

Znaczenie badań genetycznych i radiologicznych w diagnostyce i doborze terapii glejaków mózgu u dorosłych

Gabriela M. Janus-Szymańska^{1, 2}, Łukasz Waszczuk³, Jagoda Jacków-Nowicka³

¹Katedra i Zakład Genetyki, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław

²Dolnośląskie Centrum Onkologii we Wrocławiu, Wrocław

³Zakład Radiologii Ogólnej, Zabiegowej i Neuroradiologii, Katedra Radiologii, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław

Do diagnostyki oraz różnicowania glejaków mózgu wykorzystuje się – poza wynikami badań histopatologicznych – badania obrazowe oraz molekularne, które pozwalają na zastosowanie personalizowanego postępowania klinicznego. Na podstawie badań obrazowych, przy znajomości stanu klinicznego pacjenta, podejmowana jest decyzja o jego obserwacji, bądź też natychmiastowej interwencji chirurgicznej. Natomiast znajomość molekularnych markerów predykcyjnych pozwala na optymalizację postępowania chemioterapeutycznego, czyli wprowadzenie terapii personalizowanej (z zastosowaniem takich leków jak temozolomid, bewacyzumab, wemurafenib, dabrafenib i trametynib).

Słowa kluczowe: glejaki mózgu, medycyna personalizowana, diagnostyka molekularna, diagnostyka obrazowa, MRI, perfuzja MR, spektroskopia MR, tensor dyfuzji MR, fMRI, temozolomid, bewacyzumab

Glejaki należą do najczęściej występujących guzów mózgu (stanowią około 60% wszystkich nowotworów tego obszaru), a ich przebieg kliniczny jest wysoce złośliwy (średni czas przeżycia pacjentów leczonych wynosi 14–15 miesięcy, a nieleczonych 2–4 miesiące). Każdego roku rozpoznaje się około 3–5 tych nowotworów na 100 000 mieszkańców, z nieznaczną przewagą mężczyzn. Glejaki rozwijają się u osób w każdym wieku, jednak szczyt zachorowań przypada na piątą i szóstą dekadę życia. Diagnostyka opiera się na obrazie klinicznym choroby, wynikach badań obrazowych i rozpoznaniu histopatologicznym [1].

Glejaki dzieli się według lokalizacji (nadnamiotowe oraz podnamiotowe), stopnia złośliwości (od bardziej łagodnych – stopień I, do najbardziej złośliwych – stopień IV) oraz ze względu na pochodzenie komórek glejowych [2]. Histopatologicznie guzy te są klasyfikowane w oparciu o cechy morfologiczne komórek, z których wywodzi się nowotwór.

Wraz z rozwojem technik badań molekularnych wprowadzona została klasyfikacja molekularna. Dzięki temu powstała zintegrowana histopatologiczno-molekularna klasyfikacja glejaków mózgu.

Klasyfikacja histopatologiczna glejaków mózgu

Histopatologicznie glejaki dzieli się ze względu na pochodzenie komórek glejowych. Wśród nich wyróżniamy (tab. I):

- nowotwory gleju gwiaździstego (gwiazdziaki – *astrocytoma*),
- nowotwory gleju wyściółkowego (wyściółczaki – *ependymoma*),
- nowotwory gleju skąpowypustkowego (skąpodrzewiaki – *oligodendroglioma*),
- nowotwory glejowe mieszane (powstają równocześnie z kilku różnych rodzajów komórek, jednak większość ma swój początek w astrocytach lub oligodendrocytach) [1, 3].

Jak cytować / How to cite:

Janus-Szymańska GM, Waszczuk Ł, Jacków-Nowicka J. *Significance of genetic and radiological examinations in diagnosis and therapy of brain glioma in adult patients. NOWOTWORY J Oncol* 2021; 71: 328–334.

Obecnie, zgodnie z klasyfikacją WHO z 2016 roku, w różnicowaniu glejaków, oprócz rozpoznania histopatologicznego (fenotypowego), bierze się pod uwagę badania molekularne (genotyp) tkanki guza. Celem jest zastosowanie terapii personalizowanej (indywidualnej dla danego pacjenta). W rzadkich przypadkach niezgodności genotyp guza jest czynnikiem dominującym nad jego fenotypem [4].

Klasyfikacja molekularna glejaków mózgu

Glejak cechują się nasiloną heterogennością genetyczną, którą obserwuje się zarówno w obrębie samego guza, jak i w guzach mózgu o tym samym rozpoznaniu histopatologicznym u różnych pacjentów. Wysoki stopień różnorodności molekularnej glejaków stał się podstawą do zakwestionowania klonalnej (z pojedynczej komórki) teorii rozwoju tych guzów na rzecz teorii o ich wielokomórkowej etiologii. Heterogenność molekularna utrudnia zarówno diagnostykę, jak i leczenie glejaków.

Zmiany molekularne w glejakach, podobnie jak we wszystkich nowotworach, mogą zachodzić na różnych poziomach organizacji i funkcjonowania genomu, czyli:

- mutacje mogą występować w genach o kluczowym znaczeniu dla transformacji nowotworowej glejaków,
- może być zmieniona liczba kopii fragmentów genomu (*copy number alterations* – CNA),
- może zostać zmieniona ekspresja poszczególnych genów (hipermetylacja promotorów).

Szczegółowe badania molekularne glejaków wykazały, że wśród guzów klasyfikowanych histopatologicznie do tej samej grupy występują odmienne molekularnie podgrupy. Ta odmienność molekularna jest przyczyną różnego przebiegu klinicznego i reakcji na leczenie pacjentów ze zdefiniowaną histologicznie jednakową postacią guza. Dlatego poznanie zmian genetycznych leżących u podstaw transformacji nowotworowej komórek pozwala na poszukiwanie leczenia celowanego.

