

Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Wydział Lekarski

**OCENA EKSPRESJI miRNA
W WYŚCIÓŁCZAKACH OŚRODKOWEGO UKŁADU
NERWOWEGO U DZIECI**

Łukasz Stefańczyk

Rozprawa doktorska

Promotor: dr hab. n. med. Magdalena Zakrzewska

Łódź 2016

Streszczenie

Nowotwory gleju wyściółkowego są trzecią co do częstości występowania grupą nowotworów ośrodkowego układu nerwowego u dzieci, u których stanowią 10-12% zmian pierwotnych. Najczęściej występującymi podtypami histologicznymi u dzieci są wyściółczaki II i III stopnia złośliwości wg WHO. Ich częstość występowania w całej populacji zazwyczaj jest oceniana wspólnie i wynosi ok. 0,25 na 100 000 osób na rok.

U osób dorosłych wyściółczaki występują zarówno wewnątrzczaszkowo, jak i śródrzeniowo, natomiast w populacji dziecięcej 90% rozwijających się wyściółczaków zlokalizowanych jest wewnątrzczaszkowo, z czego aż 70% rozwija się pod namiotem mózdzku. Występowanie wyściółczaków w tej niewielkiej przestrzeni anatomicznej oraz ich wyraźna tendencja do naciekania sąsiednich struktur są często przyczyną ograniczonych możliwości całkowitej resekcji chirurgicznej zmiany, a bezpośredni kontakt z układem komorowym mózgu stwarza możliwość rozsiewu komórek nowotworowych w obrębie dróg przepływu płynu mózgowo-rdzeniowego. Powyższe cechy sprawiają, że rokowanie u dzieci z wyściółczakami jest niekorzystne.

Trwające w ostatnim czasie próby klasyfikacji wyściółczaków na podstawie stwierdzanych zmian molekularnych pozwoliły na zdefiniowanie dziewięciu podtypów molekularnych, przy czym nadal w większości wyściółczaków tylnego dołu czaszki u dzieci nie ma żadnych strukturalnych zmian genomowych. W związku z tym wyściółczaki wieku dziecięcego wymagają prowadzenia kolejnych analiz, pozwalających znaleźć zaburzenia molekularne pomocne w ocenie ich biologii i ścieżek kancerogenezy.

Celem pracy była ocena ekspresji miRNA w wyściółczakach wieku dziecięcego i identyfikacja markerów miRNA, których ekspresja może mieć związek ze stopniem złośliwości tych guzów i przebiegiem klinicznym choroby nowotworowej.

Badaniami objęto grupę 28 dziewcząt i 46 chłopców w wieku od 6 miesięcy do 15 lat. W badanej grupie znalazło się 48 przypadków wyściółczaków II stopnia złośliwości wg WHO i 26 przypadków wyściółczaków anaplastycznych III stopnia złośliwości wg WHO. Wśród dostępnego materiału biologicznego znajdowały się tkanki nowotworowe pochodzące od pięciorga dzieci operowanych z powodu wznowy guza.

Przeprowadzone analizy w oparciu o profilowanie miRNA wykazały obecność 32 sekwencji o zróżnicowanym poziomie ekspresji w odniesieniu do stopnia złośliwości nowotworów ustalonych na podstawie cech histologicznych. Do walidacji wyników, uzyskanych na etapie profilowania, wytypowano pięć, spośród 84 badanych sekwencji

miRNA. Wśród wyselekcjonowanych miRNA znalazły się: miR-200a-3p, miR-19a, miR-17-5p i miR-106b.

Spośród badanych na pełnej walidacyjnej grupie chorych miRNA, trzy były związane ze stopniem złośliwości guza (miR-17-5p, miR-19a, miR-106b), a dla dwóch (miR-17-5p, miR-200a) wykazano związek z przebiegiem choroby. Analizy wieloczynnikowe uwzględniające wiek, płeć, stopień złośliwości nowotworu i jego lokalizację potwierdziły statystycznie istotny związek pomiędzy niższą ekspresją miR-17-5p i dłuższym czasem przeżycia bez cech wznowy oraz dłuższym czasem przeżycia całkowitego. Niższe wartości ekspresji miR-200a związane były z dłuższym czasem przeżycia bez cech wznowy. Wykazano również statystycznie istotny związek pomiędzy wartościami ekspresji miRNA, a ekspresją genu EZH2 w odniesieniu do wyściółczaków o lokalizacji podnamiotowej.

Przeprowadzone badania mogą stanowić wstęp do próby zdefiniowania markerów molekularnych ułatwiających diagnostykę i podejmowanie decyzji klinicznych u chorych z wyściółczakami.

Summary

Ependymal tumors are the third the most common group of brain tumors in children accounting for 10-12% of all primary lesions in pediatric population. The most frequent histopathological subtypes are WHO grade II and WHO grade III ependymomas with the total incidence 0.25 per 100 000 people per year.

In adults ependymomas occur both intracranially and intramedullary while approximately 90% of pediatric cases develop intracranially. Moreover 70% of them present infratentorial location. This makes gross total resection difficult due to the tumor's tendency to infiltrating surrounding vital brain structures. According to that ependymomas occurring in children frequently show less favorable outcome.

Lately, the molecular evaluation of ependymal tumors was conducted and nine molecular subgroups of those tumors were defined. However, almost all of infratentorial cases occurring in children manifest no molecular abnormalities. According to that childhood ependymomas need following functional genome analysis to evaluate molecular abnormalities connected with their biology.

The aim of the study was to evaluate expression analysis of miRNAs in childhood ependymomas and select potential biological markers connected with tumor grade and outcome.

The study was performed in 74 cases of pediatric ependymomas (28 females, 46 males) aged from 6 months to 15 years. The group comprised 48 cases of WHO grade II and 26 cases of WHO grade III tumors. Between them there were five cases of recurrent tumors.

Primary profiling of miRNAs showed 32 differentially expressed miRNAs in WHO grade II and III tumors. Grade II tumors showed lower miRNAs expression levels. The expression measurements in validation cohort of patients with complete survival data were performed for four out of 84 miRNAs: miR-200a-3p, miR-19a, miR-17-5p and miR-106b.

Among validated sequences three (miR-17-5p, miR-19a, miR-106b) were connected with tumor grade and two (miR-17-5p, miR-200a) were related to outcome. Multifactorial analyses revealed connection between decrease of miR-17-5p expression and increased risk of relapse and shorter overall survival. Lower miR-200a-3p expression was connected with increased time to relapse. There was also statistically significant correlation between miRNA expression and EZH2 gene expression in infratentorial tumors. The study provides a better understanding of pediatric ependymomas biology enabling to type biomarkers helpful in proper diagnosis and treatment decision making.