

Actualización

BIOLOGIA MOLECULAR DE LOS TUMORES NEUROEPITELIALES

Revisión y actualización diagnóstica

G. Barreiro, C. Ottino y A. Basso

División Neurocirugía, Hospital de Clínicas José de San Martín, UBA

RESUMEN

El tratamiento definitivo de los Tumores Neuroepiteliales (TNE), es un serio problema a resolver. La cirugía, la radioterapia y la quimioterapia, han demostrado ser poco efectivas en el tratamiento a largo plazo. Tal vez el desarrollo futuro de la biología molecular nos permita un mejor y más efectivo diagnóstico y terapéutica. El descubrimiento de nuevos oncogenes, protooncogenes, genes supresores y factores estimulantes del crecimiento tumoral sumado a nuevas y mejores técnicas de tratamiento permitirán abrir en el futuro, un nuevo camino dentro del comportamiento celular.

El objetivo de esta revisión es desarrollar estos nuevos conceptos para el conocimiento básico y futuro de los nuevos neurocirujanos.

A través de esta revisión podremos entender las modernas técnicas y métodos que están siendo utilizados en el resto del mundo, tales como la terapia génica y la inmunoterapia.

Palabras claves: TNE, oncogenes, protooncogenes, crecimiento tumoral, terapia génica, inmunoterapia.

SUMMARY

The final treatment of the Neuroepithelial Tumors (NET) remains today as an important problem. Surgery, radiotherapy and chemotherapy, have demonstrated to be less effective in long term treatment. Perhaps the future development of molecular biology will approach us to a better and much more effective diagnosis and therapy. The discovery of new oncogenes, protooncogenes, tumor suppressor genes and stimulant tumoral growth factors, with new and better techniques of diagnosis will allow us in the future, a new way of cellular's behavior.

The objective of this review is to explain these new concepts for the basic and future knowledge of the young neurosurgeons.

Through these we'll may understand all new techniques and methods that are been used in the world such as gene therapy and immunotherapy.

Key words: NET, Oncogenes, Protooncogenes, Tumoral Growth Factors, Gene therapy, Immunotherapy.

INTRODUCCIÓN

El tratamiento definitivo de los Tumores Neuroepiteliales (TNE) sigue siendo aun hoy un importante problema a resolver. La cirugía, la radioterapia, o la quimioterapia, solas o asociadas, han demostrado en la mayoría de los casos ser insuficientes en el tratamiento definitivo de estos tumores.

El fracaso terapéutico nos hace replantear la necesidad de una terapéutica nueva y diferente a las ya tradicionales.

El enfoque genético - molecular de los tumores, tal vez demuestre mejores resultados en muy poco tiempo. La aparición de nuevas técnicas y métodos de diagnóstico vinculados al comportamiento celular normal y patológico nos ha permitido conocer más sobre la cinética tumoral. El descubrimiento de factores estimulantes del crecimiento, proteínas alteradas, mutaciones cromosómicas, oncogenes,

protooncogenes y receptores hormonales que actúan sobre distintas fases del ciclo celular nos aproximan cada vez más a este enigma.

Por todo esto el significado de la palabra *cáncer* puede ser traducido hoy como una sumatoria de alteraciones genéticas, estructurales y funcionales, dentro y fuera de la célula.

Si tomamos en cuenta que las células neuronales están rodeadas por tejido de sostén, su comportamiento se vería influenciado no sólo por los procesos neurobiológicos que ocurren dentro de éstas sino también por aquellos que surjan de su entorno y de las alteraciones que aparezcan en el crecimiento y desarrollo normal.

Las alteraciones cromosómicas (traslocaciones, deleciones e inversiones del genoma), pueden originar un cambio de señales que limiten el crecimiento y la transformación celular normal, tornándolas así en células autónomas, con proliferación desordenada dentro del parénquima cerebral.

Los dos tipos de alteraciones citogenéticas capaces de producir estos cambios celulares pueden deberse a alteraciones tanto estructurales como funcionales¹⁸.

Las alteraciones estructurales pueden obedecer a alteraciones en el número o en la estructura cromosómica *per se*, siendo esta última la más importante que afecta a los TNE.

Las alteraciones funcionales no son pues más que la expresión de los cambios estructurales ocurridos, o bien aquellos secundarios a la sobreexpresión de factores determinantes del crecimiento y del desarrollo neuronal.

