

INSTITUTO PRESBITERIANO MACKENZIE
FACULDADE EVANGÉLICA MACKENZIE DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRINCÍPIOS DA CIRURGIA

RAFAEL BADALOTTI

**IDENTIFICAÇÃO DE RECEPTORES DE MEMBRANA GABRA5
COMO ALVOS MOLECULARES EM GLIOMAS**

CURITIBA

2024

RAFAEL BADALOTTI

**IDENTIFICAÇÃO DE RECEPTORES DE MEMBRANA GABRA5 COMO ALVOS
MOLECULARES EM GLIOMAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Princípios da Cirurgia da Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Instituto de Pesquisas Médicas, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Princípios da Cirurgia.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Rassier Isolan
Coorientador: Prof. Dr. Jurandir Marcondes Ribas Filho

CURITIBA
2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca da Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná)

B132 Badalotti, Rafael

Identificação de receptores de membrana GABRA5 como alvos
moleculares em glicomas / Rafael Badalotti. - Curitiba, 2024.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Rassier Isolan

Coorientador: Prof. Dr. Jurandir Marcondes Ribas Filho

Dissertação (mestrado) - Instituto Presbiteriano Mackenzie,
Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Programa de Pós-
Graduação em Princípios da Cirurgia, 2024.

1. Glioma. 2. Sistema Nervoso Central. 3. Glioblastoma. 4.
Radioterapia. 5. Quimioterapia. I. Título.

CDD 616

*Dedico esta dissertação à minha esposa,
Beatriz, e à minha filha, Costanza.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Gustavo Rassier Isolan, por todo seu conhecimento e experiência que foram fundamentais para o desenvolvimento desta dissertação

Agradeço ao meu coorientador Jurandir Marcondes Ribas Filho, por todo apoio e ajuda em todo processo na elaboração deste trabalho.

Agradeço ao Prof. Dr. Rafael Roesler pelo empenho e disponibilidade em todos os momentos que necessitei.

Agradeço ao Centro Avançado de Neurologia e Neurocirurgia (CEANNE), pela oportunidade em me tornar parte do grupo, bem como participar de um projeto inovador para a neurocirurgia brasileira.

Ao Prof. Dr. Osvaldo Malafaia, coordenador da Pós-Graduação Mackenzie, exemplo a ser seguido é a dedicação à vida acadêmica.

Agradeço ao secretário da Pós-Graduação Marllon dos Santos de Oliveira, por todas instruções e direcionamento para a formatação e adequação deste trabalho.

Agradeço à Faculdade Mackenzie do Paraná, pelas excelentes aulas durante meu curso.

RESUMO

Introdução: Gliomas são os tumores primários mais comuns do sistema nervoso central. A maioria é formada por glioblastomas, com graus elevados de proliferação e invasão, com heterogeneidade biológica e pouca resposta aos tratamentos atuais. Sua etiologia não é conhecida, tendo a exposição a alta dose de radiação ionizante como um dos poucos fatores de risco reconhecidos. O tratamento é realizado com cirurgia, radioterapia e quimioterapia, aumentando a sobrevida dos pacientes. Imunoterapia e geneterapia não têm mostrado eficácia e, por isso, é imprescindível buscar o conhecimento de novas moléculas e genes envolvidos na carcinogênese dos gliomas. **Objetivos:** Avaliar se o receptor do ácido gama-aminobutírico alfa 5 (GABRA5) é um potencial alvo terapêutico ou biomarcador para gliomas de diferentes subgrupos, e a correlação entre os níveis de ácido ribonucleico mensageiro (mRNA) de GABRA5 com a sobrevida global nas amostras de gliomas. **Métodos:** Pesquisa experimental quantitativa; envolve a manipulação de variáveis; neste caso, a análise de receptores GABRA5 e a observação dos efeitos dessa manipulação e é concentrada na quantificação dos níveis ou da expressão do receptor GABRA5 e outros parâmetros quantificáveis em gliomas. **Resultados:** Em comparação ao tecido neural normal, foram observados níveis significativamente mais baixos de transcrições GABRA5 em astrocitomas graus 2 e 3, glioblastoma grau 4, oligoastrocitoma grau 3, oligodendroma graus 2 e 3 e astrocitoma pilocítico grau 1. A análise da sobrevida global em relação a níveis mais baixos ou mais altos de transcrições GABRA5 no conjunto de amostras de tumores que combinam todos os tipos de glioma, ou em diferentes tipos de glioma, não mostrou diferenças significativas entre os pacientes. A comparação da expressão de GABRA5 e da sobrevida global entre doentes com tumores de glioblastoma com isocitrato desidrogenase (IDH)-mutante e IDH-selvagem não revelou diferenças significativas. **Conclusão:** Os níveis de mRNA de GABRA5 em amostras de gliomas de todos os subgrupos histológicos são menores, em comparação ao controle. Não foi observada correlação entre os níveis de mRNA de GABRA5 com a sobrevida global dos subgrupos avaliados.

Palavras-chave: Glioma, Sistema Nervoso Central, Glioblastoma, Radioterapia, Quimioterapia.

ABSTRACT

Introduction: Gliomas are the most common primary tumors of the central nervous system. The majority are glioblastomas, with high degrees of proliferation and invasion, biological heterogeneity and little response to current treatments. Their etiology is unknown, with exposure to high doses of ionizing radiation being one of the few recognized risk factors. Treatment is carried out with surgery, radiotherapy and chemotherapy, increasing patient survival. Immunotherapy and gene therapy have not shown efficacy and, for this reason, it is essential to seek knowledge of new molecules and genes involved in the carcinogenesis of gliomas. **Objectives:** To assess whether the gamma-aminobutyric acid receptor alpha 5 (GABRA5) is a potential therapeutic target or biomarker for different glioma subgroups, and the correlation between the levels of GABRA5 messenger ribonucleic acid (mRNA) and overall survival in glioma samples. **Methods:** Quantitative experimental research; involves the manipulation of variables; the analysis of GABRA5 receptors and the observation of the effects of this manipulation, and is focused on quantifying the levels or expression of the GABRA5 receptor and other quantifiable parameters in gliomas. **Results:** In comparison to normal neural tissue, there were significantly lower levels of GABRA5 transcripts in astrocytoma grades 2 and 3, glioblastoma grade 4, oligoastrocytoma grade 3, oligodendroma grades 2 and 3, and pilocytic astrocytoma grade 1. Analysis of overall survival in relation to lower or higher levels of GABRA5 transcripts in the set of tumor samples combining all glioma types, or within different glioma types showed no significant differences among patients with different transcript levels. The comparison of GABRA5 expression and overall survival between patients with isocitrate dehydrogenase (IDH)-mutated and wild-type glioblastoma tumors showed no significant differences. **Conclusion:** GABRA5 mRNA levels in glioma samples from all histological subgroups are lower compared to the control. No significant correlation was observed between GABRA5 mRNA levels and overall survival in the subgroups evaluated.

Keywords: Glioma, Central Nervous System, Glioblastoma, Radiotherapy, Chemotherapy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Gliomas por tipo histológico	16
Figura 2 – Incidência e tipo de tumores cerebrais	17
Figura 3 – Grau 1 Astrocitomas pilocíticos e astrocitomas subependimários de células gigantes.....	18
Figura 4 – Grau 2 Astrocitomas de baixo grau, Astrocitoma fibrilar e gemistocítico .	18
Figura 5 – Grau 3 Astrocitomas anaplásicos	18
Figura 6 – Grau 4 Glioblastomas e gliossarcomas	19
Figura 7 – GABRA5.....	45

LISTA DE ABREVIATURAS

CEANNE	Centro Avançado de Neurologia e Neurocirurgia
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EGFR	Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico
EORTC	Organização Europeia para Pesquisa e Tratamento do Câncer
FLAIR	<i>Fluid-Attenuated Inversion Recovery</i>
fMRI	Ressonância Magnética Funcional
GABA	Ácido Gama-Aminobutírico
GABRA5	Receptor do Ácido Gama-aminobutírico Alfa 5
GABRD	Subunidade delta do receptor do ácido gama-aminobutírico
GBM	Glioblastoma Multiforme
GFAP	Proteína Glial Fibrilar Ácida
Gy	Gray
HR	Taxa De Risco
IC	Intervalo de Confiança
IDH	Isocitrato Desidrogenase
LCR	Líquido Cefalorraquidiano
MEEM	Miniexame do Estado Mental
MGMT	O6-metilguanina-DNA metiltransferase
MRI	Ressonância Magnética
mRNA	RNA mensageiro
NCCN	National Comprehensive Cancer Network
NEC	<i>Not Elsewhere Classifiable</i>
NOS	<i>Not Otherwise Specified</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
OS	Sobrevida global
PCV	Procarbazina, Lomustina e Vincristina
PIC	Pressão Intracraniana
RNA	Ácido ribonucleico
RT	Radioterapia
RTOG	Radiation Therapy Oncology Group
SNC	Sistema Nervoso Central

TERT Transcriptase Reversa da Telomerase
WHO World Health Organization

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	14
2.1 PRIMÁRIO.....	14
2.2 SECUNDÁRIOS	14
3 REVISÃO DA LITERATURA	15
3.1 GLIOMAS	15
3.1.1 Aspectos gerais	15
3.1.2 História da classificação dos gliomas	15
3.1.3 Classificação histopatológica e molecular	16
3.1.4 Epidemiologia	23
3.1.5 Manifestações clínicas	23
3.1.6 Tratamento cirúrgico.....	28
3.1.6.1 Seleção de terapia pós-operatória	29
3.1.7 Administração de radioterapia.....	38
3.1.8 Cuidados de apoio e monitoramento.....	40
3.1.9 Doença recorrente.....	40
3.1.10 Prognóstico	43
3.2 GABRA5.....	44
3.3 A IMPORTÂNCIA DA PESQUISA.....	49
4 MATERIAIS E MÉTODOS	51
4.1 Classificação do Estudo	51
4.2 Obtenção e Seleção de Amostras de Glioma.....	51
4.2.1 Fontes de amostras.....	51
4.2.2 Coleta de amostras de glioma.....	52
4.2.3 Critérios de inclusão e exclusão das amostras	52
4.3 Caracterização das Amostras	52
4.4 Histopatologia e Gradação dos Gliomas	52
4.5 Análise de Dados	52
4.5.1 Estratégias de análise estatística	53
4.5.2 <i>Software</i> e ferramentas utilizadas	53
4.5.3 Critérios para interpretação dos resultados.....	53
4.6 Aspectos Éticos.....	53

5 RESULTADOS.....	55
6 DISCUSSÃO	67
7 CONCLUSÃO	69
REFERÊNCIAS.....	70

1 INTRODUÇÃO

Gliomas são os tumores primários mais comuns do sistema nervoso central (SNC), com incidência geral de, aproximadamente, quatro a cinco por 100.000 por ano.^{1,2} A maioria dos gliomas consiste de glioblastomas, que são altamente proliferativos e invasivos, caracterizados por notável heterogeneidade biológica e pouca resposta aos tratamentos atuais.³ O prognóstico para os pacientes com gliomas difusos de baixo grau é mais favorável, mas esses tumores se transformam em gliomas malignos, com eventual prognóstico fatal.⁴ A etiologia dos gliomas não é conhecida, sendo a exposição a alta dose de radiação ionizante como um dos poucos fatores de risco reconhecidos.²

O grau histológico⁵ é um dos fatores preditivos do comportamento biológico e influencia na escolha da terapia adjuvante, radioterapia (RT) e/ou quimioterapia sob protocolos.

O grau 1 se aplica às lesões de baixo potencial proliferativo, com possibilidade de cura apenas com ressecção cirúrgica. O grau 2 são os tumores infiltrativos e, apesar do baixo potencial proliferativo, frequentemente recorrem e tendem a progredir para graus maiores. Os de grau 3 têm malignidade histológica evidente, com atipia nuclear e mitoses; muitos desses pacientes recebem RT e/ou quimioterapia. No grau 4, a citologia é francamente maligna, com frequentes mitoses e necroses, ampla disseminação em torno e propensão à disseminação cranioespinhal; a evolução é rápida para o óbito, independentemente da cirurgia. A Organização Mundial da Saúde (OMS)⁶ considera grau 1 o astrocitoma pilocítico circunscrito. Os astrocitomas difusos infiltrativos com citologia atípica, de grau 2. Aqueles com anaplasia e atividade mitótica são de grau 3 e, quando exibem proliferação microvascular e/ou necrose, grau 4.

O prognóstico nos gliomas de baixo grau depende da graduação pré-operatória do paciente, sendo mais favorável em indivíduos com menos de 50 anos, escala de performance de Karnofsky maior que 80, localizados em áreas não eloquentes e com diâmetro menor ou igual a 4cm.⁷

Nos gliomas de alto grau (3 e 4), uma análise multivariada⁸ demonstra melhor prognóstico em pacientes com escala de performance de Karnofsky maior que 80, idade menor que 45 anos, isocitrato desidrogenase tipo 1 (IDH1) mutado e com o gene promotor O6-metilguanina-DNA metiltransferase (MGMT) metilado.⁸

O tratamento dos gliomas é realizado com cirurgia, RT e quimioterapia, o que aumenta a sobrevida dos pacientes, porém, não alteram o desfecho fatal na maioria. Imunoterapia e geneterapia não têm mostrado eficácia. Por este motivo, torna-se imperativa a busca do conhecimento de novas moléculas e genes envolvidos na carcinogênese dos gliomas.

Um desses alvos moleculares é o ácido gama-aminobutírico (GABA), principal neurotransmissor inibitório do SNC. Seu receptor GABA tipo A (GABA-A) medeia as respostas inibitórias rápidas pela abertura de um canal de íons cloreto (Cl⁻), levando à hiperpolarização neuronal. O receptor GABA-A é constituído por combinações de diferentes subunidades, cada uma codificada por um gene específico.⁹ O gene receptor do ácido gama-aminobutírico alfa 5 (GABRA5), que codifica a subunidade alfa 5 do receptor GABA-A, tem sido proposto como potencial alvo terapêutico ou biomarcador em gliomas.¹⁰ No entanto, não há estudos detalhando sua expressão e correlação com desfechos clínicos em grandes coortes de pacientes.

2 OBJETIVOS

2.1 PRIMÁRIO

Avaliar se o GABRA5 é um potencial alvo terapêutico ou biomarcador para gliomas de diferentes subgrupos.

2.2 SECUNDÁRIOS

Avaliar a correlação entre os níveis de ácido ribonucleico mensageiro (mRNA) de GABRA5 com a sobrevida global (OS) nas amostras de gliomas.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 GLIOMAS

3.1.1 Aspectos gerais

Os gliomas representam a grande maioria dos tumores primários que surgem no SNC. O termo glioma refere-se a tumores que têm características histológicas semelhantes às células gliais normais: astrócitos, oligodendrócitos e células endimárias. Cada um desses tipos de gliomas contém características que abrangem um amplo espectro de agressividade biológica.

Historicamente, as lesões de crescimento mais lento, correspondentes aos graus 1 e 2 da OMS, têm sido comumente referidas como “gliomas de baixo grau”. A classificação da OMS recomenda evitar esses termos, uma vez que representam grupos heterogêneos de tumores, com propriedades biológicas, prognósticos e abordagens de tratamento significativamente diferentes.^{6,11} Entre os gliomas de grau 1 e 2, por exemplo, a classificação atual favorece a distinção entre gliomas difusos e circunscritos. Além disso, entre os tumores de graus 3 e 4, pode haver evoluções completamente diferentes, incluindo respostas às terapias.

3.1.2 História da classificação dos gliomas

A classificação e a gradação dos gliomas evoluíram ao longo do tempo, começando em 1926, com um sistema desenvolvido por Bailey e Cushing¹² e, posteriormente, revisado por Kernohan, Ringertz e outros. A classificação moderna dos gliomas é baseada na Classificação de Tumores do Sistema Nervoso Central da OMS, publicada pela primeira vez em 1979 e revisada cinco vezes desde então, a mais recente em 2021.^{6,11}

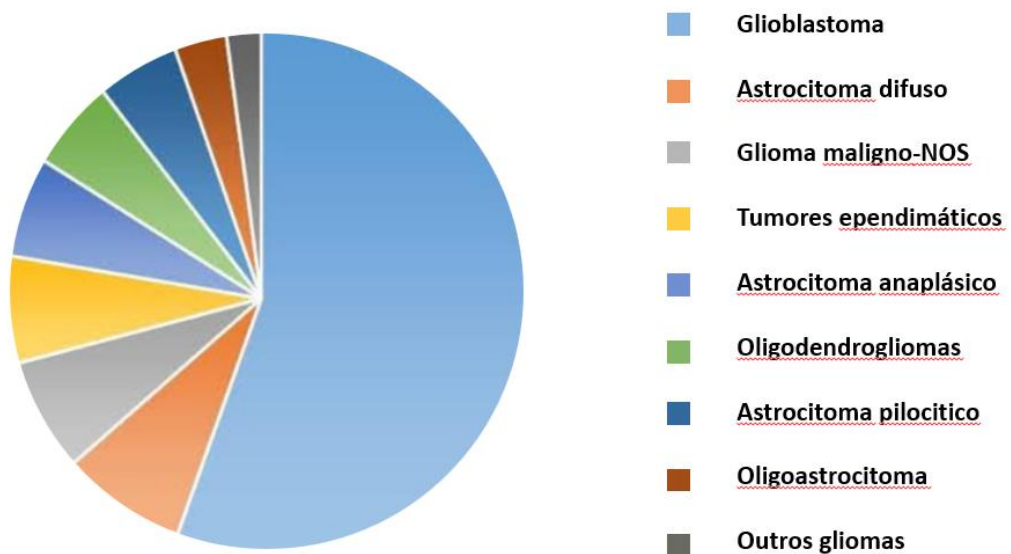
Desde a edição de 2016 da Classificação da OMS, os gliomas foram classificados com base não apenas na aparência histopatológica, mas também em parâmetros moleculares bem-estabelecidos.⁶ A incorporação de características moleculares impactou notavelmente a classificação dos tumores astrocíticos e oligodendrogliais, que são agrupados como gliomas difusos, com base no padrão de crescimento, comportamento e *status* genético compartilhado da isocitrato

desidrogenase (IDH). Abordagens moleculares adicionais, incluindo aquelas articuladas no cIMPACT-NOW, atualizações de 1 a 7,¹³⁻¹⁹ foram incorporadas na edição de 2021.¹¹

3.1.3 Classificação histopatológica e molecular

A classificação dos gliomas é feita pela microscopia de luz, auxiliada por imunohistoquímica e testes moleculares. A Classificação da OMS^{6,11} e as diretrizes da Sociedade Internacional de Neuropatologia^{20,36} incentivam o uso de diagnósticos integrados e em camadas, que acomodam parâmetros histológicos e genéticos em um único diagnóstico. (Figura 1)

Figura 1 – Gliomas por tipo histológico



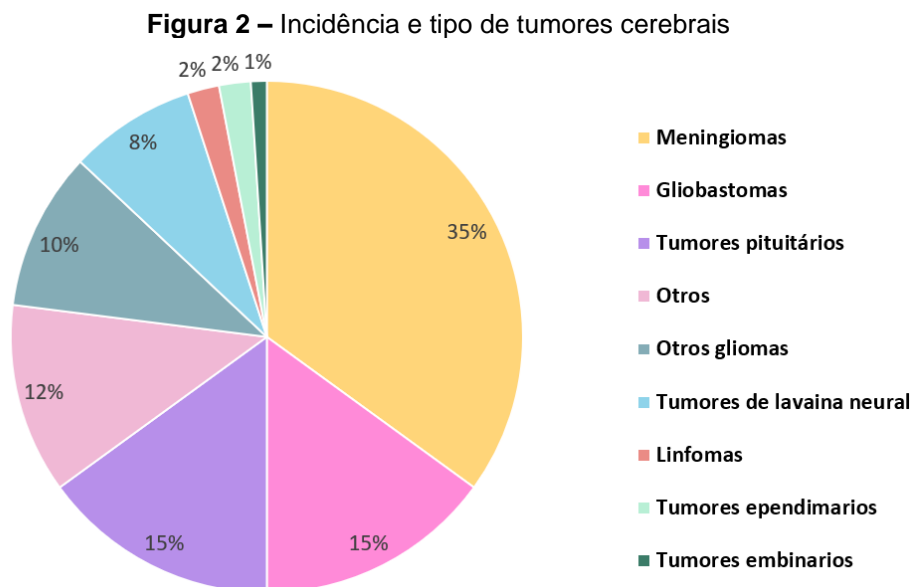
Fonte: O autor.

Gliomas difusos do tipo adulto: Os tumores astrocíticos e oligodendrogliomas difusos são classificados com base no *status* da mutação do IDH-mutante e IDH-selvagem, junto com várias outras alterações genéticas moleculares importantes, em vez de estritamente por características histopatológicas.^{6,11}

Com base nisso, surgem três tipos de tumores: astrocitomas mutantes de IDH, oligodendrogliomas mutantes de IDH e 1p/19q codeletados e glioblastoma de tipo selvagem de IDH.

Características gerais: Os tumores astrocíticos são compostos por células com núcleos alongados ou irregulares, hipercromáticos e citoplasma eosinofílico, positivo para a proteína glial fibrilar ácida (GFAP). Em contrapartida, os oligodendrogliomas apresentam núcleos arredondados, muitas vezes com halos perinucleares, calcificação e vasos sanguíneos delicados e ramificados. Todos esses tumores podem ter heterogeneidade regional significativa e são classificados histologicamente de acordo com suas áreas de aparência mais anaplásica.

Conforme os tumores aumentam em grau histológico, são observadas características adicionais de malignidade. Em geral, atipia nuclear e aumento da atividade mitótica caracterizam tumores de grau 3, enquanto proliferação microvascular e necrose definem tumores grau 4. No entanto, critérios específicos de classificação neuropatológica variam entre astrocitomas e tumores oligodendrogliais.¹¹ Além disso, os critérios de classificação histológica tradicionais não fornecem necessariamente poder prognóstico quando o *status* do gene IDH é levado em consideração,^{21,22} e certos marcadores moleculares são mais poderosos e foram incorporados à classificação, conforme discutido abaixo. (Figura 2)

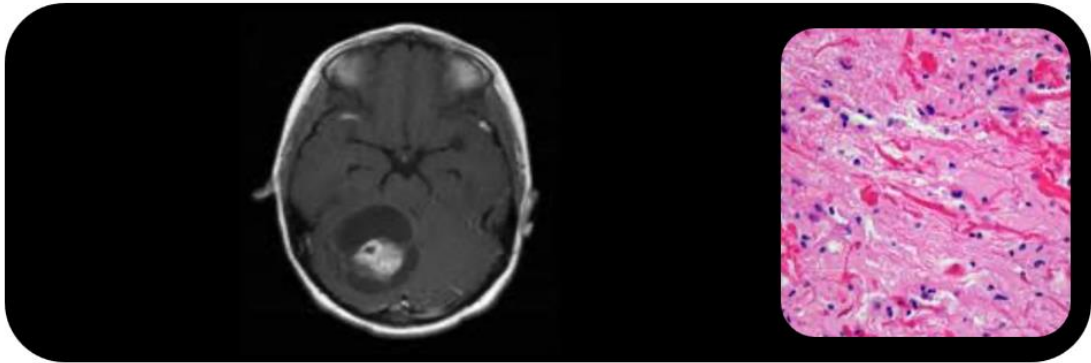


Fonte: o autor.

