

Diagnostyka i markery rokownicze u chorych na glejaki

François Ducray, Soufiane El Hallani, Ahmed Idbaih

Current Opinion in Oncology 2009, 21: 537–542.

Dr Ducray, Unité Inserm U842,
Service de Neurologie B,
Hôpital Neurologique,
Université Claude Bernard Lyon 1,
Lyon, Francja.

Dr Hallani, Unité Inserm U711,
Service de Neurologie Mazarin,
Groupe Hospitalier
Pitié-Salpêtrière, Université Pierre
et Marie Curie Paris VI, Paryż,
Francja.

Dr Idbaih, Unité Inserm U711,
Service de Neurologie Mazarin,
Groupe Hospitalier
Pitié-Salpêtrière, Université Pierre
et Marie Curie Paris VI, Paryż,
Francja.

Adres do korespondencji:

Dr François Ducray,
Neurologie B,
59 Boulevard Pinel,
69394 Lyon Cedex,
Francja;
e-mail:
francois.ducray@chu-lyon.fr

CEL PRACY

W niniejszym artykule przeglądowym przedstawiono najnowsze badania poświęcone diagnostyce oraz markerom rokowniczym u chorych na glejaki, takim jak gen fuzyjny *BRAF* w gwiazdziakach włosowatokomórkowych i jednoczesna delecja 1p/19q, stan metylotransferazy O-6-metyloguaniny-DNA oraz mutacje w genach dla 1 i 2 dehydrogenazy izocytrynianu (*IDH1/IDH2*) w glejakach rozlanych.

OSTATNIE ODKRYCIA

Niedawno wykazano, że zdarzeniem częstym i swoistym dla gwiazdziaków włosowatokomórkowych jest występowanie genu fuzyjnego *BRAF*, prowadzące do aktywacji szlaku kinazy białkowej aktywowanej mioginem. Proces ten może się stać punktem uchwytu leczenia. W glejakach w II lub III stopniu złośliwości oraz glejakach wielopostaciowych najważniejszymi markerami prognostycznymi i predykcyjnymi pozostają jednoczesna delecja 1p/19q oraz stan genu metylotransferazy O-6-metyloguaniny-DNA. Zidentyfikowane niedawno mutacje *IDH1/IDH2* są charakterystyczne dla glejaków rozlanych, często występują w glejakach w II lub III stopniu złośliwości i mają znaczenie rokownicze u chorych na glejaki w III stopniu złośliwości, a także na glejaki wielopostaciowe, w których są jednak charakterystyczne jedynie dla postaci wtórnych.

PODSUMOWANIE

Intensywne badania molekularne doprowadziły do odkrycia nowych markerów diagnostycznych i rokowniczych, które uściślają histomolekularną klasyfikację glejaków.

SŁOWA KLUCZOWE

jednoczesna delecja 1p/19q, *BRAF*, glejak, dehydrogenaza 1 izocytrynianu, metylotransferaza O-6-metyloguaniny-DNA

WPROWADZENIE

Histopatologiczna klasyfikacja glejaków nadal nie może być uznana za zadowalającą, nie tylko z powodu braku potwierdzalności wyników, lecz również z uwagi na brak precyzji w ustalaniu rokowania. Ograniczenia te wynikają z oparcia klasyfikacji na kryteriach subiektywnych, co dotyczy zarówno określania fenotypu, jak i stopnia złośliwości

nowotworu oraz z różnorodności podtypów molekularnych w poszczególnych postaciach histopatologicznych, z których każdy cechuje się odmiennym rokowaniem.¹ Zjawiska te utrudniają prowadzenie badań klinicznych i interpretację ich wyników. Konieczne jest zatem ustalenie obiektywnych markerów diagnostycznych i rokowniczych. W badaniach prowadzonych obecnie z udziałem chorych na glejaki w II lub III stopniu złośliwości uczestników dzieli się na podgrupy w zależności od występowania lub braku jednoczesnej delecji 1p/19q, a w badaniach poświęconych glejakom wielopostaciowym chorzy przydzielani są do poszczególnych podgrup w zależności od stanu mutacji w genie metylotransferazy O-6-metyloguaniny-DNA (O-6-methylguanine-DNA methyltransferase; *MGMT*). Niedawno w dużych badaniach dotyczących genomów^{2••-4••} wyodrębniono dwa nowe markery: rearanzację genu *BRAF* w gwiaździakach włosowatokomórkowych oraz mutacje w genach dehydrogenazy izocytrynianu 1 (isocitrate dehydrogenase 1; *IDH1*) i dehydrogenazy izocytrynianu 2 (*IDH2*) w glejakach rozlanych. Markery te są podstawą do opracowania nowej klasyfikacji glejaków, opartej jednocześnie na charakterystyce histologicznej i molekularnej.

GEN FUZYJNY *BRAF*

Do niedawna niewiele wiedziano o molekularnych mechanizmach leżących u podstaw powstawania gwiaździaków włosowatokomórkowych. Podczas dwóch badań opartych na mikromacierzach^{5,6} po raz pierwszy wykazano powtarzalne pojawianie się dodatkowych fragmentów materiału genetycznego w regionie 7q34 w gwiaździakach włosowatokomórkowych. W pierwszym z tych badań stwierdzono powielenie fragmentu i nadmierną ekspresję *BRAF*, w drugim zaś występowanie dodatkowego materiału genetycznego oraz nasilenie ekspresji kinazy 2 białka oddziałującego z homeodomeną (homeodomain interacting protein kinase 2; *HIPK2*).^{5,6} Następnie Jones i wsp.^{4••} wykazali, że pojawienie się dodatkowego materiału genetycznego w locus 7q34 odpowiada tandemowej duplikacji w locus *BRAF*, prowadzącej do powstania nowego onkogenowego genu fuzyjnego zawierającego fragment kodujący konstytutywnie aktywną domenę kinazy *BRAF*. Ten gen fuzyjny złożony z dodatkowej sekwencji w pozycji 7q34/*BRAF* występował w 29 z 44 ocenianych gwiaździaków włosowatokomórkowych (66%). Obecność genu stwierdzono we wszystkich grupach wiekowych chorych oraz we wszystkich umiejscowieniach nowotworu, przy czym nie wykazano jego znaczenia rokowniczego. Genu fuzyjnego *BRAF* nie stwierdzono natomiast w 60 gwiaździakach anaplastycznych ani 184 glejakach wielopostaciowych. Wykazano natomiast występowanie genu jedynie w sześciu spośród 118 glejaków w II stopniu złośliwości. Ta grupa sześciu chorych składała się jednak z dzieci lub młodych dorosłych, u których nowotwór był umiejscowiony w ob-

