

**Università degli Studi del Piemonte Orientale  
“Amedeo Avogadro”**



**Dottorato di Ricerca  
in  
Medicina Molecolare  
*XXV Ciclo***

**Relazione 3° anno**

**Analisi di marcatori molecolari nei gliomi.**

Candidata: Angela Piazzi

*Tutor:* Prof. Davide Schiffer  
Prof.ssa Mara Giordano

## SEZIONE 1

### RISULTATI SCIENTIFICI

#### INTRODUZIONE

I gliomi rappresentano i più frequenti tumori primari del Sistema Nervoso Centrale (SNC) dell'adulto e costituiscono più del 70% di tutte le neoplasie cerebrali. Essi sono costituiti da un gruppo di tumori con differenti caratteristiche morfologiche, genetiche, epigenetiche e di risposta alla terapia [1]. Un'altra rilevante caratteristica dei gliomi è l'elevata tendenza ad infiltrare il tessuto cerebrale sano adiacente, tutto ciò contribuisce a rendere impossibile il controllo locale della neoplasia associato alla resistenza alla radio e chemioterapia.

La classificazione dei gliomi è definita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO) che suddivide queste neoplasie in oligodendrogliali, astrocitarie e miste [2]. Il grado di malignità viene stabilito in base all'aspetto istologico del tumore e al suo indice di proliferazione. La diagnosi istologica e il grado di malignità rappresentano quindi i principali fattori prognostici, tuttavia l'aspetto istologico è soggetto a variabilità d'interpretazione [3]. In supporto alla diagnosi istopatologica, alcuni parametri molecolari hanno guadagnato un'importanza clinica tale da essere considerati *markers* prognostici o predittivi [4].

Nel glioblastoma multiforme (GBM), l'ipermetilazione del promotore del gene O<sup>6</sup>-metilguanina-DNA-metiltransferasi (*MGMT*) è un marcatore molecolare predittivo di risposta alla chemioterapia con agenti alchilanti, quali il temozolomide (TMZ), e di una maggiore sopravvivenza [5].

Recentemente è stato scoperto che i geni codificanti le isoforme citoplasmatica e mitocondriale dell'enzima isocitrato deidrogenasi, *IDH1* (2q33) e *IDH2* (15q26), sono frequentemente mutati in un ampio spettro di tumori. Nel 2009 Yan *et al.* con uno studio di sequenziamento su larga scala riportarono che le mutazioni a carico di questi geni erano un evento ricorrente in una minoranza di GBM primari (5%) ma ricorrente nella maggioranza di quelli secondari (60-90%) [6]. Nei pazienti affetti da GBM, le mutazioni di *IDH1* sono associate ad un'età d'insorgenza più giovane e ad una maggior sopravvivenza [7; 8]. Questo tipo di alterazione risulta predittiva di un'aumentata sopravvivenza sia priva di malattia sia totale, non solo nei GBM, ma nell'intera totalità dei gliomi [9]. Riguardo alla risposta ai trattamenti terapeutici, alcuni studi hanno suggerito una possibile correlazione tra le mutazioni dei geni *IDH* e la risposta alla chemioterapia [10], ma si ritiene in generale non essere un *marker* predittivo [12; 11] o per lo meno l'argomento è ancora in discussione [13].

Nei tumori oligodendrogliali invece, la perdita di eterozigosi (LOH) delle regioni cromosomiche 1p e 19q, rilevata nell'80% circa degli oligodendrogliomi e in circa il 50% degli oligoastrocitomi, è associata ad una migliore aspettativa di vita nonché ad una risposta favorevole del tumore alla radio- e alla chemioterapia sia con PCV (procarbazine, CCNU, vincristina) sia con agenti meno tossici quali il TMZ [14]. La presenza di tale alterazione, ha portato ad ipotizzare l'esistenza di uno o più geni oncosoppressori coinvolti nella gliomagenesi, localizzati in queste regioni critiche. Uno di questi geni candidati per il cromosoma 19 è *Epithelial Membrane Protein 3* (*EMP3*, 19q.13.32). *EMP3* codifica per una proteina di 163 amminoacidi (18 kDa), costituita da quattro domini transmembrana e da due siti di N-glicosilazione nel dominio extracellulare, la cui funzione rimane ancora poco nota. Data l'alta omologia di sequenza con altri membri della famiglia genica di appartenenza (*TMP*), quale il gene codificante per la *Peripheral Myelin Protein 22* (*PMP22*), si ritiene che la proteina *EMP3* sia coinvolta nella proliferazione cellulare e nelle interazioni cellula-cellula [15]. Il silenziamento di *EMP3* mediante ipermetilazione delle isole CpG del suo promotore è stato osservato con una frequenza del 24% dapprima nei neuroblastomi e successivamente nei gliomi (39%)

[16]. Tuttavia la frequenza di tale alterazione e il suo significato in ambito prognostico, diagnostico o predittivo rimane controverso.

## **SCOPO DEL LAVORO**

L'evidenza che nei gliomi, determinati tipi di alterazioni genetiche come la perdita combinata di 1p/19q, le mutazioni dei geni *IDH1/2* e la metilazione del promotore di *MGMT*, possiedono un significato diagnostico e prognostico, ha sottolineato l'importanza dello studio delle caratteristiche molecolari di queste neoplasie.

Lo scopo di questo lavoro è consistito nella caratterizzazione molecolare di 153 gliomi come stato di metilazione del promotore del gene *MGMT*, valutazione delle delezioni a carico dei cromosomi 1p e 19q, stato mutazionale dei geni *TP53* e *IDH1/2* e stato di amplificazione del gene *EGFR*. Successivamente, sulla medesima casistica si è proceduto alla valutazione dello stato di metilazione del gene *EMP3*, un nuovo gene candidato per la regione critica del cromosoma 19q.

## **MATERIALI E METODI**

### CASISTICA

In questo studio retrospettivo è stata analizzata una casistica di 153 gliomi comprendenti:

- 55 oligodendrogliomi di II grado;
- 36 oligodendrogliomi di III grado;
- 16 oligoastrocitomi (II e III grado);
- 45 astrocitomi (I-III grado);
- 188 GBM (IV grado).

La diagnosi di glioma è stata effettuata su sezioni di tessuto tumorale fissato in formalina tamponata (4%) ed incluso in paraffina (FFPE) secondo le linee guida WHO. Tutti i casi sono stati analizzati per la valutazione, mediante tecniche immunohistochimiche, dell'indice di proliferazione Ki-67/MIB-1 e per l'espressione della proteina GFAP. Per ogni campione, l'analisi genetica è stata eseguita su DNA genomico (gDNA) estratto da tessuto tumorale FFPE o congelato mediante la metodica fenolo-cloroformio.

