

IZABELA ŁACZMAŃSKA, JUSTYNA GIL, MARIA M. SĄSIĄDEK

## Współczesne poglądy na genetyczną etiologię glejaków mózgu

### Current Concepts of Genetic Aspects of Human Brain Gliomas

Zakład Genetyki, Katedra Genetyki AM we Wrocławiu

#### Streszczenie

Glejaków należą do grupy najczęściej występujących nowotworów u ludzi, rocznie rozpoznaje się 5–7 nowych przypadków na 100 000 osób. Mimo znacznego postępu w metodach diagnozowania i leczenia, liczba zgonów z powodu glejaków w krajach zachodnich nie zmniejsza się. Genetyczna etiologia glejaków jest wciąż słabo poznana, mimo coraz nowszych informacji dotyczących molekularnych mechanizmów ich powstawania i rozwoju. Glejaki o niskim stopniu złośliwości charakteryzują się prawidłowymi karyotypami lub karyotypami, w których występują pojedyncze aberracje liczbowe chromosomów. Glejaki o wysokim stopniu złośliwości zwykle cechują się karyotypami złożonymi. Do najczęściej obserwowanych zmian należą: polisomia chromosomu 7, delecja 10q oraz aberracje strukturalne 1q i 19q (najczęściej delecje). Obserwowane są także aberracje następujących chromosomów: 9, 10, 12, 13, 17, 20, 22. Analiza molekularna wykazała udział licznych genów w procesie powstawania i rozwoju glejaków. Należą do nich m.in. geny cyklu komórkowego z rodzin: CYP/KIP (np. *p27*, *p21* i *p57*) i INK4 (np. *p15*, *p16*, *p18* i *p19*), również geny *p53* i *Rb* oraz geny kodujące czynniki wzrostu i ich receptory (PDGF, VEGF, EGFR). Obecnie uważa się, że kluczową rolę w rozwoju i progresji glejaków mózgu odgrywa gen supresorowy *PTEN/MMAC1* zlokalizowany w 10q23-q26. Nie znaleziono dotychczas istotnych korelacji między zmianami genetycznymi a przebiegiem klinicznym choroby. W związku z tym są prowadzone intensywne badania mające na celu znalezienie markerów genetycznych, które mogłyby zostać wykorzystane przy ustalaniu rokowania lub terapii w guzach mózgu (Adv Clin Exp Med 2005, 14, 3, 559–565).

**Słowa kluczowe:** glejaki, aberracje chromosomowe, mutacje, PTEN.

#### Abstract

Gliomas belong to the group of the most common human cancers and are diagnosed in about 5–7 cases per 100 000 persons, annually. Despite the immense progress in the diagnostic and therapeutic procedures the incidence of and mortality from gliomas has still not been decreasing in the western countries. The genetic etiology of gliomas remains poorly understood, even in view of an increasing body of information concerning the molecular and cellular mechanisms of tumor development and progression. Low-grade gliomas are characterized by the normal karyotypes or karyotypes showing single numerical aberrations but high-grade gliomas are characterized by complex karyotypes. The most frequently observed chromosomal aberrations are as follow: polysomy 7, 10q deletion, structural aberrations (usually deletions) of 1q and 19q as well as a variety of aberrations involving chromosomes 10, 12, 13, 20, 22. Furthermore, non-specific and unique aberrations are also observed in high-grade gliomas. Molecular analysis revealed a variety of genes involved in the development and progression of gliomas. Among others, cell cycle genes such as CYP/KIP family genes (eg. *p27*, *p21* and *p57*), INK4 (eg. *p15*, *p16*, *p18* and *p19*), *p53* and *Rb* genes but also EGFR, VEGF and PDGF genes may play an important role in gliomas etiology. Special attention was focused on the suppressor genes *PTEN/MMAC1* and *ING4* which are now suspected to play a critical role in glioma development and progression. However, no correlation between genetic alterations and clinical course of disease has been found and the molecular mechanism and markers which may be connected with the glioma initiation and progression are intensively examined (Adv Clin Exp Med 2005, 14, 3, 559–565).

**Key words:** gliomas, chromosome aberrations, mutations, PTEN.

Glejaków należą do najczęściej występujących pierwotnych nowotworów mózgu, rocznie rozpoznaje się je u około 5–7 osób na 100 000. Histopa-

tologicznie glejaki dzieli się na: gwiaździaki (*astrocytoma*), skąpodrzewiaki (*oligodendroglioma*), wyściółczaki (*ependynoma*) oraz glejaki wie-

lopostaciowe (*glioblastoma multiforme*) i glejaki mieszane (*mixed gliomas*). Glejaki klasyfikuje się wg WHO, w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego, jako guzy łagodne (I, II stopień) oraz złośliwe (III, IV stopień) [1].

