В.В. ДМИТРЕНКО [1], О.І. БОЙКО [1], К.О. ШОСТАК [1],
А.В. БІЛЕЦЬКИЙ [1], Т.А. МАЛИШЕВА [2], М.І. ШАМАЄВ [2],
В.М. КЛЮЧКА [2], В.Д. РОЗУМЕНКО [2],
Ю.П. ЗОЗУЛЯ [2], В.М. КАВСАН [2]

[1]Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ
[2]Інститут нейрохірургії ім. А.П. Ромоданова АМН України, Київ

ЕКСПРЕСІЯ ГЕНІВ ОСНОВНОГО БІЛКА МІЄЛІНУ ТА ГЛІАЛЬНОГО КИСЛОГО ФІБРИЛЯРНОГО БІЛКА В ГЛІАЛЬНИХ ПУХЛИНАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Проведено аналіз експресії генів основного білка мієліну (MBP, myelin basic protein) та гліального фібрилярного кислого білка (GFAP, glial fibrillary acydic protein) в гліальних пухлинах головного мозку людини для визначення специфічності експресії цих генів в залежності від типу пухлин та ступеня їх злоякісності. За результатами аналізу з використанням Нозерн-блот гібридизації виявлено низький вміст мРНК MBP у зразках астроцитарних гліом II–IV ступенів злоякісності і набагато вищий вміст у прилеглій до них перифокальній зоні, яка виказує гістологічні ознаки нормального головного мозку. Переважна частина дифузних астроцитом і анапластичних астроцитом характеризуються низьким рівнем експресії гена MBP і високим рівнем експресії гена GFAP, але можливо виділити окремий підтип дифузних астроцитом та анапластичних астроцитом з високим рівнем експресії гена MBP, що може бути відображенням різних молекулярних шляхів виникнення астроцитом. Дуже низький вміст або відсутність мРНК MBP були виявлені в олігодендрогліомі та у всіх олігоастроцитомах. Дані Нозерн-гібридизації корелюють з серійним аналізом генної експресії (SAGE). Отримані результати свідчать про те, що MBP не є специфічним молекулярним маркером пухлин олігодендрогліального походження, але дослідження відносних рівнів мРНК MBP і GFAP може бути корисним для розпізнавання гліальних пухлин і ці два гени разом із дослідженими нами раніше YKL-40 і TSC-22 можуть бути включені до панелі генів для визначення так званих «генних підписів (сигнатур)» пухлин головного мозку. Однак суворі вимоги щодо клінічного значення цих «генних сигнатур» не можуть бути сформульовані без їхньої перевірки на великій кількості клінічних зразків.

© В.В. ДМИТРЕНКО, О.І. БОЙКО, К.О. ШОСТАК, А.В. БІЛЕЦЬКИЙ, Т.А. МАЛИШЕВА, М.І. ШАМАЄВ, В.М. КЛЮЧКА, В.Д. РОЗУМЕНКО, Ю.П. ЗОЗУЛЯ, В.М. КАВСАН, 2009

Вступ. Класифікація гліальних пухлин людини базується переважно на гістопатологічних критеріях [1]. Прогностичні і терапевтичні властивості пухлин залежать від того, якого вони походження – астроцитарного чи олігодендрогліального. Класичні астроцитоми мають менш сприятливий прогноз і менш чутливі до хіміо- та радіотерапії, ніж олігодендрогліоми, зокрема у випадку наявності комбінованої втрати хромосомних ділянок 1p/19q [2, 3]. Хоча біологічні відмінності олігодендрогліальних пухлин від інших гліом є доволі суттєвими, гістопатологічна діагностика може бути неоднозначною тому, що до цього часу немає молекулярних маркерів, які б дозволяли надійно відрізнити астроцитоми від олігодендрогліом.

На додаток, діагностика цих двох типів гліом ускладнена наявністю так званих «змішаних» пухлин, в яких при гістопатологічному аналізі виявляються обидва елементи – астроцитарний і олігодендрогліальний.

