



Radiogenomika

Jerzy Walecki, Piotr Gustaw Wasilewski, Gabriela Póttorak-Szymczak

Zakład Diagnostyki Radiologicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Centralny Szpital Kliniczny MSWiA w Warszawie, e-mail: rtg@cskmswia.pl
Artykuł oryginalnie ukazał się w *Onkologia.pro*, 1, 2021, 5-10.

W ostatnich latach w wielu dyscyplinach medycznych istnieje silna tendencja do ilościowego przedstawiania wyników, co wiąże się z terminem „medycyna ilościowa” (ang. *quantitative medicine*). Medycyna ilościowa wpisuje się w cyfryzację medycyny i coraz szersze zastosowanie metod sztucznej inteligencji. Korzyść z tych rozwiązań ma wiele kluczowych technik diagnostycznych, w tym m.in. genetyka i diagnostyka obrazowa – skojarzenie obu tych metod nosi nazwę **radiogenomiki**.

Radiogenomika to kierunek badawczy zajmujący się relacją **fenotypu badania obrazowego z genomiką**.

Autorzy koncentrują się w swoim opracowaniu na zastosowaniu radiogenomiki w kompleksowej diagnostyce złośliwych glejaków mózgu, które stanowią model kliniczny, doskonale obrazując przydatność kompleksowego zastosowania tych metod [1-4].

W ostatniej klasyfikacji WHO z 2016 roku w poszczególnych podtypach glejaków pojawiają się dane dotyczące genów związanych z określonymi typami glejaka. Klasyfikacja ta stała się przełomem w neuroonkologii i uzasadniła rozwój radiogenomiki.

Szczególne znaczenie badawcze i kliniczne ma korelacja wyników badań obrazowych z cechami genetycznymi glejaków o **wysokiej złośliwości**, dając uzasadnioną nadzieję na wdrożenie bardziej skutecznej terapii celowanej, oba zaś biomarkery – obrazowy i genetyczny – pozwalają na bardziej szczegółową diagnostykę i identyfikację podtypów glejaków złośliwych, mających odmienną aktywność biologiczną, rokowanie oraz odpowiedź na leczenie [5-7].

Leczenie w glejakach IV stopnia przynosi, jak dotychczas, umiarkowane efekty, a ostatni stosowany lek – Temozolamid został wprowadzony blisko 10 lat temu.

Oczywiście terapia immunologiczna, leczenie neurochirurgiczne, terapia radiochirurgiczna czy nowoczesne metody radioterapii frakcjonowanej, takie jak terapia protonowa, przedłużają czas do wznowy, ale mediana przeżycia to nadal kilkanaście miesięcy.

Dlatego też olbrzymie nadzieje pokładane są w diagnostyce i terapii genowej glejaków mózgu.

Przed szerszym wprowadzeniem genomiki w glejakach podstawowe znaczenie w przyżyciowej, nieinwazyjnej ocenie stopnia złośliwości guza miały techniki neuroobrazowania, takie jak rezonans magnetyczny, tomografia komputerowa oraz SPECT i PET.

Glejaki złośliwe

Glejaki to ponad 40% pierwotnych nowotworów wewnątrzczaszkowych stanowiących jednocześnie 70-80% pierwotnych nowotworów złośliwych OUN. Jest to heterogenna grupa nowotworów, w której znajduje się wiele różnych podtypów.

Glejaki należące do wysokiej klasy złośliwości to nowotwory III lub IV stopnia według kryteriów Światowej Organizacji Zdrowia (WHO). Należy do nich glejak anaplastyczny (WHO stopień III) i glejak IV stopnia WHO (dawna nazwa – glejak wielopostaciowy).

Glejaki pierwotne, nazywane często glejakami *de novo*, tworzą się na skutek pojawienia się wielu zmian genetycznych. Glejaki wtórne rozwijają się wolniej, najczęściej z astrocytomy (WHO stopień II) lub glejaka anaplastycznego (WHO stopień III).

Glejaki rozwijają się z komórek glejowych, po neuronach najliczniejszych komórkach mózgowia. Genom glejaków zawiera szereg mutacji prowadzących do inaktywacji genów supresorowych, jak również zaburzonej aktywacji protoonkogenów.

