

Piotr Potemski

Klinika Chemioterapii Nowotworów Katedry Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, Szpital Specjalistyczny im. M. Kopernika w Łodzi

Molekularne uwarunkowania leczenia glejaków

The molecular basis for treatment of gliomas

Adres do korespondencji:

Dr hab. med. Piotr Potemski
 Klinika Chemioterapii Nowotworów
 Katedry Onkologii
 Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
 Szpital Specjalistyczny im. M. Kopernika
 ul. Paderewskiego 4, 93-509 Łódź
 Tel.: +48 (42) 689 54 31
 Faks: +48 (42) 689 54 32
 e-mail: piotrpo@mp.pl

STRESZCZENIE

Glejakami są najczęstszymi pierwotnymi nowotworami ośrodkowego układu nerwowego, stanowiąc 70% z nich. Glejak wielopostaciowy (GBM), najczęstszy i najgorzej rokujący nowotwór wywodzący się z gleju, może rozwijać się *de novo* (pierwotny GBM) lub poprzez transformację z gwiaździaków II stopnia złośliwości lub anaplastycznych. Te dwa rodzaje GBM stanowią odrębne jednostki chorobowe różniące się zarówno pod względem rokowania, jak i zmian genetycznych. Na przykład, niemal wszystkie wtórne GBM cechują się mutacjami genu *IDH1*, podczas gdy w pierwotnych GBM mutacje te występują bardzo rzadko. Pierwotne GBM są bardzo heterogennymi glejakami i charakteryzują się różnorodnymi zmianami genetycznymi. Jedną z nich jest ekspresja zmutowanej formy genu *EGFR*. Najczęściej spotykaną mutacją jest *EGFR-vIII* aktywująca nieprawidłowy receptor. Postępy, jakie osiągnięto w biologii molekularnej glejaków, mogą także pomóc w doborze chorych lepiej reagujących na konwencjonalną chemioterapię. Zmniejszenie ekspresji genu *MGMT* poprzez hipermetylację jego promotora obserwowane u 45% chorych na GBM wiąże się z dłuższym czasem przeżycia po zastosowaniu temozolomidu. Kodelecja 1p/19q jest korzystnym czynnikiem prognostycznym u chorych na skąpodrzewiaki, a także wskazuje na możliwość uzyskania lepszej odpowiedzi na chemioterapię PCV. Jednak dotąd nie poznano krytycznych celów dla nowych leków ukierunkowanych molekularnie w leczeniu chorych na glejaki.

Słowa kluczowe: glejaki, metylacja *MGMT*, kodelecja 1p/19q, mutacje *IDH1*, *EGFR-vIII*

ABSTRACT

Gliomas are the most common of all primary tumours of the central nervous system and account for 70% of them. Glioblastoma (GBM), the most frequent and the most lethal of all gliomas may develop *de novo* (primary GBM) or by progression from grade II or anaplastic astrocytoma. Those two types of GBM are distinct disease entities with clear differences in clinical outcome and molecular genetics. For example, almost all secondary GBMs harbor mutations in *IDH1* gene, whereas in primary GBMs these mutations are very rarely seen. Primary GBMs form a very heterogenous group of tumours and are characterized by many genetics alterations. One of such alteration is the expression of mutated *EGFR* gene. The most common mutation is *EGFR-vIII* that constitutively activates the receptor. Advances in molecular biology of gliomas may also help to select patients who better respond to conventional chemotherapy. Silencing of *MGMT* gene by methylation of its promoter observed in 45% of GBMs is associated with better outcome of patients treated with temozolomide. 1p/19q codeletion is a favourable prognostic factor in oligodendrogliomas and also predicts response to PCV chemotherapy. However, so far in gliomas critical molecular targets for novel drugs have not been recognized.

Key words: gliomas, methylation of *MGMT*, 1p/19q codeletion, *IDH1* mutations, *EGFR-vIII*

Onkol. Prak. Klin. 2010; 6, 2: 73–78

Onkologia w Praktyce Klinicznej
 2010, tom 6, nr 2, 73–78
 Copyright © 2010 Via Medica
 ISSN 1734–3542
 www.opk.viamedica.pl

Wstęp

Większość pierwotnych guzów mózgu stanowią nowotwory wywodzące się z komórek glejowych. Obecnie obowiązująca klasyfikacja Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) grupuje glejaki w zależności od pochodzenia (m.in. gwiaździa-ki, skąpodrzewiaki i glejaki mieszane) oraz stopnia złośliwości (I–IV) [1]. Najczęstsze rodzaje nowotworów glejowych przedstawiono w tabeli 1.

