

# Vzťah medzi genetikou a histologickým obrazom oligodendrogliómov

MUDr. Boris Rychlý, PhD.<sup>1</sup>, MUDr. Andrej Šteňo, PhD.<sup>2</sup>, MUDr. Marián Švajdler, ml.<sup>3</sup>, doc. MUDr. Dušan Daniš, CSc.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Cytopathos, s. r. o. – biooptické a cytologické laboratórium, Bratislava

<sup>2</sup>Neurochirurgická klinika LF UK a UNB, Nemocnica akad. L. Dérera, Bratislava

<sup>3</sup>Oddelenie patológie FNŠP L. Pasteura, Košice

**Úvod:** Alelická strata na krátkom ramienku 1. chromozómu a na dlhom ramienku 19. chromozómu (1p/19q LOH) je genetický znak oligodendrogliómov a je významný prognostický a prediktívny marker. Cieľom práce bolo posúdiť možnosť stanovenia statusu 1p/19q LOH na základe analýzy klasických histomorfologických znakov v oligodendrogliových nádoroch.

**Pacienti a metódy:** V období od mája 2007 do mája 2010 boli prospektívne zaradení pacienti, ktorých histológia bola hodnotená v Cytopathos, s. r. o., a mali vyšetrený status 1p/19q LOH. Tumory sa diagnostikovali na základe kritérií WHO 2007. Semikvantitatívne sa hodnotilo 8 histomorfologických znakov. Vypracovali sa biviačné analýzy medzi premennými a sledovaným výstupom pomocou jednoduchej logistickej regresie. Následne bol zostrojený viacnásobný logistický regresný model, do ktorého sa zahrnuli premenné, ktoré mali významný príspevok k diskriminačnej schopnosti modelu. Hraničná hodnota logistického modelu bola stanovená na 0,5 a pre túto hodnotu bola spočítaná senzitivita, špecificita, pozitívna a negatívna prediktívna hodnota modelu a príslušné intervaly spoľahlivosti.

**Výsledky:** Do súboru bolo zaradených 70 pacientov s tumoróznymi léziami mozgu, 41 mužov a 29 žien. Priemerný vek bol 43,5 roku (rozsah 3 – 84 rokov). Z histologických parametrov všetky znaky okrem celularity a mikrocystickej premeny pozadia vykazovali koreláciu s 1p/19q LOH. Ako optimálny bol vybraný logistický model pozostávajúci z pohlavia a troch histologických znakov, schopný stanoviť prítomnosť 1p/19q LOH so senzitivitou 89,3 % a špecificitou 88,1 %. Pozitívna prediktívna hodnota modelu je 83,3 %, negatívna prediktívna hodnota je 92,5 %.

**Záver:** Na našom súbore sme potvrdili silnú koreláciu medzi 1p/19q LOH a klasickou histomorfológiou oligodendrogliómov. Naš model nenahrádza genetické vyšetrenie, ale pri jeho nedostupnosti môže slúžiť na predikciu statusu 1p/19q LOH.

**Kľúčové slová:** oligodendrogliové tumory, 1p/19q LOH, prognostické a prediktívne markery.

## *The relationship between genetics and histologic pattern oligodendroglioma*

**Introduction:** Loss of heterozygosity on the short arm of the 1. chromosome and on the long arm of the 19. chromosome (1p/19q LOH) is a genetic hallmark of oligodendrogliomas and significant prognostic and predictive marker. The aim of the study was to assess the possibility to predict 1p/19q LOH status by the means of the classic histomorphologic features of oligodendroglial tumours.

**Patients and methods:** In the period from May 2007 to May 2010 were prospectively enrolled patients whose histology was evaluated in the Cytopathos Ltd. and examined 1p/19q LOH status. Histologic diagnoses were based on WHO 2007 criteria. 8 histologic features were semiquantitatively assessed. Bivariant statistics was applied and output was monitored by simple logistic regression. Afterwards multivariable logistic model was constructed from the variables with significant contribution to the discriminating power of the model. Cut-off of the logistic model was set 0.5 and sensitivity, specificity, positive and negative predictive values were calculated for that according to pertinent confidence intervals.

**Results:** 70 patients with tumorous brain lesions were included in the study, 41 men and 29 women. Average was 43.5 years (range 3-84 years). All histological parameters were significant except for cellularity and microcystic change. Optimal logistic model composed from gender and three histologic features was able to predict presence of 1p/19q LOH with sensitivity 89.3% and specificity 88.1%. Positive predictive value of the model is 83.3%, negative predictive value is 92.5%.

**Conclusion:** On our set of patients we confirmed strong correlation between 1p/19q and classic oligodendroglial histomorphology. Our model does not replace genetic examination, but if it is unavailable, it can be used for prediction of the 1p/19q LOH status.

**Key words:** oligodendroglial tumours, 1p/19q LOH, prognostic and predictive markers.

Onkológia (Bratisl.), 2014; roč. 9(1): 46–50

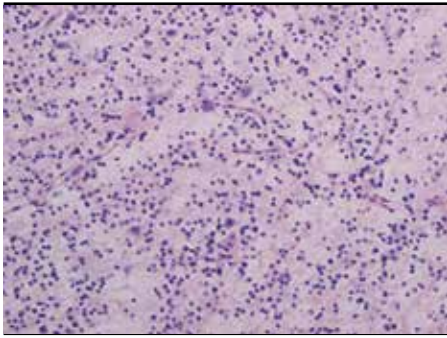
## Úvod

Oligodendroglióm je definovaný ako tumor zložený predominantne z buniek morfológie pripomínajúcich oligodendroglie (obrázky 1 – 3). Pokroky v neurochirurgii, ktorá je primárnou modalitou liečby, umožnili resekovat aj tumory donedávna považované za neodstrániteľné. Napriek tomu sú oligodendrogliómy smrteľnou chorobou. Bližšie poznanie etio-

patogenetických mechanizmov týchto tumorov poskytuje nádej na objavenie účinnejších spôsobov terapie. Poznatky v oblasti genetiky mozgových nádorov prechádzajú v ostatnom období búrlivým rozvojom. Alelická strata na 1. a 19. chromozóme (1p/19q LOH – loss of heterozygosity) bola opísaná ako genetický znak oligodendrogliómov. Následne sa ukázalo, že ide o významný prognostický a prediktív-

ny marker. Typizácia na základe genetických znakov možno lepšie koreluje s biologickým správaním mozgových tumorov ako klasická histológia. Je možné, že v budúcnosti bude histologická klasifikácia nahradená, alebo aspoň výrazne modifikovaná, genetickou typizáciou. Tento trend je možné už v súčasnosti pozorovať pri difúzných gliómoch s delením na 1p/19q intaktné a pozitívne.