Brak genów supresorowych, które w komórkach zdrowych są odpowiedzialne za regulację cyklu komórkowego, powoduje, iż komórki nowotworowe zaczynają nieprawidłowy podział, dodatkowo aktywowany przez uszkodzone ścieżki sygnałno-efektorowe.

Podział glejaków na pierwotne i wtórne koreluje ze statusem mutacji IDH [24]:



- IDH typ dziki (ang. *wild-type*): są to zazwyczaj glejaki pierwotne,
- IDH mutant: są to zazwyczaj glejaki wtórne, praktycznie zawsze zawierające metylowane MGMT,
- IDH NOS (ang. *not otherwise specified*): są to glejaki, które nie zostały poddane analizie genetycznej i nieznanym jest status mutacji.

Obecność metylowanego MGMT zazwyczaj znacznie lepiej rokuje, tak więc możliwość szybkiego różnicowania wspomnianych typów glejaków może mieć bardzo istotne znaczenie kliniczne.

Diagnostyka molekularna glejaków o wysokiej złośliwości

Analiza molekularna pozwala na ocenę profilu i ekspresji guza. W wielu ośrodkach na świecie badania molekularne należą do standardowego postępowania w diagnozowaniu i leczeniu guzów mózgu. Taka analiza ma duże znaczenie w rozpoznaniu skomplikowanych przypadków i może nierzadko identyfikować mutacje sugerujące opcje terapeutyczne, niebrane wcześniej pod uwagę [8, 9].

W glejaku liczba mutacji, dla których istnieją leki testowane w badaniach klinicznych, nie jest duża. Tym bardziej istotne jest oznaczenie wszystkiego, co może pomóc onkologom w decyzjach dotyczących leczenia.

Badania genetyczne guza służą właściwej kwalifikacji zgodnie z obecną według WHO, ale również są ważnymi markerami prognostycznymi.

W diagnostyce genetycznej glejaków mózgu wykonuje się wiele badań, takich jak: mutacja genu p53, utrata heterozygotyczności (9q, 10p, 10q, 13q, 17q, 19q, 22q), delecje chromosomów lub amplifikacje fragmentów DNA kodujących geny: PTEN, CDK4, CDK6, EGFR, MDM2, mutacje MGMT, mutacja IDH1, mutacja IDH2 [10-14].

Liczba wykonywanych badań świadczy o tym, jak bardzo złożony i skomplikowany jest proces diagnostyki genetycznej glejaków.

Spośród najczęściej wykonywanych badań genetycznych korzystne rokowniczo są: niska ekspresja EGFR, białka p-53, mutacja IDH-1, IDH-2, mutacja MGMT. I tak na przykład według obecnej nowej klasyfikacji, aby zakwalifikować guz jako skąpodrzewiak, musi być potwierdzenie kodelecji 1p19q.

Spośród glejaków skąpodrzewiaki są grupą charakteryzującą się lepszym rokowaniem i lepszą podatnością na leczenie onkologiczne.

Obecność mutacji MGMT sprzyja lepszej podatności guza na chemioterapię. Utrata heterozygotyczności w chromosomach 9p i 10q oraz delecji 16p są obserwowane w glejakach o wysokim stopniu złośliwości.

Zidentyfikowano miejsca w genomie sprzyjające podatności wystąpienia glejaka. Są to: 5p15.33 (TERT), 8q24.21 (CCDC26), 9p21.3 (CDKN2A-CDKN2B), 20q13.33 (RTEL1), 11q23.3 (PHLDB1) [15-17].

Diagnostyka obrazowa glejaków o wysokiej złośliwości

Tomografia komputerowa jest metodą przesiewową oceny guzów OUN. Pozwala na wstępną ocenę zmiany, a także określenie rozległości guza.

Jednak metodą o najwyższej referencyjności w ocenie guzów OUN jest obrazowanie rezonansu magnetycznego (MR). Obrazy uzyskane w badaniu pozwalają na wstępną ocenę charakteru guza (zmiany typowo łagodne lub budzące podejrzenie złośliwości), planowanie biopsji, kwalifikację do zabiegu neurochirurgicznego, a także monitorowanie po leczeniu.