W etiologii glejaków, podobnie jak wszystkich nowotworów, zasadniczą rolę odgrywają zmiany genetyczne [1].

## Genetyczne podstawy procesu transformacji nowotworowej

Proces transformacji nowotworowej jest procesem wieloetapowym, u podstaw którego leżą zmiany genetyczne: chromosomowe (aberracje strukturalne i/lub liczbowe) oraz molekularne (mutacje, delecje, amplifikacje lub zaburzenia ekspresji genów uwarunkowane mechanizmami epigenetycznymi) [1, 2]. Zmiany genetyczne w nowotworach dzieli się na zmiany pierwotne oraz zmiany wtórne [2, 3].

Pierwotne aberracje chromosomowe to aberracje swoiste dla danego typu nowotworu, zwykle zrównoważone, których obecność w komórkach ma wartość diagnostyczną [3]. Zmiany wtórne są nieswoiste, zwykle niezrównoważone, pojawiają się podczas rozwoju choroby i są wyrazem niestabilności genetycznej komórki [4].

Na poziomie molekularnym kluczowe znaczenie dla transformacji nowotworowej mają zaburzenia, takie jak: 1) aktywacja protoonkogenów, do której najczęściej dochodzi na skutek mutacji punktowej, amplifikacji lub translokacji chromosomowej w obrębie jednego lub obu alleli, 2) inaktywacja genów supresorów (strażnicy genomu – *gatekeepers*) i 3) inaktywacja genów mutatorowych (opiekunowie genomu – *caretakers*). Dla utraty funkcji genów supresorowych i mutatorowych jest konieczna inaktywacja obu alleli, do której dochodzi np. na drodze delecji lub mutacji punktowej, zmiany wzoru metylacji promotora [1, 2, 4].

## Aberracje chromosomowe oraz zmiany molekularne w glejakach mózgu

Do najczęściej obserwowanych aberracji chromosomowych w glejakach należą: polisomia chromosomu 7 (występuje w 50–80% wszystkich glejaków), utrata całego chromosomu 10 lub jego fragmentu, najczęściej ramienia długiego: q, (obecna w 30–60% wszystkich glejaków, a w gleja-

kach IV stopnia nawet w 90%) [5], aberracje chromosomów: 1, najczęściej ramienia krótkiego: 1p (obserwowane w 65–80% skąpodrzewiaków), 9 (50–75% wyściółczaków), 13 i 17 (30–50% wszystkich glejaków) [6] oraz 19q (57% skąpodrzewiaków) [7, 8].

W niektórych postaciach glejaków mózgu obserwuje się nieprzypadkowe, jednocześnie występowanie dwóch różnych aberracji strukturalnych chromosomów. W gwiazdziakach na przykład często zauważa się jednocześnie delecję fragmentu 9p oraz amplifikację 20q. Dla skąpodrzewiaków jest charakterystyczne współwystępowanie utraty 1p oraz 19q, a dla wyściółczaków amplifikacji 1q i utraty 22q. W innych postaciach glejaków stwierdzono występowanie swoistych mikroaberracji. Przykładem może być amplifikacja fragmentu chromosomu 12q. Amplifikacja w obszarze 12q15–24 jest charakterystyczna dla pierwotnych wyściółczaków, podczas gdy amplifikacja w obrębie regionu 12q13–15 jest swoista dla gwiazdziaków [9]. Obserwuje się także występowanie wielu innych, nieswoistych aberracji strukturalnych i/lub liczbowych chromosomów, które nie są charakterystyczne dla danego typu glejaka, ale świadczą o niestabilności chromosomowej guza [2, 9].

W glejakach stwierdza się występowanie bardzo dużej różnorodności aberracji chromosomowych. Dotyczy to nie tylko różnych typów histopatologicznych glejaków, lecz również guzów o tym samym obrazie histopatologicznym, ale różnym stopniu zaawansowania klinicznego nowotworu, a także poszczególnych komórek danego, pojedynczego guza. Może to sugerować istnienie niestabilności chromosomowej, może też jednak oznaczać, że nie został dotychczas znaleziony właściwy sposób klasyfikacji guzów z uwzględnieniem ich charakterystyki cytogenetycznej [10].

Niżej omówiono aberracje poszczególnych chromosomów najczęściej obserwowane w glejakach.

## Chromosom 1 i chromosom 19

Najczęstszymi aberracjami chromosomowymi, obserwowanymi w komórkach skąpodrzewiaków, są: delecja fragmentu lub całego ramienia krótkiego chromosomu 1 (65–80% przypadków) oraz delecja ramienia długiego chromosomu 19 (57% przypadków). W 57% skąpodrzewiaków stwierdza się utratę obu tych fragmentów [9, 11]. Współwystępowanie delecji 1p i 19q jest pozytywnie skorelowane z czasem przeżycia pacjentów oraz lepszą reakcją na chemioterapię niezależnie od stopnia zaawansowania nowotworu [11]. Według Pohla et al. ta korelacja jest szczególnie wyraźna w przypadkach zaawansowanych glejaków [12].