Las técnicas nuevas y más específicas en la

detección de las alteraciones genómicas permitirá a la ciencia crear nuevos métodos de tratamiento que puedan corregir los errores originados en la transcripción de la información genética, evitando así la proliferación neoplásica.

El objetivo de esta revisión es analizar y actualizar la bibliografía presente para que el neurocirujano actual no deje de conocer las *bases neurobiológicas* de los tumores del Sistema Nervioso Central (SNC), ya que será parte de los descubrimientos y adelantos tecnológicos que se desarrollen en el futuro.

GENES Y CÁNCER

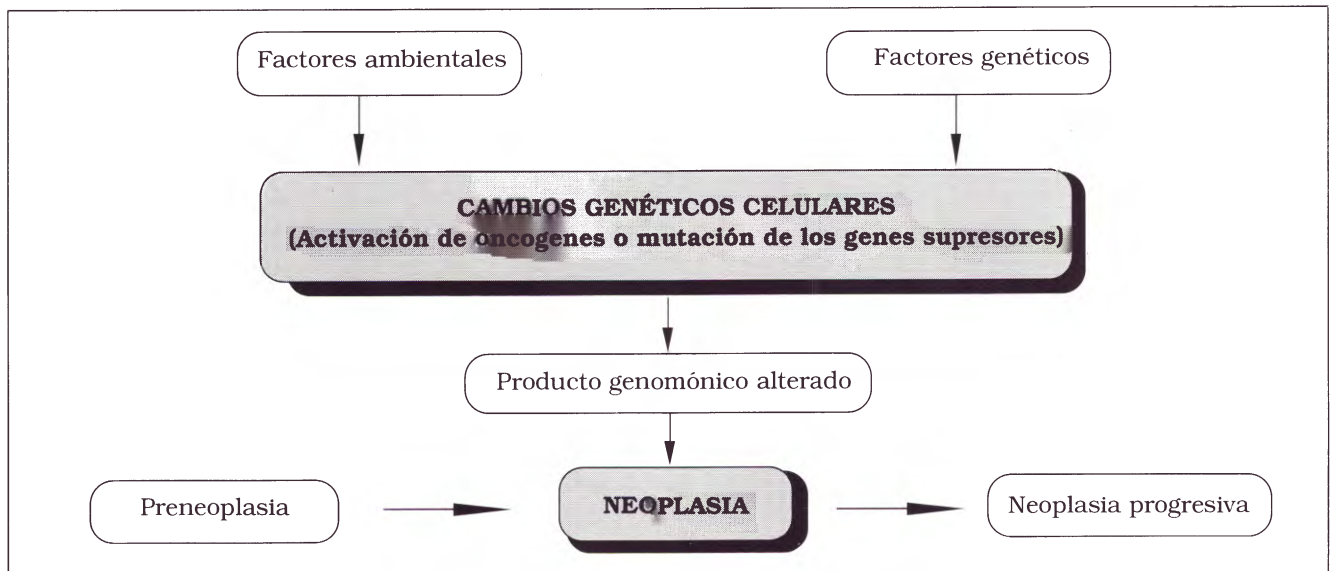
Aunque existe una innumerable lista de enfermedades asociadas a mutaciones genéticas, la mayoría de ellas son adquiridas y debidas a numerosas causas.

La transformación tumoral puede originarse espontáneamente o secundariamente a mutágenos ambientales (físicoquímicos, infecciosos, etc.). Esos mutágenos pueden ser capaces de producir cambios moleculares que se traducen en la activación de genes tumorales. (Esquema 1).

Los genes implicados en el crecimiento y desarrollo de las células tumorales son conocidos como **oncogenes**¹.

ONCOGENES Y PROTOONCOGENES

Los oncogenes fueron primeramente descubiertos en tejidos neoplásicos y se pensó que eran transmitidos únicamente por retrovirus⁶. Luego se supo que tales oncogenes eran constituyentes



Esquema 1. Patobiología del cáncer

normales de las células no neoplásicas y que la presencia en relación a los retrovirus era el resultado de un traspaso de información de los mismos^{11,19}.

Los oncogenes se encuentran regulados y reprimidos en las células normales y frente a determinados estímulos son capaces de activarse y mutar transformando el ADN .

Los **protooncogenes**, constituyen también un estímulo permanente para el desarrollo celular, y su activación puede traducirse en la formación de un oncogen⁷.