Astrocitoma, IDH-mutante: Entre os astrocitomas IDH-mutantes, o Sistema de Classificação da OMS reconhece três graus (2, 3 e 4), com base em características histopatológicas e moleculares.^{6,11} Os tumores que contêm uma deleção homozigótica do inibidor da quinase dependente da ciclina 2A/B têm um prognóstico ruim^{20,23,24} e

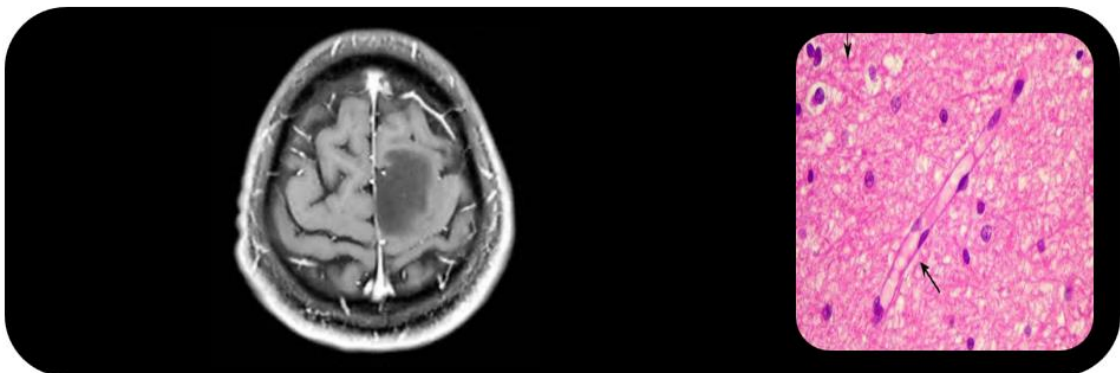
recebem um grau 4, independentemente dos achados histológicos. (Figura 3, Figura 4)^{11,18}

Figura 3 – Grau 1 Astrocitomas pilocíticos e astrocitomas subependimários de células gigantes



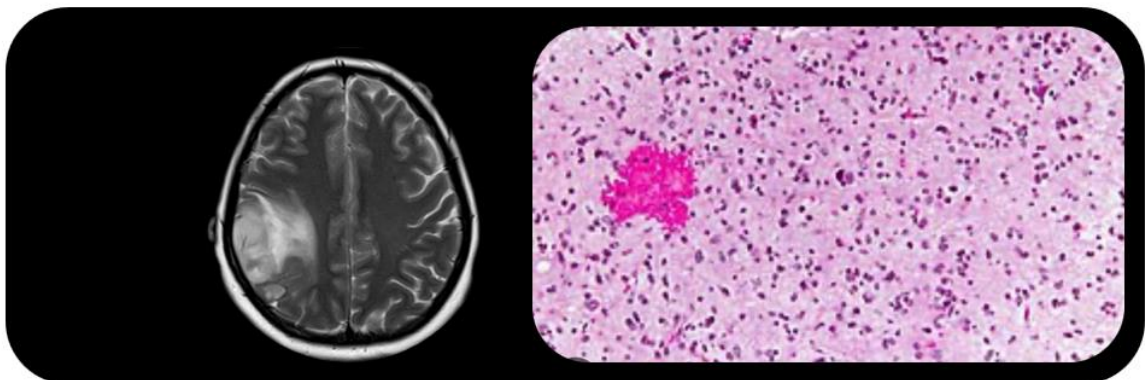
Fonte: o autor.

Figura 4 – Grau 2 Astrocitomas de baixo grau, Astrocitoma fibrilar e gemistocítico

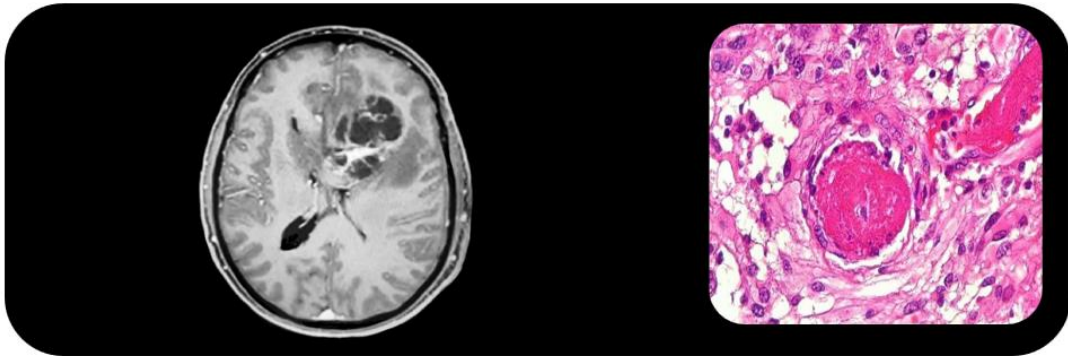


Fonte: o autor.

Figura 5 – Grau 3 Astrocitomas anaplásicos



Fonte: o autor

Figura 6 – Grau 4 Glioblastomas e gliosarcomas

Fonte: o autor

Astrocitoma, IDH-mutante, grau 2: São gliomas astrocíticos difusamente infiltrativos, com atipia e celularidade leve a moderadamente aumentada em comparação ao cérebro normal, mas sem atividade mitótica significativa, proliferação endotelial ou necrose. As células tumorais são bem diferenciadas e não apresentam características histológicas de anaplasia. São mais comuns em adultos jovens, com pico de incidência em meados dos 30 anos. São de crescimento lento, mas podem evoluir para graus mais malignos de astrocitoma ao longo dos anos, com uma sobrevida média de, aproximadamente, 11 anos.²¹

Astrocitoma IDH-mutante, grau 3: Distinguem-se dos tumores grau 2 pela maior celularidade, atipia nuclear e hipercromasia mais marcadas e atividade mitótica significativa. Por definição, proliferação endotelial e necrose não estão presentes. A sobrevida média para astrocitomas mutantes de grau 3 é de, aproximadamente, nove anos.²¹

Astrocitoma, IDH-mutante, grau 4: Compõem, aproximadamente, 10% de todos os gliomas astrocíticos de grau 4 (ou seja, a maioria são IDH-selvagem). São histologicamente semelhantes aos tumores grau 4 IDH-selvagem, embora menos propensos a conter áreas de necrose em paliçada e mais propensos a conter células com morfologia oligodendroglial.¹¹ Tumores com deleção CDKN2A/B também estão incluídos nesta categoria, mesmo na ausência de características histológicas de alto grau. Em comparação aos gliomas grau 4 IDH-selvagem, os astrocitomas IDH-mutantes grau 4 ocorrem em adultos mais jovens (idade média de 45 anos) e têm um prognóstico mais favorável, com uma sobrevida média aproximadamente duas vezes maior.^{25,26}

Oligodendroglioma, IDH-mutante e 1p/19q codeletado: São tumores histologicamente e molecularmente definidos, que abrigam mutações IDH1/2 e codeleção dos braços cromossômicos 1p e 19q. Eles existem em um espectro que varia de tumores bem diferenciados e de crescimento lento a tumores malignos com crescimento rápido.^{6,11}

Oligodendroglioma, IDH-mutante e 1p/19q codeletado, grau 2: Tumores oligodendrogliais apresentam células que, à microscopia de luz, apresentam núcleos redondos com halos perinucleares (aspecto de ovo frito) e padrão capilar ramificado. São tumores de infiltração difusa, tipicamente envolvendo a substância branca e o córtex cerebral, mais comumente nos lobos frontal e temporal.

Oligodendroglioma, IDH-mutante e 1p/19q codeletado, grau 3: São caracterizados por celularidade aumentada, pleomorfismo, atividade mitótica identificável e proliferação neovascular.

Os oligodendrogliomas estão associados a uma melhor resposta à RT e quimioterapia, em comparação a outros gliomas difusos do adulto, com uma sobrevida média de, aproximadamente, 15 a 20 anos com tratamento padrão.

Glioblastoma, IDH-selvagem: É o tumor cerebral primário maligno mais comum em adultos. São tumores de infiltração difusa, altamente celulares, pleomórficos, com atividade mitótica e proliferação microvascular ou necrose, ou ambos.

Por definição, os glioblastomas carecem de mutações IDH1/2, H3 k27M e H3 G34. Nos gliomas difusos de tipo selvagem de IDH-selvagem e H3, a presença de proliferação microvascular ou necrose é suficiente para o diagnóstico de glioblastoma (grau 4). Para astrocitomas difusos de tipo IDH-selvagem que não contêm características de anaplasia, testes moleculares adicionais são necessários, para um diagnóstico integrado. Tais tumores com receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), mutação do promotor da transcriptase reversa da telomerase (TERT) ou ganho simultâneo do cromossomo 7/ perda do cromossomo 10, seguem um curso clínico semelhante ao do glioblastoma^{14,27} e são classificados como glioblastoma do tipo selvagem na revisão de 2021 da OMS.¹¹

Variantes histológicas incluem glioblastoma de células gigantes, gliossarcoma e glioblastoma epitelióide. A variante epitelióide é frequentemente caracterizada pela mutação BRAF V600E, localização superficial e idade mais jovem no momento do diagnóstico.

O prognóstico para todas as variantes de glioblastoma é ruim, com sobrevida geralmente inferior a dois anos.

Designações *not otherwise specified* (NOS) e *not elsewhere classifiable* (NEC): Tumores que carecem de informações moleculares diagnósticas necessárias ou não são diagnósticos para a OMS se enquadram em uma das duas categorias:

- a) NOS: A designação NOS pode ser adicionada à maioria dos tipos de tumor acima; isso significa que um diagnóstico histopatológico e molecular completo e integrado não foi realizado ou não foi bem-sucedido.
- b) NEC: Indica que o teste de diagnóstico necessário foi realizado com sucesso, mas os resultados não permitem um diagnóstico específico da OMS.¹⁵

Oligoastrocitoma (entidade histórica): Não existe mais na Classificação da OMS. O diagnóstico de oligoastrocitoma NOS é, portanto, reservado para tumores histologicamente mistos, quando o teste molecular não está disponível ou é inconclusivo.

Astrocitoma, IDH-selvagem: A partir da revisão de 2021 do Sistema de Classificação da OMS, os diagnósticos de astrocitoma difuso IDH-selvagem grau 2 e 3 não são mais reconhecidos. A maioria dos astrocitomas difusos IDH-selvagem em adultos abriga marcadores moleculares de comportamento de alto grau, mesmo sem as características histológicas definidoras.

Gliomas difusos de baixo grau do tipo pediátrico: A edição de 2021 da OMS é a primeira a separar gliomas difusos que ocorrem principalmente em crianças daqueles que ocorrem principalmente em adultos, reconhecendo a natureza clínica e biologicamente distinta desses grupos.¹¹

Tumores glioneuronais e neuronais: Uma grande variedade de tumores cerebrais primários menos comuns exibe tumores neuronais ou glioneuronais mistos. A maioria é de tumores relativamente circunscritos associados a um curso favorável, muitas vezes controlados apenas com cirurgia. O mais comum desses tumores é o ganglioglioma, um tumor bem demarcado, muitas vezes parcialmente cístico, que possui um componente astrocítico de baixo grau, acompanhado por coleções de células ganglionares neoplásicas. Às vezes, os gangliogliomas têm mutações no gene BRAF.²⁸ Seu comportamento corresponde ao grau 1 da OMS. Além das alterações BRAF, alguns tumores glioneuronais abrigam fusões oncogênicas envolvendo genes como a família NTRK, que podem ser terapeuticamente relevantes.²⁹

Tumores endimários: Os endimomas são um grupo heterogêneo de gliomas bem circunscritos, com características histológicas que se assemelham às células endimárias que revestem o sistema ventricular. Os endimomas têm propensão para os ventrículos do cérebro e para a medula espinhal.

A classificação de endimomas de 2021 da OMS incorpora anatomia (supratentorial, fossa posterior, espinhal), histologia (subendimoma, endimoma mixopapilar, endimoma) e alterações moleculares na classificação e reconhece vários novos tipos definidos molecularmente. Os seguintes tipos de tumor são reconhecidos:

- a) Subendimomas: São gliomas grau 1 da OMS, caracterizados pelo agrupamento de pequenos núcleos redondos em uma matriz relativamente anucleada de prolongamentos citoplasmáticos fibrilares. Alterações microcísticas e calcificações são comuns. Eles podem surgir em qualquer um dos compartimentos anatômicos, mais comumente na fossa posterior ou região supratentorial. Os subendimomas do terceiro ventrículo e da medula espinhal são mais raros. A maioria dos subendimomas é assintomática e detectada incidentalmente em neuroimagem.
- b) Endimoma mixopapilar: Os endimomas mixopapilares são gliomas de grau 2 da OMS, caracterizados por células tumorais fusiformes ou epitelioides, dispostas radialmente ao redor dos vasos sanguíneos com alteração mixoide perivascular e formação de microcistos. Eles têm um perfil de metilação de ácido desoxirribonucleico (DNA) reconhecível, mas não apresentam alterações moleculares recorrentes em um único gene. Os endimomas mixopapilares surgem mais comumente na medula espinhal, quase exclusivamente no cone medular e *filum terminale*. Outras localizações são raras, mas bem descritas, incluindo os ventrículos laterais e o quarto ventrículo, parte superior da medula espinhal e fora do SNC.
- c) Endimoma: Os endimomas são tumores gliais circunscritos, caracterizados por células pequenas e uniformes com núcleos redondos embutidos em uma matriz fibrilar e pseudorosetas focais ou rosetas endimárias. Ocorrem em cada um dos três compartimentos anatômicos, mais comumente na fossa posterior e na coluna vertebral. Os endimomas são considerados tumores grau 2, mas a alta celularidade e a presença de mitoses podem garantir uma designação de grau 3. Ainda não se sabe se os

ependimomas grau 3 têm um prognóstico marcadamente pior do que os ependimomas típicos, principalmente em pacientes jovens.

3.1.4 Epidemiologia

A taxa de incidência ajustada por idade de tumores primários do cérebro e do sistema nervoso nos Estados Unidos é estimada em 25 por 100.000 pessoas.³⁰ Aproximadamente 30% dos tumores são malignos. Meningiomas e tumores gliais (por exemplo, glioblastoma, astrocitoma, oligodendroglioma) representam, aproximadamente, dois terços de todos os tumores cerebrais primários em adultos.

A frequência de vários tipos e graus varia de acordo com a faixa etária. Em adolescentes e adultos jovens, os tumores cerebrais primários são mais comuns do que os metastáticos e, entre os tumores cerebrais primários, predominam os gliomas de baixo grau. Em adultos com idade acima de 30 a 40 anos, os tumores cerebrais metastáticos tornam-se cada vez mais prevalentes, representando mais da metade de todos os tumores cerebrais. O glioblastoma é o tumor cerebral primário maligno mais comum em adultos, com idade média de diagnóstico de 64 anos.

A maioria dos tumores cerebrais primários em adultos é esporádica, sem fatores de risco identificáveis. Além de síndromes genéticas relativamente raras, como neurofibromatose e síndromes de predisposição ao câncer, como a síndrome de Li-Fraumeni, o único fator de risco estabelecido para tumores cerebrais primários é a exposição à radiação ionizante.

3.1.5 Manifestações clínicas

Pacientes com tumores cerebrais podem apresentar sinais e sintomas generalizados e/ou focais, ou podem ser assintomáticos.

Os sintomas de gliomas de alto grau e metástases geralmente progridem ao longo de dias a semanas, enquanto os de baixo grau e outros tumores indolentes podem progredir ao longo de meses a anos. A ausência de sintomas é mais comum em tumores de baixo grau e pequenas lesões sem edema circundante.

Dor de cabeça: A dor de cabeça é uma manifestação comum de tumores cerebrais e um sintoma de apresentação em até metade dos pacientes. Por outro lado,

os tumores cerebrais são uma causa incomum de dores de cabeça e representam uma proporção muito pequena de todas as dores de cabeça na prática médica geral.

As dores de cabeça associadas a tumores cerebrais são geralmente monótonas e constantes, mas ocasionalmente latejantes. A qualidade de cefaleia mais comum é do tipo tensional (40% a 80%), seguida de enxaqueca (10%).^{31,32} As dores de cabeça geralmente são de localização bifrontal, pior do mesmo lado do tumor.

A gravidade dos sintomas tende a progredir com o tempo. Cefaleias intensas são infrequentes, a menos que haja aumento da pressão intracraniana (PIC) ou irritação meníngea. A cefaleia “clássica” de tumor cerebral matinal parece ser incomum.

Os pacientes podem relatar piora da cefaleia após uma mudança na posição do corpo, como curvar-se, ou com manobras que aumentam a pressão intratorácica, como tosse, espirro ou manobra de Valsalva. Essas atividades levam a um período de aumento da PIC, que raramente pode causar perda de consciência.

As dores de cabeça relacionadas ao tumor podem piorar à noite e despertar o paciente. Acredita-se que esse padrão noturno se deva, em parte, a aumentos transitórios na pressão parcial de dióxido de carbono, um potente vasodilatador, durante o sono. Outras possíveis explicações fisiológicas incluem decúbito e diminuição do retorno venoso cerebral.

Outras características sugestivas de tumor cerebral ou outras causas de cefaleia secundária incluem sintomas novos e progressivos, náuseas e vômitos matinais, alteração significativa no padrão de cefaleia anterior e exame neurológico anormal.

Convulsões: As convulsões focais estão entre os sintomas mais comuns de tumores cerebrais primários e metastáticos. As convulsões afetam de 50% a 80% dos pacientes com tumores cerebrais primários e 10% a 20% dos indivíduos com tumores metastáticos. Entre os tumores cerebrais primários, os de baixo grau são mais propensos a causar convulsões do que os de alto grau.

As manifestações clínicas das convulsões focais dependem da localização do tumor. Por exemplo, tumores do lobo frontal podem causar movimentos tônico-clônicos focais envolvendo uma extremidade, enquanto convulsões com origem no lobo occipital podem causar distúrbios visuais. As convulsões do lobo temporal costumam ser as mais difíceis de diagnosticar e localizar. Nesse cenário, mudanças

comportamentais repentinas e abruptas podem ocorrer com ou sem auras pré-convulsivas típicas, como olfato, paladar ou sintomas gastrointestinais anormais.

As convulsões relacionadas ao tumor são tipicamente repetitivas e estereotipadas em um determinado paciente. O evento ictal pode ser precedido por uma aura, que é, em si, uma breve convulsão focal, seguida por sequelas pós-ictais. A fase pós-ictal pode se manifestar como um período de fadiga e vontade de dormir. Para pacientes com convulsões focais, uma paresia pós-ictal (também conhecida como paralisia de Todd) pode estar presente.

Crises de início focal em qualquer localização podem evoluir para tônico-clônicas bilaterais. Se a propagação da convulsão for rápida ou se a fase inicial não for presenciada, a convulsão inicial pode aparecer como tônico-clônica generalizada. Convulsões focais sutis ou breves podem durar meses, antes que uma convulsão generalizada leve o paciente ao atendimento médico, particularmente no caso de tumores cerebrais primários de baixo grau.

Ambos os tumores cerebrais primários e metastáticos podem causar estado de mal epilético, que pode ocorrer no momento do diagnóstico ou posteriormente.³³

Geralmente, os pacientes que apresentam convulsões têm tumores cerebrais primários menores, ou menos lesões metastáticas no cérebro, em comparação com aqueles que apresentam outros sintomas. Isso provavelmente ocorre porque o diagnóstico de convulsão é uma indicação de neuroimagem, o que leva a um diagnóstico mais precoce.

Uma convulsão não deve ser confundida com um evento sincopal, que pode ser causado por um aumento abrupto da PIC. Essa distinção é importante, pois o tratamento é diferente nas duas condições. Pacientes com convulsões têm alto risco de recorrência e devem ser tratados com medicamentos anticonvulsivantes. Por outro lado, pacientes com aumento da PIC requerem glicocorticoides urgentes, intervenção neurocirúrgica ou ambos.

Déficits focais: Sinais e sintomas focais de tumores cerebrais variam de acordo com a localização. Podem ser causados por ruptura tecidual local, efeito de massa em estruturas próximas ou edema vasogênico.

Fraqueza: A fraqueza muscular é uma queixa comum em pacientes com tumores cerebrais. As manifestações podem ser sutis, principalmente nos estágios iniciais. Para lesões do neurônio motor superior, geralmente, a fraqueza é mais pronunciada nos flexores das extremidades inferiores do que nos extensores, e mais

pronunciada nos extensores do que nos flexores nas extremidades superiores. A fraqueza transitória pode representar um estado pós-ictal, como na paralisia de Todd.

Uma característica fundamental da fraqueza muscular relacionada ao tumor é sua responsividade frequente aos glicocorticoides, particularmente com tumores próximos ao córtex motor ou suas fibras descendentes. Uma resposta aos esteroides geralmente significa que a fraqueza é causada por edema, e não pelo envolvimento direto do tumor, como é frequentemente o caso de tumores metastáticos. Nesses pacientes, a ressecção do tumor pode aliviar o efeito de massa e diminuir a necessidade de glicocorticoides, mesmo que a cirurgia em si não seja curativa.

Perda sensorial: Déficits sensoriais corticais (anormalidades na grafestesia ou estereognose) podem se desenvolver em pacientes cujos tumores envolvem o córtex sensorial primário. Esses déficits sensoriais geralmente não respeitam a distribuição de um dermatomo ou nervo periférico.

O tipo de déficit varia, em parte, com a localização do tumor. Como exemplo, as síndromes de desconexão visuoespacial podem ser encontradas em pacientes com tumores localizados no córtex de associação visual. Outros déficits sensoriais de base cortical incluem perda de orientação espacial, formigamento e falta de coordenação.

Afasia: Pacientes com tumor no hemisfério dominante da linguagem podem apresentar vários graus e tipos de afasia. O hemisfério esquerdo é dominante em mais de 95% das pessoas destros e mais de 70% das canhotas.³⁴

Os sintomas variam de hesitação ocasional em encontrar palavras ou substituições na fala rotineira, até afasia expressiva ou receptiva grave. Tumores no lobo frontal perto da área de Broca normalmente produzem uma afasia não fluente ou expressiva, enquanto tumores no lobo temporal posterior frequentemente causam dificuldades na compreensão da linguagem (afasia receptiva). Os tumores no lobo parietal dominante e no tálamo também costumam causar disfunção da linguagem.

Uma avaliação formal da dominância da linguagem e localização usando ressonância magnética funcional (fMRI) e outras técnicas é frequentemente necessária em pacientes com afasia, para determinar a viabilidade da ressecção cirúrgica.

Disfunção visuoespacial: A via visual percorre o cérebro desde a retina e o quiasma óptico até os polos occipitais do córtex cerebral. Devido ao seu longo

percurso pelo cérebro, a via visual pode ser afetada por tumores cerebrais que envolvem qualquer uma dessas áreas.

A compressão relacionada ao tumor do quiasma óptico geralmente se manifesta como uma hemianopsia bitemporal. No entanto, pode haver hemianopsia unilateral com escotoma central no olho contralateral nos estágios iniciais, principalmente quando a compressão é unilateral. Acredita-se que esta última resulte da compressão parcial do joelho de Wilbrand no nervo óptico contralateral, embora a existência dessa via tenha sido questionada.