Pierwszą systemową, molekularną klasyfikację glejaków wielopostaciowych mózgu (*glioblastoma multiforme* – GBM) przeprowadzono w 2008 r. (The Cancer Genome Atlas [TCGA] Research Network). Opierała się ona na analizie zmian geno-

movych. Podzielono GBM na cztery podtypy oraz określono dominujące zmiany genetyczne w każdym z tych podtypów:

- klasyczny – amplifikacja chromosomu 7, delecja chromosomu 10 oraz amplifikacja genu *EGFR* – obecne w prawie 100% tych guzów,
- mezenchymalny – delecja lub mutacja inaktywująca gen *NF1*,
- neuralny – mutacje w genach *NEFL*, *GABR1*, *SLC12A5*, *SYT1*,
- proneuralny – mutacje w genach *IDH1* i *PDGFRA*.

Poszczególne podtypy GBM wiążą się z rokowaniem i odpowiedzią na leczenie [5, 6]. Jak wykazała Verhak i wsp. kompleksowe leczenie (chemioterapia i radioterapia lub więcej niż 3 cykle chemioterapii), dawało pozytywne wyniki u pacjentów z klasycznym, mezenchymalnym i neuralnym glejakiem wielopostaciowym mózgu [7].

Wraz z rozwojem technik badań molekularnych pogłębiła się znajomość zmian genetycznych w komórkach guzów mózgu i w 2016 r. została opublikowana klasyfikacja WHO glejaków mózgu oparta na zintegrowanej ocenie: histopatologicznej i molekularnej [8, 9]. Zgodnie z tym podejściem, glejaki klasyfikowane histopatologicznie jako gwiaździaki, skąpodrzewiaki oraz gwiaździałoskąpodrzewiaki są dzielone – w zależności od występujących zmian genetycznych – na grupę guzów z mutacją *IDH* oraz:

- mutacją *ATRX* i *P53* (gwiaździaki rozlane z mutacją *IDH*),
- kodelecją 1p/19q (skąpodrzewiaki z mutacją *IDH* oraz kodelecją 1p/19q),
- bez mutacji *IDH* (rozlane gwiaździaki bez mutacji *IDH*, skąpodrzewiaki bez mutacji *IDH*),
- niezdefiniowane w innych grupach (*not otherwise specified* – NOS).

W klasyfikacji rozlanych glejaków mózgu kluczowe znaczenie ma obecność mutacji genów *IDH1/IDH2*. Odmienność zmian molekularnych, obserwowanych w omawianych typach glejaków wskazuje, że są to podgrupy odrębne molekularne.

Glejaki wielopostaciowe mózgu bez mutacji *IDH* to guzy klasyfikowane klinicznie jako pierwotne (*de novo*). Występują u prawie 90% pacjentów powyżej 55. r.ż. i mają bardziej agresywny przebieg kliniczny niż glejaki z mutacją *IDH*. Charakte-

Tabela I. Podział glejaków ze względu na rodzaj komórek, z których się wywodzą, oraz stopień ich złośliwości [1, 3]

Rodzaj komórek	Przykłady glejaków	Stopień złośliwości wg WHO
gwiaździaki	gwiaździak włosowatokomórkowy	I stopień
	gwiaździak rozlany	II stopień
	gwiaździak anaplastyczny	III stopień
	glejak wielopostaciowy	IV stopień
wyściółczaki	wyściółczak	I stopień
	podwyściółczak	I stopień
	wyściółczak	II stopień
	wyściółczak anaplastyczny	III stopień
skąpodrzewiaki	skąpodrzewiak	II stopień
	skąpodrzewiak anaplastyczny	III stopień
nowotwory glejowe mieszane	skąpodrzewiałogwiaździak	II/III stopień

ryzuje się też częstym (30–50% przypadków) występowaniem hipermetylacji promotora genu *MGMT*, co wiąże się z lepszą odpowiedzią na leczenie środkami alkilującymi, jak np. temozolomid.

Glejak wielopostaciowe mózgu z mutacją *IDH* to zwykle guzy pochodzące z rozlanych glejaków niskozróżnicowanych i najczęściej są rozpoznawane u młodszych pacjentów. Do grupy NOS zaliczane są guzy, w których nie można było zidentyfikować statusu mutacyjnego *IDH*. W takiej sytuacji, aby wykluczyć rzadkie mutacje *IDH*, wysoce wskazane jest sekwencjonowanie tych genów [8].

Guzy z mutacją genów *IDH* są dzielone, w zależności od występujących zmian molekularnych, na dwie podgrupy:

- z delecją ramienia krótkiego chromosomu 1 (1p)/ramienia długiego chromosomu 19 (19q) i mutacją promotora genu *TERT*,
- z mutacją genów *ATRX* i *P53*.

Te mutacje pozwalają na stwierdzenie, z jakiej grupy komórek gleju (komórek gwiaździstych czy komórek gleju skąpowypustkowego) wywodzi się zmiana: delecja 1p/19q jest cechą różnicującą dla komórek skąpodrzewia, niezależnie od obrazu histopatologicznego zmiany.

W GBM z mutacją *IDH*, wywodzących się z niskozróżnicowanych gwiaździaków (identyfikowane dzięki obecności mutacji *ATRX* i *TP53*) często występuje również hipermetylacja promotora *MGMT*. Wówczas daje to lepsze rokowania dla pacjentów leczonych środkami alkilującymi [10].

Diagnostyka radiologiczna glejaków

Metodą obrazową z wyboru w diagnostyce glejaków jest rezonans magnetyczny (*magnetic resonance imaging* – MRI) [11, 12]. Tomografia komputerowa (*computed tomography* – CT) może być pomocna w wykryciu zwapnień, które dość często występują w skąpodrzewiakach i wyściółczakach. Ponadto CT, jako metoda bardziej dostępna niż MRI, jest często stosowana jako wstępne badanie przy niejasnych objawach neurologicznych. Pozytonowa tomografia emisyjna (*positron emission tomography* – PET) połączona z CT (PET/CT) jest metodą uzupełniającą, która pozwala ocenić stopień złośliwości glejaków poprzez określenie stopnia wychwytu fluorodeoksyglukozy (FDG) lub innych radiometabolitów [13, 14]. Nadzieję na przyszłość budzi połączenie PET z MRI (PET/MRI), w którym czynnościowe zalety PET w określaniu stopnia złośliwości glejaków uzupełniają się z dokładną oceną morfologiczną badania MRI [15].