### STATO DI METILAZIONE DEL PROMOTORE DEI GENI *MGMT* e *EMP3*

Per l'analisi dello stato di metilazione, un microgrammo di gDNA è stato modificato con bisolfito di sodio (*MethylEasy DNA Bisulphite Modification Kit* - HUMAN Genetic Signatures Pty Ltd, Macquarie Park, Sydney, Australia) e successivamente è stato sottoposto a reazione di PCR metilazione-specifica (MS-PCR) ed elettroforesi capillare [17 - 19].

Come controlli di reazione sono stati impiegati il *CpGenome Universal Methylated DNA* (Chemicon International Inc., Temecula, CA, USA) e DNA linfocitario normale rispettivamente come campione metilato e non-metilato.

Per la valutazione dello stato di metilazione, è stato misurato il rapporto tra le altezze dei picchi, ottenuti mediante migrazione elettroforetica capillare, corrispondenti all'amplicone metilato e a quello non metilato. Valori superiori a 0.1 sono stati considerati evidenza dello stato di metilazione dei promotori dei geni *MGMT* e *EMP3*.

#### ANALISI DELLE DELEZIONI A CARICO DEI CROMOSOMI 1p E 19q.

L'analisi delle delezioni a carico delle regioni cromosomiche 1p e 19q è stata effettuata mediante *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification* (MLPA) utilizzando il kit SALSA MLPA P088-B1 (MRC-Holland, Amsterdam, The Netherlands). Il kit è composto da:

- 7 sonde per il controllo di qualità;
- 18 sonde per il cromosoma 1;
- 10 sonde per il cromosoma 19;
- 14 sonde di controllo collocate su altri cromosomi;
- 2 frammenti specifici per la determinazione del sesso, rispettivamente di 100 bp per il cromosoma X e di 105 bp per Y.

La reazione è stata eseguita secondo il protocollo fornito dal kit e i prodotti della reazione sono stati analizzati per migrazione elettroforetica capillare su sequenziatore automatico ABI PRISM 3130 *Genetic Analyser* (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Gli elettroferogrammi risultanti sono stati analizzati, per una preliminare valutazione dei risultati e dei controlli di qualità, mediante il programma *Gene Mapper ID*® versione 4.0 e, successivamente, con il programma *MRC-Coffalyser* versione 9.4 (<http://old.mlpa.com/coffalyser>). I valori di normalità sono stati stabiliti tra 0.75 e 1.4. Il criterio di assegnazione della perdita, o del *gain*, prevede la presenza di almeno due sonde consecutive, per ogni cromosoma, con delezione o guadagno [20; 21].

#### ANALISI MUTAZIONALE DEI GENI *TP53*, *IDH1* E *IDH2*

L'analisi mutazionale è stata condotta mediante sequenziamento diretto bidirezionale sui seguenti geni:

- *TP53*: esoni 2 – 11;
- *IDH1*: esone 4 (codone Arg132);
- *IDH2*: esone 4 (codone Arg 172).

#### STATO DI AMPLIFICAZIONE DEL GENE *EGFR*

Lo stato di amplificazione del gene *EGFR* è stato valutato mediante la co-amplificazione di un frammento di *EGFR* e di un frammento del gene *INF- $\gamma$* , impiegato come gene *housekeeping* di riferimento. I prodotti della reazione sono stati successivamente separati per elettroforesi capillare ed analizzati mediante l'ausilio del programma *Gene Mapper ID*® versione 4.0.

Lo stato di amplificazione è stato determinato misurando il rapporto tra le altezze dei picchi corrispondenti a *EGFR* e *INF- $\gamma$* . Un rapporto superiore a 2.09 è stato considerato evidenza della presenza di più di due copie del gene in esame [22].

#### ANALISI STATISTICA DEI RISULTATI

La valutazione dell'associazione tra le variabili categoriche analizzate in questo studio è stata effettuata mediante il test esatto di Fisher (IC= 95%). Sono state analizzate le correlazioni tra i tumori oligodendrogliali (II-III grado) e i marcatori analizzati in questo studio rispetto ai tumori astrocitari (I-IV grado). È stata ricercata infine, negli oligodendrogliomi, una correlazione tra l'ipermetilazione del promotore del gene *EMP3*, come gene candidato per la regione critica 19q, e gli altri marcatori molecolari valutati.

## RISULTATI

### ANALISI DELLO STATO DI METILAZIONE DEL GENE *MGMT*

Il promotore del gene *MGMT* è risultato metilato con le seguenti frequenze (Tab. 1):

DIAGNOSI	<i>MGMT</i> Meth	<i>MGMT</i> UnMeth
Oligodendrogliomi II	64% (29/45)	34% (16/45)
Oligodendrogliomi III	71% (24/34)	29% (10/34)
Oligoastrocitomi II-III	73% (11/15)	27% (4/15)
Astrocitomi I-III	34% (11/32)	66% (21/32)
<b>GBM</b>	<b>39% (74/188)</b>	<b>61% (114/188)</b>

**Tabella 1** Frequenze riscontrate per l'ipermetilazione del promotore del gene *MGMT* nella casistica di gliomi analizzata.

Considerando la totalità degli oligodendrogliomi (II e III grado) la frequenza di metilazione del promotore del gene *MGMT* è stata del 67% (53/79).

### ANALISI DELLE DELEZIONI A CARICO DEI CROMOSOMI 1p E 19q MEDIANTE MLPA

La casistica caratterizzata ha invece mostrato la seguente distribuzione (Tab. 2):

DIAGNOSI	Delezione 1p	Delezione 19q	Codelezione 1p/19q
Oligodendrogliomi II	80% (44/55)	73% (40/55)	71% (39/55)
Oligodendrogliomi III	75% (27/36)	58% (21/36)	58% (21/36)
Oligoastrocitomi II-III	50% (8/16)	56% (9/16)	31% (5/16)
Astrocitomi I-III	35% (12/34)	24% (8/34)	21% (7/34)
<b>GBM</b>	<b>19% (33/171)</b>	<b>11% (19/171)</b>	<b>8% (14/171)</b>

**Tabella 2** Frequenza delle delezioni a carico del solo cromosoma 1p, del solo 19q e della delezione combinata 1p/19q nei gliomi analizzati.

La codelezione dei cromosomi 1p/19q è stata riscontrata principalmente nei tumori oligodendrogliali (II e III) con una frequenza del 66%.