As lesões pós-quiasmáticas também podem apresentar anormalidades visuais. Como as fibras visuais estão mais afastadas antes de convergirem no lobo occipital, quanto mais anterior a lesão na radiação óptica, mais assimétrica é a hemianopsia (hemianopsia incongruente). Lesões no córtex occipital causam hemianopsia congruente.

Disfunção cognitiva: A disfunção cognitiva, que inclui problemas de memória e humor ou mudança de personalidade, é comum entre pacientes com tumores cerebrais primários e metastáticos.

A maioria dos déficits neurocognitivos associados a tumores cerebrais são sutis. Geralmente, os pacientes se queixam de falta de energia, fadiga, vontade de dormir e perda de interesse nas atividades cotidianas. Eles podem se tornar abúlicos e mostrar falta de espontaneidade. Esse padrão de sintomas pode ser confundido com depressão.

Como esses sintomas carecem de especificidade, eles são frequentemente reconhecidos em retrospecto pelo paciente ou pelo médico assistente. Assim, deve-se considerar a neuroimagem, para descartar um tumor cerebral em pacientes sem história prévia de depressão que apresentam novos sintomas depressivos sem causa óbvia.

Aumento da PIC: O aumento da PIC pode surgir de uma grande massa ou da restrição do fluxo de líquido cefalorraquidiano (LCR), causando hidrocefalia. Os sintomas podem ser sutis ou consistir na tríade clássica de cefaleia, náusea e papiledema.

Náuseas e vômitos não são específicos de PIC alta e podem ocorrer com causas mais comuns de cefaleia, como enxaqueca. Várias características sugerem a possibilidade de êmese associada ao tumor, como o desencadeamento da êmese por uma mudança abrupta na posição do corpo. Geralmente, náuseas e vômitos

neurogênicos ocorrem no contexto de outros sintomas neurológicos, como cefaleia ou déficit neurológico focal; no entanto, esses sinais e sintomas podem ser sutis.

Na presença de um grande tumor cerebral ou associada à hidrocefalia, a PIC pode estar elevada a um nível que reduz a complacência cerebral; nesse cenário, mesmo um pequeno aumento adicional no volume de fluido intracraniano pode resultar em elevações drásticas na PIC.

Um aumento significativo na PIC pode diminuir temporariamente a perfusão cerebral, levando à perda de consciência. Pacientes com elevação basal da PIC são particularmente suscetíveis a essa sequência de eventos em associação com ondas de platô, que são aumentos sustentados da PIC causados por atividades que aumentam temporariamente a PIC. As atividades que podem desencadear uma onda de platô incluem passar da posição sentada para a de pé e manobras que aumentam a pressão intratorácica, como a manobra de Valsalva, tosse, espirro ou vômito.

Um episódio de síncope por PIC elevada pode simular uma convulsão, pois os pacientes sofrem perda de consciência e podem ter alguns espasmos tônico-clônicos. A identificação de episódios de perda de consciência relacionados à onda de platô é crítica, uma vez que esses eventos identificam pacientes que requerem glicocorticoides urgentes e/ou intervenção neurocirúrgica para reduzir a PIC elevada, em vez de tratamento com um medicamento anticonvulsivante.

3.1.6 Tratamento cirúrgico

A ressecção segura máxima é a abordagem inicial preferida para pacientes com suspeita de gliomas difusos de todos os graus, mesmo para tumores descobertos incidentalmente. Dependendo da localização e extensão do tumor, apenas uma ressecção parcial ou uma biopsia podem ser viáveis com segurança. Sempre que possível, o tratamento cirúrgico de gliomas difusos suspeitos deve ocorrer em centros de alto volume, com experiência em neurocirurgia oncológica.

Planejamento cirúrgico: A avaliação neurocirúrgica pré-operatória pode incluir ferramentas como fMRI e imagem por tensor de difusão, para ajudar a delinear a segurança e a viabilidade da ressecção do tumor. Uma variedade de técnicas intraoperatórias permite que os neurocirurgiões melhorem a extensão da ressecção, minimizando os danos ao cérebro normal.

Momento da cirurgia: Normalmente, a cirurgia é realizada no momento da apresentação inicial para pacientes com astrocitomas grandes ou sintomáticos, bem como tumores com características relacionadas à histologia de alto grau (por exemplo, realce, necrose central, edema). Para pacientes com pequenos tumores sem realce e sintomas mínimos, o papel da intervenção cirúrgica imediata *versus* ressecção tardia tem sido debatido.^{35,36} No entanto, a conduta mudou para favorecer a ressecção segura máxima no momento do diagnóstico também para esses pacientes, com base em dados observacionais e revisões da literatura, que encontraram uma tendência de melhorar a sobrevida com essa abordagem, mesmo em indivíduos assintomáticos, com tumores descobertos acidentalmente.^{35,37-42} Além disso, como a neuroimagem não pode estabelecer grau ou histologia, a cirurgia precoce permite um diagnóstico histopatológico e molecular definitivo, que informa a seleção do tratamento, urgência e prognóstico.

Extensão da ressecção: Em pacientes com tumores passíveis de ressecção, estudos observacionais fornecem suporte para uma ressecção mais extensa, em vez de ressecção parcial ou biopsia.^{39,43-48} Em tais estudos, a integridade da ressecção inicial de um glioma difuso é um preditor independente de sobrevida livre de progressão e OS.^{44,46}

Quando subconjuntos molecularmente definidos de gliomas difusos são analisados de acordo com os critérios contemporâneos da OMS, a vantagem da ressecção extensa existe em todos os subtipos moleculares, mas parece ser mais relevante para astrocitomas mutantes de IDH. Nesses tumores, mesmo a doença residual limitada na ressonância magnética (MRI) pós-operatória (por exemplo, $\leq 5\text{cm}^3$) pode estar associada a um impacto negativo na OS, em comparação à ressecção completa.⁴⁶

3.1.6.1 Seleção de terapia pós-operatória

Somente a cirurgia isoladamente não é curativa em pacientes com gliomas difusos, mesmo para tumores de grau 2, e terapia adicional (ou seja, radiação e quimioterapia) é necessária em quase todos os casos. Embora haja um consenso de que a maioria dos astrocitomas com mutação IDH de grau 3 e 4 deve ser tratada no momento do diagnóstico com radiação e quimioterapia, o momento ideal de terapia adicional para pacientes com tumores de grau 2 é menos certo, e a decisão de

prosseguir com a terapia pós-operatória imediata *versus* tardia deve ser individualizada.

Nossa abordagem apresentada abaixo é geralmente consistente com as diretrizes baseadas em consenso publicadas pela National Comprehensive Cancer Network (NCCN), American Society of Clinical Oncology, Society for Neuro-Oncology, e pela European Association of Neuro-Oncology, exceto onde indicado.⁴⁹⁻⁵⁴

Tumor de grau 2, ressecção total

Observação *versus* terapia imediata

Nossa abordagem: Para a maioria dos pacientes submetidos à ressecção total de um astrocitoma IDH-mutante de grau 2, sugerimos observação inicial após a cirurgia, em vez de RT e quimioterapia pós-operatória imediata. Espera-se que esses tumores acabem recorrendo e requeiram terapia adicional no momento da progressão. Conforme discutido abaixo, as evidências de apoio indicam que o adiamento da RT nesse cenário não parece prejudicar a sobrevida geral, embora adie as possíveis toxicidades da terapia.^{49,55-57} Os pacientes que se sentem desconfortáveis com as incertezas que cercam a observação podem escolher razoavelmente a terapia pós-operatória imediata, embora essa abordagem esteja associada a maior toxicidade a curto prazo.

É digno de nota que uma variedade de fatores foi usada ou proposta para definir um subgrupo de alto risco após a ressecção total que justifica o tratamento imediato. Os mais comuns são idade avançada (> 40 anos, por exemplo), grande volume tumoral pré-operatório (por exemplo, ≥ 4 cm) e presença de déficits neurológicos. O uso desses fatores para apoiar a terapia precoce é complicado, no entanto, esses fatores são, indicadores prognósticos (em vez de preditivos), e não foram testados em estudos prospectivos para identificar quais pacientes podem se beneficiar do tratamento precoce, particularmente para um grupo geneticamente uniforme de tumores IDH-mutantes.

A prática sobre a importância dos fatores de risco individuais varia entre os especialistas. Como idade > 40 anos e/ou ressecção incompleta foram usados como critérios de inclusão para o ensaio de RT de glioma de baixo grau do Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) 9802 com ou sem procarbazina, lomustina e vincristina (PCV),⁵⁸ por exemplo, esses critérios são usados por alguns especialistas,

bem como as diretrizes de consenso da NCCN para selecionar pacientes para tratamento pós-cirúrgico imediato.⁴⁹ Dados de séries retrospectivas de astrocitomas mutantes do IDH sugerem que o limite de idade que acarreta um pior prognóstico é, provavelmente, maior do que se pensava anteriormente (50 a 60 anos).^{59,60}

Evidências de apoio: Os resultados da RT precoce *versus* tardia em gliomas de baixo grau são ilustrados pelo estudo 22845 da Organização Europeia para Pesquisa e Tratamento do Câncer (EORTC), que designou, aleatoriamente, 311 pacientes com gliomas de baixo grau para RT imediata (54 gray – Gy – em seis semanas), ou nenhuma terapia até a progressão após biopsia inicial ou ressecção.⁴⁹ Em um acompanhamento médio de quase oito anos, a RT pós-operatória imediata prolongou a sobrevida livre de progressão em comparação à observação inicial (5,4 *versus* 3,7 anos), mas não afetou a OS (7,4 *versus* 7,2 anos). O controle das convulsões foi melhor no grupo de RT inicial. A maioria dos pacientes no grupo sem terapia (65%) recebeu RT na progressão. Entre os pacientes submetidos à cirurgia no momento da recorrência, aproximadamente dois terços dos tumores eram de alto grau em cada grupo. O *status* mutacional IDH dos tumores neste estudo é desconhecido.

A ausência de um benefício de sobrevivência para RT precoce em comparação à RT no momento da progressão sugere que a RT retarda a progressão de gliomas de baixo grau, mas não impede a transformação em gliomas de alto grau. Esses resultados geralmente justificam o adiamento das toxicidades potenciais da RT em pacientes submetidos à ressecção completa de um astrocitoma mutante do IDH recém-diagnosticado, alguns dos quais podem não necessitar de terapia adicional por muitos anos.

História natural após ressecção completa: A história natural da observação inicial de astrocitomas difusos completamente ressecados é amplamente informada por estudos mais antigos que incluíram uma mistura de tumores astrocíticos e oligodendrogliais com *status* de IDH desconhecido. Em uma série prospectiva de 111 pacientes com glioma de baixo grau que tiveram uma ressecção tumoral com base na avaliação cirúrgica, as taxas de OS em dois e cinco anos foram de 99% e 93%, respectivamente.²¹ Aproximadamente 50% dos pacientes permaneceram livres de progressão em cinco anos. Os fatores associados à recorrência precoce incluíram tumor de tamanho grande (≥ 4 cm), histologia de astrocitoma ou oligoastrocitoma, em vez de oligodendroglioma e doença residual ≥ 1 cm por MRI. Em pequenas séries retrospectivas de pacientes com astrocitomas IDH-mutantes de grau 2 confirmados

molecularmente que são observados após a cirurgia inicial, as taxas de sobrevida livre de progressão de cinco anos variam de 30% a 40% no geral, com taxas mais altas após ressecções mais extensas.^{46,61}

Intervalo de vigilância: A vigilância ativa após a cirurgia normalmente envolve MRI com contraste a cada três a quatro meses.⁶² Alguns médicos prolongam o intervalo de acompanhamento para seis meses após um a dois anos de imagem estável, dada a longa sobrevida livre de progressão em muitos desses pacientes.

Astrocitomas de grau 2 com mutação IDH podem recorrer localmente nas margens da cavidade de ressecção, e a interpretação de pequenas alterações ao longo do tempo pode ser um desafio. Às vezes, pode levar vários anos para que o clínico se torne confiante de que pequenas alterações ou aumentos no sinal T2/*fluid-attenuated inversion recovery* (FLAIR) sem aumento são definitivamente progressivos e indicativos de recorrência do tumor. Nem toda pequena alteração é uma razão imediata para tratamento adicional; especialmente em lesões de crescimento lento, pode ser complicado identificar o momento certo para o tratamento posterior.

Em casos raros, o crescimento do tumor ocorre de forma mais precipitada, com rápida mudança de uma MRI para a seguinte, sugerindo transformação para um tumor de grau superior. Além do rápido crescimento do intervalo, outras pistas de degeneração maligna incluem o desenvolvimento de novos sintomas neurológicos, realce ou edema peritumoral.

Manejo no momento da progressão: O manejo de tumores recorrentes ou progressivos em pacientes que foram observados após a ressecção inicial de um glioma IDH-mutante de grau 2 é individualizado. As decisões levam em conta a taxa de alteração de um intervalo de MRI para o próximo, o volume total do tumor, sua localização no cérebro e ressecabilidade, preferências do paciente em relação a mais cirurgias, desenvolvimento de realce de contraste e grau histopatológico do tumor progressivo, quando disponível.

Os cenários mais comuns incluem:

- a) Para pacientes com um volume relativamente baixo de tumor recorrente sem aumento, ou aqueles que não são elegíveis, ou não desejam se submeter a uma cirurgia adicional, normalmente procedemos com RT mais quimioterapia, de acordo com o padrão de tratamento para astrocitomas de grau 2 com mutação IDH.

- b) Para pacientes com recorrência grande ou rapidamente progressiva, a ressecção é frequentemente indicada para citorredução, que também pode fornecer o grau do tumor e um diagnóstico molecular, caso ainda não esteja disponível. O manejo pós-operatório geralmente inclui RT e quimioterapia, conforme descrito abaixo para pacientes recém-diagnosticados.

Tumor de grau 2, ressecção subtotal: A terapia pós-operatória imediata é apropriada para a maioria dos pacientes com um astrocitoma de grau 2 mutante IDH recém-diagnosticado, que apresenta tumor sintomático ou residual significativo (além de convulsões bem controladas) após ressecção segura máxima.

É importante notar que a quantidade de tumor que constitui doença residual significativa não é estritamente definida. Quantidades modestas de tumor residual de grau 2 após a cirurgia, mesmo medindo > 1 a 2cm, podem ser razoavelmente observadas em alguns casos, desde que o paciente seja assintomático, além de epilepsia bem controlada.^{49,50} Conforme discutido acima, esses pacientes devem ser acompanhados com neuroimagem seriada, e determinar quando iniciar a terapia diante de alterações pequenas e incrementais no tumor residual pode ser um desafio.

Justificativa para RT mais quimioterapia: Uma vez que um paciente tenha sido selecionado para terapia pós-operatória adicional, recomendamos uma combinação de RT e quimioterapia (PCV ou temozolomida) em vez de RT isoladamente.^{49,50} O suporte para uma melhor sobrevida com esta abordagem em pacientes com astrocitomas IDH-mutantes grau 2 é baseado em resultados de acompanhamento de longo prazo do estudo RTOG 9802 (para PCV) e extrapolação do estudo CATNON em tumores de grau 3 (para temozolomida).^{63,64}

Ensaio RTOG 9802: No ensaio RTOG 9802, 251 pacientes com glioma de alto risco e baixo grau foram aleatoriamente designados para RT pós-operatória (54 Gy em 30 frações), com ou sem seis ciclos de quimioterapia adjuvante PCV.^{58,65} Alto risco foi definido como idade de 18 a 39 anos com ressecção ou biopsia subtotal, ou idade ≥ 40 anos com qualquer extensão de ressecção. A histologia do tumor foi astrocitoma difuso, oligodendroglioma e oligoastrocitoma misto em 26%, 42% e 32% dos casos, respectivamente. Com um tempo médio de acompanhamento de 11,9 anos, a combinação de RT mais PCV melhorou tanto a sobrevida livre de progressão quanto à OS, em comparação à RT isolada (OS mediana de 13,3 *versus* 7,8 anos, taxa de risco (HR) (0,59, p = 0,003).⁵⁸ A incidência de toxicidade hematológica de grau 3 e 4

foi de 8% e 3%, respectivamente, no braço RT isoladamente, em comparação com 51% e 15%, respectivamente, no braço RT com PCV; não houve mortes relacionadas ao tratamento e nenhum caso de leucemia secundária.⁶⁵ Ambos os braços de tratamento experimentaram melhora significativa nos escores do Miniexame do Estado Mental (MEEM) ao longo do tempo, e a adição de PCV à RT não foi associada ao declínio do MEEM.⁶⁶

O benefício de sobrevida conferido por PCV esteve presente em todos os subtipos histológicos,⁵⁸ mas foi mais claro nos subtipos moleculares. Em uma análise molecular de 42% dos casos inscritos, o benefício do PCV adjuvante foi observado tanto para oligodendroglioma (HR 0,21, $p = 0,029$) quanto para astrocitoma mutante IDH (HR 0,38, $p = 0,013$).⁶⁷ A confiança nessas análises é limitada por números pequenos e dados incompletos.

Geralmente, não oferecemos quimioterapia isolada como terapia inicial para pacientes com astrocitomas mutantes do IDH, pois esses tumores não são tão quimiossensíveis quanto os oligodendrogliomas. Uma exceção potencial são os pacientes com tumores extensos, que exigiriam um campo de RT muito grande, embora a sobrevida livre de progressão seja provavelmente menor com temozolomida do que com RT para indivíduos com astrocitomas.⁶⁸

Escolha de PCV versus temozolomida: Tanto o PCV quanto a temozolomida são opções razoáveis para terapia adjuvante junto com RT em pacientes com astrocitomas de grau 2 com mutação IDH, e não há estudos que tenham comparado esses dois regimes frente a frente.

Cada vez mais, favorecemos a temozolomida, porque ela é suportada por dados de astrocitomas mutantes IDH de grau 3; é mais fácil de administrar, é mais tolerada e tem disponibilidade mais consistente em algumas regiões. Por outro lado, o uso de PCV em pacientes com gliomas de baixo grau é apoiado pelos resultados do estudo RTOG 9802 revisado acima, que incluiu tumores astrocíticos e oligodendrogliais e mostrou um benefício de sobrevida de PCV mais RT sobre RT sozinho.

É importante ressaltar que, quando a temozolomida é escolhida para tumores de grau 2, geralmente tratamos com 12 ciclos de temozolomida pós-RT e omitimos a temozolomida diária (concomitante) durante a RT, com base nos resultados do estudo CATNON em tumores de grau 3 discutidos abaixo.

A maior experiência prospectiva com RT mais temozolomida em gliomas de grau 2 é o estudo RTOG 0424 de braço único, no qual 129 pacientes com glioma de baixo grau mais três ou mais fatores de risco – idade \geq 40 anos, histologia de astrocitoma, tumor bihemisférico, tumor pré-operatório diâmetro $>$ 6cm, estado da função neurológica pré-operatória $>$ 1 – foram tratados com radiação concomitante (54 Gy em 30 frações) com temozolomida diária, seguida por temozolomida mensal.⁶⁹⁻⁷¹ Com um tempo médio de acompanhamento de nove anos, a sobrevida livre de progressão em cinco anos e a OS foram de 47% e 61%, respectivamente. A OS mediana foi de 8,2 anos e a sobrevida geral em 10 anos foi de 34%. Esses resultados são superiores aos dos controles históricos tratados apenas com RT,^{72,73} no entanto, as diferenças nos critérios de elegibilidade impedem uma comparação com RT mais PCV. Efeitos adversos de grau 3 ou 4 ocorreram em 44% e 10% dos pacientes, respectivamente; a maioria dos efeitos foram hematológicos.

Tumor de grau 3, qualquer ressecção IDH-mutante: Recomenda-se RT pós-operatória imediata mais quimioterapia adjuvante em pacientes com astrocitoma mutante IDH de grau 3 recém-diagnosticado, independentemente do grau de ressecção ou de outros fatores de risco.

A base de evidências para RT mais quimioterapia em pacientes com astrocitoma mutante IDH de grau 3 recém-diagnosticado consiste em vários estudos randomizados importantes, mostrando que a adição de quimioterapia (PCV ou temozolomida) à RT melhora a sobrevida em relação à RT isolada.^{64,74-76} Todos os ensaios incluíram pacientes antes da Classificação Revisada de 2016 da OMS e, portanto, incluíram uma mistura de tumores de grau 3 com codeleção 1p/19q variável e *status* de mutação IDH. Embora a temozolomida e o PCV não tenham sido comparados diretamente neste cenário, a temozolomida é mais conveniente e menos tóxica, e seu uso é apoiado por dados randomizados em astrocitomas de grau 3 com mutação IDH.

Estudo EORTC 26053 (CATNON): O suporte direto para RT mais temozolomida em pacientes com astrocitoma de grau 3 com mutação IDH é baseado nos resultados do estudo EORTC 26053 CATNON.^{64,74} No CATNON, 751 pacientes com gliomas anaplásicos 1p/19q não codeletados (grau 3) recém-diagnosticados (ambos IDH-mutante e IDH-selvagem) foram aleatoriamente designados para um dos quatro grupos de tratamento: RT isoladamente, RT com temozolomida diária concomitante, RT com temozolomida diária concomitante mais até 12 ciclos de

temozolomida adjuvante mensal; e RT mais até 12 ciclos de temozolomida adjuvante mensal.⁶⁴

A partir de uma segunda análise interina com um acompanhamento médio de 56 meses, o uso de temozolomida adjuvante melhorou a sobrevida média, em comparação com a ausência de temozolomida adjuvante na população geral (82 *versus* 47 meses; HR 0,64, intervalo de confiança (IC) 95% 0,52-0,79).⁷⁴ Quando analisado de acordo com o estado da mutação IDH, no entanto, o benefício da temozolomida adjuvante foi observado apenas em tumores IDH-mutantes (117 *versus* 78 meses; HR 0,48, IC 95% 0,35-0,67) e não em tumores IDH-selvagens (21 *versus* 19 meses; HR 1,0, IC 95% 0,75-1,33).

Por outro lado, a temozolomida concomitante não melhorou a sobrevida na população geral (67 *versus* 60 meses; HR 0,97, 99% IC 0,73-1,28), embora uma tendência não significativa em relação ao benefício em tumores IDH-mutantes estivesse presente (117 *versus* 92 meses; HR 0,80, IC 95% 0,58-1,10). Um acompanhamento mais longo é necessário para determinar se há um benefício clinicamente importante para a temozolomida concomitante em pacientes com tumores IDH-mutantes, mas, no momento, isso não é observado em pacientes que também recebem tratamento adjuvante com temozolomida.

Ambos os ensaios principais de RT com ou sem PCV em oligodendroglioma/oligoastrocitoma recém-diagnosticados de grau 3 (EORTC 26951 e RTOG 9402) incluíram alguns pacientes com o que agora seria classificado como astrocitoma de grau 3 com mutação IDH. Nestes ensaios, o benefício do PCV foi mais evidente em oligodendrogliomas histológicos, embora também houvesse uma tendência não significativa para a melhora da sobrevida no subgrupo de tumores IDH-mutantes, não codificados.⁷⁵⁻⁷⁷ Esta observação, juntamente com a maior conveniência e tolerabilidade da temozolomida,^{78,79} levou a maioria dos médicos a adotar a temozolomida como quimioterapia adjuvante padrão em astrocitomas de grau 3, em vez de PCV.