Jednak aktualnie rekomendowany podstawowy protokół MRI dla obrazowania guzów mózgu zawiera następujące sekwencje: 3D T1-zależną, T2/FLAIR, DWI, SWI, 3D T1-zależną po podaniu środka kontrastowego, wykonaną aparatem o natężeniu pola magnetycznego przynajmniej 1,5 tesla [16]. W codziennej praktyce klinicznej używa się cienkowarstwowej (1 mm) sekwencji 3D T1-zależnej po podaniu środka kontrastowego. Na jej podstawie sporządzany jest trójwymiarowy plan zabiegu neurochirurgicznego, tzw. neuronawigacja [17, 18].

Cele MRI w diagnostyce glejaków

Potwierdzenie obecności procesu rozrostowego

Glejak łatwo wykryć podczas badania MRI. W większości są hipointensywne w obrazach T1-zależnych oraz hiperintensywne w obrazach T2-zależnych i w sekwencji FLAIR. Zwykle są otoczone strefą palczastego obrzęku naczyniopochodnego i powodują efekt masy w postaci ucisku na układ komorowy, zewnątrzmożgowe przestrzenie płynowe i inne struktury wewnątrzczaszkowe. Po podaniu kontrastu złośliwe glejaki (HGG, WHO 3 i 4) ulegają regularnemu wzmocnieniu kontrastowemu, natomiast glejaki wysokozróżnicowane (LGG, WHO 1 i 2) zwykle wzmacniają się minimalnie albo nie wzmacniają się wcale [19, 20].

Różnicowanie z procesami nienowotworowymi, na przykład zmianami niedokrwiennymi

Niektóre procesy nienowotworowe mogą imitować glejaki. Na przykład zmiany niedokrwienne w okresie podostrym mogą mieć podobną charakterystykę sygnału i ulegać częściowemu wzmocnieniu kontrastowemu [21]. Różnicowanie opiera się na wywiadzie, dodatkowych sekwencjach MRI (restrykcja dyfuzji w sekwencji obrazowania dyfuzji w pierwszych 7–15 dniach od udaru niedokrwiennego; obniżenie perfuzji w sekwencji perfuzji MRI) oraz dynamice obrazu MRI w badaniach kontrolnych (ewolucja zawału niedokrwiennego). Również ropnie mózgu i inne procesy zapalne mogą imitować obraz glejaków, zwłaszcza wysokozróżnicowanych. Pomocne w rozpoznaniu są wywiad, badania mikrobiologiczne, a także sam obraz MRI [22, 23].

Różnicowanie glejaków z innymi procesami rozrostowymi np. chłoniakami, przerzutami

Obrazy MRI w nieglejakowych guzach wewnątrzczaszkowych mogą być zbliżone do obrazów glejaków, jednak szczegółowa ich analiza pozwala często na właściwe rozpoznanie. Na przykład chłoniaki jako guzy bogatokomórkowe wykazują restrykcję dyfuzji, a równocześnie mają niską perfuzję [24]. Przerzuty są typowo zlokalizowane na pograniczu istoty białej i szarej, i mają nieproporcjonalnie dużą strefę obrzękową w stosunku do wielkości samego guza [25]. Oponiaki i nerwiaki umiejscowione są zewnątrzmożgowo i dają zwykle silne i jednorodne wzmocnienie [26].

Ocena stopnia złośliwości glejaka

Standardowe badanie MRI ma ograniczone możliwości oceny stopnia złośliwości guza. Głównym objawem pod tym względem jest obecność wzmocnienia kontrastowego. Glejaki niskiego stopnia (wysokozróżnicowane) najczęściej nie ulegają wzmocnieniu lub ich wzmocnienie jest niewielkie, natomiast glejaki wysokiego stopnia (niskozróżnicowane) dają na ogół silne, choć niejednorodne, wzmocnienie kontrastowe. Ponadto złośliwe glejaki często zawierają hipointensywne strefy martwicy oraz otoczone są bardziej rozległą strefą obrzękową

niżej glejaki niskiego stopnia [27, 28]. W ocenie złośliwości guza pomocne są też zaawansowane techniki MRI.

Próba różnicowania postaci glejaka

Możliwości sugerowania konkretnej postaci histopatologicznej glejaka mózgowia w standardowym badaniu MRI są ograniczone. Charakterystyczny obraz ma na ogół glejak wielopostaciowy, który ujawnia się w postaci wieloogniskowego guza, często obejmującego obie półkule mózgowe (*butterfly glioma*), z nieregularnym wzmocnieniem kontrastowym i strefami martwicy [29]. Charakterystyczną cechą skąpodrzewiaków są zwapnienia [30]. Z kolei wyściółczaki wyróżniają się charakterystyczną lokalizacją wewnątrzkomorową [31].

Znaczenie badań radiologicznych w ocenie rokowania i planowaniu leczenia glejaków mózgu

Prawidłowe rozpoznanie glejaka, a zwłaszcza określenie stopnia jego złośliwości ma kluczowe znaczenie dla ustalenia postępowania terapeutycznego.

W przypadku łagodnych glejaków (*low-grade glioma* – LGG), aby uniknąć powikłań pozabiegowych, często stosuje się obserwację pacjenta (*watch and wait approach*). Natomiast w przypadku glejaków złośliwych (*high-grade glioma* – HGG) wskazana jest jak najszybsza interwencja chirurgiczna. Jednakże w standardowym badaniu MRI obraz części HGG może imitować LGG i odwrotnie [32, 33]. Dlatego coraz częściej do określania stopnia zaawansowania glejaków wykorzystywane są zaawansowane techniki obrazowania rezonansu magnetycznego, co wspomaga podjęcie decyzji o typie leczenia i prawidłowej kwalifikacji do zabiegu operacyjnego. Techniki te pozwalają uzyskać bardziej precyzyjną informację o agresywności guza, mogą m.in. pomóc w odróżnianiu glejaków LGG od HGG czy rozpoznaniu glejaków LGG o dużym ryzyku progresji do HGG – i ułatwić decyzję o postępowaniu *watch and wait approach* czy zabiegu operacyjnym [16].