**Obrázok 1.** Hematoxilín – eozín. 100-krát Pro-liferácia pomerne pravidelných neoplastických buniek



### Ciele práce

1. Definovať výskyt genetickej prestavby 1p/19q LOH na vlastnom súbore gliových tumorov.
2. Korelovať klasické histomorfologické znaky gliových tumorov so statusom 1p/19q LOH.
3. Posúdiť možnosť využitia klasických histomorfologických znakov na predikciu alelickej straty 1p/19q.

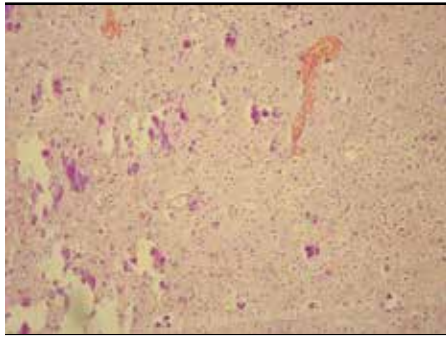
### Súbor pacientov a metódy

Pacienti boli prospektívne zaradovaní v období od mája 2007 do mája 2010. Do štúdie boli začlenení všetci pacienti s mozgovým tumorom, u ktorých bolo vykonané genetické vyšetrenie 1p/19q LOH. Genetické vyšetrenie sa robilo pri všetkých oligodendrogliových tumoroch a zmiešaných gliových tumoroch s oligodendrogliovou zložkou (oligodendroglióm II, oligodendroglióm III, oligoastrocytóm II, oligoastrocytóm III, glioblastóm s oligodendrogliovou zložkou IV). Toto vyšetrenie bolo indikované z diagnostických dôvodov pri všetkých tumoroch, pri ktorých bol oligodendroglióm v diferenciálnej diagnostike (astrocytóm, glioblastóm, ependymóm, oligodendrogliová glióza) a u niektorých pacientov sa 1p/19q LOH vyšetruvalo na žiadosť klinického lekára. Bolo zozbieraných 77 konsekutívnych pacientov. Následne boli 7 pacienti vyradení pre nevýpovedné genetické vyšetrenie. Súbor teda tvorí 70 pacientov, ktorí boli operovaní na Neurochirurgickej klinike LF UK a UNB, Nemocnice akad. L. Déjera a histologizovaní v laboratóriu Cytopathos, s. r. o.

Vzorky mozgových nádorov boli fixované vo formalíne a spracované štandardnou parafínovou metódou. Tumory boli diagnostikované na základe kritérií WHO 2007. Semikvantitatívne bolo hodnotených 8 histomorfologických znakov:

1. zastúpenie buniek s okrúhlymi, oválnymi jadrami – 0 (0 – 5 %), 1 (6 – 33 %), 2 (34 – 66 %), 3 (67 – 100 %)
2. zastúpenie buniek s perinukleárnymi prejasneniami – 0 (0 – 5 %), 1 (6 – 33 %), 2 (34 – 66 %), 3 (67 – 100 %)

**Obrázok 2.** Hematoxilín – eozín. 100-krát Pro-liferácia pomerne pravidelných neoplastických buniek



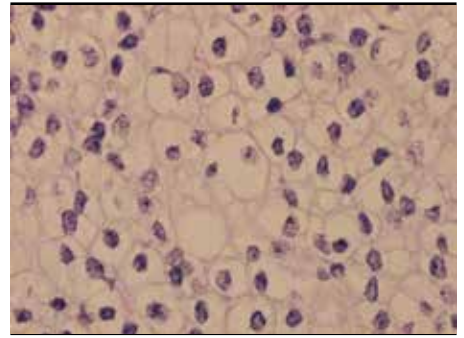
3. proporcia tumoru s delikátnou pravouhlo-vetvenou vaskulatúrou – 0 (0 – 5 %), 1 (6 – 33 %), 2 (3 – 66 %), 3 (67 – 100 %)
4. celularita – 0 (nízka), 1 (mierne zvýšená), 2 (stredná), 3 (vysoká)
5. proporcia tumoru s kalcifikáciami – 0 (bez), 1 (ojedinelé), 2 (stredné), 3 (masívne)
6. proporcia tumoru s mikrocystami – 0 (0), 1 (1 – 33 %), 2 (34 – 66 %), 3 (67 – 100 %)
7. proporcia tumoru s gemistocytoidnými bunkami (gemistocyty a/alebo minigemistocyty) – 0 (0), 1 (1 – 33 %), 2 (34 – 66 %), 3 (67 – 100 %)
8. bunkové atypie – 0 (minimálne), 1 (mierne), 2 (stredné), 3 (výrazné)

Súbor obsahuje údaje o veku a pohlaví pacientov, ktoré boli vybrané z klinických sprievodiek bioptických materiálov. Lokalita bola uvedená u 66 pacientov.

