

# A patológus szerepe a központi idegrendszer tumorainak diagnosztikájában, a terápia tervezésben. Prognosztikus és prediktív markerek vizsgálata

*Turányi Eszter, Hanzély Zoltán, Bálint Katalin, Reiniger Lilla*

Semmelweis Egyetem, I. Sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest

*A képalkotó eljárások rohamos fejlődése ellenére a központi idegrendszeri tumorok diagnosztikájának és a célzott terápiának továbbra is a neuropatológus által alkotott szövettani vélemény az alapja. A minél pontosabb kórisme érdekében nagyon fontos a társszakmákkal való szoros együttműködés, a klinikai és radiológiai adatok ismerete és összevetése a szövettani képpel. A neuropatológia mára önálló területté vált az alkalmazandó speciális ismeretanyag miatt, ezért nagyon fontos a nem egyértelmű esetekben a megfelelő neuropatológiai gyakorlattal rendelkező szakemberekkel való konzultáció. Mind a kórisme megállapításában, mind a betegség kezelésének megtervezésében egyre nagyobb jelentősége van az idegrendszeri daganatok molekuláris genetikai vizsgálatainak, melyek megbízhatóan csak nagyobb esetszámmal rendelkező centrumokban állnak rendelkezésre. A gyakorlatban a leggyakrabban vizsgált molekuláris markerek az 1p/19q-kodeléció, az IDH-mutáció, a  $\beta$ -katenin magi pozitivitása, valamint az MGMT-metiláció. Emellett azonban számos más molekuláris eltérés is vizsgálat tárgya, amelyek egyes daganatokban diagnosztikus és/vagy prognosztikai jelentőségűek. A jövőben a molekuláris patológiai vizsgálatok szerepe jelentősen nőni fog, és mind a diagnosztikában, mind az egyénre szabott terápia megtervezésében hatékony segítséget jelent majd a központi idegrendszeri tumoros megbetegedéseivel foglalkozó szakembereknek. Magyar Onkológia 57:215–221, 2013*

**Kulcsszavak:** központi idegrendszeri daganatok, patológiai diagnózis, prognosztikus marker, prediktív marker, neuropatológia

*Despite advances in imaging methods, the standard of diagnosis and treatment of the tumours of the nervous system remains the histological report issued by a neuropathologist. For reliable, definitive diagnosis, close collaboration with other medical professions is essential, correlation of histological findings with clinical and imaging results is necessary. Neuropathology became a subspecialty because of the specific knowledge and experience it requires. In more complex cases consultation with neuropathologists is important to ensure adequate diagnosis and subsequent treatment. In both establishing the diagnosis and treatment planning, the molecular testing of brain tumors becomes more and more important. These tests are reliably available only in larger centers. Out of the molecular markers, in current practice the investigation of codeletion at 1p/19q, IDH mutations,  $\beta$ -katenin nuclear positivity and MGMT methylation gained acceptance. Besides these tests already in practice, a vast array of potential diagnostic and prognostic markers are being investigated, which in the future may assist in delivering better and more individualized therapy.*

Turányi E, Hanzély Z, Bálint K, Reiniger L. The role of the pathologist in the diagnosis and therapy planning of central nervous system tumors. Prognostic and predictive markers. Hungarian Oncology 57:215–221, 2013

**Keywords:** central nervous system tumors, pathological diagnosis, prognostic marker, predictive marker, neuropathology

Levelezési cím: Dr. Turányi Eszter, Dr. Reiniger Lilla, Semmelweis Egyetem, I. Sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest, 1085 Üllői út 26. Tel.: 061459-1500/54400, fax: 061317-1074, e-mail: turanyi@korb1.sote.hu, lillareiniger@yahoo.com

Közlésre érkezett: 2013 október 11. • Elfogadva: 2013. november 1.

## BEVEZETÉS

A neuropatológia a patológián belül mára önálló szakággá vált az alkalmazandó nagy mennyiségű, igen speciális ismeretanyag miatt, ugyanakkor szoros kapcsolatban áll a közeli szakterületekkel, mint idegsebészet, neurológia, neuroonkológia, neuroradiológia. Az általános patológiában való jártasság is nélkülözhetetlen a központi idegrendszerben előforduló, a daganatok közel ötven százalékát adó egyéb szervek tumoraiból származó metasztázisok naprakész diagnosztikájához.

A patológus legfontosabb és legalapvetőbb szerepe a neuroonkológia területén, csakúgy, mint egyéb területeken, a daganatok szövettani típusának meghatározása (klasszifikáció) és gradingje, az esetleges prognosztikai, illetve prediktív markerek vizsgálata.

