

9. Streszczenie

Wstęp

Glejak wielopostaciowy jest najczęstszym i najbardziej agresywnym pierwotnym guzem mózgu, który powstaje na skutek nieprawidłowego rozrostu komórek glijowych i charakteryzuje się rozległym naciekaniem mózgu. Mimo zintensyfikowanego leczenia skojarzonego stanowi on nadal najczęstszą przyczynę zgonów wśród wszystkich glejaków. Do przyczyn leżących u podstawy gliomagenezы należą liczne zaburzenia genetyczne oraz zmiany epigenetyczne. Zaburzenia molekularne mają wpływ nie tylko na sam rozwój GBM, ale także na jego przebieg i rokowanie pacjentów z tym rozpoznaniem. Wśród istotnych zaburzeń genetycznych należą mutacje niektórych genów, które prowadzą do zaburzenia ich prawidłowej funkcji w tkance mózgowej. Przykładem może być mutacja *TP53*, która jest częstym zjawiskiem w pierwotnym GBM, a jej obecność ma wpływ na przebieg i rokowanie chorych z tym rozpoznaniem. U podstaw patogenezy glejaka wielopostaciowego leżą też zmiany epigenetyczne regulujące ekspresję genów. Wśród tych zaburzeń wymienić należy metylację promotora genów, która jest najczęstszą zmianą epigenetyczną. W GBM istotna wydaje się być metylacja promotora *MGMT*, która stanowi uznany czynnik prognostyczny u chorych z GBM. W literaturze pojawiają się też doniesienia na temat innych genów, których metylacja może mieć znaczenie prognostyczne, m.in. *GATA4* i *CDKN2B*. Ze względu na wciąż niewystarczające postępy w leczeniu chorych z glejakiem wielopostaciowym poszukiwane są inne zaburzenia epigenetyczne o znaczeniu predykcyjnym i prognostycznym. Wiele uwagi zwraca się także na rolę mikroRNA, które potranskrypcyjnie regulują ekspresję genów, a ich zaburzenia ekspresji cechują i wynikają z niestabilności genomu, która prowadzi do przyśpieszenia transformacji nowotworowej. Istotne wydają się być analizy na temat ich wpływu na przebieg i rokowanie pacjentów z GBM.

Cele pracy

Celem niniejszej pracy była ocena wybranych zaburzeń genetycznych i zmian epigenetycznych w glejaku wielopostaciowym oraz ich wzajemnej korelacji. Ponadto oceniono wpływ mutacji, metylacji promotorów wybranych genów i zaburzeń ekspresji dwóch mikroRNA na przeżycie ogólne pacjentów. Dodatkowo oceniono wpływ wybranych cech klinicznych takich jak wiek i płeć na rokowanie pacjentów z GBM.

Wyniki

Analizie poddano 31 próbek tkanki mózgowej pacjentów, u których zdiagnozowano glejaka wielopostaciowego. Średni wiek pacjentów w momencie diagnozy w badanej grupie wynosił $63 \pm 7,23$ lata (mediana=63, zakres: 45-76). Średnia długość przeżycia pacjentów poddanych ocenie w niniejszej pracy wynosiła 9 miesięcy (0-104). W analizowanej grupie wykryto mutację *TP53* w 19,4% przypadków. Przeanalizowano ekspresję *MGMT*, *TP53* i *GATA4* oraz *MGMT*, p53, *GATA4* oraz miR-34a i miR-125b, a następnie oceniono ich wzajemne relacje oraz ich wpływ na przeżycie ogólne pacjentów. Oceniona także metylację promotorów *MGMT*, *TP53*, *GATA4*, *CDKN2B* oraz *MiR-34a* i *MiR-125b*. Wykazano, że intensywność ekspresji *GATA4* była największa w przypadku współistnienia metylacji promotora *GATA4*.

W niniejszej analizie pokazano, że największy odsetek przeżycia ogólnego występował wśród pacjentów bez obecnej metylacji promotora *MGMT* w wieku < 60 r.ż. Ponadto wykazano, że status metylacji promotora *MGMT* i ekspresja p53 były ze sobą znacznie skorelowane, podobnie jak status metylacji promotorów *GATA4*, *CDKN2B* i *TP53*, ale w tym przypadku bez istotności statystycznej.

W przeprowadzonej analizie zaobserwowano też istotną zależność między względnym poziomem ekspresji *MGMT* a statusem metylacji promotora *MGMT*; między ekspresją *GATA4* a mutacją *TP53* oraz pomiędzy względnym poziomem ekspresji miR-34a a obecnością mutacji w *TP53*. Wykazano również istotny trend we względnym poziomie ekspresji miR-34a pomiędzy grupami o różnym statusie metylacji promotora *TP53*. Ponadto zaobserwowano związek między względnym poziomem ekspresji miR-34a a wiekiem pacjentów.

W niniejszej pracy doktorskiej wykazano, że obecność ekspresji *GATA4* przy braku mutacji *TP53* jak i obecność ekspresji p53 bez metylacji promotora *GATA4* wiązała się z najgorszym rokowaniem wśród pacjentów. Ponadto analiza ujawniła, że u chorych z ekspresją *GATA4* obecność ekspresji p53 korelowała z najkrótszym przeżyciem chorych. Wykazano także, że najdłuższe przeżycie wśród pacjentów występowało w przypadku obecności mutacji *TP53* i braku metylacji promotora *MGMT*. Zaobserwowano także różnicę w 1-rocznym wskaźniku przeżycia ogólnego na korzyść grupy z jednoczesną metylacją promotora *GATA4*, braku metylacji *CDKN2B* i *TP53*. Dodatkowo chorzy bez metylacji promotora *CDKN2B* wykazywali istotnie dłuższe przeżycie w stosunku do grupy z obecną metylacją. Wykazano także, że 1- i 1,5-roczny wskaźnik przeżycia ogólnego chorych był różny w zależności od wieku i statusu metylacji promotora *MGMT*. W pracy wykazano także wartość prognostyczną względnego poziomu ekspresji miR-34a.

W niniejszej pracy wykazano również wartość prognostyczną wieku na przeżycie ogólne w analizowanej grupie pacjentów oraz płci męskiej w analizie 12- i 18-miesięcznej.

Wnioski

Wzajemne epigenetyczne mechanizmy regulacyjne *MGMT*, *GATA4*, *CDKN2B* i *TP53* na poziomie genu jak i białka mogą rzutować na przebieg procesów biologicznych, w których dane czynniki uczestniczą. Poziom ekspresji miR-34a związany jest z wiekiem pacjentów. MiR-34a może pełnić rolę czynnika predykcyjnego gorszego przebiegu choroby u chorych powyżej 60 r.ż. Status ekspresji *GATA4*, p53, miR-34a, mutacji *TP53*, a także status metylacji promotora *MGMT*, *GATA4*, *CDKN2B* oraz *TP53* mogą służyć jako czynniki prognostyczne przeżycia ogólnego u pacjentów z rozpoznaniem glioblastoma. Wiek, jak również płeć może być także istotnym czynnikiem prognostycznym przeżycia ogólnego pacjentów z GBM związanym z obserwowanymi zaburzeniami molekularnymi m.in. metylacją promotora *MGMT*. Jednakże niekorzystne rokowanie może także wynikać z gorszego stanu ogólnego pacjentów. Powyższe obserwacje wymagają dalszych badań.