### ANALISI MUTAZIONALE DEI GENI *TP53* E *IDH1/2*

Il profilo mutazionale della casistica in esame per il gene *TP53* è stato il seguente (Tab. 3):

DIAGNOSI	Mutazioni di <i>TP53</i> (%)	Mutazioni
Oligodendrogliomi II	24% (8/34)	c.375G>A (p.T125T); c.396G>C (p.K132N); c.448A>G (p.T150A); c.659A>G (p.R220C); c.773A>G (p.E258G); c.817C>T (p.R273C); c.821T>C (p.274A); c.868C>T (p.R290C);
Oligodendrogliomi III	19% (5/27)	c.388C>G (p.L130V); c.503 A>G (p.H168R); c.585T>C (p.I195I); c.606T>C (p.R202R); c.672+78_672+79insG; c.787A>G (p.N263D); c.814G>T (p.V272L);
Oligoastrocitomi II-III	73% (8/11)	c.581T>C (p.L194P); c.589G>A (p.V197M); c.701A>G (p.Y234C); c.742C>T (R248W); c.814G>A (p.V272M); c.817C>T (p.R273C); c.856G>A (p.E286K)
Astrocitomi I-III	35% (13/37)	IVS5+12 G>A; IVS7-9 C>T; c.124G>A (p.D42N); c.204G>T (p.E68D); c.304A>C (p.T102P); c.337T>G (p.F113V); c.380C>T (p.S127F); c.447C>T (p.S149S); c.500A>C (p.Q167P); c.501delG (p.Q167HfsX2); c.505A>G (p.M169V); c.509C>T (p.T170M); c.584T>C (p.I195T); c.630C>T (p.N210N); c.707A>G (p.Y236C); c.813G>A (p.E271E); c.865C>T (p.L289F).

<b>GBM</b>	34% (37/109)	IVS4+5 G>C; IVS6-1 G>A; c.97-68_203del (p.E68GfsX80); c.210_374del (p.A700_T125del); c.337T>G (p.F113V); c.375G>A (p.T125T); c.404G>A (p.C135Y); c.473G>A (P.R158H); c.473G>T (P.R158L); c.481G>A (p.A161T); c.501delG (p.Q167HfsX2); c.527G>A (p.C176Y); c.535C>T (p.H179Y); c.569C>T (p.P190L); c.572_574delCTC (p.191del); c.638G>A (p.R213Q); c.646G>A (p.V216M); c.659A>G (p.Y220C); c.690C>T (p.T230T); c.692C>T (p.T231I); c.713G>A (p.C238Y); c.742C>T (p.R248W); c.748C>T (p.P250S); c.796G>C (p.G266R); c.808T>G (p.F270W); c.814G>A (p.V272M); c.817C>T (p.R273C); c.818G>T (p.R273K); c.823T>A (p.C275S); c.824G>A (p.C275Y); c.832C>T (p.P278S); c.833C>T (p.P278L); c.838delA (p.R280EfsX55); c.847C>T (p.R283C); c.905-906GG>AA (p.G302E); c.999T>A (p.R333R).
------------	-----------------	---

**Tabella 3** Frequenza e dettaglio delle mutazioni a carico del gene *TP53* (esoni 2-11) nella casistica presa in esame.

Il profilo mutazionale della casistica in esame per i geni *IDH1* E *IDH2* è invece stato il seguente (Tab. 4):

DIAGNOSI	Mutazioni di <i>IDH1/2</i> (%)	Mutazioni
<b>Oligodendrogliomi II</b>	84% (43/51)	IDH1: c.394C>G (p.R132G); c.394C>T (p.R132C); c.395G>A (p.R132H). IDH2: c.515G>T (p.R172M).
<b>Oligodendrogliomi III</b>	56% (18/32)	IDH1: c.395G>A (p.R132H).
<b>Oligoastrocitomi II-III</b>	73% (11/15)	IDH1: c.394C>A (p.R132S); c.395G>T (p.R132L); c.395G>A (p.R132H). IDH2: c.515G>A (p.R172S).
<b>Astrocitomi I-III</b>	22% (10/45)	IDH1: c.394C>G (p.R132G); c.395G>A (p.R132H).
<b>GBM</b>	3% (6/188)	IDH1: c.395G>A (p.R132H).

**Tabella 4** Dettaglio e frequenza delle mutazioni rilevate a carico dei geni *IDH1* (esone 4) e *IDH2* (esone 4) nei gliomi analizzati.

Le mutazioni a carico del gene *TP53* sono risultate un evento frequente in particolar modo negli oligoastrocitomi (II-III grado) e negli astrocitomi (I-IV grado). Al contrario le alterazioni dei geni *IDH1/2* sono risultate ricorrenti negli oligodendrogliomi (74%, II e III grado) con una prevalenza delle mutazioni di *IDH1*.

Le mutazioni identificate sono state ricercate anche nel DNA costitutivo del paziente, dove possibile, al fine di stabilirne l'origine somatica o germinale. Tutte le alterazioni sono state inoltre verificate mediante la consultazione dei *databases* disponibili in rete:

- UMD\_*TP53* Mutation Database (<http://p53.free.fr>);
- COSMIC Database R15 (<http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic>);
- IARC *TP53* Database R15 (<http://www.p53.iarc.fr>).

#### AMPLIFICAZIONE DEL GENE *EGFR*

La frequenza dello stato di amplificazione del gene *EGFR* è risultata la seguente (Tab. 5):

DIAGNOSI	Amplificazione <i>EGFR</i>
<b>Oligodendrogliomi II</b>	4% (2/47)
<b>Oligodendrogliomi III</b>	32% (11/34)
<b>Oligoastrocitomi II-III</b>	7% (1/14)
<b>Astrocitomi I-III</b>	5% (2/35)
<b>GBM</b>	23% (70/178)

**Tabella 5** Frequenza dello stato di amplificazione del gene *EGFR* nella casistica presa in esame.

#### ANALISI DELLO STATO DI METILAZIONE DEL GENE *EMP3*

L'analisi dello stato di metilazione del gene *EMP3* è stata eseguita sulla seguente casistica:

- 45 oligodendrogliomi di II grado;
- 34 oligodendrogliomi di III grado;
- 27 astrocitomi (I-III grado);
- 34 GBM.

Tale alterazione è stata rilevata con le seguenti frequenze (Tab. 6):

DIAGNOSI	EMP3 Meth	EMP3 UnMeth
Oligodendrogliomi II	80% (36/45)	20% (9/45)
Oligodendrogliomi III	50% (17/34)	50% (17/34)
Oligoastrocitomi II-III	73% (11/15)	27% (4/15)
Astrocitomi I-III	23% (8/35)	77% (27/32)
GBM	15% (5/34)	85% (29/34)

**Tabella 6** Frequenze dell'ipermetilazione del gene *EMP3* in nella casistica esaminata (è stata preso in considerazione solo un campione rappresentativo di GBM).