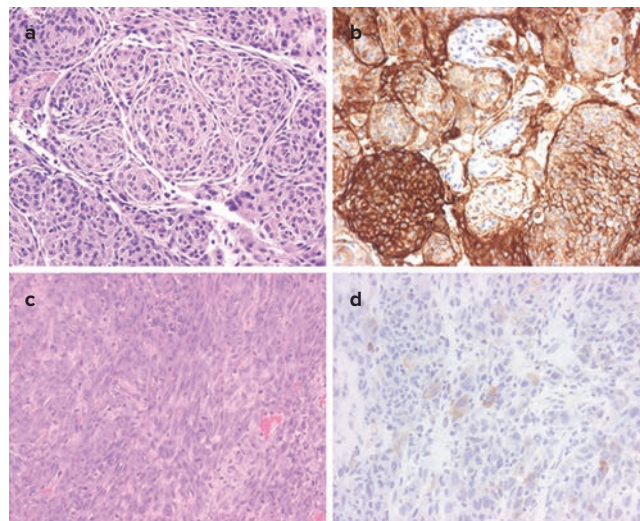
Csakúgy, mint a patológia más elkülönült területei, e szakterület is speciális ismereteket, munkamódszereket, alkalmanként másfajta gondolkodást kíván, ugyanakkor az alapok közösek, hiszen a vizsgálandó mintákat az általános patológiában használt módszerekkel dolgozzuk fel, első lépésben morfológiai analízist végzünk, a végső diagnózishoz ugyanúgy speciális festéseket, immunhisztokémiai és molekuláris, esetleg elektronmikroszkópos vizsgálatokat végzünk. Végül a célunk is azonos, az elváltozás mibenlétének legpontosabb meghatározása, a beteg kezeléséhez szükséges adatok megadása.

## KLASSZIFIKÁCIÓ

A primer idegrendszeri tumorok jelenlegi osztályozása a WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System (2007) alapján történik (1). Megjelenése óta számos új entitás nyert létjogosultságot, így a korrekt diagnózishoz a szakirodalom naprakész ismerete is szükséges.

A központi idegrendszer daganatainak elemzésekor nehézséget jelent, hogy mind morfológiailag, mind immunhisztokémiai tulajdonságaikat tekintve a daganatok között jelentős átfedés mutatkozik, így bizonyos esetekben a tumor hisztológiai eredetének meghatározása is nehézségekbe ütközik. A diagnózis napjainkban is a tumor szövettani jellegzetességein alapul. A jól differenciált tumorok esetében a tumor fenotípusa többnyire jól tükrözi a tumor sejtes eredetét (pl. az asztrocita eredetű tumorokat asztrociter jellegű sejtek alkotják). Kevésbé jól differenciált daganatok esetében segítséget jelenthetnek az immunhisztokémiai vizsgálatok, de gyakran éppen ezekben az esetekben a tumorok immunfenotípusa sem jelent segítséget a hisztológiai típus meghatározásában (pl. anaplasztikus meningeoma esetében a tumor elveszítheti mind szövettani, mind immunhisztokémiai jellegzetességeit, 1. ábra). A diagnózis megállapításához

1. ábra. a) Grade I meningeoma jellegzetes hisztológiai megjelenése (HE, 200×), b) EMA elleni antitesttel mutatott immunhisztokémiai reakciója (200×). c) Grade III anaplasztikus meningeoma. A tumor jellegzetes hisztológiai képe eltűnt, ugyanakkor számos mitózis azonosítható (HE, 200×). d) EMA elleni antitesttel ebben az esetben az anaplasztikus meningeoma alig mutat reakciót. HE, hematoxylin-eosin; EMA, epithelialis membránantigén



sához elengedhetetlen a képalkotó vizsgálatok eredményeinek, illetve a klinikai adatoknak az ismerete. Optimális esetben a klinikus, a radiológus és a patológus között folyamatos a kontaktus lehetősége, és közös adatbázis, valamint az ahhoz való hozzáférés is adott (2).

A központi idegrendszeri tumorok osztályozásában a jövőben egyre nagyobb szerepet fognak játszani a daganatok molekuláris genetikai tulajdonságai. A lágyrésztumorok és a hematológia területén sikerült új, a szubjektivitásnak kevesebb teret adó klasszifikációt kidolgozni molekuláris vizsgálatok alapján. Remélhetőleg a tumorok molekuláris genetikai tulajdonságai alapján az idegrendszeri daganatok esetében is lehetőség nyílik objektívebb osztályozásra és a betegek célzott kezelésére.

## GRADING

A tumorok gradingje lényegében megjósolja a betegség biológiai viselkedését, lefolyását. A klinikus számára támpontot ad a terápia megtervezéséhez, adjuváns sugárterápia, illetve kemoterápia alkalmazásához.