Cada protooncogen codifica una proteína conocida como **oncoproteína** que funciona como factor o receptor de un factor de crecimiento y mediador de señales de alguna vía regulando la expresión genómica.

Las oncoproteínas son capaces de actuar a diferentes niveles celulares a través de distintos mecanismos de acción (Tirosina-Kinasa, GTP dependiente, PKC, etc.)¹¹. Es así como los factores de crecimiento tumoral (EGF, IGF, PDGF, etc); o sus receptores (EGFr, PDGFr, IGF-1r) actúan sobre los TNE.

Las mutaciones activadas convierten luego a un protooncogen en oncogen con una variedad importante de funciones que promueven en el futuro a un genotipo neoplásico. (Esquema 2).

Si bien han sido descubiertos más de 100 oncogenes y protooncogenes, sólo una minoría parece participar en la mayoría de los tumores en el ser humano y un número mucho menor sobre los TNE. (Tabla 1).

Tabla 1. Protooncogenes en los TNE

EGF/EGF-R	C-myc N-myc
b-FGF	Gsp
IGF-1/IGF-1R	Met
ros-1	Gli
H-ras N-ras	TGF

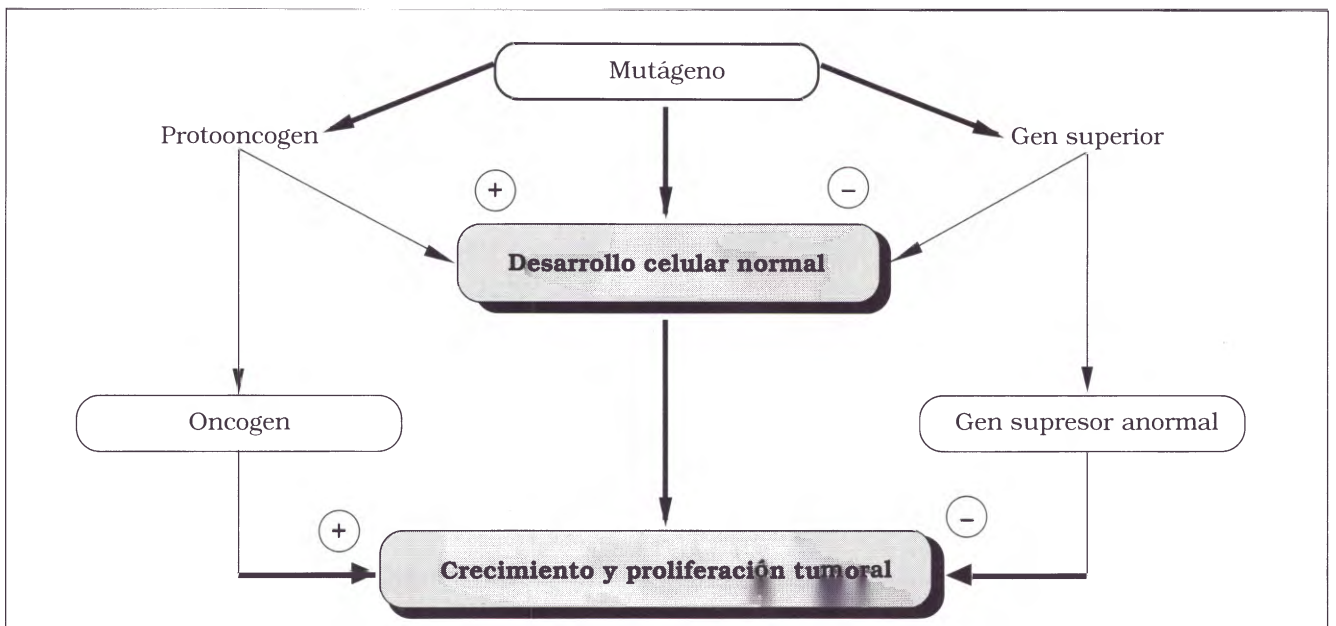
Los oncogenes han sido clasificados en 4 grandes grupos de acuerdo al tipo de función que desarrollan y al producto celular que originan (Tirosino-Kinasa; Factores de Crecimiento, Proteínas ligadoras de GTP; Proteínas Nucleares). (Tabla 2).