L'ipermetilazione del promotore del gene *EMP3* è risultata presente nella maggior parte degli oligodendrogliomi (67%, II e III grado) con una frequenza molto elevata soprattutto nei tumori di II grado. Al contrario essa è risultata poco frequente nelle neoplasie di origine astrocitaria (19%, I-IV grado).

#### ANALISI STATISTICA DEI RISULTATI

In tabella sono riportati i le correlazioni trovate statisticamente significative (IC= 95%) (Tab. 7).

Associazioni		P value
(a) Oligodendrogliomi (II-III grado)	Codelezione di 1p/19q	< 0.0001
	Mutazioni di IDH1/2	
	Metilazione di <i>MGMT</i>	
	Metilazione di <i>EMP3</i>	
(b) Metilazione di <i>EMP3</i>	Mutazioni di IDH1/2	= 0.0008

**Tabella 7** Correlazioni statisticamente significative riscontrate dall'analisi dei marcatori molecolari presi in esame in una casistica mista di gliomi. (a) Associazione ( $p < 0.0001$ ) tra i tumori oligodendrogliali con la codelezione di 1p/19q, le mutazioni dei geni *IDH1/2* e l'ipermetilazione dei promotori dei geni *MGMT* e *EMP3* rispetto ai tumori astrocitari. (b) Associazione tra l'ipermetilazione del promotore del gene *EMP3* e le mutazioni dei geni *IDH1/2* nella casistica di oligodendrogliomi analizzata (II-III grado).

## **DISCUSSIONE**

Le alterazioni genetiche che caratterizzano i gliomi sono state largamente oggetto di studio negli ultimi anni al fine d'individuare marcatori molecolari coinvolti nella gliomagenesi, con possibile significato diagnostico, prognostico e predittivo di risposta ai trattamenti terapeutici. In particolar modo tra i gliomi, la diagnosi di oligodendroglioma sulla base dei soli criteri istopatologici non è più oggi accettata. Essa deve

essere completata dallo studio di specifici marcatori genetici. Le stesse considerazioni valgono per la diagnosi di oligastrocitoma, la cui ambiguità istopatologica non è ancora stata risolta.

In questo studio è stata analizzata retrospettivamente una casistica mista di gliomi per alcuni dei marcatori molecolari attualmente in uso. A tale analisi, è stato aggiunto lo studio dello stato di metilazione del promotore del gene *EMP3*, come gene candidato per la regione critica 19q trovato recentemente silenziato per ipermetilazione delle isole CpG nei neuroblastomi e nei gliomi [16].

La frequenza delle alterazioni genetiche ed epigenetiche analizzate è risultata concordante con la natura dei tumori presi in esame e con quanto già descritto in letteratura [13; 23]. In particolare negli oligodendrogliomi sono state rilevate con elevata frequenza, rispetto ai tumori astrocitari (I-IV grado), la codelezione dei cromosomi 1p/19q (66%), le mutazioni a carico dei geni *IDH1/2* (73%) e l'ipermetilazione del promotore del gene *MGMT* (67%). Tali alterazioni sono risultate inoltre correlate in modo statisticamente significativo ( $p < 0.0001$ ) all'istologia oligodendrogliale.

L'analisi dello stato del gene *EMP3* ha evidenziato una netta prevalenza dell'ipermetilazione del suo promotore negli oligodendrogliomi (II-III grado, 67%) rispetto ai tumori astrocitari (I-IV grado, 19%). Tale alterazione è risultata associata alle neoplasie oligodendrogliali ( $p < 0.0001$ ) e, all'interno di questo gruppo, alle mutazioni dei geni *IDH1/2* ( $p = 0.0008$ ).

I nostri risultati dimostrano come oggi la diagnosi e la prognosi dei gliomi non può essere eseguita solo sulla base della patologia. Sia nella formulazione dell'etichetta diagnostica che in quella del grado di malignità, e quindi in termini di prognosi e predizione di sopravvivenza, la determinazione di *markers* molecolari risulta indispensabile.

L'acquisizione di nuovi dati molecolari nei gliomi ci consente, allo stesso tempo, di emettere nuove ipotesi sulla loro genesi, e di affinare le strategie terapeutiche radianti o farmacologiche. L'iter diagnostico e prognostico dei gliomi risulta così più complesso e fine; tuttavia sorgono nuovi problemi che richiedono ulteriori controlli. Negli oligodendrogliomi, come dimostrato nei risultati, risultano applicabili almeno quattro *markers* molecolari. La codelezione dei cromosomi 1p/19q condiziona una maggior sopravvivenza e una maggior sensibilità alla terapia con PCV; tuttavia tale alterazione risulta essere presente anche in gliomi non oligodendrogliali facendo così sorgere il problema della loro genesi. Questo rilievo si connette con l'esistenza di GBM con aree oligodendrocitarie (GBMO) e di oligodendrogliomi anaplastici non distinguibili dai glioblastomi. Sorge quindi il quesito se la codelezione di 1p/19q possa essere un *marker* più di categoria tumorale che di prognosi. È noto che nella coppia 1p/19q è il cromosoma 1p a sopportare il peso maggiore della funzione. La delezione isolata del cromosoma 19q, non associata ad alterazioni di 1p, può infatti non avere lo stesso significato e anzi averne uno sfavorevole [24]. Un'altra questione è rappresentata dalla distribuzione all'interno del tumore dell'anomalia genetica: è la codelezione di 1p/19q un evento clonogenico? Questo quesito si riversa sull'attendibilità del rilievo genetico nei confronti della rappresentatività del campione.

All'opposto, rimane incerto il significato della codelezione di 1p/19q in gliomi non oligodendrogliali. Questa problematica riporta alla formulazione di diagnosi quali GBM che contemplano l'esistenza di aree francamente oligodendrocitarie in neoplasie di sicura origine astrocitaria. Non è ancora stato definito se questi debbano essere considerati come oligodendrogliomi trasformati in tumori con aspetto da GBM oppure se queste aree siano espressione di una differenziazione oligodendrogliale di elementi gliali che si sono trasformati prima della separazione, della linea astrocitaria da quella oligodendrocitaria, nel corso della citogenesi.

Le mutazioni dei geni *IDH1/2* si inseriscono proprio in questa interpretazione. Solo il 3% dei GBM analizzati in questo studio presenta questo tipo di alterazione. In realtà, questa percentuale è relativa al basso numero di GBM secondari (derivati da una precedente lesione di basso grado) in confronto ai GBM primari (*IDH1/2 wild-type*), nati cioè per trasformazione diretta dei progenitori. Le mutazioni di *IDH1/2*



risultano pertanto essere un utile strumento di distinzione nei due tipi di GBM. La dimostrazione immunohistochimica della mutazione R132H del gene *IDH1* può essere impiegata poi per il riconoscimento di elementi tumorali infiltranti il tessuto sano circostante. Tutto ciò non è di scarsa importanza in quanto è noto come le recidive di GBM partano sempre dagli elementi tumorali residui lasciati *in situ* dall'asportazione chirurgica.