Delecja fragmentu lub całego ramienia długiego chromosomu 1 jest obserwowana w około 17% wyściółczaków [9].

Szczegółowe badania molekularne obszarów krytycznych w ramieniu krótkim chromosomu 1 pozwoliły na postawienie tezy, że są w nim zlokalizowane geny supresorowe, krytyczne dla rozwoju glejaków mózgu. Jednym z potencjalnych genów supresorowych jest *CDKN2C* (*p18, INK4C; Cyclin-dependent kinase inhibitor 2C*) zlokalizowany w obszarze 1p32 i kodujący białko p18<sup>INK4C</sup>, które uczestniczy w hamowaniu cyklu komórkowego przez oddziaływanie z kinazami CDK6 i CDK4 [12, 13]. Hipermetylację promotora tego genu, prowadzącą do obniżenia lub zahamowania transkrypcji genu, stwierdzono w 45% przypadków glejaków o niskim stopniu złośliwości [14]. W tym samym obszarze (1p32) zlokalizowano też gen *hRAD54* (*RAD54L*), który koduje białko uczestniczące w naprawie DNA. Utrata aktywności tego genu prowadzi do upośledzenia procesu naprawy uszkodzeń DNA [15].

Wykazano, że częstość występowania LOH w 19q jest pozytywnie skorelowana z progresją glejaków [8, 16–18]. Poszukiwanie najmniejszego obszaru mikrodelecji (MCR – *Minimal Critical Region*) doprowadziło do wytypowania fragmentu o długości 150 kbp zlokalizowanego w 19q13.3 [8, 16]. Na podstawie analizy korelacji między przebiegiem klinicznym choroby nowotworowej a występowaniem delecji 19q13.3 postawiono hipotezę, że we fragmencie ulegającym delecji jest zlokalizowany gen istotny dla progresji, a nie inicjacji procesu transformacji nowotworowej glejaków mózgu [18, 26].

## Chromosom 7

Aberracje chromosomu 7, liczbowe i strukturalne, należą do najczęściej obserwowanych aberracji w glejakach [9, 19]. Polisomia lub naddatki fragmentów tego chromosomu zostały uznane za markery prognostyczne dla progresji glejaków [9]. Krytyczną zmianą dla rozwoju pierwotnych glejaków jest amplifikacja obszaru 7p12, w którym jest zlokalizowany gen *EGFR* (*Epidermal Growth Factor Receptor*; receptor epidermalnego czynnika wzrostu). Amplifikacja i nadekspresja *EGFR* są charakterystyczne dla pierwotnych glejaków [20] i skorelowane z szybką progresją glejaków [9].

Często obserwuje się też amplifikację obszaru 7q22-q31, w którym są zlokalizowane geny *MET* (kodujący receptor kinazy tyrozynowej; c-Met) i *CDK6* (*cyclin dependent kinase-6*, kodujący białko uczestniczące w kontroli cyklu komórkowego w fazie G1/S) [9, 21].

## Chromosom 9

LOH na chromosomie 9 lub/i delecja obszaru 9p21 są często obserwowane w skąpodrzewiakach (42%) [22] i glejakach wielopostaciowych (30%) [23].

Wykazano, że utrata funkcji genu *CDKN2A* (*cyclin dependent kinase inhibitor 2A, p16/ARF/MTS1*) zlokalizowanego w obszarze 9p21 jest pozytywnie skorelowana z progresją glejaków [22, 23]. Białko p16 odpowiada za kontrolę cyklu komórkowego w czasie przejścia z fazy G1 do fazy S. Jego inaktywacja powoduje utratę kontroli cyklu, co prowadzi do przyspieszenia proliferacji komórek [23]. Badania nad mechanizmami prowadzącymi do utraty funkcji *CDKN2A* wykazały, że w glejakach często obserwuje się LOH w obszarze 9p21-23 [23], rzadko natomiast zmiany metylacji promotora [23, 24]. Uważa się, że najczęstszym mechanizmem prowadzącym do utraty ekspresji tego genu jest delecja. Delecja *p16* jest często obserwowana w glejakach IV stopnia, a rzadko w wyściółczakach i rdzeniakach płodowych [23]. Transfekcja prawidłowego *p16* do komórek glejaka (charakteryzujących się utratą jego funkcji) hamuje wzrost tych komórek. Tego efektu nie obserwuje się w przypadku transfekcji do komórek z prawidłowym genem *p16* [23].

