

itp.). Na rycinie 20 można zobaczyć, jak silnie zróżnicowane są pod względem złożoności budowy i sprawności funkcjonowania systemy nerwowe różnych istot żywych. Należy podkreślić, że zarówno oś pozioma, opisana „*Structural complexity of the system (number of synapses)*” (Strukturalna złożoność systemu mierzona liczbą synaps), jak i oś pionowa, opisana „*Speed of the system functioning*” (Szybkość działania systemu) są wyskalowane logarytmicznie. Oznacza to, że jednakowe odstępstwa na tych osiach oznaczają odpowiednie wartości dziesięciokrotnie zwiększone: 10, 100, 1000, 10000, 100000 itd. Wprawdzie osie nie są wyskalowane (nie podano konkretnych wartości w konkretnych miejscach), ale proporcje można odczytać. Na rysunku tym widać, że nasze modele neurocybernetyczne są na razie bardzo ubogie. Zarówno pod względem stopnia złożoności, jak pod względem szybkości działania ustępują nawet systemowi nerwowemu muchy, nie mówiąc o ssakach, a zwłaszcza o człowieku. Ale po pierwsze istnieją żywe stworzenia, których system nerwowy

potrafimy już zamodelować w skali 1:1. Na rysunku zaznaczono krewetkę, ale szeroko znany jest też (dostępny w Internecie) zamodelowany dokładnie „mózg” karalucha. Tak więc „przyczółek” neurocybernetyka już uchwyciła, a rozwiązania sprzętowe (na przykład optoelektroniczne) mogą osiągać szybkość działania (ale nie złożoność strukturalną) porównywalną z systemem nerwowym muchy albo pszczoły. Nowe możliwości w tym zakresie stworzy zapewne tak zwane głębokie uczenie (*deep learning*) [1].

Rozwój modeli neurocybernetycznych zmierza do tego, żeby budować modele obejmujące coraz więcej neuronów. W tym celu buduje się specjalne „farmy komputerowe” (Ryc. 21).

Swoją rolę w tych badaniach z pewnością odegrają też superkomputery, takie jak krakowski *Prometheus* pracujący w Akademickim Centrum Komputerowym **Cyfronet AGH**, który jest notowany na 48 miejscu na liście najszybszych i największych komputerów świata (Ryc. 22).

Bibliografia

1. Goodfellow I., Bengio Y., Courville A.: *Deep learning*, MIT Press, 2016
2. Rashid T.: *Make Your Own Neural Network*, Amazon Copyrighted Material, March 31, 2016, https://www.amazon.com/gp/product/1530826608/ref=as_li_tl?ie=UTF8&camp=1789&creative=9325&creativeASIN=1530826608&linkCode=as2&tag=aiop04-20&linkId=413c43cb7dea61f0b79baa5a61ee7193
3. Tadeusiewicz R., Gąciarz T., Borowik B., Leper B.: *Odkrywanie właściwości sieci neuronowych przy użyciu programów w języku C#*, Wydawnictwo Polskiej Akademii Umiejętności, ISBN 978-83-60183-53-4, Kraków 2007 Pełny tekst książki dostępny pod adresem: http://otworzksiazke.pl/ksiazka/odkrywanie_wlasciwosci_sieci_neuronowych/
4. Tadeusiewicz R. (ed.): *Neurocybernetyka teoretyczna*, ISBN 978-83-235-0479-5, Wydawnictwo Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa 2009

Prof. zw. dr hab. inż. Ryszard Tadeusiewicz, Prezes Krakowskiego Oddziału PAN, Kierownik Katedry Automatyki AGH, Absolwent AGH 1971, informatyk, automatyk, biocybernetyk. W latach 1998–2005 Rektor AGH. Doktor Honoris Causa 12 uczelni krajowych i zagranicznych. Pełne dane: www.Tadeusiewicz.pl



DIAGNOZOWANIE I LECZENIE GUZOW MÓZGU U LUDZI

Kamila Pawlicka, Anna-Maria Barciszewska, Katarzyna Rolle, Jan Barciszewski (Poznań)

Streszczenie

Glejak wielopostaciowy (glioblastoma) jest najczęściej występującą postacią nowotworu glejopochodnego mózgu u dorosłych. Komórki glejaka charakteryzują się niekontrolowaną proliferacją, dynamiczną angiogenezą, inwazyjnym wzrostem, zdolnością do unikania apoptozy i naciekania sąsiadujących tkanek mózgu. Najczęściej stosowanym podejściem terapeutycznym w leczeniu wysokozłośliwych glejaków jest połączenie resekcji chirurgicznej z chemo- i radioterapią. Średni czas przeżycia chorych, mimo wdrożenia intensywnego leczenia, często nie przekracza jednego roku.

Abstract

Glioblastoma multiforme is the most frequent brain tumour in adults. Glioma cells are characterised by uncontrolled proliferation, dynamic angiogenesis, invasiveness, the ability to evade apoptosis and infiltrate the neighbouring brain tissue. The most common therapeutic approach involves surgical resection followed by chemo- and radiotherapy. Average patient's survival time, despite the intensive treatment, is usually no longer than one year.