Білковий продукт гена основного білка мієліну (MBP, myelin basic protein) є основним компонентом мієлінової оболонки, що формується в результаті спірального обкручування відростків олігодендроцитів в центральній нервовій системі і складає до 80 % мієліну. *MBP* експресується на високому рівні в олігодендроцитах [4]. Високу експресію гена *MBP* можна спостерігати і в нормальному головному мозку, принаймні на рівні РНК, як то показує серійний аналіз генної експресії (SAGE) [5]. Landry et al. [6] показали, що відсоток клітин, в яких експресується *MBP,* є доволі високим в дифузних астроцитомах порівняно з нормальним головним мозком і значно зменшується в анапластичних астроцитомах і гліобластомах. В олігодендрогліомах і анапластичних олігодендрогліомах кількість клітин, в яких експресується *MBP,* була зовсім незначною, однак Goflinos et al. [7] виявили високий рівень експресії *MBP* на рівні РНК практично у всіх олігодендрогліомах і олігоастроцитомах, але в більшості астроцитом він був низький або зовсім не детектувався. З іншого боку, Popko et al. [8] знайшли високий рівень продукції мРНК *MBP* в більшості проаналізованих анапластичних астроцитом і гліобластом.

Результати аналізу експресії *MBP* на рівні білка також суперечливі. Так, в роботі Figols et al. [9] виявлено значно нижчий рівень білка

MBP в астроцитарних пухлинах, ніж у всіх проаналізованих олігодендрогліомах і олігодендрогліальній частині олігоастроцитом, однак всі проаналізовані в роботі Nakagawa et al. [10] олігодендрогліоми і олігоастроцитоми були MBP-негативними, а в роботі Tanaka et al. [11] MBP-позитивними було менше половини олігодендрогліом.

GFAP, білок проміжного філаменту третього типу з молекулярною масою 54 кДа, є головною складовою гліальних волокон астроцитів. GFAP запропонований як маркер астрогліального гістогенезу та/або диференцировки [12], хоча відомо, що, окрім астроцитів, ген *GFAP* експресується і в інших клітинах глії, таких як немієлінізовані Шваннівські клітини, глія Бергмана, радіальна глія і Мюллерівські клітини [13], а також в пухлинах астроцитарного походження [14, 15]. У той же час є декілька повідомлень про наявність GFAP-позитивних клітин в олігодендрогліомах [16–19], які можуть бути реактивними астроцитами [16] або домішком неопластичних астроцитарних елементів в олігоастроцитомах [16, 19].

Таким чином, аналіз літератури показує, що ні рівень MBP, ні рівень GFAP не можуть слугувати поодинці як маркери для астроцитом або олігодендрогліом. Але можна припустити, що відносне значення рівнів експресії обох генів може слугувати як молекулярний маркер для астроцитарних пухлин. Метою даної роботи була спроба знайти можливу кореляцію між експресією генів *MBP* і *GFAP* на рівні мРНК та гістологічним діагнозом гліом астроцитарного походження на різних стадіях їх прогресії.

Матеріали і методи. Хірургічні зразки гліальних пухлин та тканини нормального головного мозку (гістологічно нормальна тканина головного мозку, прилегла до пухлини, що видаляється вимушено разом з пухлиною під час операції) були отримані з Інституту нейрохірургії ім. А.П. Ромоданова АМН України. Всього було проаналізовано 47 зразків пухлин, в тому числі 14 гліобластом, 9 анапластичних астроцитом, 7 астроцитом, 5 олігоастроцитом, 3 анапластичні олігоастроцитоми, одна анапластична олігодендрогліома, одна анапластична епендимоастроцитома, одна нейробластома, одна лімфома, 4 анапластичні менінгіоми та одна менінготеліальна менінгіома.

«Цифровий Нозерн» (Digital Northern) проводили на веб-сайті NCI CGAP (http://cgap.nci.nih.gov/SAGE).

Тотальну РНК із заморожених тканин виділяли екстракцією кислим гуанідинізотіоціанат-фенол-хлороформним розчином [20]. РНК (10 мкг на доріжку) фракціонували електрофорезом в горизонтальному 1,5%-ному агарозному гелі з 2,2 М формальдегидом в боратному буфері (0,2 мМ ЕДТА, pH 8,0; 30 мМ борна кислота; 3,3 мМ тетраборат натрію, pH 7,5), а потім переносили на нейлонові мембрани Hybond-N («Amersham Pharmacia Biotech», Австрія) згідно зі стандартними методиками [21].