W ostatnich latach rozwój nowoczesnych technik obrazowania MR umożliwił ogromny postęp w diagnostyce zmian rozrostowych OUN. Nowoczesne neuroobrazowanie dzięki wykorzystaniu badania dyfuzyjnego (DWI, *diffusion-weighted imaging*), badania włókien nerwowych, badania perfuzyjnego (PWI, *perfusion weighted MRI*), spektroskopii oraz badania funkcjonalnego MR (fMRI) poprawia rozpoznawanie guza i multiparametryczną ocenę jego cech strukturalnych, biochemicznych oraz pozwala na precyzyjne zaplanowanie zabiegu operacyjnego z zaoszczędzeniem krytycznych obszarów mózgu.

Glioblastoma WHO IV jest guzem o największym stopniu złośliwości i inwazyjności, rosnącym szybko i naciekającym strukturę otaczającą. Od momentu rozpoznania długość życia wynosi zwykle poniżej 1 roku.

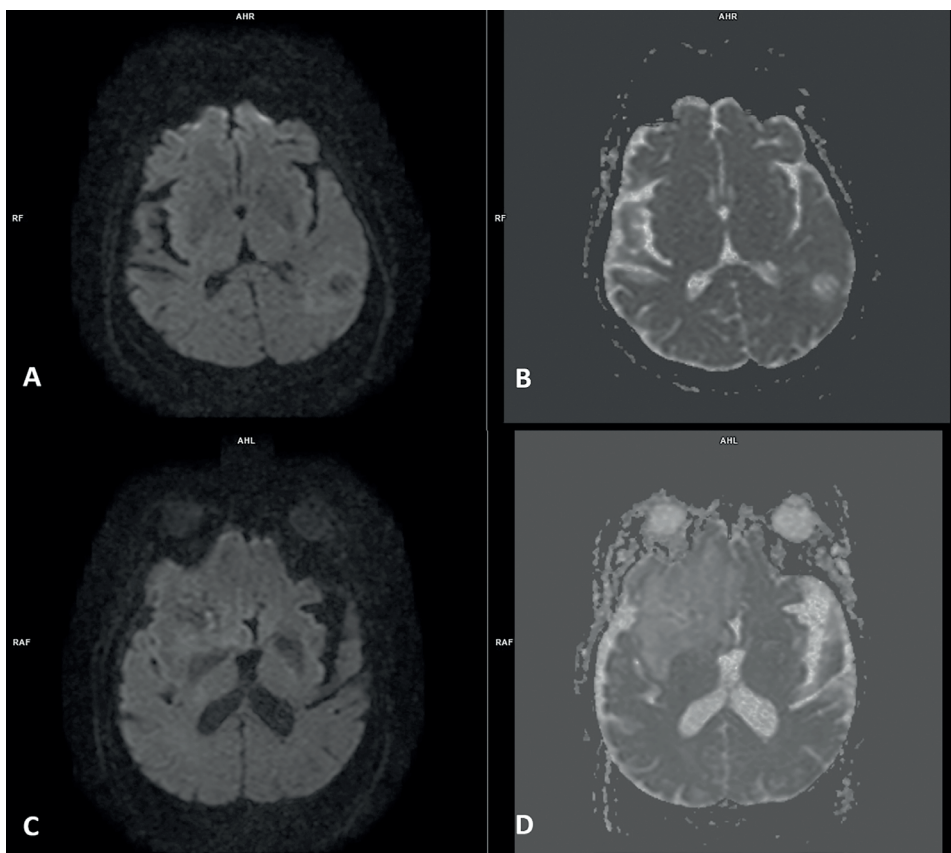
W badaniu MR guz ten przedstawia się jako lita, silnie unaczyniona masa z wewnętrznym rozpadem, otoczona palczastym obrzękiem istoty białej.

W sekwencjach dyfuzyjnych MR podwyższony sygnał w DWI stwierdza się przy obecności komponentu stałego w masie guza. Restrykcja dyfuzji widoczna jest zazwyczaj w obrębie strefy obrzęku wokół nowotworu.