rzebie tylnego dołu czaszki, a czas przeżycia był wyjątkowo długi, co świadczy, że w rzeczywistości u tych chorych mógł występować gwiaździak włosowatokomórkowy błędnie rozpoznany jako glejak w II stopniu złośliwości. Gen fuzyjny *BRAF* koduje białko o konstytutywnej aktywności kinazy i uruchamia szlak aktywowanej mitogenem kinazy białkowej (miogen-activated protein kinase; *MAPK*).^{4••} Co ciekawe, mutacje w genie neurofibryminy 1 (neurofibromin 1; *NF1*), występujące w gwiaździakach włosowatokomórkowych związanych z *NF1*, także aktywują szlak *MAPK*, ponieważ *NF1* hamuje aktywację *RAS*. Jones i wsp.^{7•} odkryli zmiany genetyczne prowadzące do aktywacji szlaku *MAPK* w 82% badanych gwiaździaków włosowatokomórkowych. Najczęstszym zdarzeniem była ekspresja genu fuzyjnego *BRAF* (66%), kolejnymi zaś mutacje *NF1* (7%), *BRAF* (7%) oraz pojawienie się onkogenowego genu fuzyjnego *RAF1* (2%), odkrytego u pojedynczego chorego z tandemową duplikacją w pozycji 3p25, zblizoną do wystąpienia dodatkowego materiału genetycznego w pozycji 7q34.^{7•} Wszystkie z wymienionych zaburzeń genetycznych wzajemnie się wykluczały, co świadczy, że pojedyncza zmiana wpływająca na szlak *MAPK* wystarcza do zapoczątkowania rozwoju gwiaździaka włosowatokomórkowego.^{4••,7•} Z uwagi na swą częstość występowania i swoistość fuzyjny gen *BRAF* może się stać ważnym markerem diagnostycznym. Przyjęcie szlaku przemian *MAPK* za punkt uchwytu działania terapeutycznego może być interesującą strategią u chorych z nawrotem nowotworu po pierwotnie doszczętnym wycięciu pierwotnego ogniska.^{4••,7•}

JEDNOCZESNA DELECJA CHROMOSOMU 1p/19q

Jednoczesną delecję 1p/19q po raz pierwszy obserwowali w skąpodrzewiakach Reifenger i wsp.⁸ w 1994 r., po czym w 1998 r. Cairncross i wsp.⁹ wykazali, że jest ona silnym czynnikiem przepowiadającym odpowiedź tej grupy nowotworów na chemioterapię. Obecnie dobrze wiadomo, że jednoczesna delecja 1p/19q jest skutkiem niezrównoważonej translokacji między całym ramieniem 19p do 1q.^{10,11} Na poziomie genomu translokacja ta odpowiada całkowitej utracie ramienia 1p i 19q. Ważne jest zatem odróżnienie całkowitej jednoczesnej delecji 1p/19q, która odpowiada translokacji, od częściowych delecji odległych ramienia 1p, najczęściej 1p36.^{12•,13,14} W rzeczywistości częściowe delecje 1p36 występują na ogół w gwiaździakach i towarzyszy im niekorzystne rokowanie.^{13,14} Badanie wyłącznie loci 1p36 (obecnie badanie standardowe) prowadzone za pomocą fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (fluorescence *in-situ* hybridization; *FISH*) lub analizy mikrosatelitarnej może być niewystarczające w celu odróżnienia obu tych typów delecji 1p, decydujących o przeciwnym rokowaniu.¹⁵ Całkowita jednoczesna delecja 1p/19q praktycznie zawsze wiąże się z mutacją *IDH1/IDH2* i wzajemnie wyklucza się z muta-

cjami genu kodującego białko TP53 nowotworu (*TP53*), mutacją receptora czynnika wzrostu naskórka (*EGFR*) oraz innymi amplifikacjami genowymi.^{2•,12•,16•,17•,18••} Podejrzewano, że punktem uchwytu translokacji jest gen *Notch2*, umiejscowiony w 1p w pobliżu obszaru centrosomalnego, ale niedawno wykluczono taką możliwość.^{19,20} Nie wyjaśniono dotąd molekularnych mechanizmów leżących u podstaw związku między jednoczesną delecją 1p/19q a dobrym rokowaniem oraz wrażliwością na radio- i chemioterapię. Częściowym wytłumaczeniem może być częstsza metylacja promotora genu *MGMT*.^{21,22} Badanie ekspresji genów za pomocą mikromacierzy wykazało, że w glejakach z jednoczesną delecją 1p/19q zachodzi ekspresja genów charakterystycznych dla komórek nerwowych, co wiąże się z dobrym rokowaniem u chorych na glejaki w wysokim stopniu zróżnicowania.^{23•,24}

Istnieje silny związek między jednoczesną delecją 1p/19q a klasycznymi cechami skąpodrzewiaków (np. występowaniem charakterystycznej okołojądrowej otoczki i charakterystycznego siatkowatego wzoru sieci naczyńniowej).^{25,26} Jednoczesna delecja 1p/19q występuje w 61-89% skąpodrzewiaków anaplastycznych, ale tylko u 13-20% chorych na anaplastyczne skąpodrzewiakogwiazdziaki.²⁷ Cechy morfologiczne nie pozwalają jednak dokładnie przewidzieć stanu delecji 1p/19q.²⁸

Rola jednoczesnej delecji 1p/19q jako czynnika rokowniczego lub przepowiadającego pozostaje przedmiotem dyskusji. Z jednej strony Ricard i wsp.²⁹ wykazali, że glejaki w niskim stopniu złośliwości z jednoczesną delecją 1p/19q cechują się znacznie wolniejszym wzrostem niż glejaki pozbawione takiej delecji (3,4 vs 5,9 mm/rok). Z kolei Weller i wsp.³⁰ posługując się analizą wielowariantową, stwierdzili, że brak lub występowanie delecji 1p/19q nie jest czynnikiem rokowniczym dla przeżycia bez progresji nowotworu (progression-free survival; PFS) chorych, u których po operacji nie zastosowano radioterapii ani chemioterapii.