Insieme alle mutazioni dei geni *IDH1/2*, l'ipermetilazione di *MGMT* risulta essere un evento frequente e precoce durante la genesi dei tumori sia astrocitari che oligodendrogliali precedendo il differenziamento dei precursori [25; 26]. La sua prevalenza negli astrocitomi diffusi ed in particolar modo negli oligodendrogliomi (II e III grado) e negli oligoastrocitomi suggerisce che questi tumori possano originare da una popolazione cellulare comune di precursori gliali (cellule staminali neurali tumorali) attraverso due differenti *pathways*, *IDH*-dipendente ed indipendente [27]. Gli enzimi *IDH1* e *IDH2* mutati possiedono un nuovo sito attivo in grado di legare l' $\alpha$ -chetoglutarato, normale prodotto dell'enzima *wild-type*, convertendolo nell'oncometabolita 2-idrossiglutarato. Il 2-idrossiglutarato è a sua volta coinvolto nell'alterazione dei fisiologici processi epigenetici di regolazione genica [28]. È stato quindi riconosciuto anche nei gliomi uno specifico profilo di metilazione aberrante del DNA denominato G-CIMP (*glioma CpG island methylator phenotype*) fortemente associato alle mutazioni di *IDH1/2* [28 - 30]. L'alta frequenza di tali mutazioni e dell'ipermetilazione di *MGMT* nei gliomi di basso grado, in particolar modo negli oligodendrogliomi, è concorde con questa teoria.

*EMP3* è un gene oncosoppressore candidato frequentemente metilato nei tumori cerebrali, compresi gli oligodendrogliomi [16; 31], e localizzato nella regione critica 19q. L'elevata frequenza dell'ipermetilazione delle isole CpG del suo promotore nei tumori oligodendrogliali e la sua associazione statisticamente significativa ( $p = 0.0008$ ) con le mutazioni dei geni *IDH1/2* è anch'essa concorde con l'ipotesi dell'esistenza del G-CIMP.

I risultati di questo studio rafforzano l'ipotesi di un potenziale ruolo del gene *EMP3* nella storia clinica degli oligodendrogliomi. Considerando infatti gli oligodendrogliomi di II grado, l'ipermetilazione di *EMP3* è stata riscontrata nell'80% dei casi facendo ipotizzare un sua genesi precoce nella trasformazione tumorale dei gliomi e un suo possibile impiego, in ambito diagnostico nella distinzione tra neoplasia oligodendrogliale ed astrocitaria.

Ulteriori studi sono necessari al fine di confermare l'impiego di tale marcatore in diagnostica e per stabilirne un possibile ruolo in termini di prognosi e predizione della risposta alla radio e chemioterapia.

## **Bibliografia**

1. Ohgaki H., Kleihues P. (2007), *Am. J. Pathol.* **170(5)**, 1445-1453;
2. Louis D.N., Ohgaki H., Wiestler O.D., Cavenee W.K. (2007), "*WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System*", 4<sup>th</sup> Ed., Lyon, IARC;
3. Louis D.N., Holland E.C., Cairncross J.G. (2001), *Am. J. Pathol.*, **159(3)**, 779-786;
4. Grzendowski M., Wolter M., Riemenschneider M.J., Knobbe C.B., Schlegel U., Meyer H.E., Reifenberger G., Stühler K. (2010), *Neuro Oncol* **12(3)**, 243-256;
5. Van Nifterik K.A., Van der Berg J., Van der Meide W.F., Ameziane N., Wedekind L.E., Steenbergen R.D.M., Leenstra S., Mafleur M.V.M., Slotman L.J.A., Sminia P. (2010), *Br J Cancer* **103(1)**, 29-35;
6. Yan H., Parsons D.W., Jin G., McLendon R., Rasheed B.A., Yuan W., Kos I., Batinic-Haberle I., Jones S., Riggins G.J., Friedman H., Friedman A., Reardon D., Herndon J., Kinzler K.W., Velculescu V.E., Vogelstein B., Bigner D.D. (2009), *N Engl J Med*, **360(8)**, 765-773;
7. Ichimura K., Pearson D.M., Kocalkowski S., Bäcklund L.M., Chan R., Jones D.T., Collis V.P. (2009), *Neuro Oncol*, **11(4)**, 341-347;
8. Parsons D.W., Jones S., Zhang X., Lin J.C., Leary R.J., Angenendt P., Mankoo P., Carter H., Siu I.M., Gallia G.L., Olivi A., McLendon R., Rasheed B.A., Keir S., Nikolskaya T., Nikolsky Y., Busam D.A., Tekleab H., Diaz L.A. Jr, Hartigan J., Smith D.R., Strausberg R.L., Marie S.K., Shinjo S.M., Yan H., Riggins G.J., Bigner D.D., Karchin R., Papadopoulos N., Parmigiani G., Vogelstein B., Velculescu V.E., Kinzler K.W., (2008), *Science*, **321(5897)**: 1807-1812;
9. Sanson M., Marie Y., Paris S., Idbaih A., Laffaire J., Ducray F., El Hallani S., Boisselier B., Mokhtari K., Hoang-Xuan K., Delattre J.W. (2009), *J Clin Oncol*, **27(25)**, 4150-4154;
10. Houillier C., Wang X., Kaloshi G., Mokhtari K., Guillemin R., Laffaire J., Paris S., Boisselier B., Idbaih A., Laigle-Donadey F., Houang-Xuan K., Sanson M., Delattre J.Y. (2010), *Neurology*, **75(17)**, 1560-1566;
11. Dubbink H.J., Taal W., van Marion R., Kros J.M., van Heuvel I., Bromberg J.E., Zonnenberg B.A., Zonnenberg C.B., Postma T.J., Gijtenbeek J.M., Boogerd W., Groenendijk F.H., Smitt P.A., Dinjens W.N., van den Bent M.J. (2009), *Neurology*, **73(21)**, 1792-1795;
12. van den Bent M.J., Dubbink H.J., Marie Y., Brandes A.A., Taphoorn M.J., Wesseling P., Frenay M., Tijssen C.C., Lacombe D., Idbaih A., van Marion R., Kros J.M., Dinjens W.N., Gorlia T., Sanson M. (2010), *Clin Cancer Res*, **16**, 1597-1604;
13. Mellai M., Piazzini A., Caldera V., Monzeglio O., Cassoni P., Valente G., Schiffer D. (2011), *J Neurooncol*, **105(2)**, 345-357;
14. Snuderl M., Eichler A.F., Ligon K.L., Vu Q.U., Silver M., Betensky R.A., Ligon A.H., Wen P.Y., Louis D.N., Iafrate A.J. (2009), *Clin Cancer Res* **15(20)**, 6430-6446;
15. Ben-Porath I., Kozak C.A., Benvenisty N. (1998), *Genomics*, **49(3)**, 443-447;