Amíg azonban a tumor típusában nem lehetünk biztosak, addig a gradinghez hozzá se foghatunk, hiszen különböző hisztológiai jellegzetességek (például glomeruloid érproliferáció, nekrozis) jelenléte egyes grade I besorolású daganatokban megengedett (pl. pilocytás astrocytoma), míg

**1. táblázat.** A központi idegrendszeri tumoroknál leggyakrabban vizsgált molekuláris eltérések és klinikai jelentőségük

Molekuláris eltérések	Klinikai jelentőség			Kimutatási technika
	Diagnosztikus	Prognosztikus	Prediktív	
IDH-mutációk	LGG, szek. GBM	LGG, szek. GBM	kérdéses	IHC, szekvenálás
1p/19q-kodeléción	O, OA	O, OA	AO (PCV kemo)	FISH
MGMT-metiláció	—	gliomák	GBM, recidív AO	MS-PCR
EGFR-amplifikáció	GBM	kérdéses	kérdéses	FISH
EGFRvIII	GBM	kérdéses	kérdéses	IHC
PTEN-mutáció	GBM	kérdéses	kérdéses	szekvenálás
PTEN/10q-deléción	GBM	kérdéses	kérdéses	FISH
BRAF-KIAA1549 fúzió	PA	kérdéses	kérdéses	FISH, RT-PCR
BRAF V600E mutáció	PXA, GGL, PA	kérdéses	kérdéses	szekvenálás
β-katenin	—	medullo	kérdéses	IHC

AO, anaplasztikus oligodendroglioma; FISH, fluoreszcens in situ hibridizáció; GGL, ganglioglioma; GBM, glioblastoma; IHC, immunhisztokémia; LGG, low-grade gliomák; medullo, medulloblastoma; MS-PCR, metilációs-specifikus polimeráz láncreakció; O, oligodendroglioma; OA, oligoastrocytoma; PA, pilocytás astrocytoma; PCV kemo, procarbazin-CCNU-vincristin kemoterápia; PXA, pleomorph xantoastrocytoma; RT-PCR, reverz transzkripció polimeráz láncreakció; szek., szekunder

más esetben definíciószerűen a daganat grade IV besorolású lesz ezen elváltozások megjelenése esetén (glioblastoma) (1, 2).

Kicsiny biopsziás minták esetében, de nagyobb műtéti anyagoknál is előfordulhat a tumorok heterogenitása miatt, hogy szövettanilag a daganat alacsonyabb gradust mutat, mint amilyen valójában. Ilyenkor nagyon fontos a klinikussal és radiológussal való együttműködés, hiszen a végleges patológiai diagnózis alapja a szövettani vélemény, de figyelembe kell venni a radiológiai és klinikai adatokat is a beteg megfelelő kezelése érdekében (3).

## STAGING

Mivel a központi idegrendszeri daganatok extrém ritkán adnak távoli áttétet, a hisztológiai típus, illetve grade meghatározását követően a staging rendszerint a központi idegrendszeren belüli esetleges áttéteket, a liquor térben való szóródást térképezi fel. Metasztázis jelenléte képalkotó vizsgálat által kimutatott elváltozásból származó minta, illetve a liquor vizsgálatával bizonyítható.

A központi idegrendszeri daganatoknál premalignus, illetve úgynevezett in situ tumorokkal nem kell számolni.

A daganatok éppen való eltávolításáról a patológus ritkán tud nyilatkozni a műtéti technikák miatt, az eltávolítás mértékéről leginkább a posztoperatív képalkotó vizsgálatok adnak információt.

A patológus feladata a műtéti beavatkozások során a fagyasztott minták, illetve a citológiai kenetek vizsgálata. Az

egyéb tumorok esetében végzett intraoperatív diagnosztikától eltérően a műtétek radikalitását a szövettani vagy citológiai vélemény ritkán befolyásolja, a térfoglaló folyamatok lehető legnagyobb része a lehető legkevesebb funkcióvesztés mellett kerül eltávolításra. Jelentőségük leginkább a szterotaxiás biopsziás beavatkozások során a mintavétel sikerességének ellenőrzésében rejlik. A gyors vizsgálat lehetővé teszi a sikertelen beavatkozás után a mintavétel azonnali megismétlését. Azon ritka esetekben, amikor képalkotó eljárásokkal a térfoglaló folyamat természete nem tisztázható és felmerül gyulladással eredet is, a fagyasztott metszet vagy kenet vizsgálata a beteget mielőbbi, esetlegesen életmentő terápiához segítheti hozzá. A központi idegrendszeri primer és szekunder lymphomák nem tartoznak a műtéti indikációk közé, eltávolításuk nem indokolt, ezért szterotaxiás mintavételt követően a gyors patológiai diagnózis lehetővé teszi a betegek azonnali, megfelelő ellátását (4).