W przypadku zastosowania chemioterapii, radioterapii lub obu tych metod jednoczesna delecja 1p/19q jest istotnym czynnikiem przepowiadającym PFS i przeżycie całkowite (overall survival; OS) u chorych na glejaki zarówno w niskim stopniu złośliwości, jak i anaplastyczne.³¹⁻³³ Mediana czasu przeżycia chorych na glejaki w niskim stopniu złośliwości i anaplastyczne skąpodrzewiaki wynosi odpowiednio 12-15 lat i ponad 6-7 lat, jeśli występuje delecja 1p/19q oraz odpowiednio 5-8 lat i 2-3 lata, gdy to zjawisko nie występuje.^{10,31,32,34} Odsetek odpowiedzi na chemioterapię sięga 59-92% wśród chorych z delecją 1p/19q oraz 0-46% wśród chorych, u których delecja ta nie występuje.^{21,33,35-37} W chorych na glejaki w niskim stopniu złośliwości leczonych temozolomidem Ricard i wsp.²⁹ stwierdzili, że główna różnica między guzami z delecją 1p/19q a guzami pozbawionymi tej delecji polegała na czasie trwania odpowiedzi na leczenie, zatem występowanie delecji 1p/19q można uznać raczej za czynnik przepowia-

jący opóźnienie w nabyciu oporności na chemioterapię niż czynnik pozwalający przewidzieć odpowiedź na jej zastosowanie. W badaniu przeprowadzonym niedawno z udziałem 25 chorych na glejaka mózgu leczonych temozolomidem Kaloshi i wsp.^{38•} wykazali, że delecja 1p/19q była silnym czynnikiem przepowiadającym odpowiedź (88 vs 25%), PFS (24,5 vs 13,7 miesiąca) oraz OS (66,8 vs 15,2 miesiąca). Próbuąc wyłonić prosty i wiarygodny marker delecji, Ducray i wsp.^{39•} oceniali ekspresję alfa-interneksyny (alpha-interneksin; INA, białka oddziałującego z neurofilamentami), wykonując barwienie immunoistochemiczne 122 próbek glejaka. Wykazali, że u chorych na skąpodrzewiaki ekspresja INA jako markera delecji 1p/19q cechowała się swoistością wynoszącą 86% i czułością wynoszącą 96%, a jej dodatnia i ujemna wartość przepowiadająca wyniosły odpowiednio 76 i 98%.^{39•} U chorych na glejaki w III stopniu złośliwości ekspresja INA, podobnie jak jednoczesna delecja 1p/19q, korelowała z dłuższym PFS (52,6 vs 8,7 miesiąca) i OS (121,1 vs 31,4 miesiąca).

Jednoczesna delecja 1p/19q wydaje się zatem zarówno czynnikiem rokowniczym, jak i pozwalającym przewidzieć odpowiedź na chemioterapię lub radioterapię. Dlatego w trwających badaniach prowadzonych z udziałem chorych na glejaki w III stopniu zróżnicowania wyróżnia się podgrupy chorych na podstawie występowania lub braku delecji 1p/19q, niezależnie od fenotypu.

METYLOTRANSFERAZA O-6-METYLOGUANINY-DNA

MGMT jest enzymem naprawy DNA usuwającym alkilowane uszkodzenia zapoczątkowywane przez leki cytotoksyczne. Zatem znaczna aktywność *MGMT* w komórkach nowotworu może sprzyjać oporności na chemioterapię. W przeciwieństwie do tego zahamowanie aktywności genu *MGMT* przez metylację jego promotora przyczynia się do ograniczenia ekspresji białka *MGMT* i ograniczenia możliwości naprawy DNA, a przez to zwiększenia wrażliwości komórek nowotworowych na działanie leków alkilujących.

W kilku badaniach wskazywano na przydatność w praktyce klinicznej oceny *MGMT* w przewidywaniu korzystnego wpływu leków alkilujących, w tym pochodnych nitrozomocznika, a ostatnio temozolomidu, u chorych na glejaki wielopostaciowe.^{40,41} Metylacja *MGMT* występuje u 40-50% chorych na te nowotwory. Podczas badania European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC/National Cancer Institute of Canada (NCIC) 26981/22981, oceniającego skutki jednoczesnego i adiuwantowego leczenia temozolomidem w porównaniu z wyłączną radioterapią u chorych na glejaki wielopostaciowe, metylację *MGMT* oceniano za pomocą swoistej dla metylacji PCR (methylation specific PCR; MSP) w reprezentatywnej podgrupie 206 chorych, od których uzyskano wystarczająco dużo materiału tkankowego.^{42•,43} Metylacja *MGMT* okazała się najsilniej-

szym czynnikiem przepowiadającym wynik leczenia oraz korzyści płynące z zastosowania temozolomidu. Po przeanalizowaniu danych pochodzących z 5-letniej obserwacji uczestników tego badania Stupp i wsp.^{42••} stwierdzili, że wśród chorych z metylacją *MGMT* otrzymujących chemioradioterapię mediana czasu przeżycia wyniosła 23,4 miesiąca w porównaniu z 15,3 miesiąca w grupie poddanej wyłącznie napromienianiu ($p=0,004$). Nieoczekiwanie mediana czasu przeżycia była również nieznacznie dłuższa wśród otrzymujących chemioradioterapię chorych, u których nie stwierdzono metylacji *MGMT* (12,6 vs 11,8 miesiąca, $p=0,035$). Spostrzeżenie to było jednak oparte na obserwacji bardzo niewielkiej grupy chorych o znanych cechach molekularnych i stosunkowo długim przeżyciu.^{42••} Potwierdzenie uzyskanych wyników może również sugerować występowanie alternatywnych mechanizmów wrażliwości na chemioterapię. Murat i wsp.^{44•} przeprowadzili analizę mikro-macierzy ekspresji genów 80 chorych na glejaki, uczestniczących w badaniu EORTC/NCIC 26981/22981 i stwierdzili, że oprócz stanu metylacji genu *MGMT* na odpowiedź na chemioradioterapię wpływa ekspresja kilku grup genów, przy czym sygnatura genowa komórek glejaka (zdominowana przez geny homeobox [*HOX*]) oraz sygnatura pod względem ekspresji EGFR wiązały się z opornością na leczenie i złym rokowaniem. Ostateczną wartość przepowiadającą metylacji promotora *MGMT* ocenia się w trwającym międzygrupowym badaniu Radiation Therapy Oncology Group (RTOG)/EORTC.⁴⁵ Podczas badania przeprowadzonego niedawno z udziałem 103 chorych na glejaka Brandes i wsp.^{46•} wykazali, że wśród chorych z metylacją *MGMT* (stwierdzoną na podstawie MSP) prawdopodobieństwo rzekomej progresji nowotworu (pseudoprogresji) po jednoczesnym zastosowaniu chemioradioterapii było większe niż wśród chorych pozbawionych metylacji *MGMT* (58 vs 16%), natomiast mniej prawdopodobne jest wystąpienie u nich wczesnej progresji (5 vs 24%). Stan promotora genu *MGMT* pozwolił przewidzieć rzekomą progresję u 91,3% chorych z metylacją, ale wczesną progresję tylko u 59% chorych pozbawionych metylacji.^{36•} Brandes i wsp.⁴⁷ stwierdzili też, że cechy nawrotów po radiochemioterapii różniły się w obu grupach chorych, bowiem wśród chorych z metylacją *MGMT* wznowy pojawiały się częściej poza obszarem napromieniania (44 vs 15%).