**Tabla 2
Clasificación de oncogenes según el tipo de función**

Genes	Tipo de función
c-abl	Tirosina-kinasa citoplasmática.
c-erb	Tirosina-kinasa de membrana plasmática
c-mas	Proteína de membrana plasmática
H-ras	Proteína unida a GTP
c-fos	Proteína nuclear
c-jun	Proteína unida a ADN

GENES SUPRESORES

Los **genes supresores**, también son componentes del genoma celular normal y tienen como



Esquema 2. Regulación del crecimiento celular normal a nivel genómico

Tabla 3. Genes supresores

P53
NF1
CDKN2
APC
Gorlin Locus
RB1

rol **regular** la proliferación celular y la diferenciación¹⁹.

El gen supresor más conocido es el P53. Este gen es capaz de detener la replicación de una célula con daño en su ADN hasta que ésta sea reparada, y cuando una célula tumoral posee un P53 deficiente (mutado) puede replicarse originando una progenie transformada (maligna).

Existen una cantidad de genes supresores relacionados a los TNE que se detallan en la Tabla 3.

FACTORES DE CRECIMIENTO TUMORAL

Los factores de crecimiento tumoral (FCT) son polipéptidos y proteínas capaces de estimular el desarrollo y la supervivencia de las células malformadas. Si bien éstos son comúnmente factores de protección neurotróficos contra la muerte neuronal excitotóxica, la *sobreexpresión y amplificación* los transforman en sustancias capaces de perpetuar a la célula tumoral.

Dentro de éstos se encuentran las neurotrofinas (NGF, BDNF, NT3, NT 4/5/6); los factores tróficos propiamente dichos (FGF, bFGF, TGF, EGF, IGF) y las Citokinas (IL 1-6)¹⁹. (Tabla 4).

Estos factores se encuentran asociados a la matriz extracelular, a la membrana celular o se encuentran en el interior de las células (citoplasma) y pueden transmitir señales al núcleo por medio de segundos mensajeros como el AMPc, GMPc, DAG, etc.

Tabla 4. Factores de crecimiento tumoral

Factores tróficos	EGF
	PDGF
	IGF
Neurotrofinas	FGF
	NGF
	BDGF
Citokinas	NT 3-6
	IL-1-6

OTROS FACTORES ESTIMULANTES DEL CRECIMIENTO TUMORAL

Existen también una serie de factores capaces de estimular el crecimiento tumoral y que no pueden ser encuadrados dentro de los anteriormente mencionados. Ellos son: 2) neurotransmisores y b) hormonas.

a) Si bien los **neurotransmisores** son sustancias polipeptídicas normales de las células nerviosas y a través de las cuales se intercambia información, se ha visto que la sobreexpresión de los mismos podría estar implicada en el estímulo y crecimiento de ciertos TNE.

b) Las **hormonas** también son capaces de actuar como neurotransmisores y como factores estimulantes del crecimiento celular generando información a nivel de los receptores de membrana o nucleares. Se cree que la presencia de determinados receptores hormonales en los TNE podrían establecer cierta relación con determinadas etapas del crecimiento celular normal del ser humano¹⁸⁻¹. (Tabla 5).

MÉTODOS Y TÉCNICAS UTILIZADOS EN BIOLOGÍA MOLECULAR

Los métodos y las técnicas utilizados para la detección de alteraciones genéticas estructurales y/o funcionales, son múltiples. Se puede examinar el cromosoma entero o tan solo algunos fragmentos a través de técnicas como el FISH (Fluorescence in situ hybridization), el RFLP (restriction fragment length polymorphism), y el VNTR (Variable number tandem repeat analysis)¹.

Todas estas técnicas son muy utilizadas en nuestro medio, principalmente las 2 últimas. Por ejemplo, si utilizamos el VNTR, podemos conocer el grado de polimorfismo que puede presentarse en cada loci, debido al número de repeticiones en la secuencia de oligonucleótidos entre los distintos alelos.

Si conocemos estos loci, podemos utilizar otro sistema de amplificación conocido como PCR (polimerasa chain reaction) que nos permitirá estudiar con más detalles los cambios ocurridos en un fragmento de ADN.

El estudio para la detección de mutaciones puntuales y dirigidas que puedan afectar al código de secuencias de los genes puede ser realizado a través del SSCP (single-strand conformation polymorphism). Esta técnica utiliza al PCR para amplificar el fragmento de ADN alterado y luego por corrida electroforética es capaz de identificar mi-

nimos cambios conformacionales y alteración en un solo par de bases del fragmento de ADN.