## MOLEKULÁRIS MARKEREK A NEUROPATHOLÓGIÁBAN

Az agydaganatok molekuláris osztályozásában és diagnosztikájában az utóbbi évek intenzív kutatásának és a hatékonyabb/célzott terápiára való igény növekedésének köszönhetően jelentős előrelépés tapasztalható. A legtöbbet vizsgált tumorok a klinikailag legjelentősebb csoportot képviselő gliomák és a medulloblastoma. A kutatások eredményeként számos diagnosztikus, prognosztikus és prediktív markert

sikerült azonosítani, továbbá olyan molekuláris markereket is elkülönítettek, melyek potenciálisan terápiás célpontok is lehetnek. Az alábbiakban a klinikai szempontból legjelentősebb és a klinikai rutinban is elterjedt molekuláris eltéréseket mutatjuk be (1. táblázat).

### IDH-1- és IDH-2-mutációk

Az izocitrát-dehidrogenáz enzim (IDH) fiziológiásan az izocitrát oxidatív dekarboxilációját katalizálja. Az IDH-1 a citoplazmában és a peroxiszómákban, az IDH-2 a mitokondriumokban található meg. A low-grade, diffúz gliómák kialakulásánál valószínűleg az egyik legkorábbi esemény az IDH-1 vagy -2 gén mutációja (5). Az IDH-1-mutációk gyakorisága számos tanulmány alapján kb. 70-80% grade II és III astrocytomákban, oligodendrogliómákban és oligoastrocytomákban, továbbá szekunder glioblastomában (6–8). Az IDH-2-mutációk ritkábbak, elsősorban oligodendrogliómákban figyelhetők meg (7). IDH-mutációk nem fordulnak elő pilocytás astrocytomában és gliómát utánzó nem tumoros léziókban (pl. reaktív gliosis, besugárzás okozta elváltozások, gyulladásoz/demielinizációs betegségek stb.), ill. nagyon ritkák primer glioblastomában (2, 7). Az IDH-mutációk gyakran együtt fordulnak elő az 1p/19q-kodelécióval oligodendrogliómákban, és a TP53-mutációval astrocytomákban (7, 8). Az IDH1 leggyakoribb mutációja az R132H, mely arginin-hisztidin cserével jár, de más mutációkat is leírtak (8, 9). Az IDH-mutációk pontos hatása nem ismert; feltételezik, hogy a funkcióvesztéssel járó mutációk révén csökken az alfa-ketoglutarát és a NADPH termelődése, ezáltal a sejtek érzékenyebbé válnak az oxidatív stresszre, ill. a HIF1 $\alpha$  degradációjának csökkenése miatt a sejtek túlélése nő. A funkciónyeréssel járó mutációk során a D-2-hidroxi-glutarát termelése fokozódik, melynek következtében kóros angiogenezis, DNS-metiláció vagy génexpresszió alakulhat ki (10–12). Az IDH-mutáció független prognosztikus faktor grade II és III diffúz gliómákban és szekunder glioblastomákban, jelenléte jobb kimenetelre utal. Diagnosztikai jelentősége a patológiai gyakorlatban a fent említett tumorok nem tumoros elváltozásoktól (pl. glioma infiltráló széli része vs. reaktív gliosis) vagy más daganatoktól (pl. diffúz astrocytoma vs. pilocytás astrocytoma, vagy oligodendroglioma vs. centralis neurocytoma) való elkülönítésében van (13). A mutációk prediktív jelentőségét, illetve a célzott terápiás lehetőségeket még vizsgálják.

A leggyakoribb IDH-1-mutációt (R132H) legegyszerűbben immunhisztokémiai vizsgálattal lehet kimutatni a mutáns fehérjére specifikus monoklonális antitesttel (14), a tumorsejtek citoplazmatikus festődést mutatnak (2. ábra). A további mutációk kimutatására alkalmas módszerek pl. a direkt szekvenálás, a piroszekvenálás és az olvadáspontanalízis (15, 16).

### 1p/19q-kodeléció

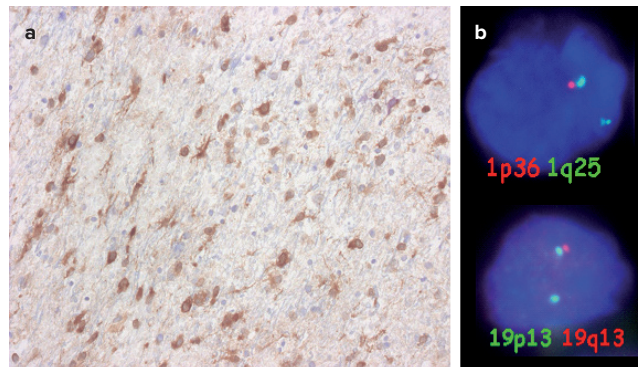
Az oligodendrogliómák kialakulásában az IDH-mutációt követő másik korai genetikai esemény az 1p és 19q kromoszómák vesztése, amely úgy alakul ki, hogy egy kiegyensúlyozatlan t(1;19)(q10;p10) transzlokáció miatt az 1p-19q derivát elvész a sejtosztódások során. A transzlokáció biológiai jelentősége még nem ismert (17). A kodeléció az oligodendrogliómák kb. 80%-ában, az anaplasztikus oligodendrogliómák kb. 60%-ában, az oligoastrocytomák 30-50%-ában, az anaplasztikus oligoastrocytomák 20-30%-ában, és a diffúz astrocytomák (beleértve a glioblastomát) kb. 10%-ában mutatható ki (18), így fontos szerepe lehet elsősorban az oligodendrogliómák (és oligoastrocytomák) diagnózisában. Adjuváns sugár- és/vagy kemoterápiában részesülő oligodendrogliomás betegekben az 1p/19q-kodeléció jobb prognózissal mutat összefüggést. Fázis III klinikai vizsgálatokban igazolták, hogy az 1p/19q-kodeléció a PCV (procarbazin-CCNU-vincristin) kemoterápiára adott válasz prognosztikus és prediktív markere anaplasztikus oligodendrogliómában (19–22).