Мембрани гібридизували впродовж 16 год при 42 °С з ^{32}P-міченими пробами кДНК в розчині 50 %-ного формаміду, 5 × SSC, 5 × Denhardt, 0,1 % SDS, 100 мкг/мл ДНК лосося. Фільтри відмивали двічі по 15 хв при кімнатній температурі в розчині 2 × SSC, 0,1 % SDS; один раз 15 хв в розчині 2 × SSC, 0,1 % SDS при 65 °С і остаточно в розчині 0,2 × SSC, 0,1 % SDS впродовж 15 хв при 65 °С. Експозицію мембран на рентгенівську плівку проводили з використанням посилюючого екрану при –70 °С. Мембрани відмивали і гібридизували повторно з ^{32}P-міченою кДНК β-актину людини для контролю нанесення РНК на агарозний гель. Для денситометричного аналізу гібридизаційних сигналів використовували програму Scion Image 1.62c.

Клони IMAGp998G09282 та IMAGp998L20-4858, які містять кДНК *MBP* та кДНК *GFAP* відповідно, були отримані з Центру геномних досліджень Німеччини (RZPD, Deutsches Ressourcenzentrum für Genomforschung GmbH, http://www.rzpd.de).

Результати досліджень та їх обговорення. З метою ідентифікації нових молекулярних маркерів гліальних пухлин нами проведено профілювання рівнів експресії генів в гліобластомі, найагресивнішій формі пухлин головного мозку людини, і нормальному головному мозку з використанням бази даних серійного аналізу генної експресії (SAGE). Співставлення дев'яти SAGE-бібліотек гліобластом і п'яти SAGE-бібліотек нормального головного мозку виявило 129 генів з понад п'ятикратною зміною рівня експресії ($P \leqslant 0,05$) в гліобластомі порівняно з нормальним головним мозком, з них 44 були

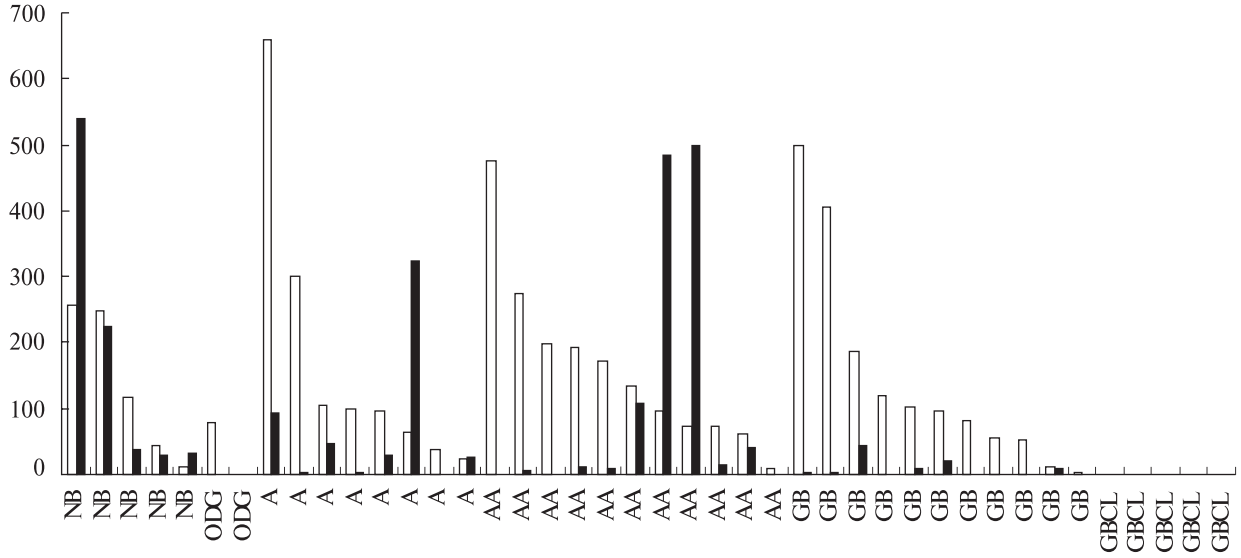

Рис. 1. Відносні рівні експресії генів *MBP* і *GFAP* в гліальних пухлинах та нормальному головному мозку, визначені за допомогою «цифрового Нозерну»: по вертикалі – кількість «ярликів» генів на 200 000 «ярликів»; по горизонталі – NB – нормальний головний мозок, ODG – олігодендрогліома, A – дифузна астроцитома, AA – анапластична астроцитома, GB – гліобластома, GBCL – клітинна лінія гліобластоми. Чорні стовпчики – *MBP,* білі стовпчики – *GFAP*

надекспресовані, а 85 – зі зниженим вмістом мРНК [5, 22, 23]. Ген *MBP* був ідентифікований серед генів з найбільш зниженим рівнем експресії в гліобластомі.