Jednym z najgorzej rokujących nowotworów człowieka i jednocześnie najczęstszym z glejaków, stanowiącym połowę z nich i 12–15% wszystkich pierwotnych nowotworów mózgu, jest glejak wielopostaciowy (GBM, *glioblastoma multiforme*). Rokowanie w GBM jest dramatycznie złe — mediana czasu przeżycia wynosi tylko 5 miesięcy, ponad 80% chorych umiera w ciągu roku od rozpoznania, a 2 lata przeżywa zaledwie około 3% chorych [2]. Przebieg innych rozlanych glejaków zwykle również nie jest pomyślny, chociaż czas przeżycia chorych jest znacznie dłuższy niż w przypadku GBM i zależy od stopnia złośliwości guza.

Powszechne jest zjawisko progresji stopnia złośliwości glejaków w trakcie przebiegu choroby, czyli transformacji nowotworów o mniejszej złośliwości w guzy charakteryzujące się III stopniem złośliwości według WHO, a zwłaszcza w GBM. Średni czas, w którym dochodzi do przekształcenia się w GBM, wynosi dla glejaków II stopnia złośliwości nieco ponad 5 lat, a dla anaplastycznego gwiaździa-ka około 1,5 roku [3].

W niniejszej pracy przedstawiono najważniejsze zagadnienia dotyczące biologii molekularnej glejaków ze szczególnym uwzględnieniem tych, które już mają bądź wkrótce mogą mieć znaczenie praktyczne.

Molekularne czynniki predykcyjne i prognostyczne

Metylacja MGMT

Chemioterapię z wykorzystaniem leków alkilujących od dawna stosuje się u chorych na nawrotowe glejaki III stopnia złośliwości oraz GBM. Nie uwzględniając nawet dość złożonych zagadnień związanych z różnicami w penetracji poszczególnych leków przez barierę krew–mózg (a właściwie krew–guz), jej skuteczność i tak jest niewielka. Tradycyjnie w terapii glejaków stosowano pochodne nitrozomocznika (karmustyna, lomustyna i fotemustyna) i prokrabazynę. Ostatnio podstawowym lekiem, zwłaszcza u chorych na GBM, staje się temozolomid. Temozolomid po przekształceniu się w pochodną karboksamidu — monometylotriasenoimidazolokarboksamid (MTIC) — wykazuje aktywność leku alkilującego i przyłącza grupy metylowe do DNA, przede wszystkim w pozycji N7 lub O6 guaniny. Takie addukty metylowe, łącząc ze sobą obie nici DNA, uniemożliwiają replikację [4].

Jednym ze sposobów naprawy uszkodzeń DNA wywołanych przez leki alkilujące, a szczególnie temozolomid, jest działanie enzymu metylotransferazy O6-metyloguaniny (MGMT). Przywraca ona prawidłową strukturę DNA, odłączając grupę metylową z pozycji O6 guaniny i przyłączając ją do swojej cząsteczki. Proces ten powoduje trwałą inaktywację MGMT, co prowadzi do konieczności syntezy nowych cząsteczek enzymu.

Skuteczność demetylacji DNA w pozycji O6 guaniny zależy przede wszystkim od stężenia enzymu w komórce. Komórki GBM, w których stwierdza się duże stężenie MGMT, są mało wrażliwe na te uszkodzenia DNA występujące po zastosowaniu temozolomidu, któ-

Tabela 1. Najczęstsze rodzaje glejaków

Table 1. The most common gliomas

Stopień złośliwości według WHO	Pochodzenie			
	Glej gwiaździsty	Glej skąpowypustkowy	Glej wyściółkowy	Mieszane (glej gwiaździsty i skąpowypustkowy)
I	Gwiaździak włośowatokomórkowy	Nie ma	Podwyściółczak	Nie ma
II	Gwiaździak	Skąpodrzewiak	Wyściółczak	Glejak mieszany
III	Gwiaździak anaplastyczny	Skąpodrzewiak anaplastyczny	Wyściółczak anaplastyczny	Glejak mieszany anaplastyczny
IV	Glejak wielopostaciowy	Nie ma	Nie ma	Nie ma