Metylacja *MGMT* jest częstsza u chorych na glejaki źle zróżnicowane lub anaplastyczne, występuje bowiem u 60-90% spośród nich. Ponadto w tej grupie dostrzega się silny związek między jednoczesną delecją 1p/19q a występowaniem metylacji promotora.^{21,22,48} Podczas badania z udziałem 68 chorych na źle zróżnicowane glejaki leczonych temozolomidem występowanie zmetylowanego *MGMT* korelowało z dłuższym PFS.

Najlepsza metoda oceny stanu *MGMT* nadal jest przedmiotem dyskusji.⁴⁹ Coraz więcej dowodów świadczy, że analiza metylacji promotora *MGMT* za pomocą MSP nie

koreluje dobrze z ekspresją białka MGMT wykrywaną metodami immunohistochemicznymi, biorąc pod uwagę różnorodność immunoreaktywności w obrębie nowotworów oraz możliwość wykrycia ekspresji MGMT z powodu zanieczyszczenia badanego materiału prawidłowymi komórkami. W kilku badaniach, w których posługiwano się półilościową metodą barwienia immunohistochemicznego, stwierdzono dodatnią korelację między brakiem ekspresji a wynikiem leczenia.⁵⁰ Natomiast Preusser i wsp.⁵¹ oceniali przydatność immunohistochemicznej analizy MGMT w mikromacierzach tkanek pobranych metodą biopsji od 164 chorych na glejaki, uczestniczących w badaniu EORTC/NCIC 26981/22981, wykorzystując dwa dostępne na rynku przeciwciała przeciw MGMT. Stwierdzono, że różnice spowodowane badaniem przez różne osoby oraz brak związku między stanem metylacji promotora MGMT a przeżyciem chorego, utrudniają wykorzystywanie badania immunohistochemicznego w kierunku oceny MGMT jako klinicznego markera biologicznego w rutynowej diagnostyce.⁵¹ Everhard i wsp.⁵² oceniali metodą pirosekwencjonowania stopień metylacji wysepek CpG potencjalnie związanych z ekspresją MGMT u 54 chorych na glejaki, po czym analizowali w nich stan ekspresji mRNA MGMT. Stwierdzono zgodność statystyczną między metylacją MGMT a ekspresją (85%, $p < 0,0001$), przy czym metylacja pewnych wysepek CpG lepiej korelowała z ekspresją MGMT niż metylacja innych. Nadal jednak występowała znamienna rozbieżność między metylacją MGMT a ekspresją mRNA dla tego białka.⁵²

Zatem stan metylacji genu MGMT jest ważnym czynnikiem pozwalającym przewidzieć odpowiedź na chemioterapię u chorych na glejaki, ale określenie jego wartości rokowniczej i przepowiadającej u chorych na glejaki w II lub III stopniu złośliwości oraz optymalna technika oceny wymagają przeprowadzenia dalszych badań.

MUTACJE DEHYDROGENAZY 1 I 2 IZOCYTRYNIANIU

IDH1 katalizuje oksydacyjną karboksylację izocytrynianu do α -ketoglutaranu, w wyniku czego powstaje zredukowany NADPH. IDH1 jest głównym źródłem NADPH w cytozolu koniecznym dla odnowy zredukowanego glutationu, który pełni rolę głównego przeciwutleniacza w komórkach ssaków. W przeprowadzonym niedawno unikalnym badaniu genomu nieoczekiwanie odkryto mutacje w centrum aktywnym IDH1 związane z glejakami. Parsons i wsp.³ sekwencjonowali 20 661 kodujących białka genów 22 glejaków wielopostaciowych i wykazali, że w 12% próbek występowały mutacje w genie *IDH1*. Wszystkie znajdowały się w pozycji 395 (132 pozycja aminokwasowa) transkryptu IDH1, a większość z nich stanowiły substytucje G→A, prowadzące w białku do substytucji Arg→His. Parsons i wsp.³ stwierdzili występowanie mutacji *IDH1* u chorych młodych oraz u większości chorych na glejaki wtórne, a także