16. Alaminos M., Dávalos V., Robero S., Setién F., Paz M.F., Herranz M., Fraga M.F., Mora J., Cheung N.K., Gerald W.L., Esteller M. (2005), *Cancer Res*, **65(7)**, 2565-271;
17. Esteller M., Hamilton S.R., Burger P.C., Baylin S.P., Herman J.G. (1999), *Cancer Res*, **59(4)**: 793-797;
18. Mellai M., Caldera V., Annovazzi L., Chiò A., Lanotte M., Cassoni P., Finocchiaro G., Schiffer D., (2009), *Cancer Genomics Proteomics*, **6(4)**: 842-845;
19. Herman J.G., Graff J.R., Myöhänen S., Nelkin B.D., Baylin S.B. (1996), *Proc Natl Acad Sci USA*, **93(18)**: 9821-9826;
20. Weller M., Berger H., Hartmann C., Schramm J., Westphal M., Simon M., Goldbrunner R., Krex D., Steinbach J.P., Ostertag C.B., Loeffler M., Pietsch T., von Deimling A. (2007), *Clin Cancer Res* **13(23)**, 6933-6937;
21. Franco-Hernández C., Martínez-Glez V., De Campos J.M., Isla A., Vaquero J., Gutiérrez M., Casartelli C., Rey J.A. (2009), *Cancer Genet Cytogenet* **190**, 93-96;
22. Waha A., Rollbrocker B., Wiestler O.D., von Deimling A., (1992), *Diagn Mol Pat*, 1996, **5(2)**: 147-150;
23. Mellai M., Monzeglio O., Piazzini A., Caldera V., Annovazzi V., Cassoni P., Valente G., Cordera S., Mocellini C., Schiffer D. (2012), *J Neurooncol.*, **107(3)**, 617-631;
24. Molinari C., Iorio P., Medri L., Ballardini M., Guiducci G., Cremonini A.M., Cerasoli S., Riccioni L., Faesi M., Mariani G.A., Zoli W., Silvestrini R., Caliostris D. (2010), *Int J Mol Med*, **25(1)**, 145-151;
25. Groenendijk F.H., Taal W., Dubbink H.J., Haarloo C.R., Kouwenhoven M.C., van den Bent M.J., Kros J.M., Dinjens W.N. (2011), *J Neurooncol.*, **101(3)**, 405-417;
26. Watanabe T., Nobusawa S., Kleihues P., Oghaki H. (2009), *Am J Pathol*, **174(4)**, 1149-1153;
27. Yan H., Bigner D.D., Velculescu V., Parsons D.W. (2009), *Cancer Res*, **69(24)**, 9157-9159;
28. Presner J.R., Chinnaiyan A.M. (2011), *Nature Medicine*, **17(3)**, 291-293;
29. Gupta R., Webb-Myers R., Flanagan S., Buckland M.E. (2011), *J Clin Pathol*, **64(10)**: 835-844;
30. Turcan S., Rohle D., Goenka A., Walsh L.A., Fang F., Yilmaz E., Campos C., Fabius A.W., Lu C., Ward P.S., Thompson C.B., Kaufman A., Guryanova O., Levine R., Heguy A., Viale A., Morris L.G., Huse J.T., Mellinghoff I.K., Chan T.A. (2012), *Nature*, **483(7390)**: 479-483;
31. Kunitz A., Wolter M., van den Bloom J., Felsberg J., Tewes B., Hahn M., Benner A., Sabek M., Lichter P., Reifenberger G., von Deimling A., Hartmann C. (2007), *Brain Pathol*, **17(4)**: 363-370;

## SEZIONE 2

### Seminari

#### 3° ANNO:

07 Novembre 2011: "The resolution of inflammation: players and targets" Prof. Mauro Perretti;

13 Gennaio 2012: "Hepatocellular Carcinoma, novel advances from genomics to treatment" Dr Rohini Sharma

25 Gennaio 2012: "Next-generation DNA sequencing and target arrays in the clinics " Dr. Paolo Fortina

8 Marzo 2012: "Signalling pathways controlling integrin trafficking during invasion" Dr. Elena Rainero

28 Marzo 2012: "Developing strategies for tissue specific targeting" Prof. Costantino Pitzalis

15 Maggio 2012: "Microparticles as novel effectors in inflammation" Prof. Mauro Perretti

16 Maggio 2012: "Resolvins and Omega-3 in inflammation" Prof. Mauro Perretti

21 Maggio – 1 Giugno 2012: "Genetics and Molecular Medicine" Prof. Steve Ellis

23 Maggio 2012: "Numerical simulations as virtual microscope at the nanoscale: some examples with dendritic molecules" Prof. Andrea Danani

15 Giugno 2012: "High-throughput biochemical target investigation unveils a novel function of miR-21 as a negative modulator of signal transduction in T-lymphocytes" Prof. Pino Macino

21 Giugno 2012: "Recent advances in hematopoietic stem cell gene therapy: from microRNA regulation to target gene transfer" Prof. Luigi Naldini

10 Luglio 2012: "Next generation sequencing in T-ALL" Dr. Kim Keersmaecker

13 Luglio 2012: "Molecular control of human fetal globin expression: towards a potential cure for  $\beta$ -thalassemia and sickle cell anemia" Prof. Sjaak Philipsen

19 Luglio 2012: "Neuronal death: recruitment of programmed necrosis and autophagy" Prof. Philip Beart

20 Luglio 2012: "Brain, brain quite contrary how do you neurons die? Programmed cell death" Prof. Philip Beart

#### 2° ANNO:

15 Ottobre 2010: "Epidemiologia dell'infezione tubercolare latente tra gli immigrati a Torino" S. Mercadante, I. Baussano, M. Bugiani