WHO (*World Health Organization*) — Światowa Organizacja Zdrowia

re polegają na metylacji guaniny w pozycji O6 [5]. Ilość enzymu z kolei zależy przede wszystkim od ekspresji genu *MGMT*. Najważniejszym mechanizmem regulacji ekspresji *MGMT* jest odwracalna hipermetylacja wysp CpG promotora tego genu. Przyłączenie grup metylowych do promotora zmniejsza ekspresję *MGMT*, a odłączenie ją zwiększa. Komórki GBM, w których promotor *MGMT* jest zmetylowany, są zatem bardziej wrażliwe na działanie temozolomidu. Taka sytuacja dotyczy około 45% chorych na GBM [6]. U pozostałych osób terapia jest bardzo mało skuteczna.

Hipermetylację *MGMT* częściej stwierdza się u kobiet niż u mężczyzn (53 vs. 39%) oraz we wtórnych GBM w porównaniu z pierwotnymi (73 vs. 43%). Sugeruje się istnienie związku pomiędzy hipermetylacją a występowaniem niektórych wariantów polimorficznych dotyczących pojedynczych nukleotydów w obrębie promotora tego genu, które mogą mieć znaczenie rokownicze [7].

W przeciwieństwie do GBM, w którym wartość predykcyjna stanu *MGMT* nie budzi większych wątpliwości, w przypadku anaplastycznych skąpodrzewiaków ostatnio wykazano, że hipermetylacja *MGMT* nie jest czynnikiem predykcyjnym odpowiedzi na uzupełniającą chemioterapię PCV (prokarbazyna, lomustyna, winkrystyna), ale wpływa korzystnie na rokowanie, być może ze względu na jej związek z występowaniem kodelecji 1p/19q lub polimorfizmów rejonu promotora [8].

Kodelecja 1p/19q

Jednym z najważniejszych zaburzeń chromosomalnych obserwowanych w skąpodrzewiakach II stopnia złośliwości, dotyczącym około 80% chorych, jest utrata krótkiego ramienia chromosomu 1. skojarzona z utratą długiego ramienia chromosomu 9. Aberracja ta występuje także, chociaż z nieco mniejszą częstością, w anaplastycznych skąpodrzewiakach.

Najprawdopodobniej do kodelecji 1p/19q prowadzi nie zrównoważona translokacja t(1;19)(q10;p10) [9]. Występowanie tej aberracji wiąże się z większą wrażliwością na powszechnie stosowaną u chorych na nawrotowe skąpodrzewiaki anaplastyczne chemioterapią według programu PCV [10]. Wykazano jednak, że rokowanie chorych, u których występuje kodelecja 1p/19q, jest lepsze niezależnie od zastosowanego leczenia [10, 11].

Dotychczas nie ustalono, dlaczego utrata heterozygotyczności w obrębie 1p i 19q jest tak charakterystyczną cechą molekularną skąpodrzewiaków i wiąże się z większą wrażliwością na chemioterapię i lepszym rokowaniem. Być może w tych fragmentach chromosomów znajdują się istotne geny lekooporności i/lub geny supresorowe, których utrata prowadzi do kancerogenezy [12].