## Chromosom 10

Delecja regionu 10q23-10q26 jest charakterystyczna dla glejaków, szczególnie o wysokim stopniu złośliwości. W około 70% glejaków obserwuje się LOH tylko w obszarze 10q23. Szczegółowe badania tego obszaru doprowadziły do zlokalizowania w nim genów *PTEN* i *DMBT1*, które obecnie są uważane za krytyczne dla glejaków.

Delecje lub mutacje genu *PTEN/MMAC1* (*phosphatase and tensin homolog detected on chromosome 10/mutated in multiple advanced cancers-1*), szczególnie w egzonach 5–8, są obserwowane w wielu różnych typach nowotworów zarówno sporadycznych, jak i dziedzicznych [6, 25]. Dziedziczne mutacje *PTEN* prowadzą do wystąpienia takich zespołów nowotworów dziedzicznych, jak zespół Cowdena lub Bannayan-Zonana [26]. Nieprawidłowa ekspresja *PTEN* hamuje wzrost linii komórkowych glejaków oraz migrację fibroblastów, prawdopodobnie poprzez oddziaływanie z FAK (*focal adhesion kinase*). Badania immunohistochemiczne pozwoliły na lokalizację białka w cytoplazmie, ale precyzyjna śródkomórkowa lokalizacja białka *PTEN* nie jest znana [26]. *PTEN* zawiera konserwatywną domenę charakterystyczną dla fosfatazy tyrozynowej o podwójnej swoistości: może działać jako defosforylaza reszt tyrozynowych oraz seryno-

wych/treoninowych. Większość znanych mutacji *PTEN* stwierdzono w egzonie 5, kodującym właśnie tę domenę. Uważa się, że substratami produktu *PTEN* nie są białka, lecz PIP-3 (fosfatydyloinozitol(3,4,5)-trifosforan). Białko *PTEN*, *in vitro* i *in vivo*, tnie specyficznie wiązanie przy fosforanie D3 PIP-3, który jest cząsteczką sygnałną II rzędu, produkowaną przez enzym PI3-kinazę [25, 27]. Rola *PTEN* polega na utrzymywaniu niskiego poziomu PIP-3. Poziom ten wzrasta po stymulacji komórki czynnikami wzrostu przez aktywację PIP-3 kinazy. Do nagromadzonego przy wewnętrznej błonie komórkowej PIP-3 mogą się przyłączać białka posiadające domeny PH (*Pleckstrin Homology*), między innymi kinaza Akt, która w ten sposób ulega aktywacji. Kinaza ta hamuje apoptozę i stymuluje proliferację komórkową [25]. Mutacje *PTEN* najczęściej upośledzają funkcję defosforylacyjną białka *PTEN*, co prowadzi do utrzymania wysokiego poziomu PIP-3 i stałej aktywacji kinazy Akt [28]. *PTEN* może hamować także adhezję i migrację komórek przez defosforylację FAK [25, 28]. Egzony 7–8 genu *PTEN* kodują domenę homologiczną do tensyny, dzięki której teoretycznie może uczestniczyć w ruchu cytoszkieletu oraz mechanizmie hamowania kontaktowego [6].

Drugim z genów krytycznych dla rozwoju glejaków w obszarze 10q23-26 jest *DMBT1* (*Deleted in Malignant Brain Tumor 1 gene*; 10q25.3). Białko *DMBT1* jest antyonkogenem zlokalizowanym na zewnętrznej błonie komórkowej. Uważa się, że uczestniczy w interakcjach komórek nowotworowych i systemu immunologicznego. Białko *DMBT1* posiada 13 domen receptorowych bogatych w reszty cysteinowe. W obrębie tych domen dochodzi do najczęstszych mutacji. Utrata genu *DMBT1* oraz jego mutacje są charakterystyczne dla różnych nowotworów, między innymi nowotworów piersi, płuc i przewodu pokarmowego oraz glejaków wielopostaciowych i gwiaździków [29].

## Chromosom 12

Zmiany w obrębie chromosomu 12, obserwowane w glejakach, najczęściej dotyczą obszarów 12q15-24 (pierwotne wyściółczaki) oraz 12q13-15 (gwiżdżiki). Często obserwuje się amplifikację obszaru 12q14.3-q15, gdzie jest zlokalizowany gen *MDM2* (*Mouse Double Minute-2 human homolog*) odpowiedzialny za wiązanie białka p53 i obniżanie jego poziomu [9, 30]. Amplifikacja *MDM2* często prowadzi do utraty funkcji białka p53 [9]. Mutacje *MDM2* obserwuje się w około 65% przypadków wtórnych glejaków [9].