Natomiast wartości w mapach ADC mogą pomóc w ocenie zaawansowania guza – sygnał o wartości $1185 \times 10^{-6} \text{ mm}^2/\text{s}$ jest wartością progową w rozróżnianiu glejaków wysokiego stopnia złośliwości (stopień III i IV WHO) i niskiego stopnia złośliwości (stopień II WHO).

Ponadto wysokie wartości ADC, ograniczony obrzęk otaczający, niska CBV korelują z metylacją promotora MGMT – czułość 79% (95% CI, 72%-85%), swoistość 78% (95% CI, 71%-84%) [23] (Ryc. 1).

Jest to podstawa do łączenia obrazów radiologicznych z profilem genetycznym guza, co może prowadzić do określenia charakterystycznych cech radiologicznych poszczególnych wariantów genetycznych guzów pochodzenia glejowego.



Ryc. 1 Sekwencje DWI oraz mapy ADC w obrazowaniu rezonansu magnetycznego, przedstawiające restrykcję dyfuzji w obrębie glejaka typu mutant IDH (obrazy A oraz B) oraz glejaka typu dzikiego (obrazy C oraz D). Wysokie wartości ADC, ograniczony obrzęk otaczający oraz niska CBV korelują z metylacją promotora MGMT (glejaki wtórne) [opracowanie własne]

Analiza radiogenomiczna

W pracach, na których oparta jest ta publikacja, stosowany był program Amareto, który integrował ekspresję poszczególnych genów, stan metylacji DNA oraz liczbę kopii [18, 19].

Amareto to dwustopniowy algorytm opisywany w przytoczonych pracach, który wyjściowo opracowany był dla oceny ekspresji genów w podtypach raka jajnika. Dwa etapy tego programu identyfikują geny transformacji nowotworowej, poddając modelowaniu zależność pomiędzy danymi genomicznymi i transcriptomic z indywidualnej bazy pacjenta.

W kilku publikowanych dotychczas pracach autorzy stosowali zbliżoną metodykę. Na podstawie obrazów MR wybierali cechy ilościowe guza. W tym celu wyznaczane były trzy odrębne obszary w obrębie zajętej procesem nowotworowym tkanki mózgowej – strefa martwicy w obrębie glejaka, tkanka ulegająca wzmocnieniu po podaniu środka kontrastowego oraz strefa obrzęku [19-22] (Ryc. 2, 3).

Następnie autorzy na podstawie różnych programów bioinformatycznych uzyskane dane integrowali z danymi genetycznymi.

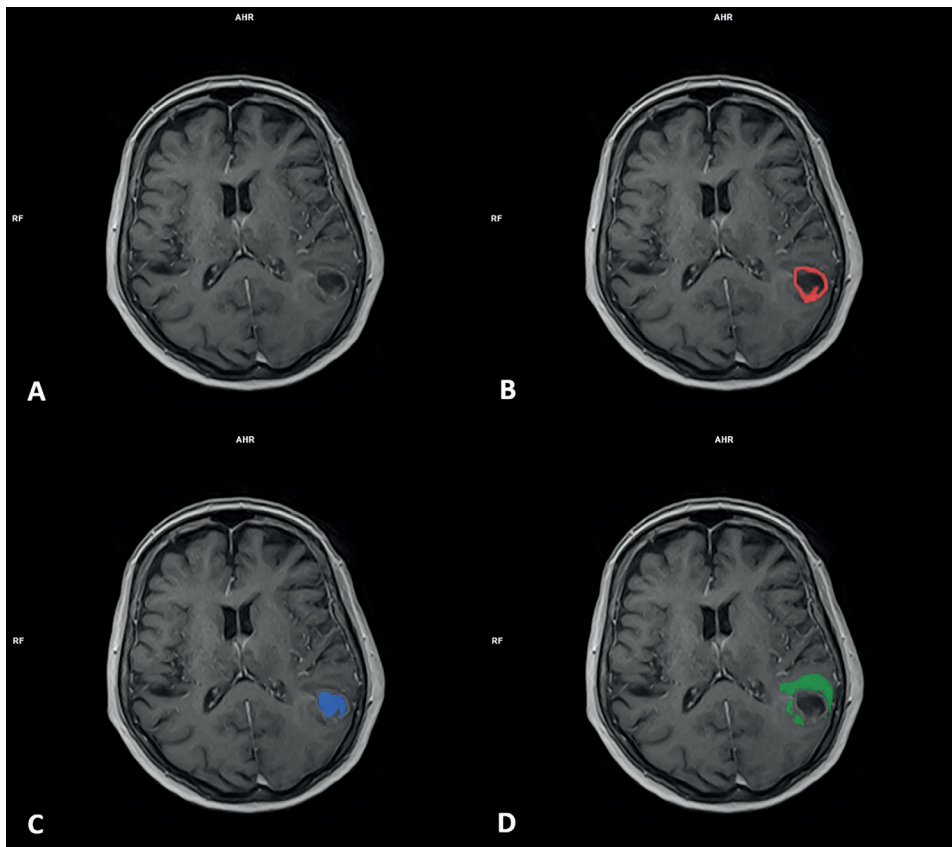
Dane genetyczne, czyli charakterystyka molekularna guzów, zawierają ekspresję genu, liczbę kopii genu oraz stan metylacji DNA (TCGA).