Para la detección de genes amplificados o sobreexpresados las técnicas de FISH y Southern blot (SB) parecen ser excelentes. Así por medio del SB la sobreexpresión genómica puede ser fraccionada por electroforesis, transferida a la membrana e hibridizada.

Como vemos cualquiera de estas técnicas son suficientemente sensibles y específicas para detectar las alteraciones genómicas existentes en el estudio de los TNE¹¹ y puede ser de suma importancia para saber que tipo de alteración estructural presenta el tumor reseado.

MARCADORES TUMORALES DE LOS TNE

La clasificación de los tumores del SNC ha sufrido a través de los años numerosos cambios. Actualmente es aceptada por uniformidad de conceptos y definiciones la propuesta por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1993. Divide los tumores del SNC en: 1. neuroepiteliales (TNE); 2. de nervios espinales y craneales; 3. de las meninges; 4. hemopoyéticos y linfomas, 5. de células germinales; 6. lesiones quísticas y tipo tumoral; 7. de la región selar; 8. regionales con extensión local; 9. metastásicos y 10. inclasificados¹⁴.

Los TNE son sin duda los tumores más frecuentes. Se subdividen en 9 tipos y los hemos enumerado en grado creciente de importancia de acuerdo a su frecuencia. (Tabla 6).

En muchos de los TNE se ha podido demostrar la presencia de alteraciones estructurales del genoma y sobreexpresión o amplificación de determinados factores, pero aún quedan muchos por descubrir dada la poca frecuencia con que aparecen.

Si bien el concepto del origen monoclonal en los tumores del sistema nervioso es sustentado por la mayoría de los investigadores, éste no ha sido capaz aun de explicar el porqué de numerosos interrogantes que su crecimiento y desarrollo plantean.

Dentro de los TNE existen alteraciones genético-moleculares que son comunes para distintos tumores (ej. alteración en los genes: P53; RB1; NF1; CDKN2; EGF / EGF-R; PDGFR; TGF; IGF-1; bFGF, etc.)

Entre las distintas alteraciones se encuentran con más frecuencia: a) la alteración del gen supresor P53 y b) la amplificación del protooncogen EGF/EGF-R^{2,10-13}.

El gen supresor P53 tiene múltiples funciones: estimula la progresión del ciclo celular, repara el ADN dañado, da estabilidad al genoma, y programa la muerte celular (apoptosis).

La alteración (mutación) de este gen supresor, por inactivación de ambos alelos puede permitir que factores inhibitorios del ciclo celular como el WAF 1/CIP 1 impidan que la célula continúe con sus fases. Las mutaciones parecen afectar alguna de las cinco dominancias que lo conforman a nivel del aminoácido terminal que se une al ADN, dando como resultado una transcripción errónea. Dentro de los TNE se lo ve alterado más frecuentemente en los Astrocitomas, y mayormente en los de bajo grado. Las técnicas utilizadas con anticuerpos monoclonales e inmunofluorescencia permiten detectar dicha alteración en las células tumorales. Normalmente este gen se encuentra codificado en el brazo corto del cromosoma 17, loci 13, 1 (17p13,1). La pérdida de la heterogoticidad del cromosoma 17 en alguno de sus locus puede hacer que éste se vea afectado perdiendo la función supresora o reguladora.

El protooncogen EGF/EGF-R activado se encuentra muy frecuentemente en los Astrocitomas de alto grado. Su receptor no solo es capaz de fijar al factor de crecimiento epidérmico (EGF) sino también al factor de transformación del crecimiento (TGF). El receptor sintetizado por este protooncogen se encuentra localizado como proteína de transmembrana, actuando a través de una función tipo Tirosina-Kinasa. El uso de anticuerpos monoclonales e inmunofluorescencia para su detección, podría ser en el futuro blanco para una terapéutica inmunológica (inmunoterapia con anticuerpos monoclonales) eficaz.