Glejak wielopostaciowy

Najczęściej występującymi pierwotnymi guzami mózgu u ludzi dorosłych są glejaki. Jest to niezwykle heterogenna grupa nowotworów. Według Światowej Organizacji Zdrowia (ang. World Health Organization, WHO) wyróżnić można: gwiaździa-ki włosowatokomórkowe (WHO I) rosące wolno, rzadko przechodzące w postać złośliwą, oraz trzy grupy gwiaździaków o naciekającej naturze, do których należą gwiaździaki rozlane (WHO II), anaplastyczne (WHO III) oraz glejak wielopostaciowy (WHO IV) (Tabela 1) [14].

Glejak wielopostaciowy (ang. *glioblastoma multiforme*, GBM) to najbardziej złośliwa postać nowotworu glejopochodnego wywodzącego się z pnia astrocytarnego. Nowotwory te częściej występują u osób starszych, średni wiek pacjentów plasuje się między 55 a 85 rokiem życia [3]. Mediana przeżycia chorych wynosi zaledwie 14 miesięcy, co świadczy o dużej agresywności tego nowotworu [6]. Najczęstsze przypadki guzów mózgu mają podłoże losowe, a jedynie 5% wszystkich zdiagnozowanych glejaków ma podłoże genetyczne [14].

GBM może rozwinąć się jako guz pierwotny lub wtórny (z glejaków o niższym stopniu złośliwości).

Tabela 1. Klasyfikacja glejaków ze względu na stopień zaawansowania według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO).

KLASYFIKACJA GLEJAKÓW	
□ ze względu na stopień zaawansowania [wg WHO]	
Stopień WHO	Charakterystyka
I gwiaździa-ki włosowatokomórkowe	Guz łagodny, wolno rosnący, czas przeżycia pacjenta powyżej 10 lat; 75% przypadków zachorowań poniżej 20 roku życia
II gwiaździa-ki rozlane	Guz rosnący szybko, naciekający charakter, możliwy nawrót jako guz o wyższym stopniu zaawansowania, średni czas przeżycia 8 lat
III gwiaździa-ki anaplastyczne	Brak ognisk nekrozy, brak swoistego unaczynienia, naciekający charakter, prawdopodobieństwo nawrotu choroby, średni czas przeżycia 2 lata
IV glejak wielopostaciowy	Wysoki stopień inwazyjności, obecność ognisk nekrotycznych, zaawansowana angiogeneza, średni czas przeżycia 14 miesięcy
□ ze względu na profil molekularny	
Typ	Charakterystyka
1	Wyciszenie genu supresorowego p53, utrata heterozygotyczności w regionie chromosomalnym 17p, GBM WHO II i III
2	Nadekspresja lub amplifikacja onkogenu EGFR, rozwój u pacjentów, u których glejak występuje jako nowotwór pierwotny

Odnotowano, iż pierwotne zmiany nowotworowe występują częściej u mężczyzn, wtórne z kolei u kobiet [21]. Oba typy guzów pod względem histopatologicznym są nierozróżnialne [6].

Guzy mózgu wykazują wysoki stopień inwazyjności, zdolność do hamowania odpowiedzi układu immunologicznego, wytwarzania nowych naczyń krwionośnych (angiogeneza) oraz oporność na chemio- i radioterapię. „Wielopostaciowy” odnosi się do charakterystyki komórek tego nowotworu, u których wykryć można ekspresję cząsteczek powierzchniowych charakterystycznych dla komórek niezróżnicowanych, jak i zróżnicowanych. Występowanie tak heterogennej populacji utrudnia identyfikację komórek inicjujących rozwój nowotworu oraz odpowiadających za jego oporność na leczenie [6].

Do metod wykorzystywanych w diagnostyce nowotworów mózgu zalicza się tomografię komputerową, tomografię komputerową pojedynczego fotonu, rezonans magnetyczny, angiografię rezonansu magnetycznego oraz pozytronową tomografię emisyjną. Jednakże metody obrazowe, pomimo wysokiej rozdzielczości, możliwości oceny charakteru tkanki, jej unaczynienia, metabolizmu czy innych cech złośliwości, nie zawsze pozwalają na jednoznaczną i trafną diagnozę guzów Ośrodkowego Układu Nerwowego (OUN). Dodatkowo badania pokazały, że identyczne morfologicznie guzy wykazują różnice na poziomie molekularnym. W komórkach pozyskanych ze zmian nowotworowych, zaklasyfikowanych do tej samej grupy według WHO, obserwuje się różnice w profilu ekspresji wielu genów oraz modyfikacji epigenetycznych. Zmiany te mogą wpływać na przebieg choroby i odpowiedź pacjenta na leczenie [1].

