Immune Deficiency Necessary for Cytomegalovirus Invasion of the Mature Brain. *J Virolog* 2004;78(3):1473-1487.
- 133) Ries LAG, Eisner MP, Kosary CL, et al., editors: SEER cancer statistics review 1975-2001. Bethesda, MD: National Cancer Institute 2004.
- 134) Risk factors for cerebral glioma in adults: a case-control study in an Italian population. *J Neurooncol.* 1994;1 9(1):61-67.
- 135) Rosso P, Terracini B, Fears TR et al. Second malignant tumors after elective end of therapy for a first cancer in childhood: a multicenter study in Italy, *Int J Cancer* 1994, 59:451-456
- 136) Roussel E, Gingras MC, Grimm EA et al, Predominance of a type 2 intratumoural immune response in fresh tumour-infiltrating lymphocytes from human gliomas. *Clin Exp Immunol* 1996;105:344-352.
- 137) Ryan P, Hurley SE, Johnson AM et al. Tumors of the brain and presence of antibodies to *Toxoplasma gondii*. *Int J Epidemiol* 1993;22:412
- 138) Sadetzki S, Zach L, Chetrit A, et al. Epidemiology of gliomas in Israel: a nationwide study. *Neuroepidemiology* 2008;31:264-269
- 139) Salvati M, Caroli E, Rocchi G, Frati A, Brogna C, Orlando ER: Post-traumatic glioma. Report of four cases and review of the literature. *Review. Tumori* 2004 Jul-Aug;90(4):416-419.
- 140) Savitz DA, Loomis DP. Magnetic field exposure in relation to leukemia and brain cancer mortality among electric utility workers. *Am J Epidemiol* 1995;141:123-134
- 141) Savitz DA, Kaune WT. Childhood cancer in relation to a modified residential wire code. *Environ Health Perspect* 1993;101:76-80
- 142) Savitz DA, Wachtel H, Barnes FA et al. Case-control study of childhood cancer and exposure to 50-Hz magnetic fields. *Am J Epidemiol* 1988;128:21

- 143) Scheuerer ME, Etzel CJ, Liu M, El Zein R, Airewele GE, Malmer B, Aldape KD, Weinberg JS, Yung WK, Bondy ML: Aggregation of cancer in first-degree relatives of patients with glioma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007 Nov;16(11):2491-2495
- 144) Schlehofer B, Blettner M, Becker N et al. Medical risk factors and the development of brain tumors. *Cancer* 1992, 69:2541
- 145) Schlehofer B, Blettner M, Preston-Martin S et al. Role of medical history in brain tumour development. Results from the international adult brain tumour study, 1999, *Int J Cancer* 82:155-160
- 146) Schoenberg BS, Christine BW, Whisnant JP: The descriptive epidemiology of primary intracranial neoplasms: the Connecticut experience. *Am J Epidemiol* 1976;104:499-510
- 147) Schuez J, Boehler E, Berg G, Schlehofer B, Hettinger I, Sclaefer K, Wahrendorf J, Kunna-Grass K, Blettner M: Cellular phones, cordless phones and the risks of glioma and meningioma (Interphone Study Group, Germany). *Am J Epidemiol* 2006 ;163(6):512-520
- 148) Schuman LM, Choi NW, Gullen WH. Relationship of central nervous system neoplasms to *Toxoplasma gondii* infection. *Am J Pub Health* 1967;52:782.
- 149) Schüz J; Böhler E, Berg G et al. Cellular phones, cordless phones, and the risks of glioma and meningioma (Interphone Study Group, Germany). *Am J Epidemiol* 2006;163(6):512-520.
- 150) Schwartzbaum J, Jonsson F, Ahlbom A. Cohort studies of association between self-reported allergic conditions, immune-related diagnoses and glioma and meningioma risk. *Int J Cancer*, 2003, 106:423-428
- 151) Selverstone B, Cooper DR. Astrocytoma and ABO blood groups, *J Neurosurg* 1961; 18:602

- 152) Sharif-Askari e, Alam A, Rhome E, Direct cleavage of the human DNA fragmentation factor -45 by granzyme b induces caspase-activated DNase release and DNA fragmentation. *Embo* 2001;20:3101-3113
- 153) Shtil AA, Turner JG, Durfee J et al, Cytokine-based tumor cell vaccine is equally effective against parental and isogenic multidrug-resistant myeloma cells: the role of cytotoxic T lymphocytes. *Blood* 1999;93:1831-1837
- 154) Simpson R, Horton MD, Scott C, et al: Influence of location and extent of surgical on survival of patients with glioblastome multiforme: results of three consecutive Radiation Therapy Oncology Group(RTOG) clinical trials. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1993;26:239-244.
- 155) Surawicz TS, Davis F, Freels S, Laws E, Menck HR: Brain tumor survival: results from the National Cancer Data Base. *J Neuro-Oncol.* 1998;40:151-160.
- 156) Surawicz TS, McCarthy BJ, Kupelian V, Jukich PJ, Bruner JM, Davis FG: Descriptive epidemiology of primary brain and CNS tumors: results from the Central Brain Tumor Registry of the United States, 1990-1994. *Neuro Oncol* 1999;1(1):14-25.
- 157) Sutton WR, Davis JE, Cancila M et al. Initiation of apoptosis by granzyme b requires direct cleavage of Bid, but not direct granzyme b –mediated caspase activation. *Exp Med* 2000;192:1403-1414
- 158) Tada M, de Tribolet N, Immunobiology of malignant gliomas. *J Clin Neuroscience* 1996; 3(2):102-113
- 159) Tak PP, Kummer JA, Hack CE et al, Granzyme-positive cytotoxic cells are specifically increased in early rheumatoid synovial tissue. *Arthritis Reum* 1994;37:1735-1743.