Spośród zaawansowanych technik MRI w diagnostyce glejaków najczęściej stosuje się spektroskopię (*magnetic resonance spectroscopy* – MRS), perfuzję (*perfusion weighted imaging* – PWI), tensor dyfuzji (*diffusion tensor imaging* – DTI) oraz czynnościowy MRI (*functional magnetic resonance imaging* – fMRI) [34]. Główne cele badania MRI to:

- potwierdzenie nowotworowego charakteru zmiany,
- ocena lokalizacji guza,
- ocena efektu masy,
- ocena ucisku na układ komorowy i inne okoliczne struktury,
- sprawdzenie unaczynienia zmiany [35, 36].

Spośród technik podstawowych MRI istotną rolę odgrywają: sekwencja T1-zależna po podaniu środka kontrastowego, sekwencja obrazowania dyfuzji (*diffusion-weighted imaging* – DWI) oraz sekwencja podatności magnetycznej (*susceptibility weighted imaging* – SWI).

W sekwencjach po podaniu środka kontrastowego w nieprawidłowych tkankach guza dochodzi do uszkodzenia bariery krew–mózg, co skutkuje patologicznym wzmocnieniem tego

obszaru. W piśmiennictwie opisywana jest dodatnia korelacja pomiędzy obecnością wzmocnienia kontrastowego a wyższym stopniem złośliwości glejaków [37].

Sekwencja DWI opiera się na ocenie swobodnych ruchów cząsteczek wody. Pozwala więc określić:

- budowę komórkową zmiany,
- obrzęk wokół zmiany,
- obszary hipoksji wewnątrz guza,
- integralność dróg istoty białej,
- występowanie uszkodzeń pooperacyjnych [38].

Aby w pełni ocenić dyfuzję, należy interpretować obrazy DWI łącznie z wartościami pozornego współczynnika dyfuzji (*apparent diffusion coefficient* – ADC), który widoczny jest automatycznie w postaci mapy ADC. Liczne badania pokazują, że obniżona wartość ADC jest niezależnym biomarkerem, który świadczy o znacznie gorszym rokowaniu zarówno w glejakach, jak i chłoniakach mózgu [34].

Z kolei sekwencja SWI jest wysoce czuła na produkty krwipochodne, a także zwapnienia. Umożliwia zobrazowanie nawet bardzo drobnych mikrokrwawień wewnątrz guza, a także ocenę budowy naczyń. Zauważono także, że obecność krwawienia i martwicy w obrębie zmiany częściej występują w glejakach niskozróżnicowanych (HGG) [38].

Spośród sekwencji zaawansowanych największe znaczenie ma perfuzja rezonansu magnetycznego (PWI). Wykonuje się ją po podaniu kontrastu gadolinowego techniką DSC (*dynamic susceptibility contrast*) lub DSE (*dynamic contrast enhanced*), lub bez podania kontrastu techniką ASL (*arterial spin labeling*) [34]. PWI pozwala określić angiogenezę guza oraz proliferację naczyń. W złośliwych glejakach są one kręte i nieprawidłowo wykształcone, co skutkuje ich nieuszczelnnością i powoduje nieprawidłowy przepływ krwi w mózgu. Badania perfuzyjne ocenia się na kolorowych mapach objętości krwi mózgowej (*cerebral blood volume* – CBV) oraz przepuszczalności ścian naczyń, wyrażonej za pomocą parametru Ktrans [16]. Guzy o wysokim stopniu złośliwości wykazują zwiększony parametr CBV, a także Ktrans. Uznaje się, że parametr rCBV >1,75 (określany w stosunku do prawidłowej istoty białej) może świadczyć o patologicznej, nowotworowej angiogenezie [16].

Wzrost parametrów perfuzyjnych w badaniach obrazowych podczas długofalowej kontroli pacjentów z LGG ma znaczenie w ocenie progresji stopnia zaawansowania guza, ponieważ ok. 50% LGG w ciągu 5 lat ulega transformacji do wyższego stopnia złośliwości. Można to wychwycić w badaniu PWI [33]. Ponadto w obrębie obrzęku otaczającego glejaki o niższym stopniu zróżnicowania zaobserwowano także podwyższenie parametru rCBV, co świadczy o nacieku guza na otaczające tkanki – tego nie stwierdza się w obręku otaczającym zmiany przerzutowe. PWI umożliwia bardziej precyzyjną biopsję guza (która powinna być dokonana w części guza o najwyższej perfuzji), a to z kolei przekłada się na kwalifikację do właściwego leczenia [39]. Parametr perfuzyjny Ktrans umożliwia dodatkową ocenę złośliwości glejaków. Im

większa przepuszczalność naczyń, tym prawdopodobieństwo złośliwości jest wyższe [37].

Spektroskopia rezonansu magnetycznego dostarcza informacji na temat biochemicznego, a także metabolicznego profilu tkankowego. W przebiegu glejaków mózgu obserwuje się zwiększenie stężenia cholicy (Cho) i spadek N-acetyloasparaginianu (NAA). Im wyższe są wartości stosunku Cho/NAA oraz stosunku Ch/Cr (cholina/kreatyna), tym niższy stopień zróżnicowania guza. To oznacza wyższy stopień jego złośliwości [38]. Dodatkowo Castillo i wsp. wykazali, że w guzach typu LGG wartości stosunku ml/Cr (mioinozytol/kreatyna) są istotnie statystycznie wyższe niż w innych typach guzów mózgu [40].

Wyzwaniem w leczeniu glejaków jest takie przeprowadzenie operacji, aby jak najdokładniej usunąć zmianę nowotworową bez nadmiernego uszkodzenia zdrowych tkanek mózgowia. W planowaniu zabiegu bardzo pomocne są kolejne zaawansowane sekwencje rezonansu magnetycznego: DTI i fMRI.