Alelická strata krátkeho ramienka 1. chromozómu a dlhého ramienka 19. chromozómu bola vyšetruvaná fluorescenčnou in situ hybridizáciou (obrázky 5 a 6). Osem parafínových rezov bolo deparafinizovaných. Bolo aplikovaných 7 ul sondy LSI 1p36so/1p25sg, LSI 19p13so/19qsg a 3 ul LSI PTENso/cep10sg. Materiál bol denaturovaný pri 73 °C v thermo-block HYBrite™ (Vysis) a hybridizovaný pri 37 °C. Alelická strata bola vyšetrená vo fluorescenčnom mikroskope (zväčšenie 1 000-krát). Bolo počítaných 200 jadier nádorových buniek. Dva červené signály a jeden zelený v rovnakom jadre aspoň v 5 % analyzovaných buniek bolo považovaných za pozitívny výsledok.

Sledované charakteristiky boli ordinálne so štyrmi úrovňami (0, 1, 2, 3), binárna premenná pohlavia bola kódovaná (muži „0“, ženy „1“). V prvom kroku boli urobené bivariačné analýzy medzi premennými a sledovaným výstupom (1p/19q LOH status; kódovanie „0“ negat., „1“ pozit.) pomocou jednoduchšej logistickej regresie. Následne bol zostrojený viacnásobný (binárny) logistický regresný model, do ktoré-

**Obrázok 3.** Hematoxilín – eozín. 400-krát Nádorové bunky majú okrúhle až oválne jadrá a perinukleárne prejasnenia

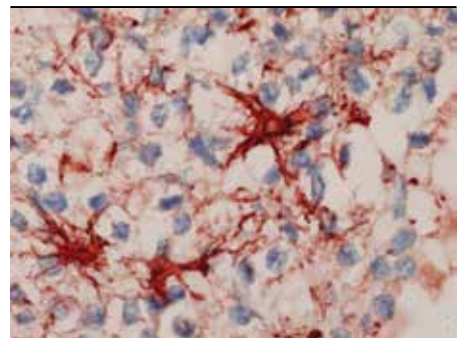


ho boli zahrnuté premenné, pri ktorých bol zistený významný vzťah v bivariačnej analýze a následne ponechané tie, ktoré mali významný príspevok k diskriminačnej schopnosti modelu (interakčné členy v analýze neboli uvažované). Diskriminačná schopnosť modelu bola stanovená pomocou ROC (receiver operating characteristic) krivky a plochou pod ROC krivkou. Hraničná hodnota (cut-off point) logistického modelu bola a priori stanovená na 0,5 a pre túto hodnotu bola spočítaná senzitivita, špecificita, pozitívna a negatívna prediktívna hodnota modelu. Na štatistickú analýzu bol použitý softvér StatsDirect verzia 2.7.8. StatsDirect Ltd. (<http://www.statsdirect.com>) a Microsoft Office Excel 2003 a 2010.

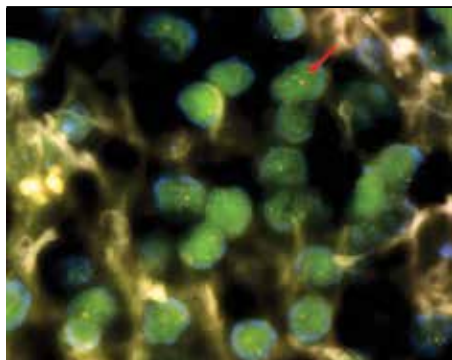
### Výsledky

Zo súboru 70 pacientov bolo 41 mužov (59 %) a 29 žien (41 %). Vekové rozpätie bolo v rozsahu 3 – 84 rokov, priemerný vek 43,5 roku. Vek, histologická diagnóza, lokalita tumoru, výsledok genetického vyšetrenia a 8 sledovaných histologických znakov sú uvedené v tabuľke (dostupná v online verzii). Študovaných bolo 69 nádorových diagnóz: 17 x oligodendroglióm WHO gr. II, 17 x anaplastický oligodendroglióm WHO gr. III, 7 x astrocytóm WHO gr. II, 3 x anaplastický astrocytóm WHO gr. III, 11 x oligoastrocytóm WHO gr. II, 1 x anaplastický oligoastrocytóm

**Obrázok 4.** Imunohistochemické farbenie na GFAP. 400-krát. Variabilná GFAP pozitivita v neoplastických oligodendrogliách, zachytené sú aj 3 pavúkovité reaktívne astrocyty

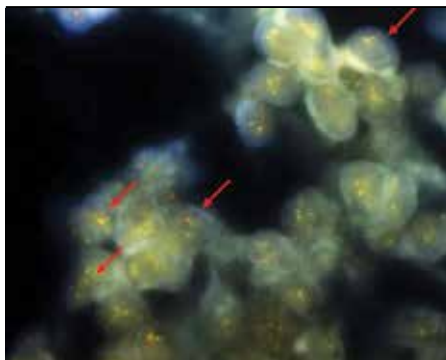


**Obrázok 5.** FISH analýza 1p36 (oranžové spektrum) a 1q25 (zelené spektrum), zmiešaná sonda. Vizualizované širokospektrovým filtrom. Šípka ukazuje abnormálnu bunku s jedným oranžovým signálom (strata 1p) a dva zelené signály (kontrola 1q). Jadrá boli vizualizované s DAPI farbením (modrá).



WHO gr. III, 12 x glioblastóm WHO gr. IV, 1 x anaplastický ependymóm WHO gr. III. Študovaná bola aj jedna nenádorová „reaktívna glióza (1p/19q LOH status bol v tomto prípade vyšetrovaný z hľadiska diferenciálnej diagnózy reaktívnej oligodendrogliovej gliózy oproti nízkostupňovému oligodendrogliómu). Alelická strata 1p/19q bola zachytená 28x (40 %): 12 x anaplastický oligodendroglióm WHO gr. III, 9 x oligodendroglióm WHO gr. II, 6 x oligoastrocytóm WHO gr. II, 1 x astrocytóm WHO gr. II. Z histologických parametrov všetky znaky okrem celularity a mikrocystickej premeny pozadia vykazovali koreláciu s 1p/19q. Vybraný bol logistický model pozostávajúci z pohlavia a troch histologických znakov (muž 0, žena 1, 1. znak – zastúpenie buniek s oválnymi a okrúhlymi jadrami, 3. znak – proporcia tumoru s delikátnou pravouhlou vaskulatúrou a 7. znak – neprítomnosť gemistocytoidných elementov).