Em contraste com o estudo CATNON de RT mais temozolomida, bem como os de RT mais PCV em tumores oligodendrogliais, os estudos de quimioterapia isoladamente (PCV ou temozolomida) não mostraram melhora na sobrevida, em comparação com RT isoladamente em graus 2 ou 3 recém-diagnosticados gliomas difusos.^{68,80} Conseqüentemente, os dados disponíveis sugerem que a quimioterapia sozinha é inferior à RT mais quimioterapia em pacientes recém-diagnosticados.

Tumor de grau 4, qualquer ressecção: Até a revisão de 2021 da Classificação da OMS,⁸¹ os astrocitomas mutantes de IDH de grau 4 eram chamados de glioblastomas (mutantes de IDH), embora uma diferença de prognóstico entre glioblastomas mutantes de IDH e de tipo selvagem de IDH tenha sido reconhecida há algum tempo. Em comparação com os glioblastomas IDH de tipo selvagem, os astrocitomas IDH-mutantes de grau 4 ocorrem em indivíduos mais jovens e são mais propensos a mostrar metilação do promotor MGMT.⁸²

Apesar de um prognóstico mais favorável em comparação com o glioblastoma de IDH-selvagem, os astrocitomas de IDH de grau 4 mutantes, especialmente na presença de deleção homocigótica do inibidor de quinase dependente de ciclina 2A/B (CDKN2A/B), são, no entanto, tumores malignos com comportamento clínico agressivo e uma sobrevida média inferior a cinco anos. Fora dos ensaios clínicos, os astrocitomas de grau 4 com mutação IDH são tratados com um dos seguintes regimes:

- a) RT seguido por 12 ciclos mensais de temozolomida adjuvante, com base nos resultados do estudo CATNON em pacientes com gliomas de grau 3 com mutação IDH;
- b) RT com temozolomida diária (concomitante), seguida por seis ciclos de temozolomida mensal adjuvante, com base em dados de estudos em pacientes com glioblastoma concluídos antes da separação das duas entidades por *status* de IDH.

Ambos os regimes de temozolomida são considerados apropriados e racionais por grupos de especialistas em combinação com RT, e não há evidências disponíveis especificamente em pacientes com astrocitomas de grau 4 com mutação IDH.⁵² Alguns médicos são a favor de ciclos concomitantes mais seis meses de temozolomida, porque os estudos que apoiam esse regime teriam incluído tumores IDH-mutantes de grau 4, embora como uma pequena porcentagem, em comparação com tumores IDH-selvagens. Outros favorecem ciclos de 12 meses, com base nos resultados do estudo CATNON e na similaridade biológica entre astrocitomas mutantes IDH de grau 3 e 4. Não há evidências para apoiar um regime como “mais agressivo” do que outro em termos de eficácia, e o risco de toxicidade hematológica pode ser maior com a terapia concomitante, particularmente em mulheres.

3.1.7 Administração de radioterapia

RT de campo envolvido

Dose e cronograma: Uma vez tomada a decisão de tratar com RT, a dose e o cronograma dependem do grau do tumor.

Tumores de grau 2: Uma dose de 45 a 54 Gy em frações de 1,8 Gy é normalmente usada para tratar gliomas de grau 2 com mutação IDH.⁴⁹ O volume alvo clínico mais comumente é definido por uma expansão de 1cm ao redor do volume tumoral bruto, conforme determinado pela MRI. Essa faixa de dose fornece um equilíbrio razoável entre eficácia e toxicidade, e doses mais altas não demonstraram melhorar os resultados em ensaios históricos.^{6,83,84}

Tumores de grau 3: Uma dose de 54 a 59,4 Gy em frações de 1,8 Gy é normalmente usada para tratar gliomas de grau 3 com mutação IDH.⁴⁹

Astrocitoma de grau 4: Uma dose de 59,4 a 60 Gy em frações de 1,8 a 2 Gy é normalmente usada para tratar gliomas de grau 4 com mutação IDH.⁴⁹

Outras abordagens de RT que foram avaliadas para lesões incompletamente ressecadas incluem RT hiperfracionada,⁸⁵ RT de prótons^{86,87} e RT estereotáxica fracionada.⁸⁸ No entanto, nenhuma vantagem clara foi demonstrada para essas estratégias, em comparação à RT convencional.

Efeitos colaterais: Embora a RT seja relativamente bem tolerada, pode ocorrer uma variedade de toxicidades de curto e longo prazo:

- a) toxicidades agudas comuns incluem perda de cabelo, fadiga e perda de apetite. Em alguns casos, o aumento do edema cerebral durante a radiação pode causar dores de cabeça e agravamento de sintomas neurológicos existentes ou anteriores, como convulsões ou fraqueza;
- b) certos efeitos tardios potenciais são específicos do local do tratamento, por exemplo, perda auditiva quando os campos de radiação incluem a cóclea ou hipopituitarismo, quando os campos incluem o hipotálamo e/ou a glândula pituitária;
- c) o comprometimento neurocognitivo tardio progressivo é uma consequência potencial, tanto da doença quanto de seu tratamento. No entanto, nem sempre está claro se qualquer comprometimento observado é um efeito da RT, ou se o próprio tumor e o tratamento medicamentoso anticonvulsivante são contributivos.

- d) há um baixo risco de formação de tumor secundário, como meningioma ou, menos comumente, glioma maligno de novo. A latência para a ocorrência de tumor secundário é, geralmente, de uma década ou mais, a partir da exposição à radiação.

Temozolomida: O regime adjuvante padrão de temozolomida para astrocitomas mutantes de IDH, com base no estudo CATNON, consiste em 12 ciclos mensais, começando aproximadamente um mês após o término da RT.⁶⁴ O primeiro ciclo de temozolomida é administrado a 150mg/m², via oral, diariamente, durante cinco dias de um ciclo de 28 dias. Os ciclos subsequentes (2 a 12) são dosados a 200mg/m², se as contagens sanguíneas forem aceitáveis. A dosagem e monitoramento da temozolomida diária durante a RT são revistos separadamente.

Um hemograma completo deve ser obtido nos dias 22 e 29 de cada ciclo mensal, juntamente com o painel metabólico básico mensal e testes de função hepática, para monitorar a toxicidade e ajudar a orientar os ajustes de dose, se necessário. Os médicos devem consultar a rotulagem do produto temozolomida para modificações de dosagem para toxicidade hematológica.

A temozolomida é moderadamente emetogênica e a pré-medicação com um antagonista da serotonina via oral, como ondansetrona 8mg via oral, geralmente é administrada 30 minutos antes de cada dose nos dias 1 a 5 de cada ciclo. Alguns centros têm experiência em administrar pré-medicação com ondansetrona apenas nos dias 1 e 2 de cada ciclo, em vez de todos os cinco dias, com bom efeito.

Tanto a temozolomida quanto a ondansetrona são constipantes, e os pacientes devem receber instruções para um regime intestinal de manutenção. Alguns pacientes acham que 4mg de ondansetrona causam menos constipação do que 8mg, mas, ainda assim, são adequados para a prevenção de náuseas. A profilaxia da pneumonia por *Pneumocystis* não é necessária, a menos que os pacientes tenham fatores de risco adicionais para imunossupressão, como o uso diário de glicocorticoides.

Discussão adicional sobre administração de temozolomida, riscos e efeitos colaterais é fornecida em outro tópico.

3.1.8 Cuidados de apoio e monitoramento

O cronograma para exames de imagem de acompanhamento é baseado na história natural esperada e no prognóstico geral, conforme informado pelo subtipo molecular, estado clínico, grau, histórico e objetivos do tratamento:⁶²

Observação após a cirurgia: As recomendações de vigilância para tumores não tratados foram revisadas acima.

Durante RT mais quimioterapia: A MRI cerebral é tradicionalmente obtida duas a seis semanas após a conclusão da RT, antes de iniciar a quimioterapia adjuvante. No entanto, com uma sobrevida livre de progressão mediana de seis a oito anos em ensaios clínicos de astrocitomas mutantes de IDH de grau 2 e 3. A progressão pós-RT precoce é improvável e o adiamento da primeira MRI até quatro meses após o final da RT nesses pacientes limitam os riscos de contrair pseudoprogredão. Durante a quimioterapia adjuvante, as MRIs cerebrais são normalmente obtidas a cada dois ou três ciclos.

Pós-tratamento: Após a conclusão da RT inicial mais a quimioterapia, as MRIs devem ser obtidas pelo menos a cada seis meses indefinidamente para tumores de grau 2 e 3 e a cada três a quatro meses indefinidamente para tumores de grau 4. Os pacientes tratados apenas com RT ou apenas com quimioterapia devem fazer exames de imagem a cada três a quatro meses, mas pelo menos a cada seis meses até a progressão. MRIs anteriores devem ser obtidas conforme indicação no caso de uma alteração clínica, como desenvolvimento de convulsões ou deterioração neurológica.

Após a primeira progressão, as MRIs de acompanhamento são realizadas com ainda mais frequência, devido ao risco aumentado de crescimento adicional do tumor.

Semelhantemente a outros gliomas difusos, os pacientes com astrocitomas mutantes do IDH correm risco de convulsões, disfunção neurocognitiva e efeitos adversos das terapias contra o câncer na saúde reprodutiva. Essas questões são analisadas separadamente.

3.1.9 Doença recorrente

A maioria dos pacientes com astrocitomas difusos e anaplásicos eventualmente recorrerá, no mesmo grau do tumor original ou, eventualmente, com transformação para um tumor refratário ao tratamento de grau superior. Em caso de recorrência, são

consideradas combinações de cirurgia de resgate, RT e quimioterapia, dependendo dos tratamentos anteriores recebidos.

Pseudoprogessão após RT: A pseudoprogessão refere-se ao fenômeno de lesões progressivas induzidas por radiação na MRI dentro de um campo de radiação anterior, que melhoram espontaneamente sem tratamento ou, na biopsia, representam necrose por radiação, em vez de tumor ativo.

A pseudoprogessão deve sempre ser considerada no diagnóstico diferencial de recorrência ou progressão tumoral quando pacientes com glioma difuso desenvolvem novo realce dentro de um campo de radiação anterior.⁸⁹⁻⁹³ Em um estudo de 71 pacientes que receberam RT para glioma de baixo grau, a pseudoprogessão ocorreu em 21% dos pacientes, em uma média de 12 meses (intervalo de 3 a 78) após RT.⁸⁹ Todas as lesões ocorreram dentro de um campo de RT de alta dose (pelo menos, 45 Gy). A maioria das lesões era pequena (< 10mm), e metade tinha localização subependimária. O tempo médio de resolução foi de seis meses (intervalo de 2 a 26).

As características da pseudoprogessão podem variar, com base no tipo de RT (por exemplo, fóton *versus* próton). Em um estudo de 57 pacientes que receberam RT de prótons para glioma de baixo grau, a pseudoprogessão foi observada em 25% dos pacientes, em média 15 meses após RT.⁹⁴ O padrão de realce tendeu a ser multifocal, irregular, pequeno (< 1cm) e nas extremidades distais do feixe de prótons, onde se especula que o efeito radiobiológico seja maior. Por outro lado, nenhum caso de pseudoprogessão foi observado entre 43 pacientes com glioma de baixo grau tratados com fótons na mesma instituição. Não está claro se o risco de pseudoprogessão é impulsionado pela modalidade de radiação (prótons *versus* fótons), dose biológica líquida entregue, ou outros fatores.

Distinguir doença recorrente de necrose por radiação pode ser difícil usando procedimentos de imagem, incluindo MRI e tomografia por emissão de pósitrons, e a biopsia pode ser necessária (embora apresente risco de erro de amostragem). A maioria das pequenas lesões com realce que surgem após a RT podem ser seguidas com segurança inicialmente sem mudança no tratamento ou biopsia, especialmente se a localização for subependimária.

RT: Após um curso completo de RT (45 a 60 Gy), o retratamento com RT de feixe externo convencional geralmente não é viável, devido a um risco aumentado de neurotoxicidade e necrose induzida por radiação.

Ocasionalmente, a reirradiação pode ser realizada com segurança na área de recorrência sem risco indevido de complicações, limitando o volume da área de retratamento e minimizando a dose de radiação nas estruturas normais. O possível papel da radiação foi ilustrado por uma série de 172 pacientes com gliomas recorrentes, incluindo 71 com tumores de grau 2 e 101 com lesões de grau 3 ou 4.⁹⁵ Todos haviam recebido anteriormente um curso definitivo de RT, com uma dose média de 60 Gy. Na recorrência, todos os pacientes receberam 36 Gy adicionais em 18 frações, usando RT estereotáxica para melhorar o parto conformado. O tratamento foi bem tolerado e a sobrevida média após reirradiação entre os pacientes com gliomas de baixo grau foi de 22 meses.

Quimioterapia: Temozolomida e nitrosoureas são as principais opções de quimioterapia de resgate em pacientes com astrocitomas difusos recorrentes.^{49,50} A seleção da terapia é individualizada, com base em terapias anteriores recebidas, comorbidades, tipo e grau do tumor. Com o aumento do uso de RT de primeira linha mais quimioterapia, mais pacientes terão recaída após a quimioterapia anterior, e a maioria dos estudos disponíveis não reflete essa situação.

Dois estudos históricos, que incluíram pacientes com astrocitomas de grau 2 e tumores oligodendrogliais sem informações sobre o *status* de IDH, relataram que as taxas de resposta objetiva à temozolomida para pacientes com astrocitomas foram semelhantes àquelas com tumores oligodendrogliais, mas a duração da resposta foi menor em pacientes sem codeleção 1p/19q.^{96,97} Mais da metade dos pacientes com astrocitomas nesses dois relatórios (25 de 45) tiveram uma resposta parcial ou completa à quimioterapia com temozolomida. Nesses dois estudos retrospectivos, a sobrevida livre de progressão foi de 73% e 39% em um ano, sugerindo pelo menos vários meses de resposta duradoura em aproximadamente metade dos pacientes.

Uma vez que os tumores mostram transformação de alto grau, as taxas de resposta e sua duração são semelhantes às do astrocitoma anaplásico recidivante, com aproximadamente dois terços dos pacientes vivos e sem progressão em seis meses.^{98,99}

O bevacizumabe, um anticorpo monoclonal contra o fator de crescimento endotelial vascular, aprovado para uso em pacientes com glioblastoma recorrente, não tem um papel claro em pacientes com astrocitomas recorrentes de baixo grau. No estudo TAVAREC, 155 pacientes com uma primeira recorrência com contraste de um glioma 1p/19q não codeletado de grau 2 ou 3 após RT foram designados

aleatoriamente para temozolomida com ou sem bevacizumabe.¹⁰⁰ Os pacientes que receberam temozolomida mais bevacizumabe apresentaram taxas de resposta semelhantes (52% *versus* 44%), sobrevida livre de progressão e OS em 12 meses (55% *versus* 61%), em comparação com aqueles que receberam apenas temozolomida. A toxicidade foi maior no braço de combinação, incluindo uma morte relacionada à infecção no tratamento, hemorragia intratumoral e trombocitopenia de grau 4. A quimioterapia anterior não teve efeito na OS.

Abordagens investigativas direcionadas ao IDH: Os inibidores de moléculas pequenas do IDH-mutante tipo 1 (IDH1) e tipo 2 (IDH2) estão em ensaios clínicos para gliomas mutantes do IDH. Estratégias de vacinação também estão sendo exploradas.

3.1.10 Prognóstico

Astrocitomas mutantes de IDH em adultos são tumores tratáveis, mas incuráveis, e a grande maioria limita a vida.

Na era pré-IDH, os astrocitomas difusos eram um grupo heterogêneo de tumores com uma gama ampla e um tanto imprevisível de comportamento biológico e prognóstico. A categorização molecular desses tumores de acordo com o *status* da mutação IDH melhorou muito a precisão do prognóstico, em comparação com a categorização histológica isoladamente. Além disso, quando o *status* de IDH é levado em consideração, a diferença prognóstica entre os tumores de grau 2 e 3 torna-se muito menos pronunciada.

Para astrocitomas mutantes de IDH totalmente caracterizados, as estimativas de sobrevida mediana variam de dois a 12 anos, dependendo do diagnóstico integrado, incluindo o grau do tumor:^{6,14,59,65,101-106}

- Astrocitoma IDH-mutante, grau 2: Dez a 12 anos.
- Astrocitoma IDH-mutante, grau 3: Oito a dez anos.
- Astrocitoma IDH-mutante, grau 4: Três a quatro anos.

Para a maioria dos pacientes com astrocitomas mutantes do IDH, haverá um período de relativa estabilidade radiográfica e clínica após a terapia inicial, que pode durar de cinco a dez anos para tumores de grau 2 ou 3, e de um a dois anos para o grau 4, especialmente na presença de deleção homozigótica do inibidor da quinase dependente de ciclina 2A/B (CDKN2A/B). O crescimento do tumor eventualmente

acelera em quase todos os pacientes, com intervalos mais curtos entre as recorrências subsequentes, anunciando resultados ruins.¹⁰⁷

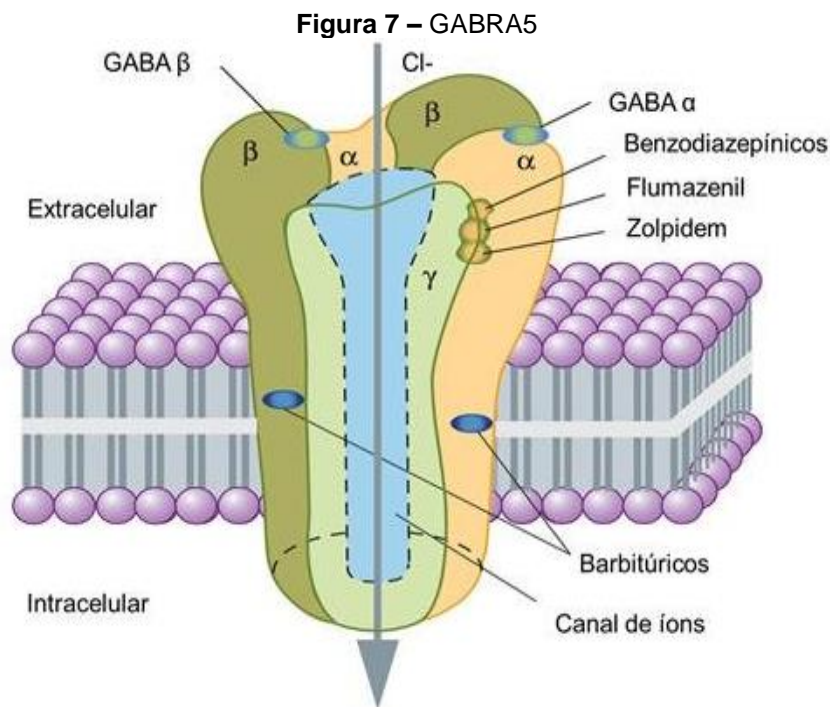
Fatores prognósticos clínicos e moleculares para astrocitomas mutantes de IDH estão evoluindo, e alguns fatores tradicionais, como a idade do paciente, requerem reexame em coortes patologicamente homogêneas. Entre os gliomas mutantes de IDH de grau histológico inferior, a deleção homozigótica de CDKN2A/B é um marcador de prognóstico negativo e, a partir da revisão de 2021 da Classificação da OMS, a presença de uma deleção de CDKN2A/B em um astrocitoma IDH mutante estabeleceu o tumor como grau 4, independentemente do grau histológico.

Na era pré-IDH, uma metanálise de quatro grandes estudos de fase III de pacientes com gliomas de baixo grau histologicamente confirmados centralmente (astrocíticos e oligodendrogliais) descobriu que, tanto a sobrevida livre de progressão quanto a OS foram influenciadas negativamente pela presença de linha de base de déficits neurológicos, um tempo menor desde os primeiros sintomas (< 30 semanas), um tipo de tumor astrocítico e tumores maiores que 5cm de diâmetro.⁷² A idade não foi um fator prognóstico independente na análise ajustada, e estudos subsequentes em astrocitomas mutantes de IDH sugerem que, se a idade avançada for um fator de risco, o ponto de corte provavelmente é maior do que se pensava anteriormente (por exemplo, 50 a 60 anos).^{59,60} O sexo masculino também é um fator prognóstico negativo em gliomas mutantes de IDH, por razões ainda não esclarecidas.²⁴ Mais estudos são necessários para determinar se outros fatores prognósticos permanecem válidos em tumores com *status* de mutação IDH uniforme, ou se outras questões são mais importantes.

3.2 GABRA5

A compreensão dos receptores GABA-A, tradicionalmente associados ao sistema nervoso, tem se expandido significativamente, com descobertas revelando sua expressão também em tecidos periféricos, abrindo novos caminhos na pesquisa da progressão tumoral. Estudos recentes têm explorado diversas subunidades do receptor GABA-A em tumores do SNC, incluindo glioblastoma, meduloblastoma e neuroblastoma.¹⁰⁸ Curiosamente, observou-se que a ativação dos receptores GABA-A pode atenuar a proliferação de células de glioma, reduzindo o crescimento do tumor

e prolongando a sobrevivência em modelos animais. A moxidectina, um agonista do receptor GABA-A, mostrou potencial na supressão da progressão do meduloblastoma pediátrico, enquanto os benzodiazepínicos ativam os receptores GABA-A no neuroblastoma, inibindo o crescimento celular e induzindo a apoptose. Esses achados indicam que os receptores GABA-A podem funcionar como supressores em tumores cerebrais, com seus agonistas apresentando potencial terapêutico.¹⁰⁹



Fonte: Oliveira, Katzung et al.^{110,111}

Paradoxalmente, em tumores fora do SNC, como câncer de mama, cólon, pulmão, próstata, cervical, pâncreas, carcinoma hepatocelular, entre outros, os receptores GABA-A promovem a tumorigênese. A expressão de subunidades específicas, como a subunidade pi do receptor do ácido gama-aminobutírico (GABRP) e GABRA3, foi positivamente regulada em vários desses tumores, promovendo o crescimento tumoral através de diversos mecanismos, como a estabilização da sinalização de EGFR e ativação da via proteína quinase B (AKT).¹¹² A descoberta recente da subunidade delta do receptor do ácido gama-aminobutírico (GABRD) como um potencial biomarcador e alvo terapêutico em câncer de cólon e gástrico, devido à sua superexpressão e correlação com prognósticos desfavoráveis, exemplifica a complexidade e a dualidade do papel dos receptores GABA-A na oncologia. Assim, a

investigação dos receptores GABA-A, especialmente a subunidade GABRA5, oferece um campo promissor para o entendimento e tratamento de uma variedade de tumores, tanto no SNC quanto em tecidos periféricos.¹¹³

O GABRA5 é um tipo específico de receptor que desempenha um papel crucial no funcionamento do sistema nervoso. Para entender o GABRA5, é importante primeiro compreender alguns conceitos básicos sobre neurotransmissão e receptores GABA-A.¹¹⁴

Conceitos básicos:

1. **Neurotransmissão:** Processo pelo qual os neurônios se comunicam. Os neurotransmissores são substâncias químicas liberadas por um neurônio, que transmitem sinais para outros neurônios ou células-alvo.