Для попередньої оцінки експресії генів *MBP* та *GFAP* в гліомах і нормальному головному мозку був проведений так званий «цифровий Нозерн», який є одним із методів біоінформатики для аналізу експресії генів. За результатами проведеного аналізу виявлено, що експресія цих генів варіює в астроцитомах різного ступеня злоякісності і олігодендрогліомах (рис. 1). За даними SAGE у тканинах нормального головного мозку рівні експресії обох генів, *MBP* і *GFAP*, досить високі за виключенням зразків мозочка. Дифузні астроцитоми (А – ступінь злоякісності II за класифікацією ВООЗ) в основному характеризуються відсутністю експресії *MBP* або дуже низьким рівнем його експресії і високим вмістом транскриптів гена *GFAP*. Тільки в одній з восьми астроцитом відмічається вищий рівень експресії *MBP*, ніж *GFAP*. Більшість анапластичних астроцитом (АА – ступінь злоякісності III за класифікацією ВООЗ) також характеризуються високим вмістом транскриптів гена *GFAP* і лише в двох з 11 анапластичних астроцитом наявний вищий рівень експресії *MBP*, ніж *GFAP*. Мала кількість доступних SAGE-бібліотек олігодендрогліом (ODG) не дозволяє зробити певних висновків щодо характеру експресії *MBP і GFAP* в цих пухлинах: в двох наявних олігодендрогліомах експресія *MBP* відсутня, а *GFAP* експресується лише в одній з них на невисокому рівні. У всіх гліобластомах (GB – ступінь злоякісності IV за класифікацією ВООЗ) рівень експресії *GFAP* істотно перевищує рівень експресії *MBP*. Експресія гена *MBP* в гліобластомах дуже низька або зовсім відсутня.

У клітинних лініях гліобластом відсутня експресія обох досліджуваних генів. Можливо, це пов'язано зі зміною умов існування клітин при культивуванні *in vitro*, при якому може відбуватися перебудова цитоскелету астроцитів у зв'язку з від'єднанням від оточуючих клітин і зникає необхідність утворювати мієлін.

Для підтвердження результатів, отриманих з використанням SAGE і «цифрового Нозерна», експресія генів *MBP* і *GFAP* була проаналізована нами в гліомах та нормальній тканині головного мозку за допомогою Нозерн-гібридизації РНК, виділеної з хірургічних зразків (рис. 2, *I–III*). Було встановлено, що в тканинах нормального головного мозку людини рівні екс-