Obrazowanie tensora dyfuzji (DTI) wraz z traktografią tensora dyfuzji (*diffusion tensor tractography* – DTT) umożliwia wykrycie zaburzeń kierunku i ciągłości włókien nerwowych istoty białej. Dlatego to badanie może być stosowane przed planowanym zabiegiem resekcji glejaka, ponieważ pomaga rozróżnić naciekanie od przemieszczenia przyległych do guza włókien nerwowych istoty białej [41]. Zmiany w DTI mogą być oceniane ilościowo – najczęściej za pomocą parametru frakcjonowanej anizotropii (*fractional anisotropy* – FA) – im niższy jest współczynnik FA, tym większe jest uszkodzenie istoty białej [41].

Obiecujące rezultaty uzyskuje się w przypadku czynnościowego rezonansu magnetycznego (fMRI), jednak metodę tę stosuje się raczej w wyspecjalizowanych ośrodkach klinicznych oraz w badaniach naukowych. fMRI ocenia aktywację mózgu poprzez wykrywanie zmian w poziomie natlenienia krwi (sekwencja BOLD). Zmniejszony sygnał BOLD występuje w korze mózgowej zajętej przez guz – zwłaszcza w glejakach typu HGG [38]. Technika ta pozwala na precyzyjne określenie stosunku guza do ważnych życiowo ośrodków, takich jak: ośrodek mowy, czuciowy, ruchowy, pamięci. Może mieć to istotny wpływ na planowanie przebiegu zabiegu.

Predykcyjne i prognostyczne znaczenie zmian genetycznych w glejakach

Mimo ogromnego postępu w diagnostyce molekularnej glejaków, możliwości personalizowanego leczenia, w tym terapii celowanej, są nadal ograniczone.

Klasyczne podejście terapeutyczne dla pacjentów z GBM, oparte na ocenie histopatologicznej guza oraz stanu klinicznego, ogranicza się do resekcji chirurgicznej guza (która nigdy nie prowadzi do usunięcia całej masy guza, ze względu na naciekowy charakter wzrostu), a następnie radioterapii i chemioterapii.

Podstawowym lekiem stosowanym u tych chorych jest temozolomid, zarejestrowany w 1999 r. do leczenia pacjentów z anaplastycznym gwiaździakiem [42], a kolejno w 2005 r. – do

leczenia pacjentów z noworozpoznanym guzem mózgu [43]. Temozolomid jest związkiem alkalizującym, czyli jego działanie polega na dołączeniu do DNA grupy alkilowej, w efekcie powstałe w ten sposób liczne mutacje prowadzą do śmierci komórek. Proces ten jest hamowany przez wewnątrzkomórkowy system naprawy DNA poprzez wycinanie nieprawidłowych zasad (*base excision repair* – BER). Kluczowym enzymem w tym mechanizmie jest białko MGMT (*metylotransferaza O6 – metyloguaniny* – MGMT), kodowane przez gen *MGMT*. Utrata aktywności tego genu w drodze hipermetylacji jego promotora (mechanizm epigenetycznej regulacji ekspresji genów) prowadzi do upośledzenia naprawy DNA i w konsekwencji do zwiększenia efektywności alkilujących leków przeciwnowotworowych. Jak stwierdzono, pacjenci z hipermetylacją promotora genu *MGMT* lepiej reagują na leczenie tymi środkami, chociaż efekt nie jest tak jednoznaczny, jak oczekiwano [44]. W znacznej mierze wynika to z heterogenności genetycznej glejaków, która, między innymi, wyraża się dużą zmiennością stopnia hipermetylacji promotora *MGMT* w różnych obszarach guza. Tym niemniej, poziom metylacji promotora genu *MGMT* jest obecnie zaakceptowanym markerem predykcyjnym dla stosowania temozolomidu u pacjentów z glejakami mózgu.

Kolejnym lekiem pomocnym w terapii glejaków mózgu jest przeciwciało monoklonalne, bewacyzumab. Jego działanie polega na blokowaniu nowotworzenia naczyń w obrębie masy guza (*anti-vascular endothelial growth factor* – VEGF). Bewacyzumab został zatwierdzony przez FDA w 2004 r., jako lek stosowany w przerzutach raka jelita grubego. W 2009 r. zarejestrowano go do leczenia różnych nowotworów, w tym glejaków mózgu [43].

Obecnie trwają badania nad nowymi metodami celowanego leczenia glejaków. Przykładem mogą być związki blokujące nadmierną aktywność receptora EGFR za pomocą inhibitorów kinazy tyrozynowej (*tyrosine kinase inhibitors* – TKIs). Stosowanie depatuksyzumabu mafodotinu (koniugowanego przeciwciała blokującego EGFR) w kombinacji z temozolomidem wykazało w drugiej fazie prób klinicznych pozytywne efekty terapeutyczne u pacjentów z nawrotowym EGFR-dodatnim GBM. Jednak w trzeciej fazie prób klinicznych nad stosowaniem depatuksyzumabu mafodotinu w kombinacji z leczeniem standardowym w nowo rozpoznanych EGFR-dodatnim GBM, to podejście terapeutyczne okazało się nieskuteczne [10].

Kolejne, zakończone niepowodzeniem, próby kliniczne podejmowano w związku ze stosowaniem leków kierowanych na mutacje w genach ścieżki sygnałowej *PI3K/mTOR*, która często ulega dysregulacji w GBM bez mutacji *IDH*, z częstą delecją genu *PTEN* i mutacją *PIK3CA* lub *PIK3R1*. Wykazano natomiast słaby pozytywny efekt terapeutyczny monoterapii buparlisymbem (inhibitor kinaz tyrozynowych *PI3K*; *pan-PI3K TKI*) u pacjentów z nawrotowym *PI3K*-aktywnym GBM. I znów bez jednoznacznie pozytywnego efektu zakończyły się próby kliniczne nad zastosowaniem inhibitorów VEGF i multiinhibitorów kinaz tyrozynowych celowanych na zmiany w genach modulujących

mikrośrodowisko guza. Natomiast wyniki wstępnych badań nad podawaniem pacjentom z glejakami takich leków, jak np. wemurafenib (u pacjentów z GBM i mutacją *BRAF V600E* oraz kombinacji inhibitorów *BRAF/MEK*), dabrafenib i trametinib, stosowanych z sukcesem w terapiach celowanych innych nowotworów, są obiecujące.