## Chromosom 17

Jedną z najczęściej stwierdzanych zmian zarówno w glejakach mózgu, jak i innych typach nowotworów jest LOH w 17p13, gdzie jest zlokalizowany gen *p53*. Mutacje *p53*, prowadzące do zmiany ekspresji białka, są najczęściej obserwowanymi zmianami w procesie transformacji nowotworowej różnych nowotworów i występują w około 25% glejaków [20, 31]. Gen *p53* jest genem supresorowym kodującym czynnik transkrypcyjny (p53) biorący udział w kontroli cyklu komórkowego, integralności genomu oraz apoptozie. Mutacje w *p53* najczęściej występują w wysoce konserwatywnych egzonach 5, 7 i 8, zwykle w sekwencji kodującej domenę białka odpowiedzialną za wiązanie się i oddziaływanie z DNA [32].

Akumulację białka p53 obserwuje się także w jądrach komórkowych bez stwierdzenia mutacji w genie *p53* [20]. Wynika to z faktu, że czynnikiem stabilizującym p53 jest białko MDM2, które wiążąc się do p53 obniża jego rzeczywiste stężenie w komórce i powoduje utratę antyonkogennej funkcji [32]. Stabilność p53 zależy więc między innymi od obecności prawidłowej formy MDM2. Mutacje *MDM2* (najczęściej amplifikacja) lub alternatywne składanie (splicing) mogą prowadzić do powstania takiej formy tego białka, która nieodwracalnie wiąże p53 [19, 20, 32, 33].

## Inne geny ważne w etiologii glejaków mózgu

Opublikowane ostatnio wyniki badań dotyczące ekspresji ING 4 mogą stanowić podstawę do uznania tego białka za marker rokowniczy w nowotworach mózgu [35]. Białko ING 4 w zdrowych komórkach mózgowych pełni funkcję anty-angiogenną, indukuje apoptozę i hamuje wzrost komórki. W komórkach nowotworowych zaobserwowano znaczne obniżenie poziomu ekspresji tego białka w porównaniu z tkanką zdrową. Wykazano ponadto, że istnieje korelacja między ekspresją tego białka a stopniem klinicznego zaawansowania oraz stopniem zróżnicowania histopatologicznego nowotworu. W glejakach o niskim stopniu zróżnicowania poziom ekspresji ING 4 był dwa, trzy razy niższy, a w glejakach wielopostaciowych sześć razy niższy [35] w porównaniu ze zdrową tkanką. Garkavtsev et al. wykazali, że ING 4 wchodzi w interakcję z p65 (RelA) podjednostką czynnika jądrowego NFκB i w ten sposób reguluje proces unaczynienia nowotworów mózgu przez wzrost ekspresji genów wrażliwych na NFκB, m.in. *IL-8*, *IL-6*, *COX2*. Uważa się, że gen *ING 4* może pełnić funkcję genu supresorowego. Jego in-



**Tabela 1.** Zestawienie najczęściej obserwowanych aberracji chromosomowych w glejakach oraz niektóre geny zlokalizowane w tych regionach**Table 1.** The chromosomal aberrations most frequently observed in gliomas and important genes localised in critical regions

Chromosom (Chromosome)	Region (Region)	Aberracja chromosomowa (Chromosomal aberration)	Zlokalizowane geny (Critical genes)	Typ glejaka (Glioma)	Piśmiennictwo (References)
1	1p 1q	delecja delecja	? ?	skąpodrzewiaki wyściółczaki	[11-12] [9]
7	– 7p12 7q22–q31	aberracje liczbowe amplifikacja amplifikacja	<i>EGFR</i> <i>MET</i> , <i>CDK6</i>	wszystkie typy pierwotne glejaki	[9] [20] [9], [21]
9	9p23-21	delecja	<i>CDKN2A (p16)</i>	glejaki IV stopnia	[23]
10	10q23 10q25-26	delecja delecja	<i>PTEN</i> <i>DMBT1</i>	wszystkie typy wszystkie typy	[6], [25] [6], [25]
12	12q15-24  12q13-15 12q14.3-15	amplifikacja  amplifikacja amplifikacja	?  ? <i>MDM2</i>	pierwotne wyściółczaki gwiazdki wtórne glejaki	[9]  [9] [9]
17	17p13	delecja	<i>p53</i>	wtórne glejaki	[20], [31]
19	19q13.3	delecja	? <i>supresor</i>	wtórne glejaki	[8], [17], [18], [34]

aktywacja przyczynia się do niekontrolowanego wzrostu guza i angiogenezy. Wydaje się zatem, że poziom ekspresji białka ING 4 pełni istotną rolę w patogenezie guzów mózgu [35].

W ostatnich latach przełomem w badaniach nad genetyczną etiologią nowotworów (w tym glejaków mózgu) było wprowadzenie nowej techniki tzw. mikromacierzy (microarrays). Technika ta, umożliwiając jednoczesną ocenę ekspresji wielu tysięcy genów (do 120 000), pozwoliła na wyodrębnienie całych grup genów, których ekspresja ulega zmianom w ciągu badanego procesu biologicznego (np. w glejakach mózgu) w tkance nowotworowej w porównaniu do tkanki zdrowej [11, 36].