Mutacje *IDH1*

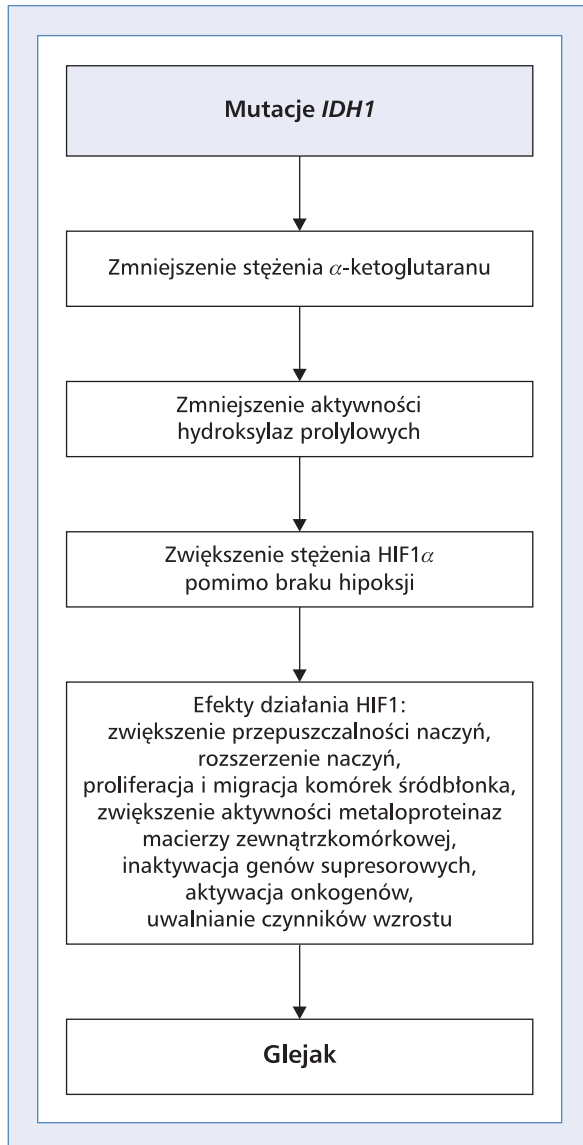
Dehydrogenaza izocytrynianowa 1 (*IDH1*) jest enzymem cyklu Krebsa stanowiącego końcowy szlak utleniania białek, kwasów tłuszczowych i węglowodanów w organizmie. Katalizuje ona przekształcenie izocytrynianu w α -ketoglutaran i odgrywa rolę regulującą aktywność łańcucha kolejno po sobie następujących fosforylacji oksydacyjnych, których końcowym efektem jest powstanie ATP, GTP i prekursorów istotnych związków chemicznych. W eksonie 4 genu *IDH1* opisano mutacje polegające na substytucji pojedynczego nukleotydu. Dotyczą kodonu 132., w którym w przeważającej większości przypadków zamiast guaniny znajduje się adenina (sekwencja CAT zamiast CGT) [13]. Mutacje *IDH1* obserwuje się w ponad 80% glejaków II i III stopnia złośliwości i wtórnym GBM, a bardzo rzadko (< 5%) w pierwotnym GBM, wyściółczakach i gwiaździaku włosowatokomórkowym. Uważa się obecnie, że mutacje *IDH1* powstają bardzo wcześnie w trakcie kancerogenezy i kierują ją w stronę powstawania gwiaździaaków, skąpodrzewiaków oraz, w konsekwencji, wtórnych GBM [14].

Następstwem wystąpienia mutacji *IDH1* jest zmniejszenie aktywności enzymu i zmniejszenie stężenia α -ketoglutaranu, który jest substratem dla hydroksylaz prolylowych. Hydroksylazy te w warunkach prawidłowego stężenia tlenu w komórce rozkładają podjednostkę α czynnika indukującego hipoksję 1 (*HIF1*, *hypoxia inducible factor 1*). Nie dochodzi wówczas do tworzenia się *HIF1* w komórce, co sprawia, że komórka ta nie jest poddawana biologicznym efektom działania *HIF1* przeciwdziałającym w warunkach fizjologicznych skutkom hipoksji. W sytuacji niedoboru substratu, jakim jest α -ketoglutaran, komórka zachowuje się tak, jak gdyby była niedotleniona (ryc. 1). Efekt biologiczny mutacji *IDH1* zależy zatem, przynajmniej częściowo, od indukcji *HIF1* [16]. Oczywiście, najprawdopodobniej mutacje te są jedynie czynnikiem sprzyjającym kancerogenezie, która zależy od kumulacji wielu innych wydarzeń molekularnych.

Pomimo tego wykazano, że obecność mutacji *IDH1* jest korzystnym czynnikiem prognostycznym u chorych na gwiaździaaka anaplastycznego lub GBM [13]. Dotychczas nie ustalono, czy mutacje *IDH1* mają znaczenie predykcyjne, na przykład w przewidywaniu odpowiedzi na terapię antyangiogenną.