- 160) Takebayashi T, Varsier N, Kikuchi Y et al. Mobile phone use, exposure to radiofrequency electromagnetic field, and brain tumour: a case-control study. *Br J Cancer* 2008;98(11):1879
- 161) Takebayashi T, Varsier N, Kikuchi Y, Wake K, Taki M, Watanabe S, Akiba S, Yamaguchi N: Mobile phone use, exposure to radiofrequency electromagnetic field and brain tumour: a case-control study. *Br. J Cancer* 2008;98(3):652-659
- 162) Thierault G, Goldberg M, Miller AB et al. Cancer risks associated with occupational exposure to magnetic fields among electric utility workers in Ontario and Quebec, Canada and France: 1970-1989. *Am J Epidemiol* 1994;139:550-572
- 163) Thomas DA, Du CX, Wang X et al, DFF45/ICAD can be directly processed by granzyme-b during the induction of apoptosis. *Immunity* 2000;12:621-632
- 164) Thomas TL, Stewart PA, Stemhagen A et al. Risk of astrocytic tumors associated with occupational chemical exposures: A case- referent study. *Scand J Work Envir Health* 1987;13:417
- 165) Tola MR, Casetta I, Granieri E et al, Intracranial gliomas in Ferrara, Italy, 1976-1991. *Acta Neurol Scand* 1994;90:312-317.
- 166) Tomenius L. 50-Hz electromagnetic environment and the incidence of childhood tumors in Stockholm Country. *Bioelectromagnetics* 1986;7:191
- 167) Tuskan-Mohar L, Materlijan E, Jurjevic A et al, Epidemiology of primary central nervous system in the Coast and Gorski Kotar Country, Croatia, 1977-2000, *Tumori* 2004;90:550-555
- 168) Tuskan-Mohar L, Materljian E, Jurjevic A, Weiner-Crnja M, Willheim K, Antoncic I, Bucuk M, Sepcic J: Epidemiology of primary central nervous system tumors in the Coast and Gorski Kotar Country, Croatia, 1977-2000. *Tumori* 2004;90(6):550-555.

- 169) Twomey JJ, Rossen RD, Lewis VM et al Rheumatoid factor and tumor-host interaction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976;73(6):2106-8.
- 170) van den Pol AN, Reuter JD, Santarelli JG, Enhanced Cytomegalovirus Infection of Developing Brain Independent of the Adaptive Immune System. *J Virolog* 2002;76(17):8842-8854.
- 171) Villeneuve PJ, Agnew DA, Johnson KC et al. Brain cancer and occupational exposure to magnetic fields among men: results from a Canadian population-based case-control study. *Int J Epidemiol* 2002;31:210-217.
- 172) Walter AW, Hancock ML, Pui CH et al. Secondary brain tumors in children treated for acute lymphoblastic leukemia at St Jude Children's Research Hospital, 1998, *J Clin Oncol* 16:3761-3767
- 173) Weiss JF, Morantz RA, Bradley WP et al, Serum Acute-Phase Proteins and Immunoglobulins in Patients with Gliomas. *Cancer Res* 1979;39:542-544.
- 174) Wertheimer N, Leeper E. Electrical wiring configurations and childhood cancer. *Am J Epidemiol* 1979;109:273
- 175) Wiemels JL, Wiencke JK, Sison JD et al. History of allergies among adults with gliomas and controls. *Int J Cancer*, 2002, 98:609-615.
- 176) Wrensch M, Weinberg A, Wiencke J et al, History of Chickenbox and Shingles and Prevalence of Antibodies to Varicella-Zoster Virus and three other Herpesviruses among Adults with Glioma and Controls. *Am J Epidemiol* 2005;161:929-938.
- 177) Wrensch M, Weinberg A, Wiencke J et al, Prevalence of Antibodies to Four Herpesviruses among Adults with Glioma and Controls, *Am J Epidemiol* 2001; 154:161-165.

- 178) Wrensch M, Weinberg A, Wiencke J et al. History of Chickenbox and Shingles and Prevalence of Antibodies to Varicella-Zoster Virus and Three Other Herpesviruses among Adults with Glioma and Controls.
- 179) Yates PO, Pearce KM. Recent changes in blood-group distribution of astrocytomas, *Lancet* 1960;1:194
- 180) Young HF, Sakalas R, Kaplan AM. Immunologic depression in cerebral gliomas. *Adv Neurol* 1976;15:327-355.
- 181) Yüceer N, Arasil E, Temiz C, Serum immunoglobulins in brain tumours and lumbar disc diseases. *Neuroreport* 2000;11(2);279-81
- 182) Zampieri P, Meneghini F, Grigoletto F, Gerosa M, Licata C, Casentini L, Longatti PL, Padoan A, Mingrino S:
- 183) Zheng T, Cantor KP, Zhang Y et al. Risk of brain glioma not associated with cigarette smoking or use of other tobacco products in Iowa, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:413-414
- 184) Zisakis A, Piperi C, Themistocleous M et al, Comparative analysis of peripheral and localised cytokine secretion in glioblastoma patients. *Cytokine* 2007; 39:99-105
- 185) Zou JP, Morford LA, Chougnet C et al. Human glioma-induced immunosuppression involves soluble factors that alters monocyte cytokine profile and surface markers. *J Immunol* 1999;162:4882-4892.
- 186) Zulch KJ : Types histologiques des tumeurs du systeme nerveux central. Classification histologique internationale des tumeurs. Geneve :OMS, 1979