wykazali, że takiej mutacji towarzyszyło wydłużenie OS. Wyniki kolejnych badań^{2•,16•,18•,53-55,56•,57} ujawniły, że mutacje *IDH1* są charakterystyczne dla glejaków rozlanych i bardzo często występują u chorych na glejaki w II i III stopniu złośliwości (>70%). Praktycznie nie wykrywa się ich u chorych na pozostałe nowotwory ośrodkowego układu nerwowego (OUN) ani nowotwory innych narządów. Yan i wsp.^{2••} badali sekwencje genu *IDH1* i spokrewnionego z nim genu *IDH2* u 445 chorych na nowotwory OUN i 494 chorych na nowotwory o innym umiejscowieniu. Stwierdzili oni, że chorzy pozabawieni mutacji *IDH1* mogą być nosicielami mutacji w genie *IDH2*, w analogicznej pozycji w sekwencji aminokwasowej (R172). Potwierdzili występowanie mutacji *IDH1* lub *IDH2* u 86% chorych na gwiaździki i skąpodrzewiaki w II stopniu złośliwości (70/81), u 82% na gwiaździki i skąpodrzewiaki w III stopniu złośliwości (72/88) oraz u 85% chorych na wtórne glejaki wielopostaciowe (11/13), przy czym wśród chorych na pierwotne glejaki mutacje *IDH1* występowały tylko u 5% (6/123). Mutacji *IDH1/IDH2* nie stwierdzono u żadnego z chorych na gwiaździka włosowatokomórkowego (0/21), wyściółczaka (0/30), rdzeniaka (0/55) ani na nowotwór umiejscowiony poza OUN (0/494). Mutacje *IDH1* wykryto także u dorosłych chorych na nadnamiotowe nowotwory neuroektodermalne (u pięciu spośród 12 badanych, 42%) oraz u nielicznych chorych na raka gruczołu krokowego (2,7%) lub ostrą białaczkę limfoblastyczną z limfocytów B (1,7%).^{53,55,57} Mutacje *IDH1/IDH2* charakteryzuje bardzo silna wartość prognostyczna u chorych na gwiaździki w III stopniu złośliwości lub glejaki wielopostaciowe.^{2••} Rzeczywiście, porównanie chorych na gwiaździki w III stopniu złośliwości oraz na glejaki wielopostaciowe z mutacjami *IDH1/IDH2* z chorymi na analogiczne nowotwory, u których nie wykryto mutacji, wykazało, że OS wyniosło odpowiednio 65 vs 20 miesięcy ($p < 0,001$) oraz 31 vs 15 miesięcy ($p = 0,002$).^{2••} W grupie 404 chorych na glejaki Sanson i wsp.^{18••} stwierdzili ścisły związek mutacji *IDH1* z delecją 1p/19q (u 90% z mutacją *IDH1*) i metylacją MGMT, ale wzajemne wykluczanie się amplifikacji *EGFR* (u 1% z mutacją *IDH1*, 1/90) i utraty chromosomu 10 (u 4% z mutacją *IDH1*, 7/169). W tej grupie, występowaniu mutacji *IDH1* towarzyszyło uzyskanie lepszego wyniku leczenia chorych na nowotwór w II stopniu złośliwości (150,9 vs 60,1 miesiąca), w III stopniu (81,1 vs 19,4 miesiąca) lub IV stopniu (27,4 vs 14 miesięcy). Wieloczynnikowa analiza, przeprowadzona po skorygowaniu z uwzględnieniem stopnia złośliwości, wieku, stanu MGMT, profilu genomowego oraz leczenia, potwierdziła, że występowanie mutacji *IDH1* jest korzystnym markerem prognostycznym (iloraz zagrożeń 0,29; przedział ufności [PU] 0,15-0,55).^{18••} Również Ichimura i wsp.^{16•} podczas badania z udziałem 364 chorych na glejaki stwierdzili na podstawie analizy jednoczynnikowej (lecz nie wieloczynnikowej), że mutacji *IDH1* towarzyszyło wydłużenie OS.

Autorzy trzech badań^{2••,16•,58••} zgodnie donieśli o inaktywacji enzymu pod wpływem mutacji *IDH1* w przebiegu nowotworów. Zhao i wsp.^{58••} wykazali też, że mutacje *IDH1* zaburzają powinowactwo enzymu do jego substratu, izocytrynianu, i w sposób dominujący hamują aktywność prawidłowego genu *IDH1*, tworząc katalitycznie nieaktywne heterodimery, w wyniku czego zmniejsza się wytwarzanie α -ketoglutaranu. Ponadto *IDH1* wydaje się wykazywać działanie supresora nowotworów, który inaktywowany przez mutacje przyczynia się do nowotworzenia, częściowo na drodze zapoczątkowania szlaku indukowanego niedotlenieniem czynnika 1 (hypoxia-inducible factor; HIF-1).^{58••} Białko *IDH1* jest jedynym znanym źródłem peroksysomalnego NADPH, odgrywa zatem kluczową rolę w kontrolowaniu uszkodzeń oksydacyjnych. Dlatego niewykorzystane, że zmniejszenie stężeń NADPH spowodowane mutacjami *IDH1* również może sprzyjać nowotworzeniu.

W przyszłości mutacje *IDH1/IDH2* będzie można wykorzystać jako markery diagnostyczne, np. w celu różnicowania glejaków w II stopniu złośliwości z gwiaździkami włosowatokomórkowymi w niejednoznacznych sytuacjach klinicznych,^{59•} a także jako czynniki prognostyczne, na przykład, u chorych na glejaki w III stopniu zróżnicowania. Należy też ustalić, w jakich sytuacjach klinicznych mutacje *IDH1* i *IDH2* mogą mieć znaczenie rokownicze lub pozwalające przewidzieć odpowiedź na leczenie.

PODSUMOWANIE

Dzięki wyodrębnieniu genu fuzyjnego *BRAF* oraz mutacji *IDH1/IDH2* uczyniono ważny krok w kierunku bardziej obiektywnej klasyfikacji glejaków, opartej na ocenie wzajemnie wykluczających się zaburzeń genetycznych. Gen fuzyjny *BRAF* i mutacje *IDH1/IDH2* wzajemnie się wykluczają, podobnie jak mutacje *IDH1/IDH2*, jednoczesna delecja 1p/19q i mutacje *TP53* u chorych na glejaki. Analogiczne zjawisko dotyczy jednoczesnej delecji 1p/19q i amplifikacji *EGFR* oraz innych genów. Jest bardzo prawdopodobne, że w najbliższej przyszłości kolejne przeprowadzone na szeroką skalę badania genomowe lub ekspresji genów zwiększą dokładność molekularnej klasyfikacji glejaków. Identyfikacja tych dwóch nowych markerów umożliwi również zastosowanie nowych strategii terapeutycznych. Chodzi o hamowanie szlaku MAPK u chorych na gwiaździki włosowatokomórkowe oraz suplementację α -ketoglutaranu, produktu reakcji katalizowanej przez *IDH1*, jeśli potwierdzi się, że jego niedobór jest głównym czynnikiem wywołującym powstawanie glejaków z mutacją *IDH1/IDH2*. Ważnymi czynnikami rokowniczymi oraz przepowiadającymi u chorych na glejaki są również stan metylacji MGMT oraz delecja 1p/19q. W prowadzonych obecnie badaniach klinicznych są one wykorzystywane w celu doboru uczestników lub wyróżnienia wśród nich podgrup. Udoskonalenie metod