Biologia molekularna GBM

Około 95% GBM to nowotwory pierwotne wywodzące się bezpośrednio z komórek prekursorowych gleju. Pozostałą część stanowią glejaki wtórne stanowiące końcowy etap procesu transformacji nowotwo-



Rycina 1. Związek pomiędzy mutacjami *IDH1* a kancerogenezą [15]. HIF1 — czynnik indukujący hipoksję 1

Figure 1. Relationship between *IDH1* mutations and cancerogenesis [15]. HIF1 — hypoxia-inducible factor 1

rowej prowadzącej wcześniej do powstania gwiazdzia-ków o II lub III stopniu złośliwości. Wtórne GBM występują u osób średnio o 15 lat młodszych niż nowotwory pierwotne, częściej u kobiet niż u mężczyzn, a rokowanie w ich przypadku jest nieco lepsze (mediana czasu przeżycia większa o 3 miesiące). Zaburzenia molekularne we wtórnych GBM różnią się zasadniczo od tych, które stwierdza się w guzach pierwotnych, najlepiej ilustruje to stan genu *IDH1*, o czym wspomniano już wcześniej. We wtórnych GBM bardzo rzadko dochodzi do mutacji w obrębie *EGFR* lub *PTEN*, a często w obrębie *TP53* [17].

W tej części niniejszej pracy ogólnie omówiono biologię pierwotnych GBM.

Pierwotny GBM jest nowotworem o niezwykle heterogenności morfologicznej (stąd jego nazwa), ale także i genetycznej. Poznano już bardzo wiele różnorodnych zmian molekularnych dotyczących szlaków przekazywania sygnału, procesów proliferacji, kontroli cyklu komórkowego itd. Omówienie ich wszystkich jest zupełnie niecelowe, ponieważ wiedza ta w zasadzie dotychczas nie znajduje przełożenia na praktykę kliniczną. W związku z tym zasygnalizowano jedynie pewne kluczowe elementy biologii molekularnej GBM.

Szlak sygnałowy receptora EGFR

Ocenia się, że nieprawidłowości dotyczące szlaku przewodzenia sygnału z receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR, *endothelial growth factor receptor*) do jądra komórkowego występują niemal u 90% chorych na GBM [14].

Zwiększona liczba receptorów EGFR dotyczy 60% pierwotnych GBM i w większości (70–90%) przypadków jest wynikiem amplifikacji, czyli zwielokrotnienia liczby kopii genu *EGFR* [14]. Na ogół amplifikacja *EGFR* jest skojarzona z mutacjami w obrębie tego genu. Opisano pięć rodzajów mutacji polegających na występowaniu utraty fragmentu genu części kodującej zewnątrzkomórkową albo wewnątrzkomórkową domenę receptora (*EGFR-vI-EGFR-vV*) [18]. Mutacja *EGFR-vIII* jest wśród nich najczęstsza i obserwuje się ją w 60% przypadków. *EGFR-vIII* polega na utracie eksonów 2–7 kodujących fragment domeny zewnątrzkomórkowej receptora. Jej skutkiem jest powstanie nieprawidłowej formy receptora o mniejszej masie cząsteczkowej zawierającego o 268 aminokwasów mniej. EGFR-vIII mimo tego, że ze względu na utratę części domeny zewnątrzkomórkowej nie może w ogóle przyłączyć ligandu, znajduje się w stanie permanentnej aktywacji, stanowiąc źródło i pierwszy etap transmisji patologicznego sygnału proliferacyjnego do jądra komórkowego. *EGFR-vIII* jest zatem mutacją o charakterze aktywującym (*gain-of-function mutation*). Wykazano, że zarówno amplifikacja *EGFR*, jak i obecność *EGFR-vIII* wiążą się z gorszym rokowaniem [19].

Drugim częstym zjawiskiem molekularnym dotyczącym szlaku przewodzenia sygnału z EGFR jest utrata czynności genu supresorowego *PTEN*. Mutacje unieczynnijające *PTEN* obserwuje się u około 30% chorych na pierwotne GBM i w większości towarzyszą one amplifikacji *EGFR* [20]. Skojarzenie tych zaburzeń molekularnych przyczynia się do utrudnienia zahamowania transmisji nieprawidłowego sygnału z EGFR na poziomie przekaźników wewnątrzkomórkowych.