**Obrázok 6.** FISH analýza 19q13 (oranžové spektrum) a 19p13 (zelené spektrum), zmiešaná sonda. Vizualizované širokospektrovým filtrom. Červené šípky ukazujú nepostihnuté chromozómy s dvomi oranžovými a dvomi zelenými signálmi. Jadrá boli vizualizované s DAPI farbením (modrá).



Logistický model:  $\text{logit } Y = -11,785395 + 2,678854 \times \text{pohlavie} + 4,23822 \times 1. \text{znak} + 1,947692 \times 3. \text{znak} - 2,268713 \times 7. \text{znak}$ , pre stanovenú hraničnú hodnotu 0,5 je schopný predikcie prítomnosti alelickej straty 1p/19q so senzitivitou 89,3 % a špecificitou 88,1 % (vzťah medzi senzitivitou a špecificitou zvoleného modelu znázorňuje ROC krivka, obrázok 7). Pozitívna prediktívna hodnota modelu je 83,3 %, negatívna prediktívna hodnota je 92,5 %. Analýza ešte ukázala, že nontemporálna lokalita, ktorá je asociovaná s 1p/19q LOH, nemá vplyv na zvolený logistický model.

### Diskusia

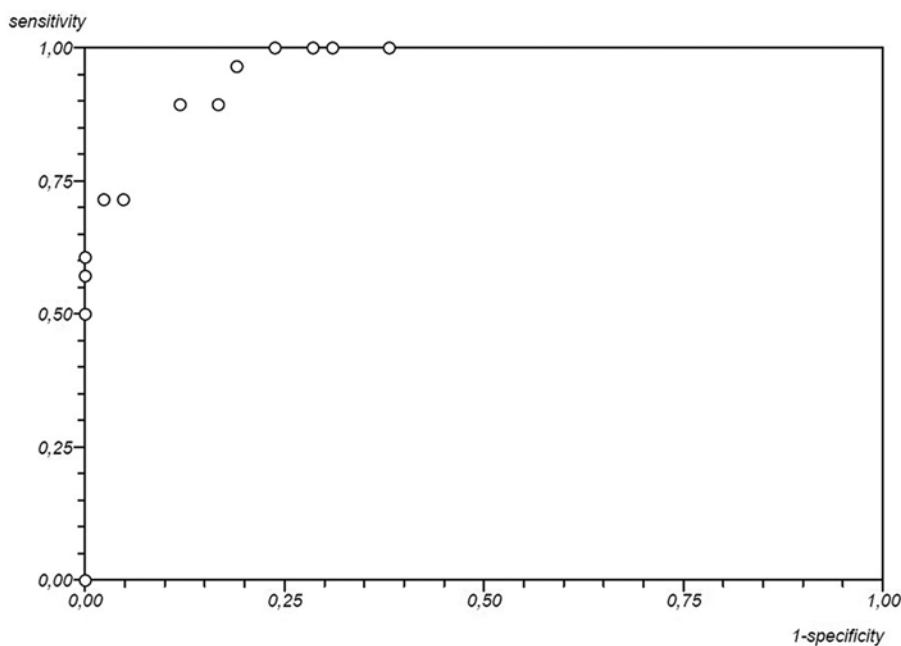
Gliómy sú najčastejšie intraaxiálne primárne mozgové nádory. V porovnaní napríklad s karcinómom prsníka alebo prostaty predstavujú zriedkavé ochorenie. To je pravdepodobne dô-

vod, prečo boli pri vývoji modalít onkologickej liečby dlhé roky na okraji záujmu. Pritom infiltrujúce gliómy sú takmer bez výnimky smrteľné ochorenie. Na rozdiel od väčšiny iných malignít nezabíjajú pacientov metastatickým rozsevom, ale nevyhnutnou rekurenciou tumoru v mozgovom tkanive. Príčina rekurencií, i po radikálnych chirurgických zákrokoch, je schopnosť nádorových kmeňových buniek migrovat v mozgovom tkanive ďaleko za hranice tumoru pozorovateľné na MR, dokonca i za hranice pozorovateľné svetelným mikroskopom. Preto infiltrujúco rastúci glióm prakticky nie je možné vyliečiť len chirurgickým zákrokom. Terapia pravdepodobne bude musieť byť multimodálna a bude musieť ísť za hranice rádioterapie a konvenčnej chemoterapie. Kmeňové nádorové bunky, ktoré udržiavajú populáciu „diferencovaných“ nádorových buniek, sú v nádoroch v minoritnom počte a sú to bunky, ktoré sú rezistentné na rádioterapiu a konvenčnú chemoterapiu. Úspešná liečba v budúcnosti bude musieť byť zameraná práve na tieto bunky.

Podmienkou úspešnej liečby oligodendrogliómov je pokrok v našom poznaní biológie tohto ochorenia. V posledných rokoch sme svedkami búrlivého rozvoja poznatkov o primárnych mozgových tumoroch, ktorý priniesla predovšetkým molekulová patológia a genetika. Prielomom v oblasti oligodendrogliových tumorov bolo opísanie alelickej straty na krátkom ramienku 1. chromozómu a na dlhom ramienku 19. chromozómu. Ukázalo sa, že táto zmena je nielen kľúčový genetický znak oligodendrogliómov, ale úzko súvisí aj s prognózou a predikciou odpovede na chemoterapiu a rádioterapiu. Ide o genetický marker, ktorý môže poskytnúť veľmi cennú informáciu pre neuroonkologa pri rozhodovaní o stratégii liečby pacienta. Zároveň je objektívnejším diagnostickým markerom oligodendrogliových tumorov ako pomerne subjektívne histologické hodnotenie. I keď molekulová medicína nezadržateľne pretvára náplň patológie ako medicínskeho odboru, jej metodiky v súčasnosti ešte stále nie sú ľahko dostupné na bežných pracoviskách patológie. Vieme, že histomorfologický vzťah tumoru je výsledok súhry či protichodného pôsobenia genetických zmien v jeho nádorových bunkách. Je však možné aj predpokladať, že niektoré histomorfologické znaky by mohli poukazovať na genetické zmeny v nádore.