2. **GABA:** É o principal neurotransmissor inibitório no SNC dos mamíferos. Sua função principal é reduzir a excitabilidade neuronal em todo o sistema nervoso.¹¹⁵

3. **Receptores GABA-A:** São um tipo de receptor proteico encontrado nas células nervosas. Eles se ligam ao GABA e, quando ativados, geralmente resultam na hiperpolarização da célula, diminuindo sua atividade.¹¹⁶

GABRA5

O GABRA5 é uma subunidade específica, que faz parte dos receptores GABA-A. Os receptores GABA-A são formados pela combinação de várias subunidades diferentes, e a composição dessas subunidades determina suas propriedades específicas, como sensibilidade a drogas e localização no cérebro.¹¹⁷

Características e funções do GABRA5:¹¹⁸

- **Localização:** O GABRA5 é predominantemente encontrado no hipocampo, uma região do cérebro associada à memória e à aprendizagem.
- **Função:** Influencia processos relacionados à memória e aprendizagem, modulação da atividade neuronal, e pode estar envolvido na regulação do humor e ansiedade.
- **Farmacologia:** Diferentes drogas e substâncias podem interagir de maneira específica com subunidades do GABRA5, influenciando seu funcionamento. Isso é importante no desenvolvimento de medicamentos para várias condições neurológicas e psiquiátricas.

Aplicações:¹¹⁹

1. **Tratamento de transtornos neurológicos e psiquiátricos:** Medicamentos que modulam a atividade do GABRA5 têm potencial para tratar condições como ansiedade, depressão, epilepsia e, talvez, certos tipos de déficits cognitivos.
2. **Pesquisa em neurociência:** O GABRA5 é objeto de estudo para entender melhor o papel do GABA e dos seus receptores na neurofisiologia, especialmente em áreas relacionadas à cognição e à regulação emocional.
3. **Desenvolvimento de novos medicamentos:** A especificidade do GABRA5 o torna um alvo atraente para o desenvolvimento de novos fármacos, que podem ter menos efeitos colaterais do que os medicamentos que afetam de maneira mais generalizada os receptores GABA-A.

O GABRA5 é uma subunidade importante dos receptores GABA-A, com um papel significativo no hipocampo e no funcionamento cerebral geral. Seu estudo e manipulação farmacológica oferecem caminhos promissores para o tratamento de diversas condições neurológicas e psiquiátricas, além de contribuir para uma compreensão mais aprofundada da neurobiologia da cognição e emoção.¹²⁰

A relação entre o GABRA5 e o câncer, incluindo especificamente o glioma, é uma área de pesquisa emergente e complexa. O câncer é uma doença multifatorial e heterogênea, o que significa que muitos fatores diferentes contribuem para seu desenvolvimento e progressão. A relação entre os sistemas de neurotransmissores, como o sistema GABAérgico e o câncer, está ganhando mais atenção, mas ainda é um campo relativamente novo e em evolução. Vamos explorar essa relação em termos gerais e depois focar no glioma.¹¹⁹

GABRA5 e câncer em geral:¹²¹

1. **Microambiente tumoral:** Há evidências de que os neurotransmissores podem afetar o microambiente tumoral. Por exemplo, eles podem influenciar a angiogênese (formação de novos vasos sanguíneos), que é crucial para o crescimento do tumor.
2. **Crescimento e proliferação celular:** Algumas pesquisas sugerem que os receptores GABA-A, incluindo possivelmente o GABRA5, podem desempenhar um papel no crescimento e proliferação de células cancerígenas.

3. **Apoptose:** O sistema GABAérgico pode influenciar processos de morte celular programada (apoptose), que são frequentemente desregulados no câncer.

GABRA5 e glioma:¹²²

Gliomas são um tipo de tumor cerebral, que se origina nas células gliais. A relação entre GABRA5 e gliomas é um tópico de investigação atual.

1. **Expressão de receptores GABA-A:** Estudos têm mostrado que vários tipos de células de glioma expressam receptores GABA-A, incluindo possivelmente a subunidade GABRA5. Isso sugere que o sistema GABAérgico pode desempenhar um papel na biologia desses tumores.

2. **Efeitos do GABA em células de glioma:** O GABA e seus receptores podem afetar a proliferação, migração e invasão de células de glioma. Porém, a função específica do GABRA5 nesses processos ainda é pouco clara e precisa de mais pesquisa.

3. **Potencial terapêutico:** A modulação dos receptores GABA-A em gliomas pode oferecer novas abordagens terapêuticas. Se a subunidade GABRA5 desempenhar um papel significativo na patologia do glioma, ela poderia se tornar um alvo para o desenvolvimento de novos tratamentos.

Considerações importantes:

- **Pesquisa emergente:** A relação entre o GABRA5 e o câncer, incluindo o glioma, é um campo emergente e os resultados atuais devem ser interpretados com cautela.

- **Complexidade e heterogeneidade:** Cânceres, especialmente os cerebrais, como gliomas, são notoriamente complexos e heterogêneos. Isso significa que o papel de um único receptor ou via pode variar consideravelmente entre diferentes tumores e pacientes.

- **Interconexão de sistemas:** A interação entre o sistema nervoso e o câncer é multifacetada, envolvendo não apenas neurotransmissores e seus receptores, mas também a influência do sistema imunológico, vasculatura, e outros fatores.

Assim, a relação entre o GABRA5 e o câncer, incluindo o glioma, é uma área de pesquisa promissora, mas ainda em estágios iniciais. Conforme nossa

compreensão dessas complexas interações avança, novas possibilidades para o diagnóstico, prognóstico e tratamento do câncer podem emergir.

3.3 A IMPORTÂNCIA DA PESQUISA

Escrever um trabalho sobre a identificação de receptores de membrana GABRA5 como alvos moleculares em gliomas é importante, especialmente no contexto da pesquisa biomédica e do desenvolvimento de tratamentos para o câncer. Algumas das principais razões que destacam a importância deste tema:

- a) **Avanço no entendimento do glioma:** Gliomas são um dos tipos mais comuns e agressivos de tumores cerebrais. Compreender como os receptores GABRA5 estão envolvidos em sua patogênese pode oferecer *insights* valiosos sobre a biologia desses tumores.
- b) **Identificação de novos alvos terapêuticos:** Se os receptores GABRA5 desempenharem um papel significativo no crescimento ou na progressão dos gliomas, eles podem representar alvos moleculares promissores para o desenvolvimento de novas terapias. Isso é particularmente importante, considerando a limitada eficácia das opções de tratamento atuais para gliomas de alto grau.
- c) **Contribuição para a medicina personalizada:** Ao identificar alvos moleculares específicos como GABRA5 em gliomas, o estudo pode contribuir para estratégias de tratamento mais personalizadas, baseadas nas características moleculares individuais dos tumores dos pacientes.
- d) **Interdisciplinaridade e inovação:** Esta pesquisa pode unir conceitos e técnicas de neurociência, oncologia, farmacologia e biologia molecular, incentivando uma abordagem interdisciplinar, que pode levar a inovações significativas.
- e) **Melhoria nos resultados clínicos:** Compreender melhor a relação entre GABRA5 e gliomas pode levar a melhores resultados clínicos, através do desenvolvimento de tratamentos mais eficazes e menos tóxicos.
- f) **Preenchimento de lacunas no conhecimento:** Este tipo de estudo pode ajudar a preencher lacunas no conhecimento atual sobre os mecanismos moleculares subjacentes ao desenvolvimento e progressão do glioma.

- g) **Interesse público e potencial de financiamento:** Dada a gravidade e a complexidade dos gliomas, qualquer pesquisa que prometa avanços no tratamento ou na compreensão desses tumores é de grande interesse público e pode atrair financiamento para pesquisas adicionais.
- h) **Educação e conscientização:** Publicar trabalhos sobre temas como esse também ajuda a educar outros pesquisadores, clínicos e o público sobre os avanços na pesquisa do câncer, aumentando a conscientização sobre a doença e suas opções de tratamento.

Em resumo, um trabalho focado na identificação de receptores de membrana GABRA5 em gliomas tem o potencial de contribuir significativamente para a pesquisa do câncer, oferecendo novas perspectivas para o tratamento e a compreensão desses tumores cerebrais desafiadores.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 CLASSIFICAÇÃO DO ESTUDO

Considerando as informações anteriores sobre o tema da dissertação “Identificação de Receptores de Membrana GABRA5 como Alvos Moleculares em Gliomas”, este estudo pode ser classificado de acordo com alguns critérios:

- a) Quanto à abordagem metodológica:
 - I. Pesquisa experimental: O estudo envolve a manipulação de variáveis (neste caso, a análise de receptores GABRA5) e a observação dos efeitos dessa manipulação, caracterizando-se como experimental.
- b) Quanto à natureza dos dados:
 - I. Pesquisa quantitativa: O estudo se concentra na quantificação dos níveis ou da expressão do receptor GABRA5 e outros parâmetros quantificáveis em gliomas; então, é predominantemente quantitativo.
- c) Quanto aos objetivos:
 - I. Pesquisa explicativa: Se o objetivo é identificar os mecanismos pelos quais os receptores GABRA5 atuam em gliomas, o estudo se enquadra como explicativo, buscando compreender a relação causa-efeito.
- d) Quanto ao tempo:
 - I. Pesquisa transversal: O estudo observa os dados em um único momento, é transversal.

4.2 OBTENÇÃO E SELEÇÃO DE AMOSTRAS DE GLIOMA

4.2.1 Fontes de amostras

A expressão por mRNA do gene alvo em todas as amostras foi normalizada dentro da R2 (plataforma de análise e visualização genômica)^a e apresentada em formato de gráfico como \log_2 , transformada a partir da intensidade do sinal. A classificação dos subgrupos e o número de pacientes em cada subgrupo foi realizada de acordo com a disponibilidade de estratificação de cada banco de dados.

^a Fonte: <http://r2.amc.nl>

4.2.2 Coleta de amostras de glioma

Realizamos análises *in silico* a partir de *datasets* de amostras de tumores representativos disponíveis em diferentes bancos de dados públicos.

4.2.3 Critérios de inclusão e exclusão das amostras

As análises foram conduzidas buscando avaliar a expressão de mRNA dos genes alvo de interesse desse estudo, comparando tumor e tecido cerebral não tumoral, de acordo com a disponibilidade de dados de cada *dataset*.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

Para avaliar se GABRA5 é um potencial alvo terapêutico ou biomarcador para gliomas de diferentes subgrupos, realizamos análises utilizando um conjunto de dados derivado de 284 amostras de gliomas primários de pacientes, subagrupadas por características histológicas, previamente publicadas, comparadas a amostras de cérebro humano normal.¹²³

4.4 HISTOPATOLOGIA E GRADAÇÃO DOS GLIOMAS

Foram analisadas 284 amostras de gliomas, subagrupadas por características histológicas:

- Gliomas de baixo grau: Astrocitoma grau 2, oligodendroglioma grau 2 e astrocitoma pilocítico grau 1.
- Gliomas de alto grau: Astrocitoma grau 3, glioblastoma grau 4, oligoastrocitoma grau 3 e oligodendroglioma grau 3.

4.5 ANÁLISE DE DADOS

4.5.1 Estratégias de análise estatística

Todos os subgrupos foram comparados usando o teste de Kruskal-Wallis para significância e o método da taxa de falsa descoberta, seguido do *post hoc* teste t de Welch, realizado através da plataforma R2. Para as análises de expressão gênica, valores de $p \leq 0,001$ foram considerados estatisticamente significativos. A OS foi medida a partir do momento da data do diagnóstico inicial até a morte ou data do último acompanhamento, usando OS combinados aos dados de expressão gênica, de acordo com a disponibilidade de cada banco de dados. A distribuição da sobrevivência foi estimada de acordo com o método de Kaplan-Meier, usando um corte mediano e estatísticas *log-rank*; $p \leq 0,05$ foi considerado clinicamente significativo.

4.5.2 Software e ferramentas utilizadas

R2: Plataforma de análise e visualização genômica apresentada em formato de gráfico como \log_2 , transformado a partir de intensidade de sinal.

4.5.3 Critérios para interpretação dos resultados

As classificações dos subgrupos foram comparadas usando o teste de ANOVA de Welch, realizado através da plataforma R2. Para as análises de expressão gênica, valores de $p \leq 0,001$ foram considerados estatisticamente significativos. A OS foi medida a partir do momento da data do diagnóstico inicial até a morte ou a data do último acompanhamento, usando OS combinados aos dados de expressão gênica, de acordo com a disponibilidade de cada banco de dados. A distribuição da sobrevivência foi estimada de acordo com o método Kaplan-Meier, usando um corte mediano e estatísticas de *log-rank*; $p \leq 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

4.6 ASPECTOS ÉTICOS

Como este estudo analisa dados provenientes de bancos de domínio público, e sem identificação dos participantes da pesquisa, não foi submetido à análise em Comitê de Ética em Pesquisa (Sistema CEP-CONEP), em conformidade com a Resolução nº 510, do Conselho Nacional de Saúde, de 07 de abril de 2016. Entretanto,

durante a elaboração deste banco de dados, cada instituição participante teve aprovação em CEP local para participação no MAGIC.

5 RESULTADOS



Communication

for Special Issue on “Innovation in Brain Tumor Treatment” (section: Neuro-oncology)

Gene Expression of the GABA_A Receptor Subunit $\alpha 5$ in Different Glioma Types

Rafael Badalotti ^{1,2}, Osvaldo Malafaia ¹, Jurandir M. Ribas Filho ¹, Rafael Roesler ^{3,4,5,*}, Gustavo R. Isolan ^{1,2,5,6,*}

- 1 Graduate Program in Principles of Surgery, Mackenzie Evangelical University, Curitiba, Brazil
- 2 The Center for Advanced Neurology and Neurosurgery (CEANNE), Porto Alegre, Brazil
- 3 Department of Pharmacology, Institute for Basic Health Sciences, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil
- 4 Cancer and Neurobiology Laboratory, Experimental Research Center, Clinical Hospital (CPE-HCPA), Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil
- 5 National Science and Technology Institute for Children’s Cancer Biology and Pediatric Oncology – INCT BioOncoPed, Porto Alegre, Brazil
- 6 Spalt Therapeutics, Porto Alegre, Brazil
- * Correspondence: rafaelroesler@hcpa.edu.br (R. Roesler); gustavo.isolan@fempar.edu.br (G.R. Isolan)

Abstract: Rapid neuronal inhibition in the brain is mediated by γ -aminobutyric acid (GABA) activation of GABA_A receptors. The *GABRA5* gene, which encodes the $\alpha 5$ subunit of the GABA_A receptor, has been implicated in an aggressive subgroup of medulloblastoma (MB), a type of pediatric brain tumor. However, its possible role in glioma remains poorly understood. Here, we examined *GABRA5* gene expression in different types of glioma, and its possible association with patient overall survival (OS). Data were obtained from the French dataset. *GABRA5* expression was analyzed using the R2 Genomics Analysis and Visualization Platform. OS was calculated using the Kaplan-Meier estimate. We found that, in comparison to non-tumoral neural tissue, there were significantly lower levels of *GABRA5* transcripts in astrocytoma grade II and grade III, glioblastoma (GBM), oligoastrocytoma grade III, oligodendroma grade II and grade III, and pilocytic astrocytoma. There were no significant differences in OS between patients with low or high *GABRA5* levels. There were no significant differences in *GABRA5* expression and OS between patients with *IDH*-mutated and wild-type GBM. Our results show an overall decrease in *GABRA5* in different types of glioma. Our findings support the possibility that a down-regulation of *GABRA5* in glioma contributes to promoting tumor progression by reducing negative regulation by $\alpha 5$ -containing GABA_A receptors. These early findings might contribute to further evaluation of $\alpha 5$ -containing GABA_A receptors as a possible therapeutic target in glioma.

Keywords: *GABRA5*; GABA_A receptor; glioma; glioblastoma; brain tumor

Citation: To be added by editorial staff during production.

Academic Editor: Firstname Last-name

Received: date

Revised: date

Accepted: date

Published: date



Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Gliomas are the most common malignant brain tumors, comprising about 80 percent of central nervous system (CNS) cancers in adults. Glioma types are broadly classified into astrocytoma, oligodendroglioma and glioblastoma (GBM) [1]. According to current World Health Organization (WHO) classification, glioma types span from the least aggressive grade 1 to the most aggressive grade 4 tumors, based on a range of cellular, histological, and pathological features, including cellular morphological changes and proliferative capacity [2]. Grade 1 and grade 2 gliomas are considered low-grade gliomas

(LGGs), which show relatively few cellular alterations, or grade 2 gliomas, which show cellular atypia. Low-grade tumors include diffuse astrocytomas, pilomyxoid astrocytomas, pilocytic astrocytomas, oligodendrogliomas, and oligoastrocytomas, among others [3]. The most prevalent and lethal primary glioma type is grade 4 GBM, which accounts for about half of newly diagnosed gliomas. GBM can be classified into three groups depending on the status of the isocitrate dehydrogenase (*IDH*) gene: *IDH* wild-type GBM, which represents about 90% of cases, mutated *IDH*, or not specified GBM (NOS, unevaluated status). Tumors with an *IDH* mutation arise from lower-grade gliomas [4]. Increasing evidence indicates that the cells of origin of GBM are likely neural stem cells in the subventricular zone (SVZ) of the adult human brain. The SVZ is a layer between the lateral ventricle, corpus callosum, and striatum, which has the largest number of neural stem cells in the brain [5-7]. These cells can contain many of the driver mutations that give rise to GBM, share molecular features with GBM cells, and display migratory patterns from the SVZ to the tumor. In addition, key genetic mutations in GBM are associated with genes that regulate neuronal function in the SVZ [8-12].

Surgical treatment stands as the main therapeutic intervention in the management of gliomas, including GBM. The extent of GBM tumor surgical resection strongly influences the prognosis so that incomplete resections result in earlier worsening in neurological function, and, for recurrent GBM, repeated surgical resection is usually recommended [13]. In addition to surgery, multimodal therapy for GBM included radiotherapy and chemotherapy with temozolomide. Despite advances in therapy, prognosis remains dismal, with most patients having a median overall survival of 12–15 months [4, 14]. Thus, there is a urgent need for novel biomarkers and molecularly-targeted therapeutics that improve the diagnostic and pharmacological treatment of GBM [15, 16].

Neurotransmitters and their receptors in tumor cells or the tumor microenvironment are increasingly recognized as regulators of cancer cells and neuron-tumor interactions that contribute to tumor progression [17, 18]. The major inhibitory neurotransmitter in the CNS is γ -aminobutyric acid (GABA). Rapid neuronal inhibition is mediated by GABA-induced activation of the GABA_A type of receptor, which forms a ligand-gated chloride (Cl⁻) ion channel. Upon GABA binding to the receptor, Cl⁻ influx leads to membrane hyperpolarization and consequently neuronal inhibition. In addition to mediating fast neuronal inhibition in the adult brain, GABA and its receptors regulate CNS development [19], proliferation and differentiation of neural stem cells and neuronal progenitors [20-22], and adult neurogenesis [20, 23-25]. As discussed above, neural stem cells in the SVZ are proposed as cells of origin in GBM [8-12]. GABA has been shown to depolarize neuronal progenitors in the SVZ through activation of GABA_A receptors [26]. GABA_A activation increases cellular calcium in neural progenitors and astrocyte-like cells in the SVZ [27, 28], and modulate maturation, differentiation, and migration of SVZ neuronal progenitors [29, 30].

GABA_A receptors consist of a combination of five proteins drawn from a repertoire of 19 subunits (α 1-6, β 1-3, γ 1-3, δ , ϵ , θ , π , ρ 1-3). Most functional GABA_A receptors consist of two α , two β and one γ or δ subunit [31-33]. The *GABRA5* gene encodes the α 5 subunit of the GABA_A receptor, and mutations in *GABRA5* have been associated with epilepsy [34, 35]. In brain tumors, GABA transmission has been proposed to influence seizures associated with GBM [36]. Also, increased levels of *GABRA5* were described in the most aggressive molecular subgroup, namely Group 3, of medulloblastoma (MB), the main type of malignant brain cancer afflicting children. Experimental activation of GABA_A receptors containing the α 5-subunit can reduce survival of MB cells [37]. However, it remains unknown whether *GABRA5* in GBM tumor cells plays a role in tumor progression. Here, we examined transcript levels of *GABRA5* in different types of glioma and their possible implications for patient survival.

2. Materials and Methods

GABRA5 mRNA expression levels were normalized using the R2 Genomics Analysis and Visualization Platform (<http://r2.amc.nl>). Data were obtained from French cohort (total n = 284; GEO ID: gse16011; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=gse16011>, website accessed on January 31, 2024), which included samples from different primary malignant glioma types, namely astrocytoma grade II, astrocytoma grade III, GBM, oligoastrocytoma grade III, oligodendroma grade II, oligodendroma grade III, and pilocytic astrocytoma. Non-tumoral neural tissue was analyzed as a control [38]. Tumors were classified into different subgroups according to data available in the dataset, as previously described [39].

Comparisons in transcript levels were done using the Welch's analysis of variance (ANOVA) through the R2 platform, with p values < 0.01 considered to indicate significant statistical differences. Results are presented in boxplot format as log2-transformed signal intensity, with data shown as median and whiskers, minimum to maximum. Patient overall survival (OS) was measured from the day of diagnosis until death or date of last follow-up. OS was calculated using the Kaplan-Meier estimate, with median values and long-rank statistics; $p < 0.05$ would indicate significant differences between groups in OS.

3. Results

3.1. Reduced Levels of GABRA5 Transcripts in Different Glioma Types

We first looked at GABRA5 expression in different types of malignant glioma. In comparison to normal neural tissue ($n = 8$), there were significantly lower levels of GABRA5 transcripts in astrocytoma grade II ($n = 13$) and grade III ($n = 16$), GBM (grade IV, $n = 159$), oligoastrocytoma grade III ($n = 25$), oligodendroma grade II ($n = 8$) and grade III ($n = 44$), and pilocytic astrocytoma (grade I, $n = 8$) (all $ps < 0.001$; Fig. 1).

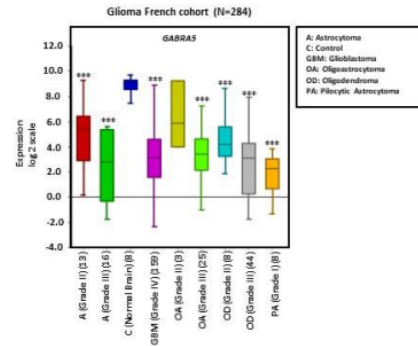


Figure 1. *GABRA5* gene expression in human glioma. Tumor and normal neural tissue data were obtained from the French cohort (n = 284) and analyzed with the R2 Genomics Analysis and Visualization Platform (<http://r2.amc.nl>). Results are presented in boxplot format as log2-transformed signal intensity. Bars show data for normal neural tissue, astrocytoma grade II, astrocytoma grade III, GBM, oligoastrocytoma grade III, oligodendroma grade II, oligodendroma grade III, and pilocytic astrocytoma; *** $p < 0.001$ compared to non-tumoral neural tissue.

3.2. *GABRA5* and Overall Survival in Patients with Glioma

We then went on to verify whether *GABRA5* gene expression has any association with GBM patient survival. Analysis of OS in relation to lower or higher levels of *GABRA5* transcripts in the set of tumor samples combining all glioma types (n = 284), or within different glioma types where there was a sufficient amount of data and samples to allow

125
126
127
128
129
130
131
132
133
134
135
136
137
138

analysis (astrocytoma grade III, oligodendroma grade II, oligoastrocytoma grade III, and GBM) showed no significant differences in OS among patients with different transcript levels (Fig. 2).