Tabla 5
Otros factores de crecimiento tumoral

Neurotransmisores	Catecolaminas (DA)
Hormonas	Esteroides (Glucocorticoides, Andrógenos)

Tabla 6
Clasificación de los TNE

Astrocitomas	De origen incierto
Oligodendrogliomas	Neuronales y
Ependimomas	mixtos glioneuronal
Gliomas mixtos	Pinealomas
De plexo coroideo	Embrionarios

Tabla 7. Alteraciones genéticomoleculares de los astrocitomas

A.B.B.	A.A.G.	Glioblastomas
P53 (70%) EGFR (5%)	P53 (60%) EGFR (15%)	P53 (60%) EGFR (40%) PDGF-RA (1,5%)
CDK4 CDKN2	MDM2 (10%) CDK4 (30%) CDKN2 (20%)	MDM2 (10%) CDK4 (15%) CDKN2 (40%)
IGF-1 9p	IGF-1 9p (20%) 10 p/q (15%)	IGF-1 9p 10p/q (40-80%)
17p 19q	17p (30%) 19q (40%)	17p(30%) 19q (40%)
N-myc C-myc	N-myc C-myc	N-myc C-myc c-ros c-fos
K-ras	c-fos K-ras RBI (45%)	K-ras RBI (80%)

Este gen se encuentra codificado en el brazo corto del cromosoma 7, loci 12 (7p12). La pérdida en la heterogocidad del cromosoma 7 y a diferencia de lo que pasa con el cromosoma 17, no ha sido relacionada con el desarrollo o la sobreexpresión de este gen, pero sí con la del cromosoma 10 y 17.

ASTROCITOMAS

Los astrocitomas han sido clasificados en diferentes subtipos histopatológicos y en distintos grados de acuerdo a su evolución clínica y a la presencia o ausencia de determinados factores que intervienen en la proliferación y crecimiento celular.

Para mayor practicidad dividiremos a los Astrocitomas por grados en dos grandes grupos: los de bajo grado (GI, GII) y los de alto grado (GIII, GIV) y finalmente incluiremos a los Glioblastomas como una entidad separada dentro de estos tumores.

En base a esta clasificación describiremos las alteraciones genéticas encontradas hasta la fecha y la presencia de factores de crecimiento y proliferación celular amplificadas o sobreexpresadas^{2,5,8,9,15,17,19-23}. (Tabla 7).

OLIGODENDROGLIOMAS

Los oligodendrogliomas son tumores que se presentan con menor frecuencia que los astrocitomas, constituyendo alrededor del 4-5% de los tumores primarios del SNC.

Al igual que en los astrocitomas se han detectado una serie de alteraciones genómicas y la presencia de factores de crecimiento tumoral relacionados^{4,17,21,23}. (Tabla 8).

EPENDIMOMAS

Los ependimomas intracraneanos constituyen aproximadamente el 5-6 % de los gliomas, siendo más frecuentes en los niños a diferencia de los ependimomas espinales que se presentan más frecuentemente en los adultos jóvenes. Estos han sido divididos en 2 grupos, según la evolución

Tabla 8. Alteraciones moleculares de los oligodendrogliomas

Oligodendrioglioma	Oligodendroglioma anaplásico
1p (75%) 19q (81%) 17p (19%) 9p 10p c-erb B (EGF-R) P53 (10%) CDKN2/p16 c-mos H-ras	10p 17p P53 c-mos H-ras

Tabla 9. Alteraciones genéticomoleculares de los ependinomas

Ependinomas	Ependinomas anaplásicos
	22q
	17q
	9p
PDGF-A	
TGF- β	TGF- β
	v-fos (100%)
	n-myc (5%)
	c-myc (5%)
	v-sis (<1%)
	c-erb B
	c-mos

clínica e histopatológica de los mismos, en no anaplásicos y anaplásicos. Los estudios de citogenética y biología molecular revelan la presencia de una serie de alteraciones^{19,26}. (Tabla 9).

GLIOMAS MIXTOS

Los gliomas mixtos son tumores muy poco frecuentes dentro de los TNE y su diagnóstico muchas veces es difícil. Dentro de este grupo se incluyen a los oligoastrocitomas, oligoependimomas, epéndimoastrocitomas y ependimomas o astrocitomas con diferenciación a papiloma de plexos coroideos^{21,23}.

Por lo tanto cualquiera de estos tumores puede presentar alteraciones citogenéticas y moleculares comunes a los tumores anteriormente descritos.

TUMORES DE PLEXOS COROIDEOS

El tumor de Plexos coroideos es un tumor muy poco frecuente, se da más en la población pediátrica que en la adulta. Los estudios citogenéticos realizados hasta la fecha no muestran alteraciones estructurales características, ni tampoco se encuentran factores de amplificación o sobreexpresión celular. Probablemente haga falta una casuística mayor para poder encontrar un punto de referencia¹⁹.