Medzi charakteristické histologické znaky oligodendrogliómu patria: uniformné nádorové bunky s okrúhlymi jadrami, delikátna, tenkostenná a pravouhlo-vetvená vaskulatúra,

**Obrázok 7.** ROC krivka znázorňujúca vzťah medzi senzitivitou a špecificitou zvoleného modelu



afinita k mozgovej kôre so satelitózou okolo neurónových buniek a agregáciou neoplastických elementov okolo ciev (tzv. sekundárne štruktúry), prítomnosť kalcifikátov, perinukleové prejasnenia, čo je však len artefakt formolovej fixácie. Okrem toho často obsahujú kalcifikáty a mikrocystické pozadie (11). Tieto znaky spolu vytvárajú klasickú oligodendrogliovú morfológiu. Gliovú podstatu oligodendroglíomov zdôvodňuje aj konštantná, i keď variabilná expresia GFAP (gliový fibrilový kyslý proteín, obrázok 4). Najčastejšie je vyjadrená v gliofibrilárných oligodendroglíoch a v minigemistocytoch. Tieto bunky sa označujú ako prechodné, pretože majú morfológiu hraničnú medzi astrocytmi a oligodendrogliami. Ich výskyt je podkladom problematického a niekedy subjektívneho odlišenia od astrocytových tumorov. Uvedené charakteristiky sa však málokedy zachytia všetky v jednom tumore. Klasické oligodendrogliové znaky sú vo vyšších stupňoch malignity menej vyjadrené. Čím je oligodendrogliový tumor „anaplastickejší“, tým viac sa jeho bunky začínajú podobáť histomorfologicky na astrocytové. Tento efekt môžeme pozorovať i ako efekt rádio- a chemoterapie. 1p/19q LOH ako genetický znak oligodendroglíomov je stabilná genetická zmena a ostáva zachovaná aj pri histologickej progresii a po liečbe. Neklasickú oligodendrogliovú histomorfológiu môžeme pozorovať aj v tumoroch nižšieho stupňa malignity. V rutínnej praxi je táto neklasická oligodendrogliová histomorfológia bežná, v skutočnosti ide o histomorfologické kontinuum od oligodendroglíomov, cez oligoastrocytomy až k astrocytómom.

Oligodendroglíom je definovaný podľa WHO ako tumor zložený predominantne z buniek morfológicky pripomínajúcich oligodendroglie. Táto definícia necháva priestor na subjektívnu interpretáciu, ktorá vedie k rozličnému relatívnemu zastúpeniu oligodendroglíomov v jednotlivých centrách. Objektivitu do diagnostiky oligodendrogliových tumorov by mohlo priniesť rutinné vyšetrenie alelickej straty na 1. a 19. chromozóme, ktorá sa považuje za genetický znak oligodendroglíomov.

Typická genetická zmena oligodendroglíomov, 1p/19q LOH (9, 19), je asociovaná s priaznivou odpoveďou na chemoterapiu, je aj nezávislým prognostickým znakom pri anaplastických aj gr. II oligodendroglíomoch (1, 60, 7, 18). Viaceré práce poukázali na spojitosť medzi 1p/19q LOH a histologickými znakmi oligodendroglíomov. Watanabe et al. (20) zistili, že 93 % oligodendroglíomov s delikátnou pravouhlo-vetvenou vaskulatórou a s perinukleárnym prejasnením

vo viac ako 50 % buniek vykazovalo 1p/19q LOH. Kim et al. (8) pozorovali signifikantnú koreláciu medzi 1p/19q LOH a proporciou buniek s perinukleárnymi prejasneniami kombinovanou so strednou a s vyššou celularitou tumoru. V práci Sasaki et al. (15) 86 % tumorov s klasickou oligodendrogliovou morfológiou vykazovalo 1p/19q LOH. Scheie et al. (16) opísali takmer 12-krát väčšiu pravdepodobnosť záchytu 1p/19q LOH pri oligodendroglíomoch s viac ako 50 % podielom buniek s uniformnými jadrami s perinukleárnymi prejasneniami.

Na našom súbore sme potvrdili koreláciu medzi 1p/19q LOH a klasickou oligodendrogliovou morfológiou. Okrem celularity a mikrocystického pozadia všetky sledované histologické znaky z bivariačnej analýzy ukázali asociáciu s 1p/19q LOH. Na lepšiu reprodukovateľnosť histologického hodnotenia sme nerozlišovali medzi minigemistocytmami a pravými astrocytovými gemistocytmami, ich zastúpenie sme hodnotili spoločne (gemistocytoidné elementy). Náš model založený na pohlaví a na troch histologických znakoch (zastúpenie buniek s oválnymi a okrúhlymi jadrami, proporcia tumoru s delikátnou pravouhlo vaskulatórou a neprítomnosť gemistocytoidných elementov) bol schopný predikcie 1p/19q LOH s vysokou senzitivitou a špecificitou (89,3 % a 88,1 %). Zaujímavým, i keď v literatúre málo diskutovaným fenoménom je nezávislý pozitívny vplyv ženského pohlavia na prítomnosť 1p/19q LOH. Príčinou sú pravdepodobne medzi pohlavné rozdiely v biológii mozgových tumorov, ktorá sa prejavuje aj rozdielmi v ich incidencii (11, 13) medzi oboma pohlaviami. V zhode s literárnymi údajmi náš súbor vykazoval miernu prevahu mužov nad ženami (59 % verus 41 %).