Spojrzenie na molekularny profil glejaka pozwoliło na stworzenie dodatkowej klasyfikacji tego nowotworu. Udało się wyróżnić dwa typy glejaków. Typ 1 charakteryzuje się wyciszeniem genu supresorowego p53. Mutacje w p53 powiązane są z utratą heterozygotyczności w regionie chromosomalnym 17p i występują w glejakach WHO II i III. W typie 2 zaobserwowano nadekspresję lub amplifikację EGFR, który należy do grupy onkogenów. Zmiany te dotyczą pacjentów, u których glejak występuje jako nowotwór pierwotny (Tabela 1) [16].

Podłoże molekularne glejaka wielopostaciowego

W komórkach glejaka obserwuje się zmiany w ekspresji wielu genów odpowiedzialnych za kontrolę wzrostu komórek, angiogenezę, apoptozę czy migrację komórek. Najczęściej występujące zmiany

dotyczą genów: TP53, PTEN (ang. Phosphatase and tensin homolog), NF1 (ang. neurofibromatosis-1), EGFR (ang. Epidermal growth factor receptor), RB1 (ang. retinoblastoma-1) oraz PIK3R1 [7].

Obok czynników genetycznych znaczącą rolę w inicjacji i progresji nowotworów odgrywają zjawiska epigenetyczne [26]. Epigenetyka zajmuje się badaniem cech dziedzicznych, które nie zależą bezpośrednio od sekwencji nukleotydowej w DNA, ale są rezultatem modyfikacji biochemicznych, które wpływają na zmianę ekspresji genów. Epigenetyczna kontrola ekspresji genów może być związana m.in. z:

1. przyłączeniem grupy metylowej (-CH₃) do DNA, która zachodzi zazwyczaj w sekwencjach bogatych w dinukleozyd cytydyna–fosforan–guanozyna, często nazywanych wyspami CpG,
2. modyfikacją potranslacyjną białek histonowych,
3. rodzicielskim piętnem genomowym (ang. genomic imprinting),
4. oddziaływaniem białek Polycomb i Trithorax oraz potranskrypcyjną regulacją informacyjnego RNA (mRNA) - interferencją RNA (RNAi).

Zmiany epigenomu prowadzą m.in. do wyciszenia genów odpowiedzialnych za kontrolę cyklu komórkowego, apoptozę czy naprawę DNA [7]. W komórkach nowotworowych modyfikacje epigenetyczne mogą być zarówno przyczyną, jak i skutkiem toczącego się procesu nowotworowego. Fakt, że zachodzą one na różnych etapach kancerogenezy, wskazuje na potencjalne wykorzystanie ich jako celu oddziaływania zarówno dla czynników chemoprewencyjnych, jak i chemioterapeutyków [26].

W trakcie inicjacji procesu nowotworowego epigenom komórki znacząco się zmienia. Zaobserwować można: globalną hipometylację, lokalną hipermetylację, zmiany w modyfikacji białek histonowych czy niestabilność chromosomalną [26]. Glejak wielopostaciowy jest nowotworem charakteryzującym się wysoką heterogennością komórek oraz występowaniem znaczących zmian metylacji DNA, w tym metylacji histonów. Trójmetylowana lizyna 4 histonu H3 (H3K4me3) jest modyfikacją aktywującą ekspresję genów. W przypadku GBM globalny poziom H3K4me3 jest obniżony, szczególnie w obrębie sekwencji promotorowych genów, co prowadzi do zahamowania ich ekspresji. Zaobserwowano, że geny kadheryn, odpowiedzialnych za adhezję komórkową, wykazują obniżoną zawartość modyfikacji H3K4me1, która aktywuje transkrypcję genów. Z kolei geny homeotyczne, które odgrywają znaczącą rolę w rozwoju organizmu oraz mają powiązanie z komórkami macierzystymi glejaka, zyskują H3K4me1, co powoduje ich ekspresję [15]. Z kolei zmiana

w poziomie H2K4me3 wiąże się z formowaniem i migracją komórek GBM (Tabela 2)[15].

Analiza mikromacierzy 1505 CpG locus (807 genów) z biopsji pozyskanych od pacjentów wskazała zmiany metylacji w 32 genach glejaka wielopostaciowego. Do najczęstszych miejsc ulegających hipermetylacji należą: gen homeotyczny HOXA11 (ang. Homeobox protein Hox-A11), cząsteczki powierzchniowej CD81, gen supresorowy TES, MEST (ang. Mesoderm-specific transcript homolog protein), gen zaangażowany w indukcję apoptozy TNFRSF10 (ang. Tumor necrosis factor ligand superfamily member 10) oraz FZD9 (ang. Frizzled-9) [7]. Analiza metylomu stanowić może także narzędzie umożliwiające prognozę odpowiedzi na terapię, a tym samym przeżywalność pacjentów z GBM. Najlepiej opisany przykład stanowi metylacja promotora genu kodującego enzym naprawy DNA: MGMT (metylotransferaza O6 metyloguaniny, ang. O6-methylguanine-DNA methyltransferase). Czynniki alkilujące stosowane w chemioterapii jak temozolomid, przyłączają grupę metylową (-CH₃) do guaniny w pozycji O6, natomiast MGMT powoduje demetylację O6G w DNA i tym samym hamuje śmierć komórek wywołaną przez podany lek. W przypadku pacjentów, u których wykryto metylację promotora genu MGMT, enzym jest nieaktywny, co po zastosowaniu terapii uniemożliwia naprawę DNA w komórce, prowadząc do jej apoptozy. W efekcie dochodzi do zwiększenia skuteczności działania czynników alkilujących i wydłużenia przeżycia chorych na glejaka [28]. W glejaku wielopostaciowym zaobserwowano również globalną hipometylację, która dotyczy nawet do 10 milionów dinukleotydów CpG (haploidalny genom) oraz prowadzi do progresji nowotworu, aktywności onkogenów i niestabilności genomowej [7].