139
140
141
142

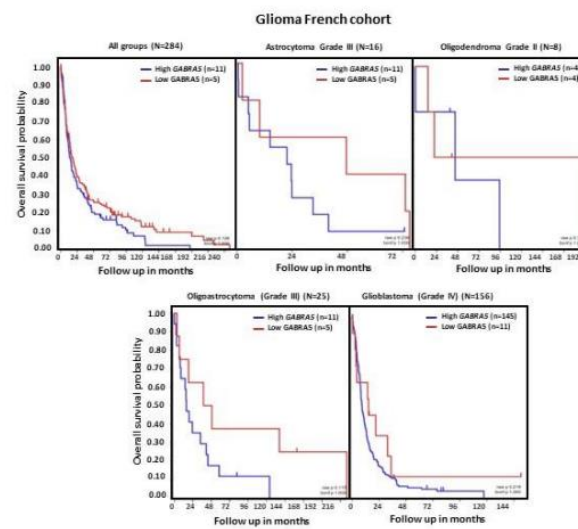


Figure 2. *GABRA5* expression and OS in patients with glioma. Data for astrocytoma grade III, oligodendroma grade II, oligoastrocytoma grade III, and GBM are shown. Patient OS was measured from the day of diagnosis until death or date of last follow-up, and calculated using the Kaplan-Meier estimate, with median values and long-rank statistics.

143
144
145
146
147
148
149

3.3. *GABRA5* transcript levels and OS in patients bearing *IDH*-mutated versus *IDH* wild-type GBM tumors

We also investigated whether the *IDH* status of GBM tumors would affect the findings on *GABRA5* expression and patient survival. Comparison of *GABRA5* expression and OS between patients with *IDH*-mutated and wild-type GBM tumors showed no significant differences (Fig. 3).

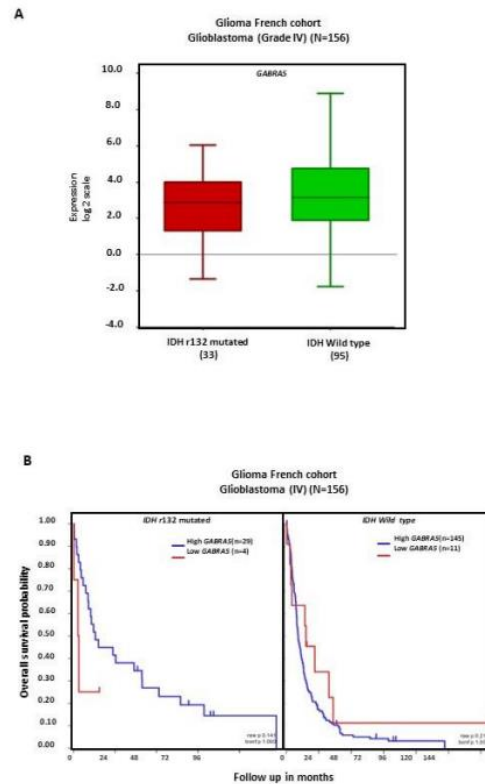


Figure 3. *GABRA5* expression and OS in patients bearing *IDH*-mutated versus *IDH* wild-type GBM tumors. **A** Results for gene expression are presented in boxplot format as log₂-transformed signal intensity. **B** Patient OS was measured from the day of diagnosis until death or date of last follow-up and calculated using the Kaplan-Meier estimate.

4. Discussion

Functional GABA_A receptors were initially identified in cells derived from lower grade gliomas, namely astrocytoma and oligodendroglioma, whereas GBM-derived primary cells and glioma cell lines showed no functional receptors. In tumor-derived glioma cells in acute slices or primary culture, most cells from oligodendroglioma and astrocytoma responded to GABA when responses were measured in whole-cell voltage clamp assays as inward currents under high Cl⁻ concentration. GBM-derived cells, in contrast, showed no response to GABA. The currents observed in lower grade gliomas were induced specifically by GABA through activation of GABA_A receptors, given that the GABA_A agonist muscimol mimicked the GABA responses, the benzodiazepine receptor agonist flunitrazepam augmented GABA-induced currents a benzodiazepine inverse agonist reduced the currents, and the GABA_A antagonists bicuculline and picrotoxin blocked GABA-induced currents. It is also noteworthy that, in this experimental setting, GABA-elicited currents could induce either hyperpolarization or depolarization, depending on the cell tested. [40]. Functional GABA_A receptor-activated currents in GBM cells were later demonstrated, as were findings showing that endogenous GABA continuously released by GBM cells could reduce proliferation of cells expressing progenitor and stem cell markers and negatively regulate experimental tumor growth in mouse models. Thus, shunting cellular Cl⁻ chloride ions through sustained local GABA_A receptor activity reduced proliferation and tumor growth and prolonged mouse survival. These results strongly suggest that increasing GABA_A receptor activity may inhibit GBM progression [41]. In U3047MG human GBM cells, GABA_A currents could be pharmacologically stimulated by etomidate, propofol, or diazepam, indicating that GABA-induced currents in GBM can be enhanced by classical GABA_A receptor-stimulating drugs. Expression of nRNAs for the α2, α3, α5, β1, β2, β3, δ, γ3, π, and θ GABA_A receptor subunits was confirmed in U3047MG cells [42–37]. Together, these findings indicate that glioma tumors of different grades can express GABA_A receptors capable of responding to endogenous GABA and other ligands to affect glioma progression.

Expression of mRNA for all 19 GABA_A subunits in human glioma (n = 29) and peritumoral tissue (n = 5) was previously detected. Consistently with the possibility that lower GABA_A receptor activity occurs in more malignant gliomas, GBM tumors showed reduced subunit levels compared to lower grade gliomas, except for the θ subunit. Expression was also found in peritumoral tissue. A consistent coexpression of α2 and θ subunits occurred in both astrocytomas and oligodendroglial tumors. Expression of the α2 subunit but not the θ subunit was shown by Kaplan-Meier analysis and Cox proportional hazards modeling to be an independent predictor of better survival in patients with astrocytomas, together with other prognostic factors [43].

Isocitrate dehydrogenase (IDH) enzymes, encoded by *IDH* genes, regulate cellular metabolism and homeostasis by catalyzing the oxidative decarboxylation of isocitrate. Accumulating evidence shows that *IDH* genes can be mutated in many human malignant cancers, gliomas, and these mutations can impact oncogenesis, tumor progression, and clinical outcome. In gliomas, *IDH* mutation-associated abnormal changes in cancer cell metabolism, gene expression profile and chromatin structure can lead to disruptions in normal epigenetic programming and, ultimately, resistance to therapy. Thus, increasingly research efforts focus on therapeutic strategies designed to specifically target *IDH*-mutant gliomas [44–47]. Some *IDH1* mutations in glioma are proposed as prognostic markers, with patients bearing mutated tumors showing improved survival [48]. Analysis of tumors from The Cancer Genome Atlas (TCGA) showed eight subunit genes significantly expressed in *IDH* wild-type compared with *IDH*-mutated tumors. Higher expression of the *GABRD* gene, which encodes the GABA_A receptor δ subunit, was independently associated with longer patient OS in *IDH* wild-type LGGs. *GABRD* expression was negatively

correlated with the extent of tumor infiltration by macrophages. These results suggest that *GABRD* may be an potential independent prognostic marker in patients with *IDH* wild-type LGG [49]. Our findings indicating that *GABRA5* expression is reduced in most glioma types may be considered consistent with the previous evidence that GABA_A receptors can act as inhibitors of glioma growth [41] that display lower expression as glioma grade increases [43].

Also consistently with an inhibitory role for GABA_A receptors in brain tumors, receptor pharmacological stimulation with benzodiazepine derivatives promotes cell death in experimental MB [50]. Current consensus classifies MB tumors into four molecular subgroups, namely wingless-activated (WNT), sonic hedgehog (SHH), Group 3, and Group 4, with Group 3 and Group 4 tumors being particularly aggressive [51, 52]. *GABRA5* and the $\alpha 5$ subunit are found and contribute to the assembly of functional GABA_A receptors in patient-derived Group 3 MB cells and tumor tissue. In addition, a benzodiazepine preferentially targeting $\alpha 5$ -GABA_A hinders Group 3 MB cell viability [37] with greater potency than standard-of-care chemotherapy used to treat MB patients [53]. Stimulation of GABA_A receptors containing the $\alpha 5$ subunit with a selective agonist reduces cell survival through a mechanism involving membrane depolarization and apoptosis induction [37], highlighting the potential of the $\alpha 5$ -GABA_A receptor as a therapeutic target [54]. There is a significant correlation between expression of *GABRA5* and the *MYC* oncogene in a subset of Group 3 and WNT MB tumors, and the same study indicated *GABRA5* expression as a possible diagnostic marker for Group 3 MB [50].

5. Conclusions

In summary, the present study is the first to describe an overall reduction in *GABRA5* expression in different human glioma types, which is consistent with an inhibitory role of GABA in glioma growth. In the light of the evidence reviewed above, our findings raise the possibility that glioma tumors show a down-regulation of *GABRA5* as a mechanism to stimulate tumor growth by reducing negative modulation by $\alpha 5$ -containing GABA_A receptors. Drugs that act by stimulating $\alpha 5$ -GABA_A receptors might be promising targeted therapies for glioma.

Author Contributions: Conceptualization, RB, RR, OM, JMRF, and GRI; methodology, RB, RR, OM, JMRF, and GRI; formal analysis, RB, RR, OM, JMRF, and GRI; investigation, RB, RR, OM, JMRF, and GRI; resources, RB, RR, OM, JMRF, and GRI; data curation, RB, RR, and GRI; writing—original draft preparation, RB, RR, and GRI; writing—review and editing, RB, RR, OM, JMRF, and GRI; supervision, G.R.I.; project administration, G.R.I.; funding acquisition, RB, RR, OM, JMRF, and GRI. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was supported by the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq, MCTI, Brazil) grants 305647/2019-9, 405608/2021-7, and 406484/2022-8 (INCT BioOncoPed) (R.R.), The Center for Advanced Neurology and Neurosurgery (CEANNE), the Children's Cancer Institute; and the Mackenzie Evangelical University.

Institutional Review Board Statement: This study used public datasets and did not require ethical approval.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: All data generated or analyzed during this study are available on request from the authors.

Acknowledgments: Authors thank Dr. Barbara Kunzler Souza and Epigenica Biosciences for providing assistance in gene expression analysis and data interpretation.

Conflicts of Interest: The authors have no conflicts of interest to declare.

References

1. Wen, P.Y.; Kesari, S. Malignant gliomas in adults. *N. Engl. J. Med.* **2008**, *359*, 492–507. doi: 10.1056/NEJMra0708126
2. Louis, D.N.; Perry, A.; Wesseling, P.; Brat, D.J.; Cree, I.A.; Figarella-Branger, D.; Hawkins, C.; Ng, H.K.; Pfister, S.M.; et al. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro Oncol.* **2021**, *23*, 1231–1251. doi: 10.1093/neuonc/noab106
3. Toader, C.; Eva, L.; Costea, D.; Corlatescu, A.D.; Covache-Busuioac, R.A.; Bratu, B.G.; Glavan, L.A.; Costin, H.P.; Popa, A.A.; Ciurea, A.V. Low-grade gliomas: Histological subtypes, molecular mechanisms, and treatment strategies. *Brain Sci.* **2023**, *13*, 1700. doi: 10.3390/brainsci13121700. PMID: 38137148
4. Alexander, B.M.; Cloughesy, T.F. Adult glioblastoma. *J. Clin. Oncol.* **2017**, *35*, 2402–2409. doi: 10.1200/JCO.2017.73.0119
5. Luskin, M.B. Restricted proliferation and migration of postnatally generated neurons derived from the forebrain subventricular zone. *Neuron* **1993**, *11*, 173–189. doi: 10.1016/0896-6273(93)90281-U
6. Lois, C.; Alvarez-Buylla, A. Long-distance neuronal migration in the adult mammalian brain. *Science* **1994**, *264*, 1145–1148. doi: 10.1126/science.8178174
7. Doetsch, F.; Caillé, I.; Lim, D.A.; García-Verdugo, J.M.; Alvarez-Buylla, A. Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. *Cell* **1999**, *97*, 703–16. doi: 10.1016/S0092-8674(00)80783-7
8. Lee, J.H.; Lee, J.E.; Kahng, J.Y.; Kim, S.H.; Park, J.S.; Yoon, S.J.; Um, J.Y.; Kim, W.K.; Lee, J.K.; Park, J.; et al. Human glioblastoma arises from subventricular zone cells with low-level driver mutations. *Nature* **2018**, *560*, 243–247. doi: 10.1038/s41586-018-0389-3
9. Altmann, C.; Keller, S.; Schmidt, M.H.H. The role of SVZ stem cells in glioblastoma. *Cancers (Basel)* **2019**, *11*, 448. doi: 10.3390/cancers11040448
10. Zhang, G.L.; Wang, C.F.; Qian, C.; Ji, Y.X.; Wang, Y.Z. Role and mechanism of neural stem cells of the subventricular zone in glioblastoma. *World J Stem Cells* **2021**, *13*, 877–893. doi: 10.4252/wjsc.v13.i7.877
11. Beiriger, J.; Habib, A.; Jovanovich, N.; Kodavali, C.V.; Edwards, L.; Amankulor, N.; Zinn, P.O. The subventricular zone in glioblastoma: Genesis, maintenance, and modeling. *Front. Oncol.* **2022**, *12*, 790976. doi: 10.3389/fonc.2022.790976
12. Loras, A.; Gonzalez-Bonet, L.G.; Gutierrez-Arroyo, J.L.; Martinez-Cadenas, C.; Marques-Torrejón, M.A. Neural stem cells as potential glioblastoma cells of origin. *Life (Basel)* **2023**, *13*, 905. doi: 10.3390/life13040905
13. Yang, Z.; Zhao, C.; Zong, S.; Piao, J.; Zhao, Y.; Chen, X. A review on surgical treatment options in gliomas. *Front. Oncol.* **2023**, *13*, 1088484. doi: 10.3389/fonc.2023.1088484
14. Stupp, R.; Mason, W.P.; van den Bent, M.J.; Weller, M.; Fisher, B.; Taphoorn, M.J.; Belanger, K.; Brandes, A.A.; Marosi, C.; Bogdahn U, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* **2005**, *352*, 987–996. doi: 10.1056/NEJMoa043330
15. Felistia, Y.; Wen, P.Y. Molecular profiling and targeted therapies in gliomas. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* **2023**, *23*, 627–636. doi: 10.1007/s11910-023-01299-7
16. Picca, A.; Bruno, F.; Nichelli, L.; Sanson, M.; Rudà, R. Advances in molecular and imaging biomarkers in lower-grade gliomas. *Expert Rev. Neurother.* **2023**, *23*, 1217–1231. doi: 10.1080/14737175.2023.2285472
17. Mancusi, R.; Monje, M. The neuroscience of cancer. *Nature* **2023**, *618*, 467–479. doi: 10.1038/s41586-023-05968-y

18. Prillaman, M. How cancer hijacks the nervous system to grow and spread. *Nature* **2024**, *626*, 22-24. doi: 10.1038/d41586-024-00240-3 308
309
19. Tochitani, S.; Furukawa, T.; Bando, R.; Kondo, S.; Ito, T.; Matsushima, Y.; Kojima, T.; Matsuzaki, H.; Fukuda, A. GABAA receptors and maternally derived taurine regulate the temporal specification of progenitors of excitatory glutamatergic neurons in the mouse developing cortex. *Cereb. Cortex.* **2021**, *31*, 4554-4575. doi: 10.1093/cercor/bhab106 310
311
312
20. Bao, H.; Asrican, B.; Li, W.; Gu, B.; Wen, Z.; Lim, S.A.; Haniff, I.; Ramakrishnan, C.; Deisseroth, K.; Philpot, B.; et al. Long-range GABAergic inputs regulate neural stem cell quiescence and control adult hippocampal neurogenesis. *Cell Stem Cell* **2017**, *21*, 604-617.e5. doi: 10.1016/j.stem.2017.10.003 313
314
315
21. Lattanzi, D.; Di Palma, M.; Cuppini, R.; Ambrogini, P. GABAergic input affects intracellular calcium levels in developing granule cells of adult rat hippocampus. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 1715. doi: 10.3390/ijms21051715 316
317
22. Tian, R.; Guo, K.; Wu, B.; Wang, H. Overexpression of Shrm4 promotes proliferation and differentiation of neural stem cells through activation of GABA signaling pathway. *Mol. Cell Biochem.* **2020**, *463*, 115-126. doi: 10.1007/s11010-019-03634-4 318
319
320
23. Catavero, C.; Bao, H.; Song, J. Neural mechanisms underlying GABAergic regulation of adult hippocampal neurogenesis. *Cell Tissue Res.* **2018**, *371*, 33-46. doi: 10.1007/s00441-017-2668-y 321
322
24. Song, D.; Chen, Y.; Chen, C.; Chen, L.; Cheng, O. GABAB receptor antagonist promotes hippocampal neurogenesis and facilitates cognitive function recovery following acute cerebral ischemia in mice. *Stem Cell Res. Ther.* **2021**, *12*, 22. doi: 10.1186/s13287-020-02059-x 323
324
325
25. Arshad, M.N.; Oppenheimer, S.; Jeong, J.; Buyukdemirtas, B.; Naegele, J.R. Hippocampal transplants of fetal GABAergic progenitors regulate adult neurogenesis in mice with temporal lobe epilepsy. *Neurobiol. Dis.* **2022**, *174*, 105879. doi: 10.1016/j.nbd.2022 326
327
328
26. Wang, D.D.; Krueger, D.D.; Bordey, A. GABA depolarizes neuronal progenitors of the postnatal subventricular zone via GABAA receptor activation. *J. Physiol.* **2003**, *550(Pt 3)*, 785-800. doi: 10.1113/jphysiol.2003.042572 329
27. Young, S.Z.; Platel, J.C.; Nielsen, J.V.; Jensen, N.A.; Bordey, A. GABA(A) increases calcium in subventricular zone astrocyte-like cells through L- and T-type voltage-gated calcium channels. *Front. Cell. Neurosci.* **2010**, *4*, 8. doi: 10.3389/fncel.2010.00008 330
28. Young, S.Z.; Lafourcade, C.A.; Platel, J.C.; Lin, T.V.; Bordey, A. GABAergic striatal neurons project dendrites and axons into the postnatal subventricular zone leading to calcium activity. *Front. Cell. Neurosci.* **2014**, *8*, 10. doi: 10.3389/fncel.2014.00010 331
29. Hsieh, Y.C.; Puche, A.C. GABA modulation of SVZ-derived progenitor ventral cell migration. *Dev. Neurobiol.* **2015**, *75*, 791-804. doi: 10.1002/dneu.22249 332
30. Gutiérrez-Castañeda, N.E.; González-Corona, J.; Griego, E.; Galván, E.J.; Ochoa-de la Paz, L.D. Taurine promotes differentiation and maturation of neural stem/progenitor cells from the subventricular zone via activation of GABA_A receptors. *Neurochem. Res.* **2023**, *48*, 2206-2219. doi: 10.1007/s11064-023-03883-2 333
31. Simon, J.; Wakimoto, H.; Fujita, N.; Lalande, M.; Barnard, E.A. Analysis of the set of GABA(A) receptor genes in the human genome. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 41422-41435. doi: 10.1074/jbc.M401354200 329
330
32. Bhattacharya, D.; Gawali, V.S.; Kallay, L.; Toukam, D.K.; Koehler, A.; Stambrook, P.; Krummel, D.P.; Sengupta, S. Therapeutically leveraging GABA_A receptors in cancer. *Exp. Biol. Med. (Maywood)* **2021**, *246*, 2128-2135. doi: 10.1177/15353702211032549 331
332
333

33. Ghit, A.; Assal, D.; Al-Shami, A.S.; Hussein, D.E.E. GABA_A receptors: structure, function, pharmacology, and related disorders. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* **2021**, *19*, 123. doi: 10.1186/s43141-021-00224-0 334
335
34. Butler, K.M.; Moody, O.A.; Schuler, E.; Coryell, J.; Alexander, J.J.; Jenkins, A.; Escayg, A. De novo variants in GABRA2 and GABRA5 alter receptor function and contribute to early-onset epilepsy. *Brain* **2018**, *141*, 2392-2405. doi: 10.1093/brain/aww171 336
337
338
35. Feng, Y.; Wei, Z.H.; Liu, C.; Li, G.Y.; Qiao, X.Z.; Gan, Y.J.; Zhang, C.C.; Deng, Y.C. Genetic variations in GABA metabolism and epilepsy. *Seizure* **2022**, *101*, 22-29. doi: 10.1016/j.seizure.2022.07.007 339
340
36. Joghataei, M.T.; Bakhtiarzadeh, F.; Dehghan, S.; Ketabforoush, A.H.M.E.; Golab, F.; Zarbakhsh, S.; Ahmadi-rad, N. The role of neurotransmitters in glioblastoma multiforme-associated seizures. *Int. J. Dev. Neurosci.* **2023**, *83*, 677-690. doi: 10.1002/jdn.10294 341
342
343
37. Sengupta, S.; Weeraratne, S.D.; Sun, H.; Phallen, J.; Rallapalli, S.K.; Teider, N.; Kosaras, B.; Amani, V.; Pierre-Francois, J.; Tang, Y.; et al. α 5-GABAA receptors negatively regulate MYC-amplified medulloblastoma growth. *Acta Neuropathol.* **2014**, *127*, 593-603. doi: 10.1007/s00401-013-1205-7 344
345
346
38. Gravendeel, L.A.; Kouwenhoven, M.C.; Gevaert, O.; de Rooij, J.J.; Stubbs, A.P.; Duijm, J.E.; Daemen, A.; Bleeker, F.E.; Bralten, L.B.; Kloosterhof, N.K.; et al. Intrinsic gene expression profiles of gliomas are a better predictor of survival than histology. *Cancer Res.* **2009**, *69*, 9065-9072. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2307 347
348
349
39. Rodrigues, E.M.; Giovanini, A.F.; Ribas, C.A.P.M.; Malafaia, O.; Roesler, R.; Isolan, G.R. The nervous system development regulator neuropilin-1 as a potential prognostic marker and therapeutic target in brain cancer. *Cancers (Basel)* **2023**, *15*, 4922. doi: 10.3390/cancers15204922 350
351
352
40. Labrakakis, C.; Patt, S.; Hartmann, J.; Kettenmann, H. Functional GABA(A) receptors on human glioma cells. *Eur. J. Neurosci.* **1998**, *10*, 231-238. doi: 10.1046/j.1460-9568.1998.00036.x 353
354
41. Blanchart, A.; Fernando, R.; Häring, M.; Assaife-Lopes, N.; Romanov, R.A.; Andäng, M.; Harkany, T.; Ernfors, P.; et al. Endogenous GABA_A receptor activity suppresses glioma growth. *Oncogene* **2017**, *36*, 777-786. doi: 10.1038/onc.2016.245 355
356
42. Babateen, O.; Jin, Z.; Bhandage, A.; Korol, S.V.; Westermarck, B.; Forsberg Nilsson, K.; Uhrbom, L.; Smits, A.; Birnir, B. Etomidate, propofol and diazepam potentiate GABA-evoked GABA_A currents in a cell line derived from human glioblastoma. *Eur. J. Pharmacol.* **2015**, *748*, 101-107. doi: 10.1016/j.ejphar.2014.12.001 357
358
359
43. Smits, A.; Jin, Z.; Elsir, T.; Pedder, H.; Nistér, M.; Alafuzoff, I.; Dimberg, A.; Edqvist, P.H.; Pontén, F.; Aronica, E.; Birnir, B. GABA-A channel subunit expression in human glioma correlates with tumor histology and clinical outcome. *PLoS One* **2012**, *7*, e37041. doi: 10.1371/journal.pone.0037041 360
361
362
44. Han, S.; Lium Y.; Caim S.J.; Qian, M.; Ding, J.; Larion, M.; Gilbert, M.R.; Yang, C. IDH mutation in glioma: molecular mechanisms and potential therapeutic targets. *Br. J. Cancer* **2020**, *122*, 1580-1589. doi: 10.1038/s41416-020-0814-x 363
364
45. Dono, A.; Ballester, L.Y.; Primdahl, D.; Esquenazi, Y.; Bhatia, A. IDH-mutant low-grade glioma: Advances in molecular diagnosis, management, and future directions. *Curr. Oncol. Rep.* **2021**, *23*, 20. doi: 10.1007/s11912-020-01006-6 365
366
46. Kayabolen, A.; Yilmaz, E.; Bagci-Onder, T. IDH mutations in glioma: double-edged sword in clinical applications? *Biomedicines* **2021**, *9*, 799. doi: 10.3390/biomedicines9070799 367
368
47. Miller, J.J. Targeting IDH-mutant glioma. *Neurotherapeutics* **2022**, *19*, 1724-1732. doi: 10.1007/s13311-022-01238-3 369
48. Sareen, H.; Ma, Y.; Becker, T.M.; Roberts, T.L.; de Souza, P.; Powter, B. Molecular biomarkers in glioblastoma: A systematic review and meta-analysis. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 8835. doi: 10.3390/ijms23168835. 370
371
372
49. Zhang, H.; Zhang, L.; Tang, Y.; Wang, C.; Chen, Y.; Shu, J.; Zhang, K. Systemic screening identifies GABRD, a subunit gene of GABAA receptor as a prognostic marker in adult IDH wild-type diffuse low-grade glioma. *Biomed. Pharmacother.* **2019**, *118*, 109215. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109215 373
374
375