11 Novembre 2010: "Biom mineralization and preparation of biomimetic nanoapatites", Dott. Jaime Gómez Morales

11 Novembre 2010: "Characterization of biomimetic nanopartites" Dott. Jose Mauel Delgado López

2 Marzo 2011: "Linfomi cutanei primitivi" Prof. Emilio Berti

25 Marzo 2011: "Amylotrophic lateral sclerosis" Dott.ssa Lucia Corrado

1 Aprile 2011: "Parkinson and Alzheimer Diseases" Prof. Cristoforo Comi

12 Aprile 2011: "Ferritins: ancient proteins with novel unexpected features" Dr.ssa Sonia Levi

13 Aprile 2011: "Metabolic syndrome: the gastroenterologist point of view" Dr.ssa Elisabetta Bugianesi

29 Aprile 2011: "Liver fibrosis in children affected by NASH: how to investigate that" Dr. Valerio Nobili

03 Maggio 2011: "Reverse vaccination in autoimmune diseases?" Prof. Gilberto Filaci

09 Maggio 2011: "Innate immunity and the pathogenicity of inhaled microbial particles" Prof. Henrik Wolff

13 Maggio 2011: "Farmacologia dell'aterosclerosi" Prof. Alberto Corsini

19 Maggio 2011: "Mechanisms and models of TDP-43 proteinopathies" Prof. Leonardo Petrucci

17 Giugno 2011: "Molecular pathogenesis and biomarkers of Parkinson's disease" Prof. Mauro Fasano

1 Luglio 2011: "Hypoxia, angiogenesis and liver fibrogenesis" Prof. Maurizio Parola

### 1°ANNO

17 Novembre 2009: "ALK e tumorigenesi", Prof. Roberto Chiarle;

30 Novembre 2009: "Use of MAR epigenetic regulators for therapeutic expression", Prof. Nicolas Mermond;

14 Dicembre 2009: "Controllo funzionale dei linfociti T da parte di adenosina trifosfato (ATP) extracellulare", Prof. Fabio Grassi;

14 Gennaio 2010: "Clinical significance of antinuclear antibodies in autoimmune liver disease", Prof. Pietro Invernizzi;

20 Gennaio 2010: "LSD1, Lysine Specific Demethylase 1, insight into a new epigenetic regulator involved in neuronal gene regulation", Dott.ssa Elena Battaglioli;

28 Gennaio 2010: “Dal difetto genetico all’infiammazione”, Prof. Luigi Maiuri;

9 Febbraio 2010: “R&D of magnetic-nanoparticles and carriers for drug”, Dott. Giovanni Baldi;

10 Febbraio 2010: “Anticorpi nel Laboratorio Analisi, luci e colori al servizio del paziente”, Dott. Matteo Vidali;

3 Marzo 2010: “Basi genetiche del diabete di tipo 1 e della sclerosi multipla: l’esempio della popolazione sarda”, Prof. Francesco Cucca;

5 Marzo 2010: “The wonders of yeast: yeast as a model organism”, Prof. Steve Ellis;

8 Marzo 2010: “Chromosome 5q deletions in MDS: genotype/phenotype relationships”, Prof. Steve Ellis;

9 Marzo 2010: “Desatinib: transforming an adverse event into a new therapeutic target”; Prof. Steve Ellis

12 Marzo 2010: “Marcatori biologici per la diagnosi precoce della malattie neurodegenerative”, Prof. Elio Scarpini;

14 Giugno 2010: “Fenotipo e cellule staminali tumorali nei gliomi maligni”, Prof. Davide Schiffer, Dott.ssa Marta Mellai, Dott.ssa Valentina Caldera;

15 Giugno 2010: “Nuove strategie anticancro: i microRNA come agenti differenziativi per i tumori solidi”, Prof.ssa Carola Ponzetto;

5 Luglio 2010: “Role of membrane lipids in neuronal synapses”, Dott.ssa Paola Camoletto;

6 Settembre 2010: “Ruolo delle microvescicole nella comunicazione tra cellule”, Prof. Giovanni Camussi;

17 Settembre 2010: “Prevention and cure of autochthonous mammary carcinomas in her2 transgenic mice?”, Prof. Federica Cavallo

22 Settembre 2010: “Le cellule staminali tumorali: dalla biologia alla clinica”, Prof. Ruggero De Maria;

23 Settembre 2010: “Preventing Persisters: Targeting epigenetic changes in cancer chemotherapy”, Prof. Steve Ellis

## **Corsi Frequentati**

### **3° ANNO**

Corso “I Parkinsonismi Atipici”, Istituto Auxologico, Milano 22 Marzo 2011;

“Secondo Corso sulla Sindrome di Mowat-Wilson”, Ospedale Santa Maria Nuova, Reggio Emilia 23-24 Marzo 2012;

Corso Nazionale AIOM e SIAPEC-IAP “I marcatori molecolari per la terapia personalizzata dei tumori: indicazione cliniche e di laboratorio”, Centro Congressi Unione Industriale, Torino 19 Aprile 2012;

Corso Avanzato Pratico e Teorico sulla Citogenetica Costituzionale “Il cariotipo molecolare: perché, quando e come”, III Edizione, 13-15 Giugno 2012, Ospedale Galliera, Genova 13-15 Giugno 2012;

Corso “Aggiornamenti per l’analisi, l’elaborazione, dei dati e il *troubleshooting* della tecnica MLPA”, Romanitik Hotel Furno, San Francesco al Campo (TO) 11 Settembre 2012.

Corso FAD Avanzato di Citogenetica Costituzionale: “Dal cariotipo convenzionale a quello molecolare”, Provider Accademia Nazionale di Medicina.

Corso di Inglese Medico-Scientifico, 7 Maggio – 28 Settembre 2012.

## 2° ANNO

Lezioni Prof. Albano “Introduction to systemic degenerative diseases” 4-11-18 marzo 2011;

Corso “Biotecnologie e Medicina”, Università del Piemonte orientale “A. Avogadro” – Facoltà di Medicina e Chirurgia, 10 Novembre 2010;

Corso Nazionale AIOM e SIAPEC-IAP “Determinazione delle mutazioni di *EGFR* nel NSCLC” e “Determinazione delle mutazioni di *KRAS* nel carcinoma del colon-retto”, Istituto Europeo di Oncologia, Milano 14 Aprile 2011;

Corso di Genetica Medica, Angelicum – Pontificia Università S.Tommaso D’Aquino, Ospedale Bambino Gesù, Roma 23-24 Giugno 2011;

Corso di Aggiornamento “L’avvento della Citogenetica Molecolare: una rivoluzione nella diagnosi delle malattie genetiche”, Ospedale Infantile Regina Margherita – Dipartimento di Scienze Pediatriche, Torino 30 Giugno 2011.

## 1° ANNO

Lezioni Oncologia Prof. Albano: 21 Maggio, 31 Maggio e 18 Giugno 2010.