TUMORES NEURONALES Y MIXTOS GLIONEURONALES

Dentro de este grupo se incluyen al ganglioglioma y gangliocitoma, al neurocitoma, al tumor neuroepitelial disemбриoplásico y otros. Los estu-

Tabla 10. Alteraciones genético moleculares de los gangliomas

17p
v-sis
v-fos

dios realizado hasta el presente informan del hallazgo de alteraciones citogenéticas en los gangliogliomas^{2,25}.

Estos últimos se dan más frecuentemente en la población pediátrica y adulta joven, constituyendo apenas el 4% de los tumores pediátricos y menos del 1% de los TNE.

Las alteraciones citogenéticas encontradas se detallan en la Tabla 10.

PINEALOMAS

Los tumores pineales son más frecuentes en los niños. Si bien dentro de este tipo de tumores se incluyen a los pineoblastomas y pineocitomas como TNE, otro grupo importante de tumores pueden ser hallados en esta región.

La presencia de alteraciones citogenéticas y la vinculación heredo-familiar toma cada día más trascendencia en este tipo de tumores¹⁶. Se ha visto una relación importante entre su aparición y la alteración del gen supresor RB1 llegándose a plantear una condición llamada por los investigadores como "retinoblastoma trilateral"¹⁹. Aún faltan más estudios citogenéticos y moleculares para poder plantear otras hipótesis en cuanto a su origen y desarrollo.

TUMORES EMBRIONARIOS

Dentro de este grupo se encuentran el méduloepitelioma, el neuroblastoma, el epéndimoblastoma y el méduloblastoma. Este último es uno de los tumores malignos más frecuente entre la población pediátrica con una incidencia entre el 15% y el 20%. Se lo ha visto asociado a dos síndromes tumorales como el Síndrome de Turcot y el Síndrome de Gorlin. Una serie de análisis citogenéticos y moleculares se ha realizado en éstos, y se detallan en la siguiente tabla^{19,22}. (Tabla 11).

CONCLUSIONES

La presencia de nuevos marcadores biológicos junto al desarrollo de nuevas y mejores técnicas de diagnóstico, permitirán en un futuro muy cercano desarrollar nuevas formas de tratamiento con

Tabla 11. Alteraciones genéticomoleculares de los meduloblastomas

5q21 (APC)
9q31 (GORLIN L)
17p
P53
6q
16q
c-myc
N-myc

mejores probabilidades de sobrevida a largo plazo.

Nuevas técnicas en ingeniería molecular están siendo empleadas actualmente en fase IIa y IIb de la investigación médica.

El uso de la terapia génica que permite introducir material genético en una célula a través de un vector, modificando el genoma primitivo y corrigiendo una falla o un defecto genómico o bien introduciendo una nueva función a la célula tumoral para hacerla más susceptible a una droga o a un tratamiento específico está en los pasos más avanzados de la investigación .

Por otro lado la Inmunoterapia, basada en la activación del sistema inmune humano, puede combatir a la célula tumoral que resulta extraña para el organismo, a través de la activación del sistema inmunológico celular o humoral. Por ejemplo el método de activación de las células T asesinas (LTKA) que genera una reacción de cuerpo extraño intratumoral o el uso de anticuerpos monoclonales que genera un efecto destructor neoplásico a través de la fijación del complemento parecen tener resultados promisorios muy interesantes.

Como vemos, cualquiera de estas nuevas terapéuticas junto al descubrimiento y la aparición de nuevos oncogenes, protooncogenes o factores de crecimiento tumoral, permitirán abrir nuevos caminos en el conocimiento de un mundo fascinante constituido por la genética molecular.

La valoración de costo-beneficio a mediano y largo plazo hoy en día, nos dan la razón del porqué se está investigando e invirtiendo tanto en esta área.

Hace décadas se hablaba de órganos, tejidos y células como etapas extraordinarias del conocimiento científico. Hoy nos referimos a la genética y a la biología molecular como horizonte de un nuevo milenio.

Sin duda queda mucho por recorrer, pero estamos más cerca de nuestro objetivo y la neurocirugía del siglo XXI no puede estar ajena a este gran adelanto que significará para el hombre.