Az 1p/19q-kodeléció kimutatására legelterjedtebben a fluoreszcens in situ hibridizációt (FISH) használják. A vizsgálat izolált magokon vagy szövetmetszeteken is elvégezhető. A FISH-próbák az 1p36 és a 19q13.3 kromoszómaregiókra specifikusak (23) (2. ábra). Emellett pl. polimeráz láncreakció (PCR) alapú LOH-vizsgálattal (fragmentanalízis), multiplex ligációfüggő próba amplifikációval (MLPA) és array komparatív genomikus hibridizációval (array CGH) is kimutatható a kodeléció (24).

### MGMT promotor-hipermetiláció

Az O6-metilguanin-DNS-metiltransferáz (MGMT) a DNS-hibajavító rendszer fontos enzime. Az MGMT megvédi a genomot alkilációs károsodásokkal szemben azáltal, hogy a DNS-ben a guanin 6-os pozíciójából eltávolítja az alkilcsoportokat.

**2. ábra.** a) Jellegzetes IDH-1-immunpozitivitás low-grade gliómában (IDH-1, 200 $\times$ ). b) 1p- és 19q-deléció oligodendrogliómában FISH-vizsgálattal





Az egyik leghatékonyabb, gliomákban alkalmazott kemoterápiás szer az alkiláló temozolomid, melynek klinikai hatását a jól működő MGMT rontja, mivel eltávolítja a klinikai aktivitásért felelős metilcsoportokat. Ezek alapján az MGMT-t expresszáló tumorsejtek rezisztensek az alkilálószerekkel szemben, viszont az MGMT-expressziót nem mutató tumorsejtek érzékenyek. Az MGMT gén expressziójának csökkentésében/gátlásában elsődleges szerepet tulajdonítanak a promoter régióban elhelyezkedő CpG-szigetek hipermetiláltságának (25, 26). Több tanulmány igazolta az MGMT promoter régiója metiláltságának kedvező prognosztikai szerepét gliomákban az alkilálószerekre adott terápiás válasszal és a betegség kimenetelével kapcsolatban (25, 27), emellett prediktív szerepét is kimutatták, elsősorban újonnan diagnosztizált glioblastomáknál (28–30). Egy randomizált, fázis III-as klinikai vizsgálatban az újonnan diagnosztizált idős glioblastomás betegeknek kedvezőbb eseménymentes túlélést értek el a metilált MGMT-s csoportban temozolomid-monoterápiával, mint egyedüli radioterápiával (30). Az MGMT promoter hipermetilációja recidív glioblastomákban nem befolyásolja a progressziómentes túlélést, ugyanakkor recidív anaplasztikus oligodendrogliomákban és oligoastrocytomákban kedvezőbb túlélést jelez (31, 32). Az MGMT-metilációs státusz kedvező prognosztikai és prediktív szerepét az átlagos túléléssel és temozolomid-érzékenységgel kapcsolatban gyermekkori glioblastomákban is igazolták (31, 33, 34).

Az MGMT promoterrégiója metiláltságának vizsgálata a klinikai gyógyszervizsgálatoknál alapvető fontosságú, ugyanakkor a mindennapi gyakorlatban nem szükségszerű, mivel a nem metilált eseteknél nem kínálható fel alternatív terápia, és egy részükben kedvező választ észleltek temozolomidkezeléssel. A vizsgálat több szinten végezhető. A DNS-alapú vizsgálatok közül alkalmazható a metilációs-specifikus PCR (MS-PCR), a valós idejű MS-PCR, a metilációs-specifikus piroszekvenálás és a metilációs-specifikus MLPA. Legelterjedtebb közülük az MS-PCR (16, 25, 27, 31, 32). Az MGMT fehérje expressziója immunhisztokémiával is vizsgálható, ugyanakkor ennek limitált az alkalmazása, mivel nem nyújt biztos információt a promotermetiláltságról, a vizsgálok között jelentős különbségek adódnak, a tumor heterogén az MGMT-expresszió tekintetében, a tumorok immunreaktivitása különböző lehet, továbbá a tumorban lévő nem neoplastikus sejtek MGMT-expressziója zavarja a tumorsejtek expressziójának megítélését. Ez utóbbi limitálja az MGMT mRNS-szintű vizsgálatát is, valamint ehhez friss tumorszövet szükséges (16, 33–36).