Wśród bardzo wielu analiz statystycznych program predykcji czasu przeżycia stosuje analizę Spearmana, korelującą mapę prognozy radiogenomicznej dla martwicy, wzmocnienia oraz obrzęku mózgu.

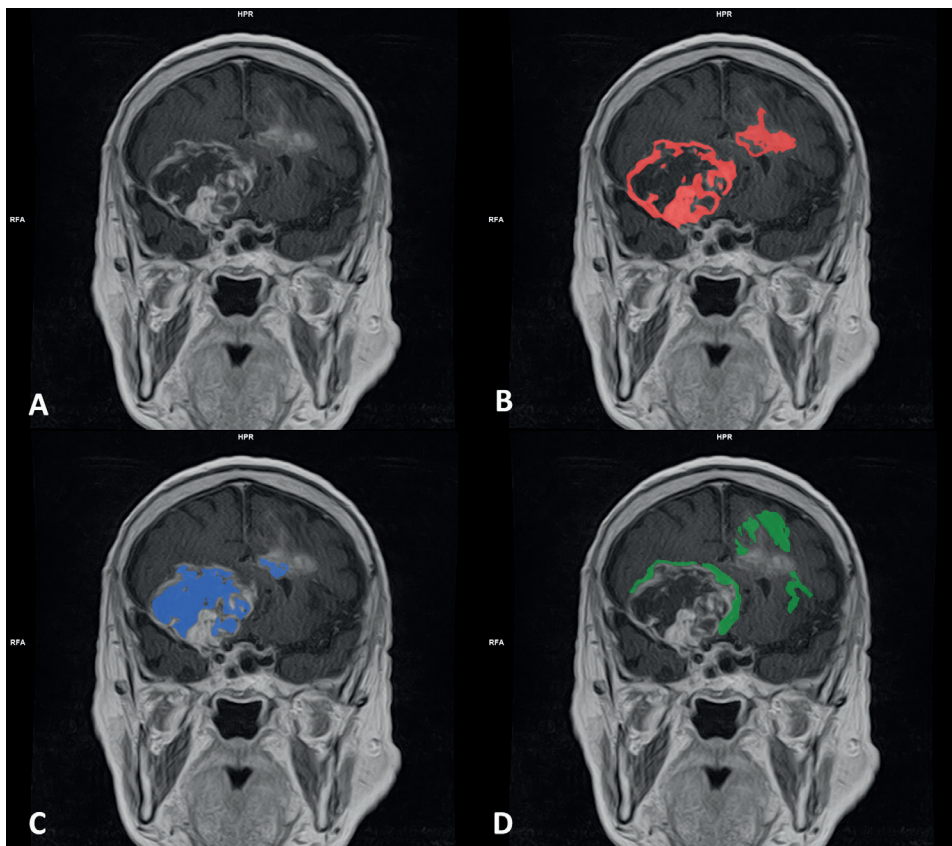
Nowe metody terapeutyczne w leczeniu glejaków o wysokiej złośliwości

Jak wspomniano powyżej, nadzieję na skuteczne leczenie glejaków dają innowacyjne terapie. Prowadzone są badania kliniczne z zastosowaniem nowych terapii celowanych i immunoterapii.