oceny tych markerów i określenie ich rzeczywistej roli wymaga jednak przeprowadzenia dalszych badań. Nie wyjaśniono związku między delecją 1p/19q a możliwością uzyskania korzystnego wyniku leczenia. Nie wiadomo też, czy metylacja promotorowego regionu *MGMT* jest czynnikiem przepowiadającym, czy raczej odzwierciedla globalny stan metylacji w obrębie genomu towarzyszący osiągnięciu lepszych wyników. Jego wartość rokownicza może być odmienna u chorych na różne typy glejaków, co sugerowano we wcześniejszych badaniach (wskazujących na prognostyczną rolę metylacji *MGMT* u chorych na glejaki w III stopniu złośliwości, zaś pre-

dykcyjną u chorych na glejaki wielopostaciowe). Przeprowadzenia starannych badań wymagają też ustalenia dotyczące rokowniczego i przepowiadającego znaczenia odpowiednio mutacji *IDH1/IDH2*, stanu *MGMT* oraz jednoczesnej delecji 1p/19q.

Tłumaczenie oryginalnej angielskiej wersji artykułu z Current Opinion in Oncology, November 2009; 21 (6): 537-542, wydawanego przez Lippincott Williams & Wilkins. Lippincott Williams & Wilkins nie ponosi odpowiedzialności za błędy powstałe w wyniku tłumaczenia ani nie popiera i nie poleca jakichkolwiek produktów, usług lub urządzeń.

PIŚMIENNICTWO

- szczególnie interesujące
- wyjątkowo interesujące

- Louis DN, Holland EC, Cairncross JG. Glioma classification: a molecular reappraisal. *Am J Pathol* 2001; 159:779–786.
- Yan H, Parsons DW, Jin G, et al. *IDH1* and *IDH2* mutations in gliomas. *N Engl J Med* 2009;360:765–773.
- Wykazano, że mutacje *IDH1* są swoiste dla glejaków rozlanych i często występują u chorych na glejaki w II lub III stopniu złośliwości, a rokowanie jest wówczas korzystne. Ponadto u chorych na glejaki pozbawione mutacji *IDH1* mogą niekiedy występować mutacje *IDH2*.
- Parsons DW, Jones S, Zhang X, et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science* 2008;321:1807–1812.
- Przeanalizowano sekwencje ponad 20 000 genów u 22 chorych na glejaki i odkryto mutację *IDH1*.
- Jones DT, Kocialkowski S, Liu L, et al. Tandem duplication producing a novel oncogenic *BRAF* fusion gene defines the majority of pilocytic astrocytomas. *Cancer Res* 2008;68:8673–8677.
- Wykorzystując macierze genomowe wykazano, że u 66% chorych na gwiaździate włosowatokomórkowe występuje tandemowa duplikacja w locus 7q34, prowadząca do powstania nowego onkogenego białka fuzyjnego zawierającego konstytutywnie aktywną domenę kinazy białkowej *BRAF*.
- Pfister S, Janzarik WG, Remke M, et al. *BRAF* gene duplication constitutes a mechanism of MAPK pathway activation in low-grade astrocytomas. *J Clin Invest* 2008;118:1739–1749.
- Deshmukh H, Yeh TH, Yu J, et al. High-resolution, dual-platform aCGH analysis reveals frequent *HIPK2* amplification and increased expression in pilocytic astrocytomas. *Oncogene* 2008;27:4745–4751.
- Jones DT, Kocialkowski S, Liu L, et al. Oncogenic *RAF1* rearrangement and a novel *BRAF* mutation as alternatives to *KIAA1549:BRAF* fusion in activating the MAPK pathway in pilocytic astrocytoma. *Oncogene* 2009; 28:2119–2123.
- Wykazano, że u większości chorych na gwiaździate włosowatokomórkowe (82%) szlak MAPK jest aktywowany przez zdarzenie zmieniające ekspresję genu.
- Reifenberger J, Reifenberger G, Liu L, et al. Molecular genetic analysis of oligodendroglial tumors shows preferential allelic deletions on 19q and 1p. *Am J Pathol* 1994;145:1175–1190.
- Cairncross JG, Ueki K, Zlatescu MC, et al. Specific genetic predictors of chemotherapeutic response and survival in patients with anaplastic oligodendrogliomas. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:1473–1479.
- Jenkins RB, Blair H, Ballman KV, et al. 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.
- Griffin CA, Burger P, Morsberger L, et al. Identification of der (1;19)(q10;p10) in five oligodendrogliomas suggests mechanism of concurrent 1p and 19q loss. *J Neuropathol Exp Neurol* 2006;65:988–994.
- Idbaih A, Marie Y, Lucchesi C, et al. BAC array CGH distinguishes mutually exclusive alterations that define clinicogenetic subtypes of gliomas. *Int J Cancer* 2008; 122:1778–1786.
- Za pomocą macierzy wykorzystującej sztuczny chromosom bakteryjny (bacterial artificial chromosome; BAC) w porównawczej hybrydyzacji genomowej (comparative genomic hybridization; CGH) do badania 112 glejaków wyłoniono trzy odrębne podgrupy glejaków o różnej charakterystyce kliniczno-genetycznej i odmiennej odpowiedzi na leczenie.
- Ichimura K, Vogazianou AP, Liu L, et al. 1p36 is a preferential target of chromosome 1 deletions in astrocytic tumours and homozygously deleted in a subset of glioblastomas. *Oncogene* 2008;27:2097–2108.
- Idbaih A, Marie Y, Pierron G, et al. Two types of chromosome 1p losses with opposite significance in gliomas. *Ann Neurol* 2005;58:483–487.
- Idbaih A, Kouwenhoven M, Jeuken J, et al. Chromosome 1p loss evaluation in anaplastic oligodendrogliomas. *Neuropathology* 2008;28:440–443.
- Ichimura K, Pearson DM, Kocialkowski S, et al. *IDH1* mutations are present in the majority of common adult gliomas but are rare in primary glioblastomas. *Neuro Oncol* 2009. [Epub ahead of print]
- Stwierdzono, że mutacje *IDH1*, w połączeniu z mutacjami *TP53* lub całkowitą utratą 1p/19q, są częstą i wcześniej występującą zmianą u większości chorych na skąpodrzewiaki, rozlane gwiaździate, gwiaździate anaplastyczne oraz wtórne glejaki wielopostaciowe, lecz nie u chorych na pierwotne glejaki wielopostaciowe.
- Idbaih A, Criniere E, Marie Y, et al. Gene amplification is a poor prognostic factor in anaplastic oligodendrogliomas. *Neuro Oncol* 2008;10:540–547.
- Jednoczesna delecja 1p/19q oraz powielenia genów wzajemnie wykluczają się u chorych na skąpodrzewiaki w III stopniu zaawansowania, a powielenia genów są niezależnym czynnikiem pozwalającym przewidzieć złe rokowanie w tej grupie chorych.
- Sanson M, Marie Y, Paris S, et al. Isocitrate dehydrogenase 1 (*IDH1*) codon 132 mutation is related to glioma genomic profile and prognosis. *J Clin Oncol* (in press).
- Przeanalizowano kodon 132 genu *IDH1* u 404 chorych na glejaki (u 100 w II stopniu złośliwości, u 121 w III stopniu i u 183 w IV stopniu), a wyniki odniesiono do wyników analizy mikromacierzy profilu genomowego CGH, stanu *MGMT* oraz wyników leczenia. Uznano, że w analizie wieloczynnikowej mutacja *IDH1* jest silnym markerem rokowniczym u chorych na glejaki w II-IV stopniu zaawansowania.
- Benetkiewicz M, Idbaih A, Cousin PY, et al. *NOTCH2* is neither rearranged nor mutated in t(1;19) positive oligodendrogliomas. *PLoS ONE* 2009;4:e4107.
- Boulay JL, Miserez AR, Zweifel C, et al. Loss of *NOTCH2* positively predicts survival in subgroups of human glial brain tumors. *PLoS ONE* 2007;2:e576.
- Brandes AA, Tosoni A, Cavallo G, et al. Correlations between O6-methylguanine DNA methyltransferase promoter methylation status, 1p and 19q deletions, and response to temozolomide in anaplastic and recurrent oligodendroglioma: a prospective GICNO study. *J Clin Oncol* 2006;24:4746–4753.
- Mollemann M, Wolter M, Felsberg J, et al. Frequent promoter hypermethylation and low expression of the *MGMT* gene in oligodendroglial tumors. *Int J Cancer* 2005;113:379–385.
- Ducray F, Idbaih A, de Reynies A, et al. Anaplastic oligodendrogliomas with 1p19q codeletion have a proneural gene expression profile. *Mol Cancer* 2008;7:41.