Kompleks TP53

Nieprawidłowości kompleksu tworzonego przez białko supresorowe TP53 stwierdza się u około połowy chorych na pierwotne GBM [14]. Poza mutacjami dotyczącymi samego genu *TP53* (około 30% pierwotnych GBM) zaburzenia te polegają przede wszystkim (50%) na zmniejszeniu stężenia białka P14(ARF) kodowanego przez gen inhibitora cyklozależnej kinazy 2A (*CDKN2A*). Rzadziej (15%) dochodzi do amplifikacji genu *MDM2*. Białko P14(ARF) łączy się z białkiem MDM2, nie dopuszczając do zahamowania przez nie czynności TP53. Efektem końcowym wymienionych zaburzeń molekularnych jest zmniejszenie antyapoptotycznych właściwości TP53.

Kompleks RB1

Białko RB1 (*retinoblastoma protein*) odgrywa istotną rolę w kontroli cyklu komórkowego. Zaburzenia dotyczące kompleksu RB1 stwierdza się przynajmniej u połowy chorych na pierwotne GBM [21]. Rzadko jednak (10%) nieprawidłowości dotyczą samego genu *RB1*. Najczęściej występują mutacje inaktywujące lub delecje dotyczące *CDKN2A* warunkujące niedobór P16^{INK4A} (inhibitora cyklu komórkowego).

Podsumowanie

Z powodu względnie dużej i wciąż rosnącej częstości występowania oraz złego rokowania GBM stanowi główny temat zainteresowań badaczy zajmujących się biologią molekularną glejaków. Postępy w tej dziedzinie przyczyniają się do częściowego zrozumienia mechanizmów prowadzących do kancerogenezy oraz progresji stopnia złośliwości glejaków w trakcie przebiegu choroby. Najprawdopodobniej obecność niektórych zjawisk molekularnych może być pomocna w określeniu rokowania różnych nowotworów wywodzących się z gleju. Poza znajdowaniem pojedynczych cech podejmuje się także próby profilowania genetycznego glejaków, ale informacje prognostyczne w ten sposób zdobywane mogą stanowić co najwyżej uzupełnienie dla najistotniejszych klinicznych czynników rokowniczych [22].

Odkrycia dotyczące biologii glejaków (stan *MGMT* i obecność kodelecji 1p/19q) już teraz umożliwiają wyodrębnianie chorych, którzy lepiej reagują na konwencjonalne leczenie cytotoksyczne i to właśnie ma — jak dotychczas — największe znaczenie praktyczne.

Wreszcie, w dobie gwałtownego rozwoju terapii ukierunkowanych molekularnie w onkologii poznanie zaburzeń molekularnych charakterystycznych dla gle-

jaków stanowi jedyny racjonalny sposób poszukiwania punktów uchwytu działania dla nowych leków. Niestety, heterogenność biologiczna i jednoczesne występowanie wielu różnorodnych zaburzeń genetycznych w glejakach, a zwłaszcza w GBM, sprawiają, że trudno wyobrazić sobie znalezienie uniwersalnego celu działania dla leków ukierunkowanych molekularnie. Teoretycznie bardzo obiecująca pod tym względem jest mutacja *EGFR-vIII*, ale jej dominację nad prawidłową formą genu stwierdza się tylko u 10% chorych na GBM [23]. Terapia antyangiogenna, którą w praktyce zaczyna się stosować, jak dotychczas jest leczeniem empirycznym, dla którego nie znaleziono żadnych czynników predykcyjnych.

Część informacji zawartych w niniejszym artykule przedstawiono podczas prezentacji wygłoszonej przez autora na konferencji „Biologia molekularna nowotworów w praktyce klinicznej”, która odbyła się w Warszawie w dniach 4–5 grudnia 2009 roku.