Nedávno bola identifikovaná asociácia medzi 1p/19q LOH a lokalitou tumoru, väčšina 1p/19q LOH pozitívnych tumorov sa vyskytuje v extratemporálnej lokalite (5, 10, 14, 21). Analýza nášho súboru neukázala ovplyvnenie zvoleného modelu lokalitou tumoru. Rovnako nemal vplyv vek, ale v súbore bolo zaradených len málo pacientov pod 20 rokov. Je známe, že u detských pacientov s oligodendroglíomami sa 1p/19q LOH vyskytuje len zriedkavo (13), a detské tumory, ktoré túto prestavbu majú, nevykazujú lepšiu prognózu ako 1p/19q LOH negatívne tumory.

Tumory, ktoré histologicky môžu významne napodobňovať oligodendroglíomy, ako napríklad centrálny neurocytóm, do súboru neboli zaradené. Mohli by ovplyvniť senzitivitu a špecificitu modelu, cieľom práce však nebolo analyzovať možnosti využitia 1p/19q LOH v di-

ferenciálnej diagnostike mozgových tumorov. Práca bola zameraná na analýzu vzťahu medzi morfológiou a genetikou v gliových a predovšetkým v oligodendrogliových tumoroch.

Z nášho súboru bola 1p/19q LOH zachytená v 61 % všetkých oligodendroglíomov (gr. II aj anaplastických), čo je v súlade s literárnymi údajmi, 1p/19q sa vyskytuje v 50 – 90 % oligodendroglíomov (2, 3, 17). Na rozdiel od publikovanej literatúry (4), v našom súbore bola 1p/19q častejšie zachytená pri anaplastických ako pri gr. II oligodendroglíomoch. To je možné vysvetliť relatívne nižším počtom pacientov v súbore, zvolenou metodikou genetického vyšetrenia, vplyv môže mať aj horšia reprodukovateľnosť diagnostických kritérií pre anaplastické oligodendroglíomy oproti gr. II tumorom. Model bude potrebné testovať aj na nezávislom súbore pacientov.

Práca zaoberajúca sa prognostickým významom genetických aberácií v oligodendroglíomoch (12) poukázala aj na možnú závislosť od morfológických parametrov. Autori na súbore anaplastických oligodendroglíomov zistili, že 1p/19q LOH mala prognostický význam len pri tumoroch s klasickou histomorfológiou. Klasická morfológia je pravdepodobne nezávislým prognostickým znakom. Oligodendroglíomy potom môžeme rozdeliť do štyroch odlišných prognostických skupín: oligodendroglíomy s klasickou morfológiou s 1p/19q LOH, oligodendroglíomy s klasickou morfológiou bez 1p/19q LOH, oligodendroglíomy s neklasickou morfológiou s 1p/19q LOH a oligodendroglíomy s neklasickou morfológiou bez 1p/19q LOH. Posledná skupina má najhoršiu prognózu. Budúce štúdie zamerané na oligodendrogliové tumory budú musieť posúdiť, či klasifikácia založená na histomorfológii a na genetickom statuse poskytuje lepšiu prognostickú informáciu, ako použitie samotnej genetiky alebo histomorfológie.

## Záver

Napriek pokroku v poznaní oligodendroglíomov v súčasnosti ostáva viacero nezodpovedaných otázok. Tumor supresorový gén, ktorého strata je zodpovedná za vznik oligodendroglíomu, nebol zatiaľ identifikovaný. Objavenie kritických génov zodpovedných za vznik takého letálneho ochorenia, ako je oligodendroglíom, by mohlo viesť k cielenej terapii a predĺženému prežívaniu pacientov. Nie je jasné, či strata genetického materiálu na 1p/19q chromozómoch je zodpovedná za citlivosť na chemoterapiu, alebo je len markerom pre tumory, ktoré lepšie odpovedajú na liečbu. Čo je to zmiešaný gliový tumor,

čiže oligoastrocytóm? Je to zmiešaný tumor aj na genetickej úrovni, odlišný od oligodendroglíomu na jednej strane a od astrocytómu na strane druhej? Zo štúdií využívajúcich genetické metodiky na mikrodisekovanom materiáli je zrejmé, že oba komponenty oligoastrocytómu sú pravdepodobne súčasťou jedného nádorového procesu (9). Preto kategória oligoastrocytómu pravdepodobne len reflektuje limitácie morfologickej histologickej diagnostiky. Vzhľadom na veľkú interobserver variabilitu hodnotenia pre diagnózu oligodendroglíom – oligoastrocytóm – astrocytóm je otázne, či by nebolo lepšie klasifikovať difúzne gliómy na základe 1p/19q statusu. Molekulové kritériá pravdepodobne lepšie korelujú s prežívaním pri oligodendroglíomoch a sú lepšie reprodukovateľné. Limitáciou tohto prístupu je, že klasická oligodendrogliová morfológia 100 % nekoreluje s 1p/19q LOH a genetické metodiky nie sú zatiaľ rutinne na všetkých pracoviskách patológie. Najracionálnejším prístupom v súčasnosti teda asi je predpokladať, že difúzny glióm je astrocytóm, pokiaľ nie je dokázaná iná diagnóza (oligodendroglíom). Niektorí pacienti s 1p/19q LOH pozitívnymi tumormi nereagujú na chemoterapiu a, naopak, iní, s intaktným 1p/19q statusom, dobre odpovedajú na chemoterapiu. Preto je potreba poznania ďalších genetických biologických markerov oligodendroglíomov. Na jednej strane 1p/19q LOH predstavuje možnosť stratifikovať pacientov pre jednotlivé terapeutické možnosti, ale odkedy je známe, že oligodendroglíomy sú chemosenzitívne tumory, neprišlo k dramatickému predĺženiu celkového prežívania pacientov. Status 1p a 19q chromozómov je možné vyšetřovať rozličnými molekulovými metodikami, pre rutinnú prax je v súčasnosti preferovaná fluorescenčná in situ hybridizácia.

Histomorfologické znaky korelujú s 1p/19q LOH statusom. Genetický status je zase silne previazaný s prognózou ochorenia. To nás vedie k predpokladu, že po získaní dostatočných „follow up“ informácií (10 rokov) by bolo možné postaviť prognostický logistický model založený na histologických znakoch.