Istotnym kierunkiem wydają się badania nad inhibitorami produktów genów fuzyjnych, które występują w prawie 55% GBM (jak np. *FGFR*, *MET*, *NTRK* i rzadziej fuzje *EGFR*, *ROS1*, *PDGFRA* i *NTRK*), a pośród których około 10% stanowią fuzyjne kinazy, dla których znane są inhibitory zatwierdzone do stosowania klinicznego w innych guzach (jak np. larotrektytib i entrektytib, zatwierdzone przez FDA do stosowania u pacjentów z guzami litymi i fuzją *NTRK*) [10].

Zmiany molekularne stanowią również markery rokownicze. Stwierdzono, że GBM bez mutacji genów *IDH* mają bardziej agresywny przebieg kliniczny niż guzy z mutacjami tych genów. Podobnie guzy z mutacjami genu *TERT* bez mutacji *IDH* dają gorsze rokowania. Tymczasem skąpodrzewiaki z kodecją 1q/19p i mutacjami genów *IDH* mają łagodniejszy przebieg kliniczny. Podobnie łagodniejszego przebiegu choroby, a tym samym lepszego rokowania, można oczekiwać, jeśli w komórkach GBM występują mutacje genu *ATRX*. Dla tych guzów charakterystyczne jest, że mutacje w genie *ATRX* prawie nigdy nie występują równocześnie z kodecją 1q/19p. Lepsze rokowanie co do przeżycia mają pacjenci, u których w komórkach GBM hipermetylacji promotora genu *MGMT* towarzyszy kodecja 1q/19p [6, 45].

Podsumowanie

Badania genetyczne i radiologiczne odgrywają obecnie ogromną rolę w rozpoznawaniu, ustalaniu terapii oraz rokowania u pacjentów z glejakami mózgu. W związku z tym aktualnie prowadzone są intensywne prace nad korelacją pomiędzy specyficznymi cechami obrazowymi glejaków a ich klasyfikacją molekularną.

Jedną z nich jest objaw obserwowany w badaniu MRI, tzw. *T2-FLAIR mismatch sign*, który okazał się wysoce specyficzny dla rozlanych gwiaździków z mutacją *IDH* i bez kodecji 1p/19q [46, 47]. Z kolei brak tego objawu jest charakterystyczny dla skąpodrzewiaków. Dla glejaków z mutacją *IDH* charakterystyczne jest również występowanie w MRS metabolitu 2-HG [48]. W badaniu MRI w glejakach z amplifikacją *EGFR* stwierdzono istotnie statystycznie częstsze występowanie restrikcji dyfuzji w sekwencji DWI wraz z wysoką perfuzją ($rCBV > 3,0$) w sekwencji PWI, a także lokalizację w lewym płacie skroniowym [49]. W badaniu MRI wykazano również korelację ze wzorcem molekularnym cech teksturalnych, fraktalnych i wolumetrycznych rozlanych glejaków niskiego stopnia złośliwości, ocenianych za pomocą specjalnego algorytmu komputerowego [45].

Obserwowany w ostatnich latach rozwój zaawansowanych technik rezonansu magnetycznego pozwala w nieinwazyjny

sposób ocenić zarówno morfologię, jak i biologiczne cechy guzów mózgu, a także – w niektórych przypadkach – podejrzewanie zmian genetycznych. Przekłada się to na coraz bardziej precyzyjną wstępną ocenę złośliwości guzów. Dzięki temu bardziej precyzyjnie można określić rokowanie pacjenta i szybciej zakwalifikować go do właściwego sposobu leczenia. Jednakże zależności radiologiczno-molekularno-genetyczne w glejakach mózgu wymagają dalszych wnikliwych badań, aby dokładniej ocenić ich użyteczność kliniczną.

Konflikt interesów: nie zgłoszono

Gabriela M. Janus-Szymańska

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Katedra i Zakład Genetyki

ul. Marcinkowskiego 1

50-368 Wrocław

e-mail: gjanus3101@gmail.com

Zgłoszono: 18 czerwca 2021

Zaakceptowano: 25 czerwca 2021

Piśmiennictwo

1. Stupp R, Brada M, van den Bent MJ, et al. ESMO Guidelines Working Group. High-grade glioma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2014; 25 Suppl 3: iii93–ii101, doi: 10.1093/annonc/mdl050, indexed in Pubmed: 24782454.
2. Okla K, Wawruszak A, Bilska S. Gliomas – epidemiology, classification and etiology. *Review and Research on Cancer Treatment*. 2015; 1(1).
3. McLean R, Lovely M, Vassall E. National Brain Tumor Society. 2004, 2005, 2007, 2009, 2010, 2012.
4. Greenberg MS. *Handbook of Neurosurgery*; Description: 9th edition. Thieme, New York 2020.
5. Verhaak R, Hoadley K, Purdom E, et al. Integrated Genomic Analysis Identifies Clinically Relevant Subtypes of Glioblastoma Characterized by Abnormalities in *PDGFRA*, *IDH1*, *EGFR*, and *NF1*. *Cancer Cell*. 2010; 17(1): 98–110, doi: 10.1016/j.ccr.2009.12.020.
6. Kan LK, Drummond K, Hunn M, et al. Potential biomarkers and challenges in glioma diagnosis, therapy and prognosis. *BMJ Neurol Open*. 2020; 2(2): e000069, doi: 10.1136/bmjno-2020-000069, indexed in Pubmed: 33681797.
7. Verhaak RGW, Hoadley KA, Purdom E, et al. Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in *PDGFRA*, *IDH1*, *EGFR*, and *NF1*. *Cancer Cell*. 2010; 17(1): 98–110, doi: 10.1016/j.ccr.2009.12.020, indexed in Pubmed: 20129251.
8. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol*. 2016; 131(6): 803–820, doi: 10.1007/s00401-016-1545-1, indexed in Pubmed: 27157931.
9. Wesseling P, Capper D. WHO 2016 Classification of gliomas. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2018; 44(2): 139–150, doi: 10.1111/nan.12432, indexed in Pubmed: 28815663.
10. Tan AC, Ashley DM, López GY, et al. Management of glioblastoma: State of the art and future directions. *CA Cancer J Clin*. 2020; 70(4): 299–312, doi: 10.3322/caac.21613, indexed in Pubmed: 32478924.
11. Lundy P, Domino J, Ryken T, et al. The role of imaging for the management of newly diagnosed glioblastoma in adults: a systematic review and evidence-based clinical practice guideline update. *J Neurooncol*. 2020; 150(2): 95–120, doi: 10.1007/s11060-020-03597-3, indexed in Pubmed: 33215340.
12. Fouke SJ, Benzinger T, Gibson D, et al. The role of imaging in the management of adults with diffuse low grade glioma: A systematic review and evidence-based clinical practice guideline. *J Neurooncol*. 2015; 125(3): 457–479, doi: 10.1007/s11060-015-1908-9, indexed in Pubmed: 26530262.
13. la Fougère C, Suchorska B, Bartenstein P, et al. Molecular imaging of gliomas with PET: opportunities and limitations. *Neuro Oncol*. 2011; 13(8): 806–819, doi: 10.1093/neuonc/nor054, indexed in Pubmed: 21757446.