trate dehydrogenase, IDH). Modyfikacja ta zmienia funkcje IDH, w efekcie czego produkowany zostaje 2-hydroksyglutaran (2-HG), hamujący aktywność enzymu TET2 (ang. Ten-eleven-translocation 2) odpowiedzialnego za demetylację DNA. Prowadzi to do zwiększenia poziomu metylacji w komórkach glejaka, a guzy, w których wykryto mutacje w IDH1 i IDH2 wykazują lepsze rokowanie niż warianty dzikie tych genów [5].

W GBM zaobserwowano różnice w wielu genach zaangażowanych w regulację epigenetyczną histonów, w tym deacetylaz histonów (HDAC2, HDAC9), demetylaz histonów JMJD1A i JMJD1B, metylotransferaz histonów SET7, SETD7, MLL3, MLL4, oraz MBD1 [13]. Analiza danych pozyskanych od 230 pacjentów wykazała związek modyfikacji białek histonowych z przeżyciem wolnym od progresji oraz wolnym od choroby. U 18 pacjentów, u których acetylacja lizyny 9 histonu H3 (H3K9ac) występowała w poniżej 88% komórek guza czas przeżywalności był niższy. Z kolei zmniejszona zawartość acetylowanej lizyny 18 histonu 3 (H3K18Ac) wiązała się z wydłużeniem życia [13].

Niekodujące cząsteczki RNA (ncRNA) odpowiadają za potranskrypcyjną regulację ekspresji genów. Reaktywacja lub brak supresji ncRNA typowych dla procesu embriogenezy może być czynnikiem krytycznym dla nabycia przez komórki cech pluripotencji oraz zdolności do niekontrolowanego wzrostu, co skutkować może procesem nowotworowym. Zmiany ekspresji ncRNA zaobserwowano także w komórkach glejaka. Zidentyfikowano grupę długich niekodujących cząsteczek RNA (lncRNA) powiązanych ze stopniem zaawansowania glejaka wielopostaciowego oraz profilem histologicznym [19]. Wiele z tych lncRNA, jak ZFAS1, stanowi nieko-

Tabela 2. Podział epigenetycznych modyfikacji białek histonowych.

Epigenetyczne modyfikacje białek histonowych	
Wpływ metylacji na transkrypcję	
AKTYWACJA	ZAHAMOWANIE
H3 K4 me1/me2/me3	
H3 K36 me3	
H3 K79 me1/me2/me3	H3 K9 me2/me3
H4 R3 me1	H3 K27 me3
H4 K20 me1	

W większości przypadków glejaków o niskim stopniu złośliwości, już w początkowych etapach kancerogenezy występuje mutacja w genie kodującym dehydrogenazę izocytrynianową (ang. isocit-

ryczny czynnik prognostyczny w GBM [8]. Z kolei ekspresja PART1 (ang. Prostate Androgen-Regulated Transcript 1), GLIDR (ang. Glioblastoma down-regulated RNA), MIAT (ang. Myocardial Infarction

Associated Transcript), GAS5 (ang. Growth Arrest Specific 5) i PWAR5 (ang. Prader Willi/Angelman Region RNA 5) powiązana została z przedłużonym przeżyciem pacjentów z glejakiem [28]. Badania sugerują, że zaburzenie ekspresji lncRNA jest zjawiskiem pojawiającym się w początkowych stadiach rozwoju nowotworu, co może świadczyć o roli, jaką odgrywają w inicjacji tego procesu [8].

Strategie leczenia glejaków

Oporność glejaków na chemio- i radioterapię, ich szybki rozwój oraz naciekający charakter wskazują na konieczność zastosowania bardziej agresywnego podejścia. Obecnie główne strategie leczenia pacjentów z glejakami opierają się na chirurgicznym usunięciu zmiany nowotworowej, chemioterapii, radioterapii oraz kombinacji tych metod. Standardem jest chirurgiczna resekcja guza, podanie 6 cykli temozolomidu oraz 30-dniowa radioterapia (60Gy) [4].