I keď ešte neboli zodpovedané všetky otázky spojené s genetikou oligodendroglíomov, genetické vyšetřenie statusu 1p/19q LOH sa stáva rutinnou súčasťou diagnózy infiltrujúcich gliómov. V našej práci sme potvrdili silnú koreláciu medzi klasickými oligodendrogliovými histologickými znakmi a 1p/19q LOH genetickým statusom. Model založený na vybraných histologických znakoch a pohlaví nenahrádza genetické vyšetřenie, pri jeho nedostupnosti však môže slúžiť na predikciu statusu 1p/19q LOH.

### Literatúra

1. Cairncross G, et al. An intergroup randomized controlled clinical trial (RCT) of chemotherapy plus radiotherapy (RT) versus RT alone for pure and mixed anaplastic oligodendroglioma: initial report of RTOG 94-02. *Neuro-oncol.* 2004;6:371.
2. Cairncross JG, et al. Specific genetic predictors of chemotherapeutic response and survival in patients with anaplastic oligodendrogliomas. *J Natl Cancer Inst.* 1998;90(19):1473–1479.
3. Dong Z, et al. Identification of two contiguous minimally deleted regions on chromosome 1p36.31-p36.32 in oligodendroglial tumours. *Br. J. Cancer* 2004;91(6):1105–1111.
4. Hartmann C von Deimling A. Oligodendrogliomas: impact of molecular genetics on treatment. *Neurol India* 2005;53(2):140–148.
5. Huang L, et al. Correlations between molecular profile and tumor location in Chinese patients with oligodendroglial tumors. *Clin Neurol Neurosurg.* 2008;110(10):1020–1024.
6. Kaloshi G, et al. Temozolomide for low-grade gliomas: predictive impact of 1p/19q loss on response and outcome. *Neurology* 2007;68(21):1831–1836.
7. Katsetos CD, et al. Localization of the neuronal class III beta-tubulin in oligodendrogliomas: comparison with Ki-67 proliferative index and 1p/19q status. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2002;61(4):307–320.

8. Kim SH, et al. Clinical, histological, and immunohistochemical features predicting 1p/19q loss of heterozygosity in oligodendroglial tumors. *Acta Neuropathol.* 2005;110(1):27–38.
9. Kraus JA, et al. Shared allelic losses on chromosomes 1p and 19q suggest a common origin of oligodendrogloma and oligoastrocytoma. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1995;54(1):91–95.
10. Laigle-Donadey F, et al. Correlations between molecular profile and radiologic pattern in oligodendroglial tumors. *Neurology* 2004;63(12):2360–2362.
11. Louis DN, et al. WK: WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. World Health Organization. 4 edition. May 2007.
12. McDonald JM, et al. Attenuated expression of DFFB is a hallmark of oligodendrogliomas with 1p-allelic loss. *Mol Cancer* 2005;12(4):35.
13. Mork SJ, et al. Oligodendrogloma: incidence and biological behavior in a defined population. *J Neurosurg.* 1985;63(6):881–889.
14. Mueller W, et al. Genetic signature of oligoastrocytomas correlates with tumor location and denotes distinct molecular subsets. *Am J Pathol.* 2002;161(1):313–319.
15. Sasaki H, et al. Histopathological-molecular genetic correlations in referral pathologist-diagnosed low-grade „oligodendrogloma“. *J Neuropathol. Exp. Neurol.* 2002;61(1):58–63.
16. Scheie D, et al. Can morphology predict 1p/19q loss in oligodendroglial tumours? *Histopathology* 2008;53(5):578–587.
17. Van den Bent MJ. Advances in the biology and treatment of oligodendrogliomas. *Curr. Opin. Neurol.* 2004;17(6):675–680.
18. Van den Bent MJ, 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(18):2715–2722.
19. Von Deimling A, et al. Comprehensive allelotyping and genetic analysis of 466 human nervous system tumors. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2000;59(6):544–558.
20. Watanabe T, et al. Phenotype versus genotype correlation in oligodendrogliomas and low-grade diffuse astrocytomas. *Acta Neuropathol.* 2002;103(3):267–275.
21. Zlatescu MC, et al. Tumor location and growth pattern correlate with genetic signature in oligodendroglial neoplasms. *Cancer Res.* 2001;61(18):6713–6715.

### MUDr. Boris Rychlý, PhD.

Cytopathos, s. r. o. – biotické  
a cytologické laboratórium, Bratislava  
Limbová 5, 833 05 Bratislava  
rychly@cytopathos.sk



Tabuľka 1. Súbor pacientov s príslušnými sledovanými znakmi.