Bibliografía

1. Baker F, Israel M: The Molecular Biology of Brain Tumors. **Neurologic Clinics** 13:Nov 1995.
2. Berkman R, Clark W, et al: Clonal composition of Glioblastoma Multiforme. **J Neurosurg** 77 (3): 432-7, 1992.
3. Browles A, Pautazis C, Allen M et al: Ganglioglioma, a Malignant Tumor? Correlation with flow deoxyribonucleic Acid Cytometric analysis. **Neurosurgery**, 23 (3): 376-381, 1988.
4. Caincross J, Macdonald DR, Rausey DA: Aggressive Oligodendroglioma: A Chemosensitive Tumor. **Neurosurg** 31 (1): 78-82, 1992.
5. Carroll R, Zhang J, et al: Steroid Hormone Receptors in Astrocytic Neoplasms. **Neurosurgery** 37(3): 496-504, 1995.
6. Cooper M: Noninfectious Gene Transfer and expression system for cancer gene therapy. **Seminars in Oncology** 23 (1): 172-187, 1996.
7. Fujimoto M, Scheridan PJ, Sharp ZD, et al: Proto-oncogene analyses in brain tumors. **J Neurosurgery** 70: 910-15, 1989.
8. Godbout P, Miyakoshi J, Dobler KD, et al: Lack of expression of tumor supresor genes in human malignant glioma cell. **Clin. Oncogene** 7: 1.879, 1992.
9. Hieger EM, Hays RL, Pierz D, et al: Prognostic relevance of epidural growth factor receptor (EGFR) and c-neu/ erb-B2 expression in glioblastomas (GBMs). **J Neurooncol** 16: 93, 1993.
10. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, et al: P53 mutation in human cancers. **Science** 253: 49-53, 1991.
11. Huebner K, Ohta M et al: Detection of specific genetics alterations in cancer cells. **Seminars in Oncology** 23 (1): 22-30, 1996.
12. Jaros Y, Perry RH, Adam L, Kelly PJ et al: Prognostic implications of P53 protein, epidermal growth factor receptor, and Ki 67 labelling in brain tumors. **Br J Cancer** 66 (2): 373-385, 1992.
13. Jen J, Harper JW et al: Deletion of p16 and p15 genes in brain tumors. **Cancer Res.** 54: 6.353-55, 1994.
14. Kleihnes P, Burger P, and Scheithauer B: The New WHO Classification of Brain Tumors. **Brain Pathology** 3: 255-268, 1993.
15. Lang F, Miller D, et al: Pathways leading to glioblastoma multiforme: a molecular analysis of genetic alterations in 65 astrocytic tumors. **J Neurosurgery** 81: 427-36, 1994.
16. Lesnick D, Chayt, et al: Familial pineoblastoma. **J. Neurosurgery** 62: 930-32, 1985.
17. Malkin D, Li FP, Strong LC et al: Germ line P53 mutations in familial syndrome of breast cancer sarcomas, and other neoplasms. **Science** 250: 1.233, 1990.
18. Paoletti P, Butti G, Zibla G et al: Characteristics and biological role of steroid hormone receptors in neuroepithelial tumors. **J Neurosurgery** 73: 736-742, 1990.

19. Ruth et al: Neurogenetics and Molecular biology of human brain tumors. **J Neurooncology** 1991.
20. Saxena A, Clarck WC, Robertson JT et al: Evidence for the involvement of a potential second tumor supressor gene on chromosoma 17 distinct from p53 in malignant astrocytomas. **Cancer Res** 52: 6.716-19, 1992.
21. ShneiderJ, Hofman FM, Aspuzzo ML el al: Cytokines and immunoregulatory molecules in malignant glial neoplasm. **J Neurosurg** 77: 265-273, 1992.
22. Tomlinson FH, Jenkins RB, Scheithauer BW et al: Aggressive medulloblastoma with high level N-myc amplification. **Mayo Clinic Proc** 69: 359-63, 1994.
23. Von Diemling, Louis DN, von Ammon K et al: Evidence for a Tumor Suppressor gene on chromosome 19q, associates with human astrocytomas, oligodendrogliomas, and mixed gliomas. **Cancer Res** 52 (15): 4.277-9, 1992.
24. von Demiling A, Eibl RH, Olgoki H et al: P53 mutations are associated with 17p allelic loss in grade II and III astrocitoma. **Cancer Res** 52 : 2.987-2.990, 1992.
25. Wacker M, Cogen P et al: Diffuse leptomeningeal involvement by a ganglioglioma in a child. **J Neurosurg** 77: 302-6, 1991.
26. Ye Z, Qu JK, Darras BT: Loss of heterozygosity for alleles on chromosoma 10 in human brain tumors. **Neurol Res** 15: 59, 1993.