Mimo postępu w przypadku diagnostyki, jak i terapii nowotworów mózgu, długość życia pacjentów onkologicznych wydłużyła się nieznacznie [4]. Chirurgia, chemio- czy radioterapia oferują jedynie zahamowanie choroby i wydłużenie przeżycia, nie powodując całkowitego wyleczenia pacjenta. Przeszkodę na drodze do opracowania skutecznej terapii stanowi heterogenność komórek guza, jak i różnice na poziomie molekularnym między populacjami komórek nowotworowych u poszczególnych pacjentów.

Resekcja chirurgiczna

W większości przypadków po zdiagnozowaniu u pacjenta guza mózgu pierwszym etapem leczenia jest chirurgiczne usunięcie zmiany. Prawidłowo wykonana maksymalna resekcja podwyższa jakość życia pacjenta oraz przeżycie bez progresji choroby [11]. Z uwagi na naciekający charakter guza ta metoda leczenia wymaga jednak uzupełnienia w postaci chemio- lub radioterapii.

Zauważono, że 80-90% nowotworów wtórnych pojawia się w odległości 2-3cm od miejsca resekcji guza, tworząc sferoidy, co może sugerować klonalną ekspansję komórek [27]. Dalszy rozwój, zarówno technik chirurgicznych, jak i bardziej precyzyjnego sposobu zobrazowania guza, umożliwi lepsze oszacowanie maksymalnej bezpiecznej resekcji guza, a co za tym idzie podwyższenie czasu przeżycia pacjenta wolnego od wznowy choroby [13].

Radioterapia

W radioterapii wykorzystywane jest promieniowanie jonizujące, w wyniku którego wytworzone zostają wolne rodniki wodorotlenowe, które prowadzą do uszkodzenia zasad purynowych, pirymidynowych, reszt cukrowych oraz do rozerwania wiązań fosfodiestrowych DNA [5]. Radioterapia wykazuje umiarkowane efekty i obciążona jest dużym ryzykiem uszkodzenia prawidłowych tkanek mózgu, a tym samym prawdopodobieństwem upośledzenia funkcji kognytywnych pacjenta [21].

W ostatnich latach stosuje się techniki 3D oparte o obrazy tomografii komputerowej, które umożliwiają dopasowanie kształtu wiązki terapeutycznej do kształtu guza. Z kolei w technikach 4D dodatkowym parametrem jest czas. Pozwala to na uwzględnienie ruchów fizjologicznych pacjenta, np. oddechu [21]. Te udoskonalenia sprawiają, że wiązka promieniowania oddziałuje bardziej precyzyjnie na komórki nowotworowe, stanowiąc mniejsze zagrożenie dla otaczających zdrowych tkanek [23]. Jedną z bardziej zaawansowanych metod tego typu wykorzystuje tzw. noże cybernetyczne (Cyberknife), czyli zautomatyzowanego robota służącego do radiochirurgii. Jest to precyzyjna metoda leczenia nowotworów i zmian patologicznych, która polega na podaniu jednej lub kilku (maksymalnie 5 frakcji) dużych dawek promieniowania na obszar guza, z minimalnym objęciem otaczających go tkanek. Cybernóż może zadać różne dawki w różne obszary guza, a wiązka dociera do chorych tkanek z dokładnością do ułamków milimetra [18].

Jednakże biorąc pod uwagę strukturę anatomiczną mózgu oraz limit dopuszczalnego promieniowania, sama radioterapia może zostać zastosowana jedynie w celu wydłużenia życia, nie całkowitego wyleczenia [24]. Zastosowanie chemioterapii w połączeniu z radioterapią wykazuje wyższą skuteczność działania niż monoterapia [21].

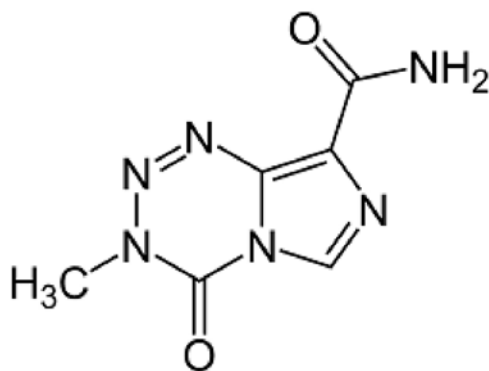
Chemioterapia

W chemioterapii stosowanej w leczeniu glejaka wielopostaciowego wykorzystywane są między innymi: czynniki alkilujące, pochodne nitrozomocznika, prokarbazyna, analogi platyny, antagoniści receptorów estrogenowych, winkrystyna, inhibitory topoizomeraz, metylotransferaz czy deacetylaz histonów [22]. Z uwagi na szybki wzrost komórek glejaka cytostatyki, które działają przez cały okres trwania cyklu komórkowego są bardziej skuteczne niż leki cyklozależne [22].