14. Rapp M, Heinzel A, Galldiks N, et al. Diagnostic performance of 18F-FET PET in newly diagnosed cerebral lesions suggestive of glioma. *J Nucl Med*. 2013; 54(2): 229–235, doi: 10.2967/jnumed.112.109603, indexed in Pubmed: 23232275.
15. Pyatigorskaya N, Sgard B, Bertaux M, et al. Can FDG-PET/MR help to overcome limitations of sequential MRI and PET-FDG for differential diagnosis between recurrence/progression and radionecrosis of high-grade gliomas? *J Neuroradiol*. 2021; 48(3): 189–194, doi: 10.1016/j.neurad.2020.08.003, indexed in Pubmed: 32858062.
16. Ellingson BM, Bendszus M, Boxerman J, et al. Jumpstarting Brain Tumor Drug Development Coalition Imaging Standardization Steering Committee. Consensus recommendations for a standardized Brain Tumor Imaging Protocol in clinical trials. *Neuro Oncol*. 2015; 17(9): 1188–1198, doi: 10.1093/neuonc/nov095, indexed in Pubmed: 26250565.
17. Elhawary H, Liu H, Patel P, et al. Intraoperative real-time querying of white matter tracts during frameless stereotactic neuronavigation. *Neurosurgery*. 2011; 68(2): 506–16; discussion 516, doi: 10.1227/NEU.0b013e3182036282, indexed in Pubmed: 21135719.
18. Sacconi PA, Shaw EG, Chan MD, et al. Use of 3.0-T MRI for stereotactic radiosurgery planning for treatment of brain metastases: a single-institution retrospective review. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2010; 78(4): 1142–1146, doi: 10.1016/j.ijrobp.2010.05.049, indexed in Pubmed: 20832185.
19. Omuro A, DeAngelis LM. Glioblastoma and other malignant gliomas: a clinical review. *JAMA*. 2013; 310(17): 1842–1850, doi: 10.1001/jama.2013.280319, indexed in Pubmed: 24193082.
20. Wang YY, Wang K, Li SW, et al. Patterns of Tumor Contrast Enhancement Predict the Prognosis of Anaplastic Gliomas with IDH1 Mutation. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2015; 36(11): 2023–2029, doi: 10.3174/ajnr.A4407, indexed in Pubmed: 26316565.
21. Liu X, Almast J, Ekholm S. Lesions masquerading as acute stroke. *J Magn Reson Imaging*. 2013; 37(1): 15–34, doi: 10.1002/jmri.23647, indexed in Pubmed: 23255413.
22. Anderson MD, Coleen RR, Tremont-Lukats IW. Imaging mimics of primary malignant tumors of the central nervous system (CNS). *Curr Oncol Rep*. 2014; 16(8): 399, doi: 10.1007/s11912-014-0399-8, indexed in Pubmed: 24927848.
23. Auffray-Calvier E, Toulgoat F, Daumas-Duport B, et al. Infectious and metabolic brain imaging. *Diagn Interv Imaging*. 2012; 93(12): 911–934, doi: 10.1016/j.diii.2012.10.013, indexed in Pubmed: 23182980.
24. Neska-Matuszewska M, Bładowska J, Szałdek M, et al. Differentiation of glioblastoma multiforme, metastases and primary central nervous system lymphomas using multiparametric perfusion and diffusion MR imaging of a tumor core and a peritumoral zone-Searching for a practical approach. *PLoS One*. 2018; 13(1): e0191341, doi: 10.1371/journal.pone.0191341, indexed in Pubmed: 29342201.
25. Hakyemez B, Erdogan C, Gokalp G, et al. Solitary metastases and high-grade gliomas: radiological differentiation by morphometric analysis and perfusion-weighted MRI. *Clin Radiol*. 2010; 65(1): 15–20, doi: 10.1016/j.crad.2009.09.005, indexed in Pubmed: 20103416.
26. Osborn A. Extra-Axial Neoplasms, Cysts and Tumor-Like Lesions. *Radiologic-Pathologic Correlations from Head to Toe*. 2005: 27–33, doi: 10.1007/3-540-26664-x_2.
27. White ML, Zhang Y, Kirby P, et al. Can tumor contrast enhancement be used as a criterion for differentiating tumor grades of oligodendrogliomas? *AJNR Am J Neuroradiol*. 2005; 26(4): 784–790, indexed in Pubmed: 15814921.
28. Lasocki A, Anjari M, Örs Kokurcan S, et al. Conventional MRI features of adult diffuse glioma molecular subtypes: a systematic review. *Neuroradiology*. 2021; 63(3): 353–362, doi: 10.1007/s00234-020-02532-7, indexed in Pubmed: 32840682.
29. Pope WB, Sayre J, Perlina A, et al. MR imaging correlates of survival in patients with high-grade gliomas. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2005; 26(10): 2466–2474, indexed in Pubmed: 16286386.
30. Smits M. Imaging of oligodendroglioma. *Br J Radiol*. 2016; 89(1060): 20150857, doi: 10.1259/bjr.20150857, indexed in Pubmed: 26849038.
31. Yuh EL, Barkovich AJ, Gupta N. Imaging of ependymomas: MRI and CT. *Childs Nerv Syst*. 2009; 25(10): 1203–1213, doi: 10.1007/s00381-009-0878-7, indexed in Pubmed: 19360419.