#### *EGFR-eltérések*

Az epidermális növekedési faktor receptor (EGFR) a sejtproliferáció szabályozásáért felelős, génje a 7p12 kromoszómálokuszban helyezkedik el. Az EGFR gén a primer

glioblastomák kb. 40%-ában amplifikált (1). Gyakori eltérés továbbá a trunkált, konstitutív aktivitású EGFRvIII variáns is, melynek hiányzik a ligandkötő doménje (37). Az EGFR-amplifikáció és/vagy EGFRvIII jelenléte high-grade gliomára, elsősorban primer glioblastomára utal. Kimutatásuk nagy segítséget nyújthat high-grade oligodendrogliális tumorok kissejtes glioblastomától való elkülönítésében, ugyanis az utóbbiak kb. 70%-ában megtalálhatók az EGFR-eltérések (23). Az EGFR-eltérések egyes tanulmányok szerint befolyásolják a betegség kimenetelét, de valódi prognosztikus szerepük még bizonytalan (1, 38, 39). Az EGFR-amplifikáció és EGFRvIII potenciális terápiás célpontok, melyek gátlásával reménykeltő eredményeket értek el preklinikai és klinikai vizsgálatokban (40).

Az EGFR-amplifikációt leggyakrabban FISH-vizsgálattal mutatják ki, emellett a valós idejű PCR vagy az MLPA technikák is használatosak (23, 41). Az EGFRvIII variáns immunhisztokémiai kimutatására elérhető specifikus antitest, ezenkívül valós idejű PCR is alkalmazható (41).

#### *PTEN-eltérések*

A PTEN (phosphatase and tensin homolog) ismert tumorszuppresszor gén, amely a 10-es kromoszóma hosszú karján helyezkedik el (10q23). A PTEN fehérje hiánya vagy funkciójának kiesése jelentősen hozzájárul a proonkogén PI3K-AKT-mTOR jelátviteli út aktiválásához. A PTEN mutációi a primer GBM-ek kb. 15-40%-ában megtalálhatók, emellett az összes GBM kb. 80%-ában a 10q (amibe általában a 10q23 is belesik) vesztése is megfigyelhető (1, 42). Kissejtes glioblastomában az EGFR-amplifikáció mellett gyakoriak a PTEN eltérései is, melyek kérdéses esetekben a diagnózis felállításában segítséget nyújthatnak. A PTEN-eltérések egyértelmű prognosztikus szerepét még vizsgálják (1, 23). A 10q-vesztést leggyakrabban FISH-vizsgálattal, a mutációkat pl. allélspecifikus PCR-rel vagy szekvenálással mutatják ki.

#### *BRAF-eltérések*

A BRAF a sejtproliferációban, sejttúlélésben és differenciációban kulcsfontosságú szerepet betöltő MAPK-útvonal tagja, aktivációját számos humán daganatban leírták (16). Az agytumorok közül a BRAF-eltérések a pilocytás astrocytomára jellemzők. A pilocytás astrocytomák döntő többségében (kb. 70-80%-ban) megtalálható a KIAA1549-BRAF fúziós gén, amely úgy alakul ki, hogy a 7q34-es kromoszómaregió duplikálódik és a BRAF és a KIAA1549 gének fuzionálnak. A fúzió eredményeként a B-Raf kináz domén, és végül a MAPK onkogén jelátviteli út aktiválódik. Ritkábban, a pilocytás astrocytomák kb. 10%-ában a missense V600E mutáció vezet BRAF-aktivációhoz (16, 43, 44). A V600E BRAF-mutáció a pleomorph xanthoastrocytomák 80%-ában és a gangliogliomák 25%-ában megtalálható (43).

A KIAA1549-BRAF fúziós gén vagy a BRAF-mutáció kimutatása kérdéses esetben segíti a diagnózist (13); emellett ígéretes potenciális terápiás célpont a sebészileg el nem távolítható vagy recidív tumorok esetében. Prognosztikus szerepük még nem tisztázott. A fúziós gén kimutatására leggyakrabban FISH-vizsgálatot vagy reverz transzkripció PCR-vizsgálatot végeznek. A pontmutáció kimutatásának egyik módja a piroszekvenálás.