Dużą przeszkodą w chemioterapii glejaka jest jednak pokonanie bariery krew-mózg, co wyklucza większość leków stosowanych w innych rodzajach nowotworów. Guzy mózgu indukują również wytwarzanie własnych naczyń krwionośnych, co dodatkowo utrudnia wnikanie cytostatyków do zmienionej tkanki. Chemioterapia obarczona jest dużą toksycznością względem komórek prawidłowych, dlatego też terapie celowane stanowią bardziej pożądaną formę leczenia.

Najczęściej stosowanym w terapii lekiem jest temozolomid (TMZ) należący do grupy czynników alkilujących. Z uwagi na jego lipofilowy charakter, TMZ jest zdolny do przejścia przez barierę krew-mózg oraz nie wymaga biotransformacji w wątrobie. Terapeutyczne działanie TMZ opiera się głównie o alkilację guaniny w pozycji O-6. Wprowadzenie O⁶mG powoduje utworzenie pary zasad z tyminą. Ta zmiana wykrywana jest przez enzym naprawiania błędnie sparowanych nukleotydów (ang. mismatch repair, MMR), co prowadzi do zmniejszenia cytotoxyczności TMZ [25].

Terapia temozolomidem powiązana jest z najniższym stopniem nawrotu choroby oraz znacznym podwyższeniem czasu przeżywalności. Skuteczność TMZ próbuje się zwiększyć, poprzez zastosowanie terapii kombinowanej z wykorzystaniem innych chemioterapeutyków, czy przeciwciał monoklonalnych [25]. Zastosowanie temozolomidu w połączeniu z promieniowaniem jonizującym wpływa pozytywnie na zwiększenie skuteczności leczenia, co zapoczątkowało utworzeniem obecnie stosowanego standardu terapii glejaka wielopostaciowego [10].



Ryc. 1. Struktura chemiczna temozolomidu.

Nowoczesne metody leczenia glejaka wielopostaciowego

Standardowe podejście terapeutyczne po resekcji guza obejmuje podanie TMZ w połączeniu z radioterapią, co jednakże pozwala na przeżycie pacjenta

poniżej 70 roku życia przez okres 14–16 miesięcy [24]. Badania molekularne GBM pozwoliły na lepsze zrozumienie procesów zaangażowanych w rozwój tego nowotworu, jak modyfikacje ścieżek sygnałowych i czynników transkrypcyjnych, czy też występowanie nisz komórkowych. Te odkrycia umożliwiają opracowanie nowoczesnych strategii terapeutycznych. Przykładem jest wejście do II fazy badań klinicznych inhibitora γ -sekretazy (RO4929097), którego celem jest zaburzenie sygnalizacji ścieżki Notch zaangażowanej w inicjację GBM [25]. Badaniom klinicznym poddawany jest również vismodegib, antagonistą ścieżki Hedgehog, w celu wykorzystania w leczeniu wznowy GBM [25].

Komórki glejaka wykazują nadekpresję lub mutację w kilku receptorach czynników wzrostu, jak EGFR (ang. epidermal growth factor receptor), VEGFR (ang. vascular endothelial growth factor receptor) czy PDGFR (ang. platelet-derived growth factor receptor), które promują angiogenezę, migrację oraz niekontrolowaną proliferację komórek. Zastosowanie inhibitorów wspomnianych receptorów, jak gefitinib (EGFRi), erlotinib (EGFRi) czy sorafenib (VEGFRi) w badaniach klinicznych nie wykazało znaczącej poprawy przeżywalności pacjentów [25].

W ostatnich latach wiele badań klinicznych skupia się na testowaniu przeciwciał skierowanych na poszczególne markery komórek nowotworowych lub ich mikrośrodowiska. Jedynym przeciwciałem monoklonalnym stosowanym w terapii GBM jest bevacizumab, jednakże terapia nadal nie przyniosła zadowalających efektów, powodując zahamowanie progresji glejaka, nie wydłużając jednak całkowitej przeżywalności pacjentów [2, 17].

Dokładniejsza charakterystyka epigenomu GBM pozwoliła na opracowanie nowych strategii terapeutycznych. W leczeniu guzów mózgu zaczęto stosować między innymi inhibitory metylotransferazy DNA (5-azacytydina, 5-aza-2'-deoksycytydina), które w założeniu mają aktywować wyciszone przez metylację geny supresorowe. Mechanizm działania tych leków opiera się o ich podobieństwo strukturalne do cytozyny. Związek podczas replikacji wbudowywany jest do DNA oraz wiąże się z DNMT blokując jej aktywność [12].

Kolejnym przykładem skierowania terapii na modyfikacje epigenetyczne jest wykorzystanie inhibitorów deacetylaz histonów. Do związków znoszących działanie HDAC zaliczyć można: krótkie łańcuchy kwasów tłuszczowych (pochodne kwasu masłowego, kwas walproinowy), kwasy hydroksamowe (vorinostat, belinostat), cykliczne tetrapeptydy (trapoksyna A, apicydina, depsi-peptyd) czy benzamidy (entino-

stat) [9]. Jednakże ze względu na liczne skutki uboczne terapii skierowanych na epigenom, jak kardiotoxyczność czy zaburzenia hematopoezy, konieczne jest poszukiwanie bardziej specyficznych związków [12].