Podjęto próby klasyfikacji glejaków na podstawie badań za pomocą mikromacierzy. Najbardziej zbieżny i charakterystyczny profil ekspresji obserwuje się dla gwiazdki I i II stopnia. Ustalenie wspólnego profilu dla pierwotnych glejaków jest trudne, gdyż charakteryzują się licznymi i różnorodnymi zmianami na poziomie ekspresji genów.

W badaniach z użyciem mikromacierzy w grupie 53 glejaków mózgu stwierdzono nadekspresję genów kodujących czynniki stymulujące proces angiogenezy, takie jak: VEGF (*vascular endothelial growth factor*), PTN (plejotropina), FLT1 (*fms related tyrosine kinase*), angiopoietyna, PDGF (*platelet-derived growth factor*), FGF2 (*fibroblast growth factor-2*), TGF- $\beta$  (*transforming growth factors beta*) [36]. Obserwowano również nadekspresję genów strukturalnych, takich jak: CD44, CD18, vimentyny, syntropiny, koneksyny 43, łańcucha ciężkiego  $\beta$ -miozyny, glikoforyny C; immu-

nologicznych, np. HLA-E, łańcucha ciężkiego IgA; niektórych genów kodujących czynniki transkrypcyjne, cząsteczki sygnałowe, a także innych [11]. Postawiono hipotezę, że wyniki tych badań mogą być lepiej skorelowane z czasem przeżycia pacjenta niż z typem nowotworu [37].

Badania skąpodrzewiaków doprowadziły do odkrycia, że znaczącym klinicznie i diagnostycznie markerem może być topoizomeraza II  $\alpha$ . Wykazano korelację między ekspresją topoizomerazy II a przeżyciem przez pacjentów 5 lat [38]. Badania gwiazdki wykazały wzrost ekspresji genu *IGFBP2* (*insulin-like growth factor binding protein 2*) w komórkach guzów. Stwierdzono korelację między nadekspresją tego białka a stopniem złośliwości nowotworu oraz krótkim czasem przeżycia pacjenta [39].

Z analizy opublikowanych prac wynika jednak, że im więcej badanych przypadków glejaków mózgu, tym trudniej jest określić ich wspólny profil ekspresji genów lub ich poszczególnych typów. Niewątpliwie wynika to częściowo z niezwykle dużej liczby informacji, które można uzyskać za pomocą techniki mikromacierzy, a to utrudnia analizę i stwarza ryzyko błędnej interpretacji. Nie ma jednak wątpliwości, że jest to metoda, która umożliwia wypełnienie luki w wiedzy na temat sieci zaburzeń molekularnych w procesie transformacji nowotworowej i ich powiązań z charakterystyką histopatologiczną guza, a także ze stanem klinicznym pacjenta, wyborem terapii i ustaleniem rokowania [11, 36, 37].

Guzy glejowe są obecnie przedmiotem wielu

badań, które mają na celu poznanie mechanizmów powstawania i progresji nowotworów oraz określenie swoistego profilu zmian molekularnych. Wydaje się, że poznanie charakterystycznych zmian genetycznych i opracowanie klasyfikacji

genetycznej glejaków nie tylko umożliwi precyzyjną klasyfikację, ale pozwoli na dokładną biologiczną charakterystykę guza, a w związku z tym na precyzyjne określenie rokowania i właściwy wybór sposobu leczenia.