Bada się działanie Ddurvalumabu, Nivolumabu, Pembrolizumabu w przypadku wysokiej ekspresji PD-L1, Irinotecanu w przypadku ekspresji TOPO-1, Palpocilibu i Ribociclibu w przypadku ekspresji phospho-Rb. W trakcie badań klinicznych jest też nowa metoda hipertermii – NanoTherm oraz technika TTF (Tumor Treatment Field).



Ryc. 2 Obrazy T1 po podaniu środka kontrastowego w obrazowaniu rezonansu magnetycznego u pacjenta z glejakiem wysokiego stopnia złożowości typu mutant IDH (glejak wtórny) – obraz A przedstawia obraz surowy; na obrazie B zaznaczono strefę wzmocnienia tkanki guza; na obrazie C zaznaczono strefę martwicy w obrębie guza; na obrazie D zaznaczono strefę obrzęku wokół guza [opracowanie własne]



Ryc. 3 Obrazy T1 po podaniu środka kontrastowego w obrazowaniu rezonansu magnetycznego u pacjenta z glejakiem wysokiego stopnia złożowości typu dzikiego (glejak pierwotny) – obraz A przedstawia obraz surowy; na obrazie B zaznaczono strefę wzmocnienia tkanki guza; na obrazie C zaznaczono strefę martwicy w obrębie guza; na obrazie D zaznaczono strefę obrzęku wokół guza [opracowanie własne]



Podsumowanie

Możliwość zestawienia diagnostyki obrazowej glejaków z analizą genetyczną tego typu nowotworów otwiera drzwi dla jak najszybszego wprowadzenia najbardziej adekwatnego typu terapii dla konkretnego typu guza.

Personalizacja metod leczniczych jest przyszłością onkologii. Możliwość rozpoznania różnorodnych wariantów nowotworu na podstawie analizy badań radiologicznych wykonanych na początku ścieżki diagnostycznej otwiera drzwi do znacznego przyspieszenia analizy onkologicznej pacjenta, a równocześnie ukierunkowania na odpowiednim torze.

Idea stworzenia bazy radiologicznej wszystkich znanych wariantów genetycznych konkretnych nowotworów, analogicznie do bazy genetycznej nowotworów (TCGA, ang. *The Cancer Genome Atlas*), daje nadzieję na przełom zarówno w diagnostyce obrazowej, jak i w onkologii klinicznej, podkreślając znaczenie radiologii w rozwoju nowoczesnej medycyny. *B*