## **Congressi**

47° Congresso Nazionale dell’Associazione Italiana di Neuropatologia – 37° Congresso Annuale dell’Associazione Italiana per la Ricerca sull’Invecchiamento Cerebrale, Genova 19-21 Maggio 2011;

Convegno “Obesità e Tiroide: opinioni a confronto. Nuove visioni di una vecchia questione”, Istituto Auxologico Italiano, Verbania – Villa Caramora, 18 Giugno 2011;

XIV Congresso Nazionale della Società Italiana di Genetica Umana (SIGU), Centro Congressi MIC Plus, Milano 13-16 Novembre 2011;

The 2012 International Golden Helix Symposium “Genomic Medicine: translating genes into health”, Centro Congressi Torino Incontra, Torino 19-21 Aprile 2012;

IX Congrso Nazionale di Biotecnologie, AtaHotel, Varese 27-29 Giugno 2012;

57<sup>th</sup> Annual Meeting of the German Society for Neuropathology and Neuroanatomy (DGNN), University of Erlangen, Erlangen (Germany) 12-15 Settembre 2012.

## **Comunicazioni a Congressi**

### **3° ANNO**

XIV Congresso Nazionale AINO, Milano 3-5 Novembre 2011, “Resistenza cellulare alla radio e chemioterapia nei gliomi maligni: *MDR*, *MGMT*, *PARP1*” M. Mellai, L. Annovazzi, V. Caldera, O. Monzeglio, **A. Piazzi**, D. Schiffer.

XIV Congresso Nazionale SIGU, Milano 13 – 16 Novembre 2011, “Identificazione di delezioni a carico del cromosoma Y nei gliomi maligni mediante MLPA”, M. Mellai, **A. Piazzi**, P. Grignani, C. Previderè, M. Giordano, D. Schiffer.

57<sup>th</sup> Annual Meeting of the German Society for Neuropathology and Neuroanatomy (DGNN), Erlangen (Germany) 12-15 Settembre 2012 “DNA damage and repair in glioblastoma cell lines after antitumor drugs”, L. Annovazzi, V. Caldera, M. Mellai, **A. Piazzi**, O. Monzeglio, D. Schiffer;

XVII Congresso Nazionale AINIO, Colli del Tonto (AP) 4-7 Novembre 2012, “La diagnostica degli oligodendrogliomi: attuali possibilità e problemi”, M. Mellai, **A. Piazzi**, O. Monzeglio, V. Caldera, L. Annovazzi, D. Schiffer.

### **2° ANNO**

XV Congresso Nazionale AINO, Fuggi (FR) 3-6 Ottobre 2010, “Le mutazioni dei geni *IDH1* e *IDH2* nei tumori neuro-epiteliali e le loro correlazioni molecolari”, M. Mellai, **A. Piazzi**, O. Monzeglio, G. Valente, D. Schiffer.

XIII Congresso Nazionale SIGU, Firenze 14-17 Ottobre 2010, “Le mutazioni dei geni *IDH1* e *IDH2* nei gliomi e le loro correlazioni molecolari”, M. Mellai, **A. Piazzi**, O. Monzeglio, M. Giordano, P. Cassoni, D. Schiffer.

LIX° Congresso Nazionale SINch, Milano 27-30 Ottobre 2010: “Mutations of *IDH1* and *IDH2* genes in astrocytic and oligodendrocytic gliomas”, M. Mellai, **A. Piazzi**, M. Giordano, A. Comino, C. Modellini, M. Lanotte, P. Cassoni, D. Schiffer.



47° Congresso Nazionale AINP – 37 ° Congresso Nazionale AIRIC, Genova 19-21 Maggio 2011, “Significance of timing of genetic and epigenetic events in gliomagenesis”, M. Mellai, **A. Piazzi**, O. Monzeglio, P. Cassoni, G. Valente, D. Schiffer.

International Conference on Molecular Clinical Oncology, Torino 26-28 Maggio 2011, “IDH1/2 mutations and their correlations in brain tumors”, M. Mellai, V. Caldera, **A. Piazzi**, O. Monzeglio, D. Schiffer.

56<sup>th</sup> Annual Meeting of the German Society for Neuropathology and Neuroanatomy, Tübingen 21-24 Settembre 2011, “IDH1 and IDH2 mutations in a series of 363 brain tumors”, M. Mellai, **A. Piazzi**, O. Monzeglio, V. Caldera, B. Pollo, D. Schiffer.

### 1° ANNO

XIV Congresso Nazionale AINO, Padova 4-7 Ottobre 2009, “Ipermetilazione di MGMT in relazione ad alterazioni genetiche nei gliomi di basso grado”, M. Mellai, **A. Piazzi**, O. Monzeglio, V. Caldera, L. Annovazzi, A. Comino, G. Valente, D. Schiffer.

XXII Congresso Nazionale SIGU, Torino 8-10 Novembre 2009, “Analisi della perdita di eterozigotità nei gliomi mediante microsatelliti e Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)”, M. Mellai, **A. Piazzi**, M. Giordano, P. Cassoni, D. Schiffer.

XLVI Congresso Internazionale AINP – XXXVI AIRIC, Squillace (CZ) 23-25 Maggio 2010: “Significance of IDH1 and IDH2 mutations in gliomas and their correlations”, M. Mellai, O. Monzeglio, **A. Piazzi**, E. Andreoli, D. Schiffer.

IX Meeting EANO, Maastricht 16-19 Settembre 2010, “Significance of IDH1 and IDH2 mutations in gliomas and their correlations”, M. Mellai, O. Monzeglio, **A. Piazzi**, E. Andreoli, D. Schiffer.

### **Publicazioni Scientifiche**

M. Mellai, **A. Piazzi**, V. Caldera, O. Monzeglio, P. Cassoni, D. Schiffer “IDH1 and IDH2 mutations, immunoistochemistry and associations in a series of brain tumors”, J Neurooncol. 2011 Nov; 105(2): 345-57; (Impact Factor 2.929)

Caldera V., Mellai M., Annovazzi L., **Piazzi A.**, Cassoni P. and Schiffer D. “Antigenic and genotypic similarity between primary glioblastomas and their derived neurospheres”, J Oncol. Epub 2011 Aug 18. (Not Yet Impact Factor)

M. Mellai, O. Monzeglio, **A. Piazzi**, V. Caldera, L. Annovazzi, P. Cassoni, G. Valente, S. Cordera, C. Mocellini, D. Schiffer “MGMT promoter hypermethylation and its associations with genetic alterations in a series of 374 brain tumors”, J Neurooncol. 2012 May; 107(3): 617-31; (Impact Factor 2.929)

Caldera V., Mellai M., Annovazzi L., Monzeglio O., **Piazzi A.**, Schiffer D. “MGMT hypermethylation and MDR system in glioblastoma cancer stem cells” Cancer Genomics Proteomics 2012 Jul; 9: 171-78; (Not Yet Impact Factor)

Schiffer D., Mellai M., Annovazzi L., **Piazzini A.**, Monzeglio O., Caldera V. "Glioblastoma cancer stem cells: basis for a functional hypothesis" *Stem Cell Discovery* 2012 Jul; 2(3): 122-31. (Not Yet Impact Factor)