## Piśmiennictwo

- [1] **Louis DN, Cavenee WK:** Molecular biology of central nervous system tumors. Molecular Guide – MGH Brain Tumor Center, <http://brain.mgh.harvard.edu/MolecularGenetics.htm>
- [2] **Mitelman F, Mertens F, Johansson B:** Recurrent chromosome aberration in cancer. NCI Cancer genome anatomy project. 2001, <http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/RecurrentAberration>
- [3] **Rabbitts T:** Chromosomal translocations in human cancer. *Nature* 1994, 372, 143–149.
- [4] **Nojima H:** Cell cycle checkpoints, chromosome stability and the progression of cancer. *Hum Cell* 1997, 10 (4), 221–230.
- [5] **Wessels PH, Twijnstra A, Kubat B, Ummelen M, Claessen SMH, Sciort R, Merlo A, Ramaekers FCS, Speel EJM, Hopman AHN:** 10q25.3 (DMBT1) copy number changes in astrocytoma grades II and IV. *Genes Chromosomes Cancer* 2004, 39, 22–28.
- [6] **Rustia A, Wierzbiński V, Marrocco L:** Is exon 5 of the PTEN/MMAC1 gene a prognostic marker in anaplastic glioma? *Neurosurg Rev* 2001, 24, 97–102.
- [7] **Tong CYK, Ng HK, Pang JCS, Hui ABY, Ko HCW, Lee JCK:** Molecular genetic analysis of non-astrocytic gliomas. *Histopathology* 1999, 34, 331–341.
- [8] **Smith JS, Tachibana I, Lee HK, Qian J, Pohl U, Mohrenweiser HW, Borell TJ, Hosek SM, Sonderberg CL, Deimling A, Perry A, Scheithauser BW, Louis DN, Jenkins RB:** Mapping of the chromosome 19 q-arm glioma tumor suppressor gene using fluorescence in situ hybridization and novel microsatellite markers. *Genes Chromosomes Cancer* 2000, 29, 16–25.
- [9] **Koschny R, Koschny T, Froster UG, Krupp W, Zuber MA:** Comparative genomic hybridization in glioma: a meta-analysis of 509 cases. *Cancer Genet Cytogenet* 2002, 135, 147–159.
- [10] **Debiec-Rychter M, Alwasiak J, Liberski PP:** Accumulation of chromosomal changes in human glioma progression. A cytogenetic study of 50 cases. *Cancer Genet Cytogenet* 1995, 85 (1), 61–70.
- [11] **Watson MA, Perry A, Budhara V, Hicks C, Shannon WD, Rich KM:** Gene expression profiling with oligonucleotide microarrays distinguishes world health organization grade of oligodendrogliomas. *Cancer Res* 2001, 61, 1825–1829.
- [12] **Pohl U, Cairncross G, Louis DN:** Homozygous deletions of the CDKN/p18 gene on the short arm of chromosome 1 in anaplastic oligodendrogliomas. *Brain Pathol* 1999, 9, 639–643.
- [13] **Husemann K, Wolter M, Buschges R, Bostrom J, Sabel M, Reifenberger G:** Identification of two distinct deleted regions on the short arm of chromosome 1 and rare mutation of the CDKN2C gene from 1p32 in oligodendroglial tumors. *J Neuropathol Exp Neurol* 1999, 58 (10), 1041–1050. Erratum in: *J Neuropathol Exp Neurol* 2000, 59 (1), 88.
- [14] **Gonzalez-Gomez P, Bello MJ, Arjona D, Lomas J, Alonso ME, de Campos JM, Vaquero J, Isla A, Gutierrez M, Rey JA:** Promoter hypermethylation of multiple genes in astrocytic gliomas. *Int J Oncol* 2003, 22, 601–608.
- [15] **Lomas J, Aminowo C, Gonzalez-Gomez P, Alonso ME, Arjona D, Lopez-Marin I, Campos JM, Isla A, Vaquero J, Gutierrez M, Sarasa JL, Bello J, Rey JA:** Methylation status of TP73 in meningiomas. *Cancer Genet Cytogenet* 2004, 148, 148–151.
- [16] **Fujisawa H, Reis R, Nakamura M, Colella S, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H:** Loss of heterozygosity on chromosome 10 is more extensive in primary (*de novo*) than in secondary glioblastomas. *Lab Invest* 2000, 80, 65–72.
- [17] **Maintz D, Fiedler K, Koopmann J, Rollbrocker B, Nechev S, Lenartz D, Stangl AP, Louis DN, Schramm J, Wiestler OD, von Deimling A:** Molecular genetic evidence for subtypes of oligoastrocytomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 1997, 56 (10), 1098–1104.
- [18] **Ritland SR, Ganju V, Jenkins RB:** Region-specific loss of heterozygosity on chromosome 19 is related to the morphologic type of human glioma. *Genes Chromosomes Cancer* 1995, 12 (4), 277–282.
- [19] **Hui A, Lo KW, Yin XL, Poon WS, Ng HK:** Detection of multiple gene amplifications in glioblastoma multiforme using array-based comparative genomic hybridization. *Lab Invest* 2001, 81 (5), 717–723.
- [20] **Walker C, Joyce KA, Thompson-Hehir J:** Characterisation of molecular alterations in microdissected archival gliomas. *Acta Neuropathol* 2001, 101, 321–333.
- [21] **Moon YW, Weil RJ, Park WS, Pak E, Pham T, Karkera JD, Kim HK, Vortmeyer AO, Fuller BG, Zhuang Z:** Missense mutation of the MET gene detected in human gliomas. *Mod Pathol* 2000, 13 (9), 973–977.
- [22] **Bigner SH, Matthews MR, Rasheed BK, Wiltshire RN, Friedman HS, Friedman AH, Stenzel TT, Dawes DM, McLendon RE, Bigner DD:** Molecular genetic aspects of oligodendrogliomas including analysis by comparative genomic hybridization. *Am J Pathol* 1999, 155 (2), 375–386.
- [23] **Kamiryo T, Tada K, Shiraishi S, Shinjima N, Nakamura H, Kochi M, Kuratsu JI, Saya H, Ushio Y:** Analysis of homozygous deletion of the P16 gene and correlation with survival in patients with glioblastoma multiforme. *J Neurosurg* 2002, 96, 815–822.