Piśmiennictwo

1. M. Bredel, D.M. Scholtens, G.R. Harsh, et al.: *A network model of a cooperative genetic landscape in brain tumors*, JAMA, 302(3), 2009, 261-275.
2. D. Sturm, H. Witt, V. Hovestadt, et al.: *Hotspot mutations in H3F3A and IDH1 define distinct epigenetic and biological subgroups of glioblastoma*, Cancer Cell, 22(4), 2012, 425-437.
3. H. Noushmehr, D.J. Weisenberger, K. Diefes, et al.: *Identification of a CpG island methylator phenotype that defines a distinct subgroup of glioma*, Cancer Cell, 17(5), 2010, 510-522.
4. O. Gevaert, J. Xu, C.D. Hoang, et al.: *Non-small cell lung cancer: identifying prognostic imaging biomarkers by leveraging public gene expression microarray data – methods and preliminary results*, Radiology, 264(2), 2012, 387-396.
5. V.S. Nair, O. Gevaert, G. Davidzon, et al.: *Prognostic PET 18F-FDG uptake imaging features are associated with major oncogenomic alterations in patients with resected non-small cell lung cancer*, Cancer Res., 72(15), 2012, 3725-3734.
6. O. Gevaert, S. Plevritis: *Identifying master regulators of cancer and their downstream targets by integrating genomic and epigenomic features*, Pac Symp Biocomput, 2013, 123-134.
7. O. Gevaert, V. Villalobos, B.I. Sikic, S.K. Plevritis: *Identification of ovarian cancer driver genes by using module network integration of multi-omics data*, Interface Focus, 3(4), 2013, 20130013.
8. D.L. Rubin, C. Rodriguez, P. Shah, C. Beaulieu: *iPad: Semantic annotation and markup of radiological images*, AMIA Annu Symp Proc., 6, 2008, 626-630.
9. J. Friedman, T. Hastie, R. Tibshirani: *Regularization paths for generalized linear models via coordinate descent*, J Stat Softw., 33(1), 2010, 1-22.
10. M. Kanehisa, S. Goto, Y. Sato, M. Kawashima, M. Furumichi, M. Tanabe: *Data, information, knowledge and principle: back to metabolism in KEGG*, Nucleic Acids Res., 42(Database issue), 2014, D199-D205.
11. Y. Benjamini, Y. Hochberg: *Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing*, J R Stat Soc Series B Stat Methodol., 57(1), 1995, 289-300.
12. J. Pan, S. Li, P. Chi, Z. Xu, X. Lu, Y. Huang: *Lentivirus-mediated RNA interference targeting WWTR1 in human colorectal cancer cells inhibits cell proliferation in vitro and tumor growth in vivo*, Oncol Rep., 28(1) 2012, 179-185.
13. E. Segal, C.B. Sirlin, C. Ooi, et al.: *Decoding global gene expression programs in liver cancer by noninvasive imaging*, Nat Biotechnol., 25(6), 2007, 675-680.
14. M. Diehn, C. Nardini, D.S. Wang, et al.: *Identification of noninvasive imaging surrogates for brain tumor gene-expression modules*, Proc Natl Acad Sci USA, 105(13), 2008, 5213-5218.
15. C.C. Jaffe: *Imaging and genomics: is there a synergy?*, Radiology, 264(2), 2012, 329-331.
16. Cancer Genome Atlas Research Network: *Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways*, Nature, 455(7216), 2008, 1061-1068, [Published correction appears in Nature, 494(7438), 2013, 506.]
17. D.A. Gutman, L.A. Cooper, S.N. Hwang, et al.: *MR imaging predictors of molecular profile and survival: multi-institutional study of the TCGA glioblastoma data set*, Radiology, 267(2), 2013, 560-569.
18. R. Jain, L. Poisson, J. Narang, et al.: *Genomic mapping and survival prediction in glioblastoma: molecular subclassification strengthened by hemodynamic imaging biomarkers*, Radiology, 267(1), 2013, 212-220.
19. P.O. Zinn, B. Mahajan, P. Sathyan, et al.: *Radiogenomic mapping of edema/cellular invasion MRI-phenotypes in glioblastoma multiforme*, PLoS ONE, 6(10), 2011, e25451.
20. P.O. Zinn, P. Sathyan, B. Mahajan, et al.: *A novel volume-age-KPS (VAK) glioblastoma classification identifies a prognostic cognate microRNA-gene signature*, PLoS ONE, 7(8), 2012, e41522.
21. VASARI Research Project, <https://wiki.cancerimagingarchive.net/display/Public/VASARI+Research+Project>. Updated February 28, 2013, accessed April 25, 2014.
22. O. Gevaert, L.A. Mitchell, A.S. Achrol, et al.: *Glioblastoma multiforme: exploratory radiogenomic analysis by using quantitative image features*, [published correction appears in Radiology, 276(1), 2015, 313], Radiology, 273(1), 2014, 168-174. DOI: 10.1148/radiol.14131731.
23. C.H. Suh, H.S. Kim, S.C. Jung, C.G. Choi, S.J. Kim: *Clinically Relevant Imaging Features for MGMT Promoter Methylation in Multiple Glioblastoma Studies: A Systematic Review and Meta-Analysis*, AJNR Am J Neuroradiol., 39(8), 2018, 1439-1445, DOI: 10.3174/ajnr.A5711.
24. D.N. Louis, H. Ohgaki, O.D. Wiestler, et al.: *The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system* [published correction appears in Acta Neuropathol., 114(5), 2007, 547], Acta Neuropathol., 114(2), 2007, 97-109, DOI: 10.1007/s00401-007-0243-4.