Inne strategie terapeutyczne

W jednej z nowoczesnych metod terapeutycznych wykorzystano dwuniciowe RNA (dsRNA) selektywnie wobec mRNA tenascyny-C hamując jej ekspresję. Białko to jest składnikiem macierzy pozakomórkowej i w nowotworach mózgu ulega nadekspresji. Śródoperacyjne podanie dsRNA wykazującego homologię do tenascyny C (ATN-RNA) w miejsce wyciętego guza powoduje wydłużenie całkowitego przeżycia pacjenta, zahamowanie proliferacji pozostałych komórek nowotworowych oraz zmniejszenie prawdopodobieństwa nawrotu choroby [20].

Wykorzystywane są także nanocząsteczki zawierające doksorubicynę (Dox). Podejście to zaowocowało zwiększeniem ilości Dox dostarczanej do guza *in vivo*, co tym samym może prowadzić do wywołania

efektu cytotoksycznego przy podaniu niższych dawek leku. Zastosowanie nanocząsteczek z doksorubicyną spowodowało również obniżenie kardiotoxyczności tego chemioterapeutyku [29].

Podsumowanie

Guzy mózgu z uwagi na umiejscowienie stanowią niezwykle niebezpieczną grupę nowotworów. Agresywność glejaka wielopostaciowego oraz ograniczone możliwości leczenia wskazują na istotną potrzebę dalszych badań. W celu opracowania bardziej efektywnych strategii leczenia ważne jest zrozumienie aspektów molekularnych rozwoju GBM. Z uwagi na to, że zmiany epigenomu są zarówno przyczyną, jak i wynikiem toczącego się procesu nowotworowego, powinny zostać dokładniej zbadane i wykorzystane jako czynnik diagnostyczny, prognostyczny oraz potencjalny cel terapeutyczny. Pozwoliłoby to na całkowitą eliminację zmiany nowotworowej oraz uniknięcie działań niepożądanych, którymi obarczone są obecnie stosowane warianty leczenia.

Bibliografia

1. Backes, C., Harz, C., Fischer, U., Schmitt, J. i wsp. (2015) New insights into the genetics of glioblastoma multiforme by familial exome sequencing. *Oncotarget*, 6: 5918–5931. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2950>
2. Balana C, De Las Penas R, Sepúlveda JM, Gil-Gil MJ i wsp. (2016) Bevacizumab and temozolomide versus temozolomide alone as neoadjuvant treatment in unresected glioblastoma: the GENOM 009 randomized phase II trial. *J Neurooncol*, 127: 569–79. doi: 10.1007/s11060-016-2065-5.
3. Braun, K., Ahluwalia, M. S. (2017) Treatment of Glioblastoma in Older Adults. *Curr Oncol Rep*, 19: 1–7. <https://doi.org/10.1007/s11912-017-0644-z>
4. Chang L, Su J, Jia X, Ren H. (2014) Treating malignant glioma in Chinese patients: Update on temozolomide. *Onco Targets Ther*, 7: 235–244. doi:10.2147/OTT.S41336
5. Cohen A, Holmen S, Colman H. (2013) IDH1 and IDH2 Mutations in Gliomas. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 13: 345. doi:10.1007/s11910-013-0345-4.IDH1
6. Delgado-López, P.D., Corrales-García, E.M. (2016) Survival in glioblastoma: a review on the impact of treatment modalities. *Clin Transl Oncol*, 18: 1062. <https://doi.org/10.1007/s12094-016-1497-x>
7. Dunn G.P., Rinne M.L., Wykosky J., Genovese G. i wsp. (2012) Emerging insights into the molecular and cellular basis of glioblastoma. *Genes Dev*, 26: 756–784. doi:10.1101/gad.187922.112.and.
8. Gao K, Ji Z, She K, Yang Q, Shao L. (2017) Long non-coding RNA ZFAS1 is an unfavourable prognostic factor and promotes glioma cell progression by activation of the Notch signaling pathway. *Biomed Pharmacother*, 87: 555–560 doi:10.1016/j.biopha.2017.01.014.
9. Gliński B, Ząbek M, Urbański J. (2006) Glejak wielopostaciowy: impas czy postęp w pooperacyjnym leczeniu adiuwantowym. *Onkologia w Praktyce Klinicznej*, tom 2: 1-5
10. Khan RB, Raizer JJ, Malkin MG, Bazylewicz KA, Abrey LE. (2002) A phase II study of extended-dose temozolomide in recurrent malignant gliomas. *Neuro-Oncology*, 4: 39–43. doi:10.1215/S1522851701000382.
11. Kondziolka, D., Shin, S. M., Brunswick, A., Kim, I., Silverman, J. S. (2015) The biology of radiosurgery and its clinical applications for brain tumors. *Neuro-Oncology*, 17: 29–44. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nou284>
12. Kulczycka A, Bednarek I, Dzierżewicz Z. (2013) Modyfikacje epigenetyczne jako potencjalne cele terapii antynowotworowych. Epigenetic modifications as potential targets of anti-cancer therapy. *Ann Acad Medi Siles*, tom 67: 201–208.