- 50 Kallay, L.; Keskin, H.; Ross, A.; Rupji, M.; Moody, O.A.; Wang, X.; Li, G.; Ahmed, T.; Rashid, F.; Stephen, M.R.; et al. Modulating native GABA_A receptors in medulloblastoma with positive allosteric benzodiazepine-derivatives induces cell death. *J. Neurooncol.* **2019**, *142*, 411–422. doi: 10.1007/s11060-019-03115-0 376
377
378
51. Northcott, P.A.; Korshunov, A.; Pfister, S.M.; Taylor, M.D. The clinical implications of medulloblastoma subgroups. *Nat. Rev. Neurol.* **2012**, *8*, 340–351. doi: 10.1038/nrneurol.2012.78 379
380
52. Taylor, M.D.; Northcott, P.A.; Korshunov, A.; Remke, M.; Cho, Y.J.; Clifford, S.C.; Eberhart, C.G.; Parsons, D.W.; Rutkowski, S.; Gajjar, A.; et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: The current consensus. *Acta Neuropathol.* **2012**, *123*, 465–472. doi: 10.1007/s00401-011-0922-z 381
382
383
53. Jonas, O.; Calligaris, D.; Methuku, K.R.; Poe, M.M.; Francois, J.P.; Tranchese, F.; Changelian, A.; Sieghart, W.; Ernst, M.; Krummel, D.A.; et al. First in vivo testing of compounds targeting group 3 medulloblastomas using an implantable microdevice as a new paradigm for drug development. *J. Biomed. Nanotechnol.* **2016**, *12*, 1297–1302. doi: 10.1166/jbn.2016.2262 384
385
386
387
54. Sengupta, S.; Weeraratne, S.D.; Cho, Y.J.; Pomeroy, S.L. Could $\alpha 5$ -GABA-A receptor activation be used as a target for managing medulloblastomas? *CNS Oncol.* **2014**, *3*, 245–247. doi: 10.2217/cns.14.27 388

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content. 389
390
391

6 DISCUSSÃO

Os gliomas são os tumores primários mais comuns do SNC, tendo uma incidência de, aproximadamente, quatro a cinco por 100.000 pessoas por ano.¹ São divididos histologicamente em quatro graus: 1, 2, 3 e 4, correspondendo a maior agressividade e pior prognóstico.⁶ A maioria dos gliomas são glioblastomas (grau 4), que são tumores invasivos com elevado índice proliferativo, caracterizados por uma marcante heterogeneidade e pobre resposta aos tratamentos atuais.³ O prognóstico para os pacientes com os gliomas de baixo grau (1 e 2) é mais favorável, porém, esses tumores se transformam ao longo do tempo em alto grau (3 e 4), com desfecho fatal.⁴ A etiologia dos gliomas não é conhecida, tendo a exposição a altas doses de radiação ionizante como um fator de risco.²

GABA é o principal neurotransmissor inibitório do SNC. O tipo mais comum de receptor GABA é o GABA-A, que apresenta 19 subunidades diferentes, todas presentes no cérebro humano.¹²⁴ Mutações no GABRA5 têm sido associadas à epilepsia.^{125,126} Níveis elevados de GABRA5 são descritos no subgrupo molecular mais agressivo, chamado grupo 3 de meduloblastoma, o principal tipo de câncer cerebral que afeta crianças.¹²⁷ Porém, permanece desconhecido se o GABRA5 tem alguma implicação para o desenvolvimento de drogas, ou mesmo na sobrevida dos pacientes portadores de glioma cerebral.

Os receptores funcionais GABA-A foram inicialmente identificados em células derivadas de gliomas de baixo grau, chamados astrocitoma e oligodendroglioma, enquanto as células derivadas dos gliomas de alto grau, como glioblastomas, não mostraram receptores funcionais. Em células de astrocitoma (grau 2) e oligodendrogliomas (grau 2), o GABA gera corrente elétrica, que pode induzir a hiperpolarização e a despolarização.¹²⁸ A função da ativação do receptor GABA-A ativado por corrente em glioblastomas foi demonstrada posteriormente, e a liberação contínua endógena do GABA pelas células dos glioblastomas pode reduzir a proliferação de células-tronco dos glioblastomas multiforme (GBM) e regular negativamente o crescimento tumoral em modelos experimentais.¹²⁹ Correntes de GABA-A podem ser estimuladas por etomidato, propofol, ou diazepam em U304MG células de GBM humano.¹³⁰ Juntos, esses achados indicam que os diferentes graus de glioma expressam receptores GABA-A capazes de responder ao GABA endógeno e outros ligantes, que podem afetar a progressão dos gliomas.

A expressão de mRNA para todas as 19 subunidades do GABA-A e com agonistas seletivos em gliomas de humanos (n=29) e no tecido peritumoral (n=5) foi detectada, com o GBM mostrando níveis reduzidos comparados aos níveis dos gliomas de baixo grau.¹³¹ Analisando o Atlas do Genoma do Câncer, esses tumores mostram oito subunidades de genes com expressão significativa em IDH-selvagem, em comparação aos tumores com IDH-mutante. Uma elevada expressão do gene GABRD, que codifica a subunidade delta do receptor GABA-A, foi associada à maior sobrevida nos pacientes com glioma de baixo grau IDH-selvagem. Nossos achados indicam que a expressão do GABRA5 reduzida na maioria dos gliomas pode ser considerada consistente com as evidências prévias, que sugerem que os receptores GABA-A podem agir como inibidores do crescimento dos gliomas,¹²⁹ que apresentam menor expressão à medida que o grau aumenta.¹³¹

Consistentemente com o papel inibitório dos receptores GABA-A nos tumores cerebrais, sua estimulação com derivados benzodiazepínicos promovem morte celular em estudos experimentais com meduloblastomas. O mesmo estudo indica a expressão do GABRA5 como um marcador diagnóstico para os meduloblastomas do grupo 3.¹⁰ A estimulação de receptores GABA-A contendo a subunidade GABRA5 com agonistas seletivos reduz o tempo de vida das células, através de um mecanismo que envolve a despolarização da membrana e indução da apoptose celular,¹³² destacando o potencial da subunidade alpha 5 do receptor GABA-A como alvo terapêutico.^{127,132}

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados das análises *in silico* do estudo aqui descrito, concluímos que os níveis de mRNA de GABRA5 em amostras de gliomas de todos os subgrupos histológicos são menores em comparação ao controle. Não observamos correlação significativa entre os níveis de GABRA5 em pacientes com glioblastoma IDH1R132 mutado comparado ao IDH-selvagem. Além disso, não observamos correlação entre os níveis de mRNA de GABRA5 com a OS dos subgrupos avaliados. O conhecimento atual sobre esse gene e sua proteína ainda é limitado, e há muitas questões a serem respondidas em relação ao seu papel como alvo molecular em gliomas.

REFERÊNCIAS

1. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol.* 2007;114(2):97-109. Doi: 10.1007/s00401-007-0243-4.
2. Ohgaki H, Kleihues P. Epidemiology and etiology of gliomas. *Acta Neuropathol.* 2005;109(1):93-108. Doi: 10.1007/s00401-005-0991-y.
3. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med.* 2005;352(10):987-96. Doi: 10.1056/NEJMoa043330.
4. Soffiatti R, Baumert BG, Bello L, Von Deimling A, Duffau H, Frénay M, et al. Guidelines on management of low-grade gliomas: report of an EFNS-EANO Task Force. *Eur J Neurol.* 2010;17(9):1124-33. Doi: 10.1111/j.1468-1331.2010.03151.x.
5. Olsen RW, Sieghart W. International Union of Pharmacology. LXX. Subtypes of gamma-aminobutyric acid(A) receptors: classification on the basis of subunit composition, pharmacology, and function. Update. *Pharmacol Rev.* 2008;60(3):243-60. Doi: 10.1124/pr.108.00505.
6. Louis DN. WHO classification of tumours of the central nervous system. 2016.
7. Chang EF, Smith JS, Chang SM, Lamborn KR, Prados MD, Butowski N, et al. Preoperative prognostic classification system for hemispheric low-grade gliomas in adults. *J Neurosurg.* 2008;109(5):817-24. Doi: 10.3171/JNS/2008/109/11/0817.
8. Yang P, Zhang W, Wang Y, Peng X, Chen B, Qiu X, et al. IDH mutation and MGMT promoter methylation in glioblastoma: results of a prospective registry. *Oncotarget.* 2015;6(38):40896-906. Doi: 10.18632/oncotarget.5683.
9. Braat S, Kooy RF. The GABAA Receptor as a Therapeutic Target for Neurodevelopmental Disorders. *Neuron.* 2015;86(5):1119-30. Doi: 10.1016/j.neuron.2015.03.042.
10. Kallay L, Keskin H, Ross A, Rupji M, Moody OA, Wang X, et al. Modulating native GABA. *J Neurooncol.* 2019;142(3):411-22. Doi: 10.1007/s11060-019-03115-0.
11. Louis DN, Perry A, Wesseling P, Brat DJ, Cree IA, Figarella-Branger D, et al. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro Oncol.* 2021;23(8):1231-51. Doi: 10.1093/neuonc/noab106.
12. Bailey P, Cushing H. A classification of the tumors of the glioma group on a histogenetic basis with a correlated study of prognosis. Philadelphia: JB Lippincott; 1926.
13. Louis DN, Giannini C, Capper D, Paulus W, Figarella-Branger D, Lopes MB, et al. cIMPACT-NOW update 2: diagnostic clarifications for diffuse midline glioma, H3 K27M-mutant and diffuse astrocytoma/anaplastic astrocytoma, IDH-mutant. *Acta Neuropathol.* 2018;135(4):639-42. Doi: 10.1007/s00401-018-1826-y.

14. Brat DJ, Aldape K, Colman H, Holland EC, Louis DN, Jenkins RB, et al. cIMPACT-NOW update 3: recommended diagnostic criteria for "Diffuse astrocytic glioma, IDH-wildtype, with molecular features of glioblastoma, WHO grade IV". *Acta Neuropathol.* 2018;136(5):805-10. Doi: 10.1007/s00401-018-1913-0.
15. Louis DN, Wesseling P, Paulus W, Giannini C, Batchelor TT, Cairncross JG, et al. cIMPACT-NOW update 1: Not Otherwise Specified (NOS) and Not Elsewhere Classified (NEC). *Acta Neuropathol.* 2018;135(3):481-4. Doi: 10.1007/s00401-018-1808-0.
16. Ellison DW, Aldape KD, Capper D, Fouladi M, Gilbert MR, Gilbertson RJ, et al. cIMPACT-NOW update 7: advancing the molecular classification of ependymal tumors. *Brain Pathol.* 2020;30(5):863-6. Doi: 10.1111/bpa.12866.
17. Ellison DW, Hawkins C, Jones DTW, Onar-Thomas A, Pfister SM, Reifenberger G, et al. cIMPACT-NOW update 4: diffuse gliomas characterized by MYB, MYBL1, or FGFR1 alterations or BRAF. *Acta Neuropathol.* 2019;137(4):683-7. Doi: 10.1007/s00401-019-01987-0.
18. Brat DJ, Aldape K, Colman H, Figarella-Branger D, Fuller GN, Giannini C, et al. cIMPACT-NOW update 5: recommended grading criteria and terminologies for IDH-mutant astrocytomas. *Acta Neuropathol.* 2020;139(3):603-8. Doi: 10.1007/s00401-020-02127-9.
19. Louis DN, Wesseling P, Aldape K, Brat DJ, Capper D, Cree IA, et al. cIMPACT-NOW update 6: new entity and diagnostic principle recommendations of the cIMPACT-Utrecht meeting on future CNS tumor classification and grading. *Brain Pathol.* 2020;30(4):844-56. Doi: 10.1111/bpa.12832.
20. Louis DN, Perry A, Burger P, Ellison DW, Reifenberger G, von Deimling A, et al. International Society Of Neuropathology--Haarlem consensus guidelines for nervous system tumor classification and grading. *Brain Pathol.* 2014;24(5):429-35. Doi: 10.1111/bpa.12171.
21. Reuss DE, Mamatjan Y, Schrimpf D, Capper D, Hovestadt V, Kratz A, et al. IDH mutant diffuse and anaplastic astrocytomas have similar age at presentation and little difference in survival: a grading problem for WHO. *Acta Neuropathol.* 2015;129(6):867-73. Doi: 10.1007/s00401-015-1438-8.
22. Pajtler KW, Witt H, Sill M, Jones DT, Hovestadt V, Kratochwil F, et al. Molecular Classification of Ependymal Tumors across All CNS Compartments, Histopathological Grades, and Age Groups. *Cancer Cell.* 2015;27(5):728-43. Doi: 10.1016/j.ccell.2015.04.002.
23. Andreiuolo F, Varlet P, Tauziède-Espariat A, Jünger ST, Dörner E, Dreschmann V, et al. Childhood supratentorial ependymomas with YAP1-MAMLD1 fusion: an entity with characteristic clinical, radiological, cytogenetic and histopathological features. *Brain Pathol.* 2019;29(2):205-16. Doi: 10.1111/bpa.12659.
24. von Deimling A, Ono T, Shirahata M, Louis DN. Grading of Diffuse Astrocytic Gliomas: A Review of Studies Before and After the Advent of IDH Testing. *Semin Neurol.* 2018;38(1):19-23. Doi: 10.1055/s-0038-1636430.

25. Shirahata M, Ono T, Stichel D, Schrimpf D, Reuss DE, Sahm F, et al. Novel, improved grading system(s) for IDH-mutant astrocytic gliomas. *Acta Neuropathol.* 2018;136(1):153-66. Doi: 10.1007/s00401-018-1849-4.
26. Cimino PJ, Holland EC. Targeted copy number analysis outperforms histologic grading in predicting patient survival for WHO grades II/III IDH-mutant astrocytomas. *Neuro Oncol.* 2019;21(6):819-21. Doi: 10.1093/neuonc/noz052.
27. Nobusawa S, Watanabe T, Kleihues P, Ohgaki H. IDH1 mutations as molecular signature and predictive factor of secondary glioblastomas. *Clin Cancer Res.* 2009;15(19):6002-7. Doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0715.
28. Jain SU, Do TJ, Lund PJ, Rashoff AQ, Diehl KL, Cieslik M, et al. PFA ependymoma-associated protein EZHIP inhibits PRC2 activity through a H3 K27M-like mechanism. *Nat Commun.* 2019;10(1):2146. Doi: 10.1038/s41467-019-09981-6.
29. Lucas CG, Mueller S, Reddy A, Taylor JW, Oberheim Bush NA, Clarke JL, et al. Diffuse hemispheric glioma, H3 G34-mutant: Genomic landscape of a new tumor entity and prospects for targeted therapy. *Neuro Oncol.* 2021;23(11):1974-6. Doi: 10.1093/neuonc/noab184.
30. Ostrom QT, Price M, Neff C, Cioffi G, Waite KA, Kruchko C, et al. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2015-2019. *Neuro Oncol.* 2022;24(Suppl 5):v1-v95. Doi: 10.1093/neuonc/noac202.
31. Forsyth PA, Posner JB. Headaches in patients with brain tumors: a study of 111 patients. *Neurology.* 1993;43(9):1678-83. Doi: 10.1212/wnl.43.9.1678.
32. Valentinis L, Tuniz F, Valent F, Mucchiut M, Little D, Skrap M, et al. Headache attributed to intracranial tumours: a prospective cohort study. *Cephalalgia.* 2010;30(4):389-98. Doi: 10.1111/j.1468-2982.2009.01970.x.
33. Cavaliere R, Farace E, Schiff D. Clinical implications of status epilepticus in patients with neoplasms. *Arch Neurol.* 2006;63(12):1746-9. Doi: 10.1001/archneur.63.12.1746.
34. Knecht S, Dräger B, Deppe M, Bobe L, Lohmann H, Flöel A, et al. Handedness and hemispheric language dominance in healthy humans. *Brain.* 2000;123 Pt 12:2512-8. Doi: 10.1093/brain/123.12.2512.
35. Whittle IR. What is the place of conservative management for adult supratentorial low-grade glioma? *Adv Tech Stand Neurosurg.* 2010;35:65-79. Doi: 10.1007/978-3-211-99481-8_3.
36. Recht LD, Lew R, Smith TW. Suspected low-grade glioma: is deferring treatment safe? *Ann Neurol.* 1992;31(4):431-6. Doi: 10.1002/ana.410310413.
37. Pouratian N, Schiff D. Management of low-grade glioma. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2010;10(3):224-31. Doi: 10.1007/s11910-010-0105-7.

38. Sanai N, Chang S, Berger MS. Low-grade gliomas in adults. *J Neurosurg*. 2011;115(5):948-65. Doi: 10.3171/2011.7.JNS101238.
39. Aghi MK, Nahed BV, Sloan AE, Ryken TC, Kalkanis SN, Olson JJ. The role of surgery in the management of patients with diffuse low grade glioma: A systematic review and evidence-based clinical practice guideline. *J Neurooncol*. 2015;125(3):503-30. Doi: 10.1007/s11060-015-1867-1.
40. Jakola AS, Myrmet KS, Kloster R, Torp SH, Lindal S, Unsgård G, et al. Comparison of a strategy favoring early surgical resection vs a strategy favoring watchful waiting in low-grade gliomas. *JAMA*. 2012;308(18):1881-8. Doi: 10.1001/jama.2012.12807.
41. Jakola AS, Skjulsvik AJ, Myrmet KS, Sjøvik K, Unsgård G, Torp SH, et al. Surgical resection versus watchful waiting in low-grade gliomas. *Ann Oncol*. 2017;28(8):1942-8. Doi: 10.1093/annonc/mdx230.
42. Ius T, Ng S, Young JS, Tomasino B, Polano M, Ben-Israel D, et al. The benefit of early surgery on overall survival in incidental low-grade glioma patients: A multicenter study. *Neuro Oncol*. 2022;24(4):624-38. Doi: 10.1093/neuonc/noab210.
43. Keles GE, Lamborn KR, Berger MS. Low-grade hemispheric gliomas in adults: a critical review of extent of resection as a factor influencing outcome. *J Neurosurg*. 2001;95(5):735-45. Doi: 10.3171/jns.2001.95.5.0735.
44. Smith JS, Chang EF, Lamborn KR, Chang SM, Prados MD, Cha S, et al. Role of extent of resection in the long-term outcome of low-grade hemispheric gliomas. *J Clin Oncol*. 2008;26(8):1338-45. Doi: 10.1200/JCO.2007.13.9337.
45. McGirt MJ, Chaichana KL, Attenello FJ, Weingart JD, Than K, Burger PC, et al. Extent of surgical resection is independently associated with survival in patients with hemispheric infiltrating low-grade gliomas. *Neurosurgery*. 2008;63(4):700-7; author reply 7-8. Doi: 10.1227/01.NEU.0000325729.41085.73.
46. Wijnenga MMJ, French PJ, Dubbink HJ, Dinjens WNM, Atmodimedjo PN, Kros JM, et al. The impact of surgery in molecularly defined low-grade glioma: an integrated clinical, radiological, and molecular analysis. *Neuro Oncol*. 2018;20(1):103-12. Doi: 10.1093/neuonc/nox176.
47. Kawaguchi T, Sonoda Y, Shibahara I, Saito R, Kanamori M, Kumabe T, et al. Impact of gross total resection in patients with WHO grade III glioma harboring the IDH 1/2 mutation without the 1p/19q co-deletion. *J Neurooncol*. 2016;129(3):505-14. Doi: 10.1007/s11060-016-2201-2.
48. Hervey-Jumper SL, Zhang Y, Phillips JJ, Morshed RA, Young JS, McCoy L, et al. Interactive Effects of Molecular, Therapeutic, and Patient Factors on Outcome of Diffuse Low-Grade Glioma. *J Clin Oncol*. 2023;41(11):2029-42. Doi: 10.1200/JCO.21.02929.
49. Oncology. NCPGi. National Comprehensive Cancer Network [cited 2024 Jan 03]. Available from: http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp.