### Béta-katenin

A legújabb kutatások eredményeként a medulloblastomák négy molekuláris alcsoportba különíthetők el genetikai elváltozások és génexpressziós profil alapján (45, 46). A medulloblastomás esetek kb. 5-10%-ában a WNT-jelátviteli út aktivitása figyelhető meg a  $\beta$ -katenin gén mutációi miatt; ebben az alcsoportban a betegek prognózisa jobb a többi csoportba tartozó betegekéhez viszonyítva. A medulloblastomák kb. 25-30%-ára az SHH-jelút aktivitása jellemző, itt pl. a PTCH-1 gén mutációi található; az ilyen esetek intermedier prognózisúak. A 3-as és 4-es alcsoportokba tartozó esetek prognózisa a legrosszabb, ezekben még nem sikerült vezető genetikai eltérést igazolni. A medulloblastomák pontosabb molekuláris osztályozása még intenzív kutatás tárgya, melynek eredményeként határozottan elkülönülő és a rutinban könnyen meghatározható prognosztikai csoportok és célzott terápiás lehetőségek várhatóak (45, 46).

Medulloblastomás eseteknél a rutindiagnosztika során legerjedtebben jelenleg csupán a  $\beta$ -katenin immunhisztokémiai vizsgálatát végzik. A tumorsejtek magi pozitivitása esetén a medulloblastoma a WNT-alcsoportba sorolható, vagyis a betegség kimenetele várhatóan kedvezőbb lesz (47).

### IRODALOM

- Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, et al. World Health Organization classification of tumours of the central nervous system. International Agency for Research on Cancer, Lyon, 2007
- Gray F, De Girolami U, Poirier J, Escourolle and Poirier Manual of Basic Neuropathology. Butterworth-Heinemann, Elsevier Inc., Philadelphia 2004
- Brat DJ, Prayson RA, Ryken TC, et al. Diagnosis of malignant glioma: role of neuropathology. *J Neurooncol* 89:287–311, 2008
- Burger PC. Smears and Frozen Sections in Surgical Neuropathology. PB Medical Publishing, Baltimore 2009
- Watanabe T, Nobusawa S, Kleihues P, et al. IDH1 mutations are early events in the development of astrocytomas and oligodendrogliomas. *Am J Pathol* 174:1149–1153, 2009
- Hartmann C, Meyer J, Bals J, et al. Type and frequency of IDH1 and IDH2 mutations are related to astrocytic and oligodendroglial differentiation and age: a study of 1,010 diffuse gliomas. *Acta Neuropathol* 118:469–474, 2009
- Ichimura K, Pearson DM, Kocialkowski S, et al. IDH1 mutations are present in the majority of common adult gliomas but rare in primary glioblastomas. *Neuro Oncol* 11:341–347, 2009
- Yan H, Parsons DW, Jin G, et al. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N Engl J Med* 360:765–773, 2009
- Parsons DW, Jones S, Zhang X, et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science* 321:1807–1812, 2008
- Lee SM, Koh HJ, Park DC, et al. Cytosolic NADP(+)-dependent isocitrate dehydrogenase status modulates oxidative damage to cells. *Free Radic Biol Med* 32:1185–1196, 2002
- Reitman ZJ, Yan H. Isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations in cancer: alterations at a crossroads of cellular metabolism. *J Natl Cancer Inst* 102:932–941, 2010
- Zhao S, Lin Y, Xu W, et al. Glioma-derived mutations in IDH1 dominantly inhibit IDH1 catalytic activity and induce HIF-1 $\alpha$ . *Science* 324:261–265, 2009
- Korshunov A, Meyer J, Capper D, et al. Combined molecular analysis of BRAF and IDH1 distinguishes pilocytic astrocytoma from diffuse astrocytoma. *Acta Neuropathol* 118:401–405, 2009
- Capper D, Zentgraf H, Bals J, et al. Monoclonal antibody specific for IDH1 R132H mutation. *Acta Neuropathol* 118:599–601, 2009
- Horbinski C, Kelly L, Nikiforov YE, et al. Detection of IDH1 and IDH2 mutations by fluorescence melting curve analysis as a diagnostic tool for brain biopsies. *J Mol Diagn* 12:487–492, 2010
- von Deimling A, Korshunov A, Hartmann C. The next generation of glioma biomarkers: MGMT methylation, BRAF fusions and IDH1 mutations. *Brain Pathol* 21:74–87, 2011
- Cairncross G, Jenkins R. Gliomas with 1p/19q codeletion: a.k.a. oligodendroglioma. *Cancer J* 14:352–357, 2008
- Riemenschneider MJ, Jeuken JW, Wesseling P, et al. Molecular diagnostics of gliomas: state of the art. *Acta Neuropathol* 120:567–584, 2010
- Cairncross G, Berkey B, Shaw E, et al. 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* 24:2707–2714, 2006
- Cairncross JG, Wang M, Shaw EG, et al. Chemotherapy plus radiotherapy (CT-RT) versus RT alone for patients with anaplastic oligodendroglioma: longterm results of the RTOG 9402 phase III study. *J Clin Oncol* 30(Suppl): abstr. 2008b, 2012
- 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* 24:2715–2722, 2006
- Van den Bent MJ, Hoang-Xuan K, Brandes AA, et al. Long-term follow-up results of EORTC 26951: a randomized phase III study on adjuvant PCV chemotherapy in anaplastic oligodendroglial tumors (AOD). *J Clin Oncol* 30(Suppl): abstr. 2, 2012
- Horbinski C, Miller CR, Perry A. Gone FISHing: clinical lessons learned in brain tumor molecular diagnostics over the last decade. *Brain Pathol* 21:57–73, 2011
- Nikiforova MN, Hamilton RL. Molecular diagnostics of gliomas. *Arch Pathol Lab Med* 135:558–568, 2011
- Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med* 352:997–1003, 2005
- Nakagawachi T, Soejima H, Urano T, et al. Silencing effect of CpG island hypermethylation and histone modifications on O6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) gene expression in human cancer. *Oncogene* 22:8835–8844, 2003
- 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* 343:1350–1354, 2000