- [24] **Schmidt EE, Ichimura K, Messerle KR, Goike HM, Collins VP:** Infrequent methylation of CDKN2A (MTS1/p16) and rare mutation of both CDKN2A and CDKN2B(MTS2/p15) in primary astrocytic tumours. *Br J Cancer* 1997, 75 (1), 2–8.
- [25] **Cristofano AD, Pandolfi PP:** The multiple roles of PTEN in tumor suppression. *Cell* 2000, 100, 387–390.
- [26] **Wu X, Senechal K, Neshat MS:** The PTEN/MMAC1 tumor suppressor phosphatase functions as a negative regulator of the phosphoinositide 3-kinase/AKT pathway. *Proc Natl Acad Sci* 1998, 95, 15587–15591.
- [27] **Maehama T, Dixon JE:** The tumor suppressor, PTEN/MMAC1, dephosphorylates the lipid second messenger, phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate. *J Biol Chem* 1998, 273 (22), 13375–133758.
- [28] **Papp T, Schipper H, Pemsel H:** Mutational analysis of the PTEN/MMAC1 tumor suppressor gene in primary human malignant mesotheliomas. *Oncol Rep* 2001, 8, 1375–1379.
- [29] <http://www.dsi.univ-paris5.fr/genatlas/fiche.php?symbol=DMBT1>
- [30] <http://www.cancerindex.org/geneweb/MDM2.htm#summary>
- [31] **Phatak P, Selvi K, Divya T, Hegde AS, Hedge S, Somasundaram K:** Alterations in tumor suppressor gene p53 in human gliomas from Indian patients. *J Biosci* 2002, 27 (7), 673–678.
- [32] **Limon J, Siedlecki JA:** Choroby nowotworowe. [W:] *Biologia molekularna w medycynie*. Red. Jerzy Bał, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2001, 248–295.
- [33] **Kraus JA, Felsberg J, Tonn JC, Reifenberger G, Pietsch T:** Molecular genetic analysis of the TP53, PTEN, CDKN2A, EGFR, CDK4 and MDM2 tumour-associated genes in supratentorial primitive neuroectodermal tumours and glioblastomas of childhood. *Neuropathol Exp Neurol* 2002, 28 (4), 325–333.
- [34] **Nakamura M, Yang F, Fujisawa H, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H:** Loss of heterozygosity on chromosome 19 in secondary glioblastomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 2000, 59 (6), 539–543.
- [35] **Garkavtsev I, Kozin SV, Chernova O, Xu L, Winkler F, Brown E, Barnett GH, Jain RK:** The candidate suppressor protein ING4 regulates brain tumor growth and angiogenesis. *Nature* 2004, 428, 328–332.
- [36] **Godard S, Getz G, Delorenzi M, Farmer P, Kobayashi H, Desbaillets I, Nozaki M, Diserens AC, Hamou MF, Dietrich PY, Regli L, Janzer RC, Bucher P, Stupp R, Tribollet N, Hegi ME:** Classification of human astrocytic gliomas on the basis of gene expression: a correlated group of genes with angiogenic activity emerges as a strong predictor of subtypes. *Cancer Res* 2003, 63, 6613–6625.
- [37] **Nutt CL, Manier, Betensky RA, Tamaro P, Cairncross JG, Ladd C, Pohl U, Hartmann C, McLaughlin ME, Batchelor TT, Black PM, Deimling A, Pomeroy SL, Golub TR, Louis DN:** Gene expression-based classification of malignant gliomas correlates better with survival than histological classification. *Cancer Res* 2003, 63, 1602–1607.
- [38] **Miettinen HE, Jarvinen TAH, Kellner U, Kauraniemi P, Parwaresch R, Rantala I, Kalimo H, Paljarv L, Isoila J, Haapasalo HK:** High topoisomerase IIa expression associates with high proliferation rate and poor prognosis in oligodendroglioma. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2000, 26, 504–512.
- [39] **Sallinen S, Sallinen PK, Haapasalo HK, Helin HJ, Helen PT, Schrami P, Kallioniemi O, Kononen J:** Identification of differentially expressed genes in human gliomas by DNA microarray and tissue chip techniques. *Cancer Res* 2000, 60, 6617–6622.

### Adres do korespondencji:

Maria M. Sasiadek  
Zakład Genetyki, Katedra Genetyki AM  
ul. Marcinkowskiego 1  
54-368 Wrocław  
e-mail: sasiadek@gen.am.wroc.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 9.09.2004 r.

Po recenzji: 26.01.2005 r.

Zaakceptowano do druku: 4.02.2005 r.

Received: 9.09.2004

Revised: 26.01.2005

Accepted: 4.02.2005