32. Abrigo JM, Fountain DM, Provenzale JM, et al. Magnetic resonance perfusion for differentiating low-grade from high-grade gliomas at first presentation. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018; 1: CD011551, doi: 10.1002/14651858.CD011551.pub2, indexed in Pubmed: 29357120.
33. Afra D, Osztie E, Sipos L, et al. Preoperative history and postoperative survival of supratentorial low-grade astrocytomas. *Br J Neurosurg*. 1999; 13(3): 299–305, doi: 10.1080/026886699943727, indexed in Pubmed: 10562842.
34. Xiao HF, Chen ZY, Lou X, et al. Astrocytic tumour grading: a comparative study of three-dimensional pseudocontinuous arterial spin labelling, dynamic susceptibility contrast-enhanced perfusion-weighted imaging, and diffusion-weighted imaging. *Eur Radiol*. 2015; 25(12): 3423–3430, doi: 10.1007/s00330-015-3768-2, indexed in Pubmed: 26002128.
35. Zhang B, MacFadden D, Damyanovich AZ, et al. Development of a geometrically accurate imaging protocol at 3 Tesla MRI for stereotactic radiosurgery treatment planning. *Phys Med Biol*. 2010; 55(22): 6601–6615, doi: 10.1088/0031-9155/55/22/002, indexed in Pubmed: 20962365.
36. Smirniotopoulos JG, Murphy FM, Rushing EJ, et al. Patterns of contrast enhancement in the brain and meninges. *Radiographics*. 2007; 27(2): 525–551, doi: 10.1148/rq.272065155, indexed in Pubmed: 17374867.
37. Law M, Young RJ, Babb JS, et al. Gliomas: predicting time to progression or survival with cerebral blood volume measurements at dynamic susceptibility-weighted contrast-enhanced perfusion MR imaging. *Radiology*. 2008; 247(2): 490–498, doi: 10.1148/radiol.2472070898, indexed in Pubmed: 18349315.
38. Villanueva-Meyer J, Mabray M, Cha S. Current Clinical Brain Tumor Imaging. *Neurosurgery*. 2017; 81(3): 397–415, doi: 10.1093/neuros/nyx103.
39. Griffith B, Jain R. Perfusion Imaging in Neuro-Oncology. *Radiol Clin North Am*. 2015; 53(3): 497–511, doi: 10.1016/j.rcl.2015.01.004.
40. Castillo M, Smith JK, Kwok L. Correlation of myo-inositol levels and grading of cerebral astrocytomas. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2000; 21(9): 1645–1649, indexed in Pubmed: 11039343.
41. Shahar T, Rozovski U, Marko NF, et al. Preoperative imaging to predict intraoperative changes in tumor-to-corticospinal tract distance: an analysis of 45 cases using high-field intraoperative magnetic resonance imaging. *Neurosurgery*. 2014; 75(1): 23–30, doi: 10.1227/NEU.0000000000000338, indexed in Pubmed: 24618800.
42. Ozdemir-Kaynak E, Qutub AA, Yesil-Celiktas O. Advances in Glioblastoma Multiforme Treatment: New Models for Nanoparticle Therapy. *Front Physiol*. 2018; 9: 170, doi: 10.3389/fphys.2018.00170, indexed in Pubmed: 29615917.
43. Shergalis A, Bankhead A, Luesakul U, et al. Current Challenges and Opportunities in Treating Glioblastoma. *Pharmacol Rev*. 2018; 70(3): 412–445, doi: 10.1124/pr.117.014944.
44. Egaña L, Auzmendi-Iriarte J, Andermatten J, et al. Methylation of MGMT promoter does not predict response to temozolomide in patients with glioblastoma in Donostia Hospital. *Sci Rep*. 2020; 10(1): 18445, doi: 10.1038/s41598-020-75477-9, indexed in Pubmed: 33116181.
45. Shboul ZA, Chen J, M Iftekaruddin K. Prediction of Molecular Mutations in Diffuse Low-Grade Gliomas using MR Imaging Features. *Sci Rep*. 2020; 10(1): 3711, doi: 10.1038/s41598-020-60550-0, indexed in Pubmed: 32111869.
46. Park YW, Han K, Ahn SS, et al. Prediction of -Mutation and 1p/19q-Codeletion Status Using Preoperative MR Imaging Phenotypes in Lower Grade Gliomas. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2018; 39(1): 37–42, doi: 10.3174/ajnr.A5421, indexed in Pubmed: 29122763.
47. Park YW, Han K, Ahn SS, et al. Whole-Tumor Histogram and Texture Analyses of DTI for Evaluation of -Mutation and 1p/19q-Codeletion Status in World Health Organization Grade II Gliomas. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2018; 39(4): 693–698, doi: 10.3174/ajnr.A5569, indexed in Pubmed: 29519794.
48. Natsumeda M, Motohashi K, Igarashi H, et al. Reliable diagnosis of IDH-mutant glioblastoma by 2-hydroxyglutarate detection: a study by 3-T magnetic resonance spectroscopy. *Neurosurg Rev*. 2018; 41(2): 641–647, doi: 10.1007/s10143-017-0908-y, indexed in Pubmed: 28956184.
49. Gupta A, Young RJ, Shah AD, et al. Pretreatment Dynamic Susceptibility Contrast MRI Perfusion in Glioblastoma: Prediction of EGFR Gene Amplification. *Clin Neuroradiol*. 2015; 25(2): 143–150, doi: 10.1007/s00062-014-0289-3, indexed in Pubmed: 24474262.