Piśmiennictwo

- Kleihues P., Louis D.N., Wiestler O.D., Burger P.C., Scheithauer B.W. WHO grading of tumours of the central nervous system. W: Louis D.N., Ohgaki H., Wiestler O.D., Cavenee W.K. (red.). WHO classification of tumours of the central nervous system. WHO Press, Geneva 2007; 10–11.
- Ohgaki H., Dessen P., Jourde B. i wsp. Genetic pathways to glioblastoma: a population-based study. *Cancer Res.* 2004; 64: 6892–6899.
- Ohgaki H., Kleihues P. Population-based studies on incidence, survival rates, and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2005; 64: 479–489.
- Trivedi R.N., Almeida K.H., Fornasaglio J.L., Schamus S., Sobol R.W. The role of base excision repair in the sensitivity and resistance to temozolomide-mediated cell death. *Cancer Res.* 2005; 65: 6394–6400.
- Friedman H.S., McLendon R.E., Kerby T. i wsp. DNA mismatch repair and O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase analysis and response to Temodal in newly diagnosed malignant glioma. *J. Clin. Oncol.* 1998; 16: 3851–3857.
- Hegi M.E., Diserens A.C., Gorlia T. i wsp. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* 2005; 352: 997–1003.
- Zawlik I., Vaccarella S., Kita D., Mittelbronn M., Franceschi S., Ohgaki H. Promoter methylation and polymorphisms of the MGMT gene in glioblastomas: a population-based study. *Neuroepidemiology* 2009; 32: 21–29.
- van den Bent M.J., Dubbink H.J., Sanson M. i wsp. MGMT promoter methylation is prognostic but not predictive for outcome to adjuvant PCV chemotherapy in anaplastic oligodendroglial tumors: a report from EORTC Brain Tumor Group Study 26951. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27: 5881–5886.
- Jenkins R.B., Blair H., Ballman K.V. i wsp. A t(1;19)(q10;p10) mediates the combined deletions of 1p and 19q and predicts a better prognosis of patients with oligodendroglioma. *Cancer Res.* 2006; 66: 9852–9861.
- Cairncross G., Berkey B., Shaw E. i wsp. Phase III trial of chemotherapy plus radiotherapy compared with radiotherapy alone for pure and mixed anaplastic oligodendroglioma: Intergroup Radiation Therapy Oncology Group Trial 9402. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24: 2707–2714.
- van den Bent M.J., Carpentier A.F., Brandes A.A. i wsp. Adjuvant procarbazine, lomustine, and vincristine improves progression-free survival but not overall survival in newly diagnosed anaplastic oligodendrogliomas and oligoastrocytomas: a randomized Euro-

- pean Organisation for Research and Treatment of Cancer phase III trial. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24: 2715–2722.
12. Reifenberger G., Kros J.M., Louis D.N., Collins V.P. Oligodendroglioma. W: Louis D.N., Ohgaki H., Wiestler O.D., Cavenee W.K. (red.). WHO classification of tumours of the central nervous system. WHO Press, Geneva 2007; 54–59.
 13. Yan H., Parsons D.W., Jin G. i wsp. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360: 765–773.
 14. Ohgaki H., Kleihues P. Genetic alterations and signaling pathways in the evolution of gliomas. *Cancer Sci.* 2009; Aug 6. [Epub ahead of print].
 15. Weidemann A., Johnson R.S. Biology of HIF-1 alpha. *Cell Death Differ.* 2008; 15: 621–627.
 16. Zhao S., Lin Y., Xu W. i wsp. Glioma-derived mutations in IDH1 dominantly inhibit IDH1 catalytic activity and induce HIF-1 alpha. *Science* 2009; 324: 261–265.
 17. Ohgaki H., Kleihues P. Genetic pathways to primary and secondary glioblastoma. *Am. J. Pathol.* 2007; 170: 1445–1453.
 18. Nicholas M.K., Lukas R.V., Jafri N.F., Faoro L., Salgia R. Epidermal growth factor receptor-mediated signal transduction in the development and therapy of gliomas. *Clin. Cancer Res.* 2006; 12: 7261–7270.
 19. Shinjima N., Tada K., Shiraishi S. i wsp. Prognostic value of epidermal growth factor receptor in patients with glioblastoma multiforme. *Cancer Res.* 2003; 63: 6962–6970.
 20. Tohma Y., Gratas C., Biernat W. i wsp. PTEN (MMAC1) mutations are frequent in primary glioblastomas (de novo) but not in secondary glioblastomas. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1998; 57: 684–689.
 21. Biernat W., Tohma Y., Yonekawa Y., Kleihues P., Ohgaki H. Alterations of cell cycle regulatory genes in primary (de novo) and secondary glioblastomas. *Acta Neuropathol.* 1997; 94: 303–309.
 22. Gravendeel L.A., Kouwenhoven M.C., Gevaert O. i wsp. Intrinsic gene expression profiles of gliomas are a better predictor of survival than histology. *Cancer Res.* 2009; 69: 9065–9072.
 23. Biernat W., Huang H., Yokoo H., Kleihues P., Ohgaki H. Predominant expression of mutant EGFR (EGFRvIII) is rare in primary glioblastomas. *Brain Pathol.* 2004; 14: 131–136.