28. Gorlia T, van den Bent MJ, Hegi ME, et al. Nomograms for predicting survival of patients with newly diagnosed glioblastoma: prognostic factor analysis of EORTC and NCIC trial 26981-22981/CE.3. *Lancet Oncol* 9:29-38, 2008
29. Reifenberger G, Hentschel B, Felsberg J, et al. Predictive impact of MGMT promoter methylation in glioblastoma of the elderly. *Int J Cancer* 131:1342-1350, 2012
30. Wick W, Platten M, Meisner C, et al. Temozolomide chemotherapy alone versus radiotherapy alone for malignant astrocytoma in the elderly: the NOA-08 randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 13:707-715, 2012
31. 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* 27:1275-1279, 2009
32. Sadones J, Michotte A, Veld P, et al. MGMT promoter hypermethylation correlates with a survival benefit from temozolomide in patients with recurrent anaplastic astrocytoma but not glioblastoma. *Eur J Cancer* 45:146-153, 2009
33. Cohen KJ, Pollack IF, Zhou T, et al. Temozolomide in the treatment of high-grade gliomas in children: a report from the Children's Oncology Group. *Neuro Oncol* 13:317-323, 2011
34. Pollack IF, Hamilton RL, Sobol RW, et al. O6-methylguanine-DNA methyltransferase expression strongly correlates with outcome in childhood malignant gliomas: results from the CCG-945 cohort. *J Clin Oncol* 24:3431-3437, 2006
35. Felsberg J, Rapp M, Loeser S, et al. Prognostic significance of molecular markers and extent of resection in primary glioblastoma patients. *Clin Cancer Res* 15:6683-6693, 2009
36. 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* 18:520-532, 2008
37. Sugawa N, Ekstrand AJ, James CD, et al. Identical splicing of aberrant epidermal growth factor receptor transcripts from amplified rearranged genes in human glioblastomas. *Proc Natl Acad Sci* 87:8602-8606, 1990
38. Huncharek M, Kupelnick B. Epidermal growth factor receptor gene amplification as a prognostic marker in glioblastoma multiforme: results of a meta-analysis. *Oncol Res* 12:107-112, 2000
39. Shinjima N, Tada K, Shiraishi S, et al. Prognostic value of epidermal growth factor receptor in patients with glioblastoma multiforme. *Cancer Res* 63: 6962-6970, 2003
40. Hegi ME, Rajakannu P, Weller M. Epidermal growth factor receptor: a re-emerging target in glioblastoma. *Curr Opin Neurol* 25:774-779, 2012
41. Masui K, Cloughesy TF, Mischel PS. Review: molecular pathology in adult high-grade gliomas: from molecular diagnostics to target therapies. *Neuropathol Appl Neurobiol* 38:271-291, 2012
42. Ohgaki H, Kleihues P. Genetic alterations and signaling pathways in the evolution of gliomas. *Cancer Sci* 100:2235-2241, 2009
43. Horbinski C, Nikiforova MN, Hagenkord JM, et al. Interplay among BRAF, p16, p53, and MIB1 in pediatric low-grade gliomas. *Neuro Oncol* 14:777-789, 2012
44. Schindler G, Capper D, Meyer J, et al. Analysis of BRAF V600E mutation in 1,320 nervous system tumors reveals high mutation frequencies in pleomorphic xanthoastrocytoma, ganglioglioma and extracerebellar pilocytic astrocytoma. *Acta Neuropathol* 121:397-405, 2011
45. Leary SE, Olson JM. The molecular classification of medulloblastoma: driving the next generation clinical trials. *Curr Opin Pediatr* 24:33-39, 2012
46. Northcott PA, Jones DT, Kool M, et al. Medulloblastomics: the end of the beginning. *Nat Rev Cancer* 12:818-834, 2012
47. Fattet S, Haberler C, Legoix P, et al. Beta-catenin status in paediatric medulloblastomas: correlation of immunohistochemical expression with mutational status, genetic profiles, and clinical characteristics. *J Pathol* 218:86-94, 2009