- Badanie łączące jednoczesną delecję 1p/19q ze swoistym proneuronalnym profilem ekspresji genów.
- 24 Phillips HS, Kharbanda S, Chen R, et al. Molecular subclasses of high-grade glioma predict prognosis, delineate a pattern of disease progression, and resemble stages in neurogenesis. *Cancer Cell* 2006;9:157–173.
- 25 Kouwenhoven MC, Gorlia T, Kros JM, et al. Molecular analysis of anaplastic oligodendroglial tumors in a prospective randomized study: a report from EORTC study 26951. *Neuro Oncol* 2009. [Epub ahead of print]
- 26 Giannini C, Burger PC, Berkey BA, et al. Anaplastic oligodendroglial tumors: refining the correlation among histopathology, 1p 19q deletion and clinical outcome in Intergroup Radiation Therapy Oncology Group Trial 9402. *Brain Pathol* 2008;18:360–369.
- 27 Bromberg JE, van den Bent MJ. Oligodendrogliomas: molecular biology and treatment. *Oncologist* 2009;14:155–163.
- 28 Scheie D, Cvancarova M, Mork S, et al. Can morphology predict 1p/19q loss in oligodendroglial tumours? *Histopathology* 2008;53:578–587.
- 29 Ricard D, Kaloshi G, Amiel-Benouaich A, et al. Dynamic history of low-grade gliomas before and after temozolomide treatment. *Ann Neurol* 2007;61:484–490.
- 30 Weller M, Berger H, Hartmann C, et al. Combined 1p/19q loss in oligodendroglial tumors: predictive or prognostic biomarker? *Clin Cancer Res* 2007;13:6933–6937.
- 31 van den Bent MJ, Carpentier AF, Brandes AA, et al. Adjuvant procarbazine, lomustine, and vincristine improves progression-free survival but not overall survival in newly diagnosed anaplastic oligodendrogliomas and oligoastrocytomas: a randomized European Organisation for Research and Treatment of Cancer phase III trial. *J Clin Oncol* 2006;24:2715–2722.
- 32 Cairncross G, Berkey B, Shaw E, et al. Phase III trial of chemotherapy plus radiotherapy compared with radiotherapy alone for pure and mixed anaplastic oligodendrogloma: Intergroup Radiation Therapy Oncology Group Trial 9402. *J Clin Oncol* 2006;24:2707–2714.
- 33 Kaloshi G, Benouaich-Amiel A, Diakite F, et al. Temozolomide for low-grade gliomas: predictive impact of 1p/19q loss on response and outcome. *Neurology* 2007;68:1831–1836.
- 34 Fallon KB, Palmer CA, Roth KA, et al. Prognostic value of 1p, 19q, 9p, 10q, and EGFR-FISH analyses in recurrent oligodendrogliomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 2004;63:314–322.
- 35 Kouwenhoven MC, Kros JM, French PJ, et al. 1p/19q loss within oligodendrogloma is predictive for response to first line temozolomide but not to salvage treatment. *Eur J Cancer* 2006;42:2499–2503.
- 36 Taliensky-Aronov A, Bokstein F, Lavon I, et al. Temozolomide treatment for newly diagnosed anaplastic oligodendrogliomas: a clinical efficacy trial. *J Neurooncol* 2006;79:153–157.
- 37 Walker C, Haylock B, Husband D, et al. Clinical use of genotype to predict chemosensitivity in oligodendroglial tumors. *Neurology* 2006;66:1661–1667.
- 38 Kaloshi G, Everhard S, Laigle-Donadey F, et al. Genetic markers predictive of chemosensitivity and outcome in gliomatosis cerebri. *Neurology* 2008;70:590–595.
- Badanie poświęcone wartości przepowiadającej delecji 1p/19q u 25 chorych na glejaka mózgu leczonych w pierwszej linii temozolomidem.
- 39 Ducray F, Criniere E, Idbaih A, et al. alpha-Internexin expression identifies 1p19q codeleted gliomas. *Neurology* 2009;72:156–161.
- W tym badaniu ekspresja INA wydaje się prostym wiarygodnym markerem rokowniczym oraz markerem zastępczym jednoczesnej delecji 1p/19q.
- 40 Esteller M, Garcia-Foncillas J, Andion E, et al. Inactivation of the DNA-repair gene MGMT and the clinical response of gliomas to alkylating agents. *N Engl J Med* 2000;343:1350–1354.
- 41 Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med* 2005;352:997–1003.
- 42 Stupp R, Hegi ME, Mason WP, et al. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide *versus* radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol* 2009;10:459–466.
- Pięcioletnia analiza badania EORTC-NCIC wykazała korzystny wpływ adiuwantowego i jednoczesnego leczenia temozolomidem w trakcie 5-letniej obserwacji, a niewielka grupa chorych cechujących się korzystnymi czynnikami rokowniczymi przeżyła ponad 5 lat.
- 43 Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* 2005;352:987–996.