poradové číslo	vek	diagnóza, grade	lokalita	pohlavie	1p/19q LOH	Znak 1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1	48	Anaplastický oligodendroglóm, III	F SIN	1	1	2	3	3	1	1	0	0	2
2	53	Glioblastóm, IV	FTP SIN	0	0	0	0	0	3	0	0	2	3
3	64	Glioblastóm, IV	FTP SIN	1	0	1	1	0	3	0	0	1	3
4	84	Glioblastóm, IV	T SIN	0	0	1	0	0	3	0	0	2	3
5	66	Anaplastický oligodendroglóm, III	PO DX	1	0	2	2	2	2	0	1	1	2
6	54	Anaplastický oligodendroglóm, III	F DX	1	1	3	2	2	2	0	1	1	2
7	63	Anaplastický oligodendroglóm, III	P DX	1	2	2	2	2	0	0	0	1	2
8	33	Oligoastrocytóm, II	F DX	0	1	2	2	2	2	0	0	0	1
9	23	Oligodendroglóm, II	T SIN	0	1	3	2	2	2	1	1	1	2
10	66	Oligoastrocytóm, II	FT DX	1	0	1	1	1	1	0	1	2	2
11	26	Oligoastrocytóm, II	F DX	1	1	2	1	1	2	0	2	1	1
12	76	Anaplastický astrocytóm, III	T DX	1	0	0	0	0	2	0	0	3	3
13	38	Astrocytóm, II	T SIN	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1
14	53	Oligodendroglóm, II	TO SIN	1	1	3	1	1	1	0	0	0	1
15	67	Anaplastický astrocytóm, III	F DX	0	0	1	0	0	2	0	1	2	2
16	38	Oligodendroglóm, II	F SIN	0	1	3	3	3	1	0	1	0	1
17	39	Oligodendroglóm, II	F SIN	1	1	3	3	3	2	2	0	2	2
18	59	Anaplastický oligodendroglóm, III	F DX	0	1	3	3	3	2	3	0	0	2
19	27	Oligodendroglóm, II	F DX	0	0	1	1	1	2	0	1	0	1
20	82	Astrocytóm, II	T SIN	0	0	0	2	1	1	0	2	1	1
21	56	Glioblastóm, IV	TP SIN	0	0	1	0	0	3	0	0	2	3
22	42	Anaplastický oligodendroglóm, III	F DX	1	1	3	3	3	2	2	1	0	2
23	58	Oligodendroglóm, II	P DX	0	1	2	1	2	2	1	1	0	1
24	73	Reaktívna glióza	FT DX	0	0	2	2	2	1	0	0	0	0
25	71	Anaplastický oligodendroglóm, III		1	1	2	2	1	3	1	0	1	2
26	57	Oligodendroglóm, II	F SIN	1	1	3	2	2	2	2	0	0	1
27	58	Glioblastóm, IV	PO SIN	1	0	1	0	0	2	0	1	1	2
28	32	Astrocytóm, II	F SIN	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1
29	36	Oligoastrocytóm, II	T DX	0	0	2	2	2	2	0	1	0	1
30	35	Oligoastrocytóm, II	F SIN	0	1	3	3	2	1	0	0	0	1
31	48	Anaplastický oligodendroglóm, III	F SIN	1	1	2	2	1	2	0	0	0	2
32	33	Anaplastický oligodendroglóm, III	F SIN	0	1	2	0	1	2	2	1	0	1
33	25	Oligodendroglóm, II		0	1	3	3	3	1	0	1	0	1
34	10	Astrocytóm, II	TO SIN	1	1	2	2	2	1	0	0	1	2
35	68	Glioblastóm, IV	PO DX	0	0	1	0	0	3	0	0	2	3
36	54	Oligoastrocytóm, II		0	0	2	2	1	2	0	2	1	1
37	13	Anaplastický ependymóm, III	F DX	0	0	2	0	1	2	0	0	0	1
38	49	Glioblastóm, IV	F DX	0	0	1	0	0	2	0	0	1	2
39	8	Anaplastický astrocytóm, III	F SIN	1	0	1	0	0	3	0	0	1	2
40	32	Anaplastický oligodendroglóm, III	F SIN	1	0	2	1	0	2	2	0	0	2
41	49	Oligodendroglóm, II	F DX	1	0	2	0	0	3	1	1	0	1
42	48	Oligoastrocytóm, II	F DX	1	0	2	1	1	1	2	0	1	2
43	64	Glioblastóm, IV	O SIN	1	0	1	0	0	3	0	0	0	2
44	14	Oligodendroglóm, II	F DX	0	0	3	1	1	2	1	1	1	1
45	65	Astrocytóm, II	PO SIN	0	0	1	0	0	1	0	2	2	1
46	3	Oligodendroglóm, II		0	0	1	1	1	0	0	0	0	1
47	53	Oligodendroglóm, II	F SIN	0	0	2	2	1	1	0	0	1	1
48	65	Astrocytóm, II	F DX	1	0	1	0	0	2	0	0	2	2
49	78	Glioblastóm, IV	PO SIN	1	0	0	1	0	3	0	0	1	2
50	40	Anaplastický oligodendroglóm, III	F SIN	1	0	2	3	1	2	0	0	2	2
51	20	Glioblastóm, IV	F DX	0	0	0	0	0	3	0	0	1	3
52	50	Oligodendroglóm, II	F DX	0	1	3	3	3	2	0	0	0	1
53	22	Oligoastrocytóm II	FP SIN	0	0	1	1	1	1	2	0	1	2
54	43	Oligodendroglóm, II	F SIN	0	0	3	2	0	1	0	0	1	1
55	36	Oligoastrocytóm, II	F DX	0	1	3	3	3	2	0	1	0	1
56	47	Oligoastrocytóm, III	T DX	1	0	1	1	1	2	0	0	1	2
57	70	Anaplastický oligodendroglóm, III	F DX	0	1	2	3	2	2	2	0	0	2
58	50	Anaplastický oligodendroglóm, III	PO SIN	1	1	3	3	3	3	3	0	0	2
59	61	Oligodendroglóm, II	FT SIN	0	1	3	3	3	2	0	0	0	1
60	61	Glioblastóm, IV	FT SIN	0	0	1	0	0	2	1	0	2	2
61	39	Glioblastóm, IV	F DX	0	0	1	1	0	2	0	0	2	2
62	42	Anaplastický oligodendroglóm, III	T DX	0	1	2	3	3	3	0	0	0	2
63	34	Oligoastrocytóm, II	F SIN	0	1	2	2	2	2	2	1	0	1
64	4	Anaplastický oligodendroglóm, III	F DX	0	0	2	1	2	3	0	0	1	2
65	52	Anaplastický oligodendroglóm, III	P DX	0	0	1	1	1	2	0	0	1	2
66	30	Oligodendroglóm, II	TO SIN	0	0	2	2	2	2	0	2	1	2
67	53	Oligodendroglóm, II	P SIN	0	0	2	2	1	2	0	0	1	2
68	45	Anaplastický oligodendroglóm, III	F SIN	1	1	2	2	2	3	0	1	1	2
69	34	Astrocytóm, II	F SIN	1	0	1	0	1	2	0	0	2	2
70	27	Oligoastrocytóm		0	1	2	2	2	2	0	1	0	1