50. Weller M, van den Bent M, Tonn JC, Stupp R, Preusser M, Cohen-Jonathan-Moyal E, et al. European Association for Neuro-Oncology (EANO) guideline on the diagnosis and treatment of adult astrocytic and oligodendroglial gliomas. *Lancet Oncol.* 2017;18(6):e315-e29. Doi: 10.1016/S1470-2045(17)30194-8.
51. Weller M, van den Bent M, Preusser M, Le Rhun E, Tonn JC, Minniti G, et al. EANO guidelines on the diagnosis and treatment of diffuse gliomas of adulthood. *Nat Rev Clin Oncol.* 2021;18(3):170-86. Doi: 10.1038/s41571-020-00447-z.
52. Mohile NA, Messersmith H, Gatson NT, Hottinger AF, Lassman A, Morton J, et al. Therapy for Diffuse Astrocytic and Oligodendroglial Tumors in Adults: ASCO-SNO Guideline. *J Clin Oncol.* 2022;40(4):403-26. Doi: 10.1200/JCO.21.02036.
53. Miller JJ, Gonzalez Castro LN, McBrayer S, Weller M, Cloughesy T, Portnow J, et al. Isocitrate dehydrogenase (IDH) mutant gliomas: A Society for Neuro-Oncology (SNO) consensus review on diagnosis, management, and future directions. *Neuro Oncol.* 2023;25(1):4-25. Doi: 10.1093/neuonc/noac207.
54. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. National Comprehensive Cancer Network 2023 [cited 2024 Jan 05]. Available from: http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp.
55. Miller SE, Leonard SA, Meza PK, Ku S, Ren LY, Lyell DJ, et al. Red Blood Cell Transfusion in Patients With Placenta Accreta Spectrum: A Systematic Review and Meta-analysis. *Obstet Gynecol.* 2023;141(1):49-58. Doi: 10.1097/AOG.0000000000004976.
56. van den Bent MJ, Afra D, de Witte O, Ben Hassel M, Schraub S, Hoang-Xuan K, et al. Long-term efficacy of early versus delayed radiotherapy for low-grade astrocytoma and oligodendroglioma in adults: the EORTC 22845 randomised trial. *Lancet.* 2005;366(9490):985-90. Doi: 10.1016/S0140-6736(05)67070-5.
57. National Comprehensive Cancer Network. NCCN Guidelines: treatment by cancer type 2023 [cited 2024 Jan 05]. Available from: http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp.
58. Ryken TC, Parney I, Buatti J, Kalkanis SN, Olson JJ. The role of radiotherapy in the management of patients with diffuse low grade glioma: A systematic review and evidence-based clinical practice guideline. *J Neurooncol.* 2015;125(3):551-83. Doi: 10.1007/s11060-015-1948-1.
59. Dhawan S, Patil CG, Chen C, Venteicher AS. Early versus delayed postoperative radiotherapy for treatment of low-grade gliomas. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020;1(1):CD009229. Doi: 10.1002/14651858.CD009229.pub3.
60. Buckner JC, Shaw EG, Pugh SL, Chakravarti A, Gilbert MR, Barger GR, et al. Radiation plus Procarbazine, CCNU, and Vincristine in Low-Grade Glioma. *N Engl J Med.* 2016;374(14):1344-55. Doi: 10.1056/NEJMoa1500925.
61. Tesileanu CMS, van den Bent MJ, Sanson M, Wick W, Brandes AA, Clement PM, et al. Prognostic significance of genome-wide DNA methylation profiles within

the randomized, phase 3, EORTC CATNON trial on non-1p/19q deleted anaplastic glioma. *Neuro Oncol.* 2021;23(9):1547-59. Doi: 10.1093/neuonc/noab088.

62. Shaw EG, Berkey B, Coons SW, Bullard D, Brachman D, Buckner JC, et al. Recurrence following neurosurgeon-determined gross-total resection of adult supratentorial low-grade glioma: results of a prospective clinical trial. *J Neurosurg.* 2008;109(5):835-41. Doi: 10.3171/JNS/2008/109/11/0835.

63. Jansen E, Hamisch C, Ruess D, Heiland DH, Goldbrunner R, Ruge MI, et al. Observation after surgery for low grade glioma: long-term outcome in the light of the 2016 WHO classification. *J Neurooncol.* 2019;145(3):501-7. Doi: 10.1007/s11060-019-03316-7.

64. Jo J, van den Bent MJ, Nabors B, Wen PY, Schiff D. Surveillance imaging frequency in adult patients with lower-grade (WHO Grade 2 and 3) gliomas. *Neuro Oncol.* 2022;24(7):1035-47. Doi: 10.1093/neuonc/noac031.

65. van den Bent MJ, Weller M, Wen PY, Kros JM, Aldape K, Chang S. A clinical perspective on the 2016 WHO brain tumor classification and routine molecular diagnostics. *Neuro Oncol.* 2017;19(5):614-24. Doi: 10.1093/neuonc/now277.

66. van den Bent MJ, Tesileanu CMS, Wick W, Sanson M, Brandes AA, Clement PM, et al. Adjuvant and concurrent temozolomide for 1p/19q non-co-deleted anaplastic glioma (CATNON; EORTC study 26053-22054): second interim analysis of a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet Oncol.* 2021;22(6):813-23. Doi: 10.1016/S1470-2045(21)00090-5.

67. Shaw EG, Wang M, Coons SW, Brachman DG, Buckner JC, Stelzer KJ, et al. Randomized trial of radiation therapy plus procarbazine, lomustine, and vincristine chemotherapy for supratentorial adult low-grade glioma: initial results of RTOG 9802. *J Clin Oncol.* 2012;30(25):3065-70. Doi: 10.1200/JCO.2011.35.8598.

68. Prabhu RS, Won M, Shaw EG, Hu C, Brachman DG, Buckner JC, et al. Effect of the addition of chemotherapy to radiotherapy on cognitive function in patients with low-grade glioma: secondary analysis of RTOG 98-02. *J Clin Oncol.* 2014;32(6):535-41. Doi: 10.1200/JCO.2013.53.1830.

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

70. Baumert BG, Hegi ME, van den Bent MJ, von Deimling A, Gorlia T, Hoang-Xuan K, et al. Temozolomide chemotherapy versus radiotherapy in high-risk low-grade glioma (EORTC 22033-26033): a randomised, open-label, phase 3 intergroup study. *Lancet Oncol.* 2016;17(11):1521-32. Doi: 10.1016/S1470-2045(16)30313-8.

71. Fisher BJ, Hu C, Macdonald DR, Lesser GJ, Coons SW, Brachman DG, et al. Phase 2 study of temozolomide-based chemoradiation therapy for high-risk low-grade gliomas: preliminary results of Radiation Therapy Oncology Group 0424. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2015;91(3):497-504. Doi: 10.1016/j.ijrobp.2014.11.012.

72. Fisher BJ, Pugh SL, Macdonald DR, Chakravatri A, Lesser GJ, Fox S, et al. Phase 2 Study of a Temozolomide-Based Chemoradiation Therapy Regimen for High-Risk, Low-Grade Gliomas: Long-Term Results of Radiation Therapy Oncology Group 0424. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2020;107(4):720-5. Doi: 10.1016/j.ijrobp.2020.03.027.
73. Park DY, Tom MC, Wei W, Tewari S, Ahluwalia MS, Yu JS, et al. Quality of life following concurrent temozolomide-based chemoradiation therapy or observation in low-grade glioma. *J Neurooncol.* 2022;156(3):499-507. Doi: 10.1007/s11060-021-03920-6.
74. Buckner JC, Pugh SL, Shaw EG, Gilbert MR, Barger G, Coons S, et al. Phase III study of radiation therapy (RT) with or without procarbazine, CCNU, and vincristine (PCV) in low-grade glioma: RTOG 9802 with Alliance, ECOG, and SWOG. *J Clin Oncol.* 2014.
75. Gorlia T, Wu W, Wang M, Baumert BG, Mehta M, Buckner JC, et al. New validated prognostic models and prognostic calculators in patients with low-grade gliomas diagnosed by central pathology review: a pooled analysis of EORTC/RTOG/NCCTG phase III clinical trials. *Neuro Oncol.* 2013;15(11):1568-79. Doi: 10.1093/neuonc/not117.
76. Pignatti F, van den Bent M, Curran D, Debruyne C, Sylvester R, Therasse P, et al. Prognostic factors for survival in adult patients with cerebral low-grade glioma. *J Clin Oncol.* 2002;20(8):2076-84. Doi: 10.1200/JCO.2002.08.121.
77. van den Bent MJ, Brandes AA, Taphoorn MJ, Kros JM, Kouwenhoven MC, Delattre JY, et al. Adjuvant procarbazine, lomustine, and vincristine chemotherapy in newly diagnosed anaplastic oligodendroglioma: long-term follow-up of EORTC brain tumor group study 26951. *J Clin Oncol.* 2013;31(3):344-50. Doi: 10.1200/JCO.2012.43.2229.
78. Cairncross G, Wang M, Shaw E, Jenkins R, Brachman D, Buckner J, et al. Phase III trial of chemoradiotherapy for anaplastic oligodendroglioma: long-term results of RTOG 9402. *J Clin Oncol.* 2013;31(3):337-43. Doi: 10.1200/JCO.2012.43.2674.
79. Lassman AB, Hoang-Xuan K, Polley MC, Brandes AA, Cairncross JG, Kros JM, et al. Joint Final Report of EORTC 26951 and RTOG 9402: Phase III Trials With Procarbazine, Lomustine, and Vincristine Chemotherapy for Anaplastic Oligodendroglial Tumors. *J Clin Oncol.* 2022;40(23):2539-45. Doi: 10.1200/JCO.21.02543.
80. Chang S, Zhang P, Cairncross JG, Gilbert MR, Bahary JP, Dolinskas CA, et al. Phase III randomized study of radiation and temozolomide versus radiation and nitrosourea therapy for anaplastic astrocytoma: results of NRG Oncology RTOG 9813. *Neuro Oncol.* 2017;19(2):252-8. Doi: 10.1093/neuonc/now236.
81. Brandes AA, Nicolardi L, Tosoni A, Gardiman M, Iuzzolino P, Ghimenton C, et al. Survival following adjuvant PCV or temozolomide for anaplastic astrocytoma. *Neuro Oncol.* 2006;8(3):253-60. Doi: 10.1215/15228517-2006-005.

82. Wick W, Roth P, Hartmann C, Hau P, Nakamura M, Stockhammer F, et al. Long-term analysis of the NOA-04 randomized phase III trial of sequential radiochemotherapy of anaplastic glioma with PCV or temozolomide. *Neuro Oncol.* 2016;18(11):1529-37. Doi: 10.1093/neuonc/now133.
83. Chai R, Li G, Liu Y, Zhang K, Zhao Z, Wu F, et al. Predictive value of MGMT promoter methylation on the survival of TMZ treated. *Cancer Biol Med.* 2021;18(1):272-82. Doi: 10.20892/j.issn.2095-3941.2020.0179.
84. Shaw E, Arusell R, Scheithauer B, O'Fallon J, O'Neill B, Dinapoli R, et al. Prospective randomized trial of low- versus high-dose radiation therapy in adults with supratentorial low-grade glioma: initial report of a North Central Cancer Treatment Group/Radiation Therapy Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group study. *J Clin Oncol.* 2002;20(9):2267-76. Doi: 10.1200/JCO.2002.09.126.
85. Karim AB, Maat B, Hatlevoll R, Menten J, Rutten EH, Thomas DG, et al. A randomized trial on dose-response in radiation therapy of low-grade cerebral glioma: European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Study 22844. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1996;36(3):549-56. Doi: 10.1016/s0360-3016(96)00352-5.
86. Breen WG, Anderson SK, Carrero XW, Brown PD, Ballman KV, O'Neill BP, et al. Final report from Intergroup NCCTG 86-72-51 (Alliance): a phase III randomized clinical trial of high-dose versus low-dose radiation for adult low-grade glioma. *Neuro Oncol.* 2020;22(6):830-7. Doi: 10.1093/neuonc/noaa021.
87. Jeremic B, Shibamoto Y, Grujicic D, Milicic B, Stojanovic M, Nikolic N, et al. Hyperfractionated radiation therapy for incompletely resected supratentorial low-grade glioma. A phase II study. *Radiother Oncol.* 1998;49(1):49-54. Doi: 10.1016/s0167-8140(98)00074-7.
88. Shih HA, Sherman JC, Nachtigall LB, Colvin MK, Fullerton BC, Daartz J, et al. Proton therapy for low-grade gliomas: Results from a prospective trial. *Cancer.* 2015;121(10):1712-9. Doi: 10.1002/cncr.29237.
89. Sherman JC, Colvin MK, Mancuso SM, Batchelor TT, Oh KS, Loeffler JS, et al. Neurocognitive effects of proton radiation therapy in adults with low-grade glioma. *J Neurooncol.* 2016;126(1):157-64. Doi: 10.1007/s11060-015-1952-5.
90. Plathow C, Schulz-Ertner D, Thilman C, Zuna I, Lichy M, Weber MA, et al. Fractionated stereotactic radiotherapy in low-grade astrocytomas: long-term outcome and prognostic factors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2003;57(4):996-1003. Doi: 10.1016/s0360-3016(03)00738-7.
91. van West SE, de Bruin HG, van de Langerijt B, Swaak-Kragten AT, van den Bent MJ, Taal W. Incidence of pseudoprogression in low-grade gliomas treated with radiotherapy. *Neuro Oncol.* 2017;19(5):719-25. Doi: 10.1093/neuonc/now194.
92. Voss M, Franz K, Steinbach JP, Fokas E, Forster MT, Filipinski K, et al. Contrast enhancing spots as a new pattern of late onset pseudoprogression in glioma patients. *J Neurooncol.* 2019;142(1):161-9. Doi: 10.1007/s11060-018-03076-w.

93. Dworkin M, Mehan W, Niemierko A, Kamran SC, Lamba N, Dietrich J, et al. Increase of pseudoprogression and other treatment related effects in low-grade glioma patients treated with proton radiation and temozolomide. *J Neurooncol.* 2019;142(1):69-77. Doi: 10.1007/s11060-018-03063-1.
94. Lu VM, Welby JP, Laack NN, Mahajan A, Daniels DJ. Pseudoprogression after radiation therapies for low grade glioma in children and adults: A systematic review and meta-analysis. *Radiother Oncol.* 2020;142:36-42. Doi: 10.1016/j.radonc.2019.07.013.
95. Eichkorn T, Bauer J, Bahn E, Lischalk JW, Meixner E, Sandrini E, et al. Radiation-induced contrast enhancement following proton radiotherapy for low-grade glioma depends on tumor characteristics and is rarer in children than adults. *Radiother Oncol.* 2022;172:54-64. Doi: 10.1016/j.radonc.2022.05.005.
96. Jaspers JPM, Taal W, van Norden Y, Zindler JD, Swaak AT, Habraken SJM, et al. Early and late contrast enhancing lesions after photon radiotherapy for IDH mutated grade 2 diffuse glioma. *Radiother Oncol.* 2023;184:109674. Doi: 10.1016/j.radonc.2023.109674.
97. Ritterbusch R, Halasz LM, Graber JJ. Distinct imaging patterns of pseudoprogression in glioma patients following proton versus photon radiation therapy. *J Neurooncol.* 2021;152(3):583-90. Doi: 10.1007/s11060-021-03734-6.
98. Combs SE, Thilmann C, Edler L, Debus J, Schulz-Ertner D. Efficacy of fractionated stereotactic reirradiation in recurrent gliomas: long-term results in 172 patients treated in a single institution. *J Clin Oncol.* 2005;23(34):8863-9. Doi: 10.1200/JCO.2005.03.4157.
99. Pace A, Vidiri A, Galiè E, Carosi M, Telera S, Cianciulli AM, et al. Temozolomide chemotherapy for progressive low-grade glioma: clinical benefits and radiological response. *Ann Oncol.* 2003;14(12):1722-6. Doi: 10.1093/annonc/mdg502.
100. Quinn JA, Reardon DA, Friedman AH, Rich JN, Sampson JH, Provenzale JM, et al. Phase II trial of temozolomide in patients with progressive low-grade glioma. *J Clin Oncol.* 2003;21(4):646-51. Doi: 10.1200/JCO.2003.01.009.
101. Yung WK, Prados MD, Yaya-Tur R, Rosenfeld SS, Brada M, Friedman HS, et al. Multicenter phase II trial of temozolomide in patients with anaplastic astrocytoma or anaplastic oligoastrocytoma at first relapse. Temodal Brain Tumor Group. *J Clin Oncol.* 1999;17(9):2762-71. Doi: 10.1200/JCO.1999.17.9.2762.
102. Taal W, Dubbink HJ, Zonnenberg CB, Zonnenberg BA, Postma TJ, Gijtenbeek JM, et al. First-line temozolomide chemotherapy in progressive low-grade astrocytomas after radiotherapy: molecular characteristics in relation to response. *Neuro Oncol.* 2011;13(2):235-41. Doi: 10.1093/neuonc/noq177.
103. van den Bent MJ, Klein M, Smits M, Reijneveld JC, French PJ, Clement P, et al. Bevacizumab and temozolomide in patients with first recurrence of WHO grade II and III glioma, without 1p/19q co-deletion (TAVAREC): a randomised controlled phase 2

EORTC trial. *Lancet Oncol.* 2018;19(9):1170-9. Doi: 10.1016/S1470-2045(18)30362-0.

104. Tesileanu CMS, Dirven L, Wijnenga MMJ, Koekkoek JAF, Vincent AJPE, Dubbink HJ, et al. Survival of diffuse astrocytic glioma, IDH1/2 wildtype, with molecular features of glioblastoma, WHO grade IV: a confirmation of the cIMPACT-NOW criteria. *Neuro Oncol.* 2020;22(4):515-23. Doi: 10.1093/neuonc/noz200.

105. Brat DJ, Verhaak RG, Aldape KD, Yung WK, Salama SR, Cooper LA, et al. Comprehensive, Integrative Genomic Analysis of Diffuse Lower-Grade Gliomas. *N Engl J Med.* 2015;372(26):2481-98. Doi: 10.1056/NEJMoa1402121.

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

107. Hartmann C, Hentschel B, Wick W, Capper D, Felsberg J, Simon M, et al. Patients with IDH1 wild type anaplastic astrocytomas exhibit worse prognosis than IDH1-mutated glioblastomas, and IDH1 mutation status accounts for the unfavorable prognostic effect of higher age: implications for classification of gliomas. *Acta Neuropathol.* 2010;120(6):707-18. Doi: 10.1007/s00401-010-0781-z.

108. Synowitz M, Ahmann P, Matyash M, Kuhn SA, Hofmann B, Zimmer C, et al. GABA(A)-receptor expression in glioma cells is triggered by contact with neuronal cells. *Eur J Neurosci.* 2001;14(8):1294-302. Doi: 10.1046/j.0953-816x.2001.01764.x.

109. Everington EA, Gibbard AG, Swinny JD, Seifi M. Molecular Characterization of GABA-A Receptor Subunit Diversity within Major Peripheral Organs and Their Plasticity in Response to Early Life Psychosocial Stress. *Front Mol Neurosci.* 2018;11:18. Doi: 10.3389/fnmol.2018.00018.

110. Martins De Oliveira L, Pereira De Menezes Filho AC, Porfiro CA. Uso da *Passiflora incarnata* L. no tratamento alternativo do transtorno de ansiedade generalizada. *Res Soc Develop.* 2020;9(11):e2349119487.

111. Katzung BG, Trevor A. Basic and clinical pharmacology. New York: McGraw; 2012.

112. Olsen RW. GABA. *Neuropharmacology.* 2018;136(Pt A):10-22. Doi: 10.1016/j.neuropharm.2018.01.036.

113. Ravasz D, Kacso G, Fodor V, Horvath K, Adam-Vizi V, Chinopoulos C. Catabolism of GABA, succinic semialdehyde or gamma-hydroxybutyrate through the GABA shunt impair mitochondrial substrate-level phosphorylation. *Neurochem Int.* 2017;109:41-53. Doi: 10.1016/j.neuint.2017.03.008.

114. Sieghart W, Fuchs K, Tretter V, Ebert V, Jechlinger M, Höger H, et al. Structure and subunit composition of GABA(A) receptors. *Neurochem Int.* 1999;34(5):379-85. Doi: 10.1016/s0197-0186(99)00045-5.

115. Goetz T, Arslan A, Wisden W, Wulff P. GABA(A) receptors: structure and function in the basal ganglia. *Prog Brain Res.* 2007;160:21-41. Doi: 10.1016/S0079-6123(06)60003-4.
116. Jacob TC, Moss SJ, Jurd R. GABA(A) receptor trafficking and its role in the dynamic modulation of neuronal inhibition. *Nat Rev Neurosci.* 2008;9(5):331-43. Doi: 10.1038/nrn2370.
117. Ghit A, Assal D, Al-Shami AS, Hussein DEE. GABA. *J Genet Eng Biotechnol.* 2021;19(1):123. Epub 20210821. Doi: 10.1186/s43141-021-00224-0.
118. Sigel E, Steinmann ME. Structure, function, and modulation of GABA(A) receptors. *J Biol Chem.* 2012;287(48):40224-31. Doi: 10.1074/jbc.R112.386664.
119. Brohan J, Goudra BG. The Role of GABA Receptor Agonists in Anesthesia and Sedation. *CNS Drugs.* 2017;31(10):845-56. Doi: 10.1007/s40263-017-0463-7.
120. Jembrek MJ, Vlainic J. GABA Receptors: Pharmacological Potential and Pitfalls. *Curr Pharm Des.* 2015;21(34):4943-59. Doi: 10.2174/1381612821666150914121624.
121. Matuszek M, Jesipowicz M, Kleinrok Z. GABA content and GAD activity in gastric cancer. *Med Sci Monit.* 2001;7(3):377-81.
122. Barron T, Yalçın B, Mochizuki A, Cantor E, Shamardani K, Tlais D, et al. GABAergic neuron-to-glioma synapses in diffuse midline gliomas. *bioRxiv.* 2022:2022.11.08.515720.
123. Gravendeel LA, Kouwenhoven MC, Gevaert O, de Rooi JJ, Stubbs AP, Duijm JE, et al. Intrinsic gene expression profiles of gliomas are a better predictor of survival than histology. *Cancer Res.* 2009;69(23):9065-72. Doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2307.
124. Young. GABAA increases calcium in subventricular zone astrocyte-like cells through L- and T-type voltage-gated calcium channels.
125. Butler KM, Moody OA, Schuler E, Coryell J, Alexander JJ, Jenkins A, et al. De novo variants in GABRA2 and GABRA5 alter receptor function and contribute to early-onset epilepsy. *Brain.* 2018;141(8):2392-405. Doi: 10.1093/brain/awy171.
126. Feng Y, Wei ZH, Liu C, Li GY, Qiao XZ, Gan YJ, et al. Genetic variations in GABA metabolism and epilepsy. *Seizure.* 2022;101:22-9. Doi: 10.1016/j.seizure.2022.07.007.
127. Sengupta S, Weeraratne SD, Cho YJ, Pomeroy SL. Could $\alpha 5$ -GABA-A receptor activation be used as a target for managing medulloblastomas? *CNS Oncol.* 2014;3(4):245-7. Doi: 10.2217/cns.14.27.
128. Labrakakis C, Patt S, Hartmann J, Kettenmann H. Functional GABA(A) receptors on human glioma cells. *Eur J Neurosci.* 1998;10(1):231-8. Doi: 10.1046/j.1460-9568.1998.00036.x.

129. Blanchart A, Fernando R, Häring M, Assaife-Lopes N, Romanov RA, Andäng M, et al. Endogenous GAB. *Oncogene*. 2017;36(6):777-86. Doi: 10.1038/onc.2016.245.

130. Babateen O, Jin Z, Bhandage A, Korol SV, Westermark B, Forsberg Nilsson K, et al. Etomidate, propofol and diazepam potentiate GABA-evoked GABAA currents in a cell line derived from human glioblastoma. *Eur J Pharmacol*. 2015;748:101-7. Doi: 10.1016/j.ejphar.2014.12.001.

131. Smits A, Jin Z, Elsir T, Pedder H, Nistér M, Alafuzoff I, et al. GABA-A channel subunit expression in human glioma correlates with tumor histology and clinical outcome. *PLoS One*. 2012;7(5):e37041. Doi: 10.1371/journal.pone.0037041.

132. Sengupta S, Weeraratne SD, Sun H, Phallen J, Rallapalli SK, Teider N, et al. $\alpha 5$ -GABAA receptors negatively regulate MYC-amplified medulloblastoma growth. *Acta Neuropathol*. 2014;127(4):593-603. Doi: 10.1007/s00401-013-1205-7.