- 44 Murat A, Migliavacca E, Gorlia T, et al. Stem cell-related 'self-renewal' signature and high epidermal growth factor receptor expression associated with resistance to concomitant chemoradiotherapy in glioblastoma. *J Clin Oncol* 2008;26:3015–3024.
- Ocena ekspresji genów za pomocą mikromacierzy łącząca oporność na jednoczesną chemio- i radioterapię z sygnaturą ekspresji genów glejakowych komórek macierzystych.
- 45 Hegi ME, Liu L, Herman JG, et al. Correlation of O6-methylguanine methyltransferase (MGMT) promoter methylation with clinical outcomes in glioblastoma and clinical strategies to modulate MGMT activity. *J Clin Oncol* 2008;26:4189–4199.
- 46 Brandes AA, Franceschi E, Tosoni A, et al. MGMT promoter methylation status can predict the incidence and outcome of pseudoprogression after concomitant radiochemotherapy in newly diagnosed glioblastoma patients. *J Clin Oncol* 2008;26:2192–2197.
- Podczas badania z udziałem 103 chorych na glejaka stwierdzono, że wśród chorych z metylacją genu *MGMT* prawdopodobieństwo wystąpienia rzekomej progresji nowotworu po chemioradioterapii jest większe niż u chorych z niezmetylowanym *MGMT*.
- 47 Brandes AA, Tosoni A, Franceschi E, et al. Recurrence pattern after temozolomide concomitant with and adjuvant to radiotherapy in newly diagnosed patients with glioblastoma: correlation with MGMT promoter methylation status. *J Clin Oncol* 2009;27:1275–1279.
- 48 Everhard S, Kaloshi G, Criniere E, et al. MGMT methylation: a marker of response to temozolomide in low-grade gliomas. *Ann Neurol* 2006;60:740–743.
- 49 Preusser M. MGMT analysis at DNA, RNA and protein levels in glioblastoma tissue. *Histol Histopathol* 2009;24:511–518.
- 50 Chinot OL, Barrie M, Fuentes S, et al. Correlation between O6-methylguanine-DNA methyltransferase and survival in inoperable newly diagnosed glioblastoma patients treated with neoadjuvant temozolomide. *J Clin Oncol* 2007;25:1470–1475.
- 51 Preusser M, Charles Janzer R, Felsberg J, et al. Anti-O6-methylguanine-methyltransferase (MGMT) immunohistochemistry in glioblastoma multiforme: observer variability and lack of association with patient survival impede its use as clinical biomarker. *Brain Pathol* 2008;18:520–532.
- Dokładna ocena zastosowania metod immunohistochemicznych w ocenie ekspresji MGMT.
- 52 Everhard S, Tost J, El Abdalaoui H, et al. Identification of regions correlating MGMT promoter methylation and gene expression in glioblastomas. *Neuro Oncol* 2009. [Epub ahead of print]
- Staranne badanie, w którym u 54 chorych na glejaka za pomocą pirosekwencjonowania wykryto metylację w wysepkach CpG potencjalnie związanych z ekspresją RNA dla MGMT.
- 53 Bals J, Meyer J, Mueller W, et al. Analysis of the IDH1 codon 132 mutation in brain tumors. *Acta Neuropathol* 2008;116:597–602.
- 54 Bleeker FE, Lamba S, Leenstra S, et al. IDH1 mutations at residue p. R132 (IDH1 (R132)) occur frequently in high-grade gliomas but not in other solid tumors. *Hum Mutat* 2009;30:7–11.
- 55 Kang MR, Kim MS, Oh JE, et al. Mutational analysis of IDH1 codon 132 in glioblastomas and other common cancers. *Int J Cancer* 2009;125:353–355.
- 56 Watanabe T, Nobusawa S, Kleihues P, et al. IDH1 mutations are early events in the development of astrocytomas and oligodendrogliomas. *Am J Pathol* 2009;174:1149–1153.
- Przeanalizowano czas wystąpienia mutacji *IDH1* i innych zaburzeń genetycznych u chorych poddanych licznym biopsjom. Nie stwierdzono, by mutacje *TP53* lub utrata 1p/19q poprzedzały mutacje *IDH1*.
- 57 Hayden JT, Frühwald MC, Hasselblatt M, et al. Frequent IDH1 mutations in supratentorial primitive neuroectodermal tumors (sPNET) of adults but not children. *Cell Cycle* 2009;8:1806–1807.
- 58 Zhao S, Lin Y, Xu W, et al. Glioma-derived mutations in IDH1 dominantly inhibit IDH1 catalytic activity and induce HIF-1alpha. *Science* 2009;324:261–265.
- Wykazano hamujący wpływ *IDH1* na nowotwory oraz przyczynianie się jego inaktywacji do powstawania nowotworów, częściowo w wyniku zapoczątkowania szlaku HIF-1.
- 59 Korshunov A, Meyer J, Capper D, et al. Combined molecular analysis of BRAF and IDH1 distinguishes pilocytic astrocytoma from diffuse astrocytoma. *Acta Neuropathol* 2009. [Epub ahead of print]
- Stwierdzono wzajemne wykluczanie się mutacji *IDH1* i genu fuzyjnego *BRAF*, co ułatwia różnicowanie między gwiaździami w II stopniu złośliwości a gwiaździami włosowatokomórkowymi.