13. Liu, B. L., Cheng, J. X., Zhang, X., Wang, R. (2010) Global histone modification patterns as prognostic markers to classify glioma patients. *Cancer Epid Biomark and Prev*, 19: 2888–2896. doi: [10.1158/1055-9965.EPI-10-0454](https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-10-0454)
14. Louis, D. N., Perry, A., Reifenberger, G., von Deimling i wsp. (2016) The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuro-pathol*, 131: 803–820. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1545-1>
15. Luo M, Li Z, Wang W, Zeng Y i wsp. (2013) Long non-coding RNA H19 increases bladder cancer metastasis by associating with EZH2 and inhibiting E-cadherin expression. *Cancer Lett*, 333: 213–221. doi:10.1016/j.canlet.2013.01.033.
16. Martinez R, Esteller M. (2010) The DNA methylome of glioblastoma multiforme. *Neurobiol Dis*, 9: 40–46. doi:10.1016/j.nbd.2009.12.030.
17. Narita Y. (2015) Bevacizumab for glioblastoma. *Ther Clin Risk Manag*, 11: 1759–1765. doi:10.2147/TCRM.S58289
18. Oermann E, Collins BT, Erickson KT, Yu X, Lei S. (2010) CyberKnife enhanced conventionally fractionated chemoradiation for high grade glioma in close proximity to critical structures. *J HematolOncol*, 3: 22. doi:10.1186/1756-8722-3-22
19. Okada M, Miyake K, Tamiya T. (2017) Glioblastoma Treatment in the Elderly. *Neurol Med Chir(Tokyo)*, 57: 667–676. doi:10.2176/nmc.ra.2017-0009.
20. Rolle K, Nowak S, Wyszko E, Nowak M. i wsp. (2010) Promising human brain tumors therapy with interference RNA intervention (iRNAi). *Cancer Biol Ther*, 9: 397–407
21. Salma, S., Djan, I., Bjelan, M., Vulekovic, P. i wsp. (2017). Benefit and outcome of using temozolomide-based chemoradiotherapy followed by temozolomide alone for glioblastoma in clinical practice. *J BUON*, 22:1233-1239
22. Sánchez LM. (2016) Glioblastoma: Multidisciplinary treatment approaches. *Applied Radiation Oncology*, 3: 17-25
23. Spigel DR, Greco FA, Meluch AA, Lane CM i wsp. (2010) Phase I/II trial of preoperative oxaliplatin, docetaxel, and capecitabine with concurrent radiation therapy in localized carcinoma of the esophagus or gastroesophageal junction. *J Clin Oncol*, 28: 2213–2219. doi:10.1200/JCO.2009.24.877
24. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M i wsp. (2005) Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med*, 352: 987–996
25. Thomas A, Tanaka M, Trepel J, Reinhold WC i wsp. (2017) Temozolomide in the era of precision medicine. *Cancer Res*, 77: 823–826. doi:10.1158/0008-5472.CAN-16-2983\
26. Yang, Y., Ren, M., Song, C., Li, D. i wsp. (2017) LINC00461, a long non-coding RNA, is important for the proliferation and migration of glioma cells. *Oncotarget*, 8: 84123–84139. <http://doi.org/10.18632/oncotarget.20340>
27. Young RM, Jamshidi A, Davis G, Sherman JH. (2015) Current trends in the surgical management and treatment of adult glioblastoma. *Ann Transl Med*, 3: 121. doi:10.3978/j.issn.2305-5839.2015.05.10
28. Zhang K, Wang XQ, Zhou B, Zhang L. (2013) The prognostic value of MGMT promoter methylation in Glioblastoma multiforme: A meta-analysis. *Fam Cancer*, 12: 449–458. doi:10.1007/s10689-013-9607-1.
29. Zhang Y, Yu J, Zhang L, Cai J i wsp. (2016) Enhanced anti-tumor effects of doxorubicin on glioma by entrapping in polybutylcyanoacrylate nanoparticles. *Tumor Biol*, 37: 2703–2708. doi:10.1007/s13277-015-4106-7

Kamila Pawlicka¹, Anna-Maria Barciszewska^{2,3}, Katarzyna Rolle¹, Jan Barciszewski¹

¹Zakład Epigenetyki Instytutu Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk, Poznań, ²Pracownia Obrazowania Śródoperacyjnego, Katedra i Klinika Neurochirurgii i Neurotraumatologii, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu, ³Szpital Kliniczny im. H. Święcickiego, Poznań. E-mail: jbarcisz@ibch.poznan.pl