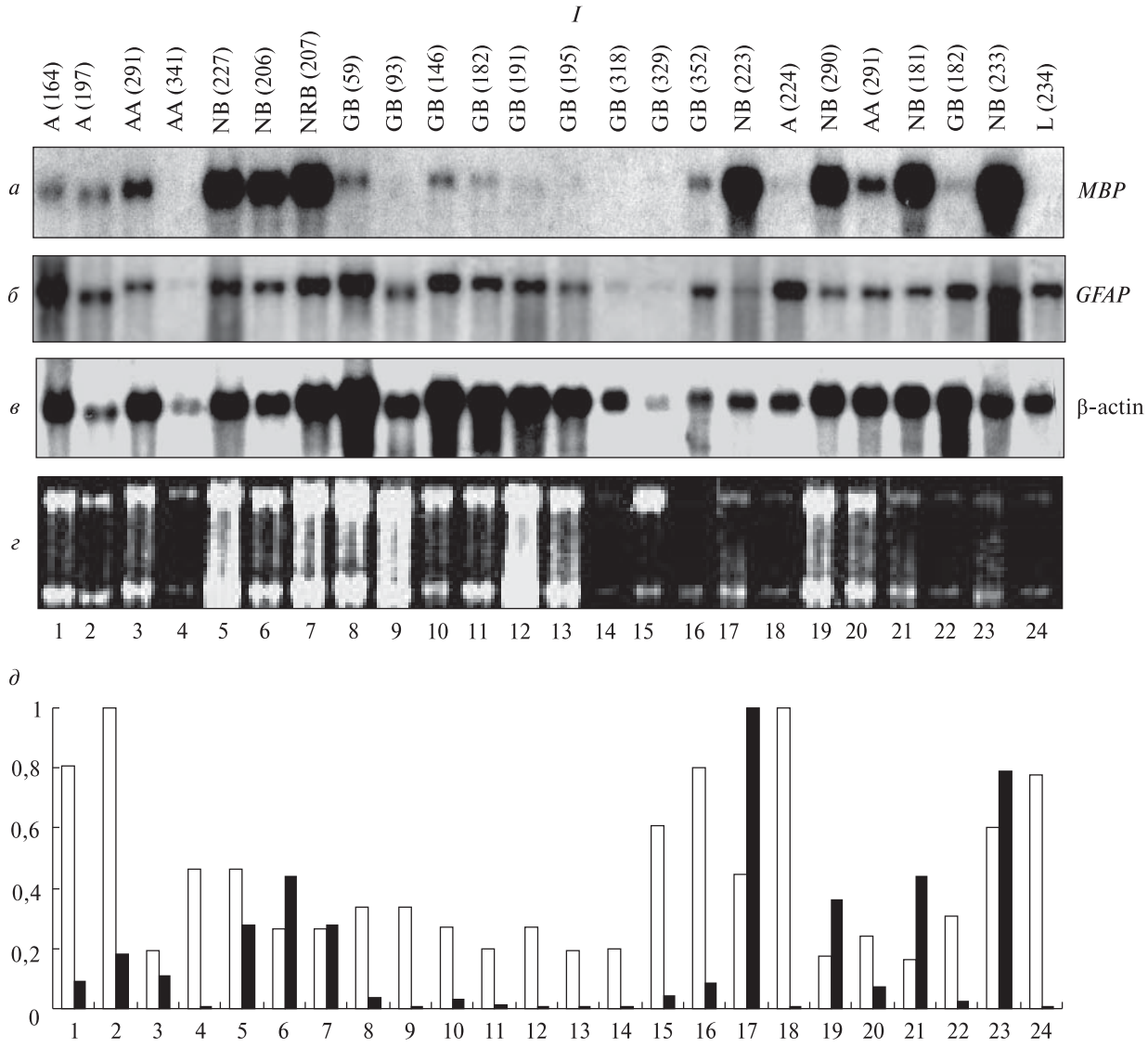

Рис. 2. Аналіз експресії генів *MBP* і *GFAP* в пухлинах і нормальному головному мозку. Нозерн-блот гібридизація ^{32}P-мічених кДНК-зондів *MBP* (*а*) та *GFAP* (*б*) з панеллю РНК: *б* – Нозерн-блот гібридизація з контрольною пробою кДНК β-актину; *г* – агарозний гель, забарвлений бромистим етидієм; *д* – відносний рівень експресії гена (по вертикалі – ум. од., по горизонталі – зразки) (чорні стовпчики – *MBP,* білі стовпчики – *GFAP)*. Типи тканин і пухлин позначені над кожною доріжкою блоту. *I*: NB – нормальний головний мозок людини; A – астроцитома; AA – анапластична астроцитома; GB – гліобластома; NRB нейробластома; L – лімфома. *II*: NB – нормальний головний мозок людини; A – астроцитома; AA – анапластична астроцитома; GB – гліобластома; OA – олігоастроцитома; AOA – анапластична олігоастроцитома; AEA – анапластична епендимоастроцитома; AO – анапластична олігодендрогліома; AM – анапластична менінгіома; MM – менінготеліальна менінгіома. *III*: NB – нормальний головний мозок людини; A – астроцитома; AA – анапластична астроцитома; GB – гліобластома; NRB – нейробластома (див. також с. 34, 35)

пресії генів *MBP* та *GFAP* високі, причому рівень експресії гена *MBP* переважає рівень експресії гена *GFAP*. Дифузні астроцитоми можна поділити на дві групи, в одній з яких (меншій) переважала експресія гена *MBP,* а в іншій (більшій) – гена *GFAP*. Серед анапластичних астроцитом можна розрізнити дві аналогічні групи. Чисельність пухлин в обох групах практично однакова (4 пухлини в групі з більшим вмістом транскриптів гена *MBP* і 5 пухлин у гру-

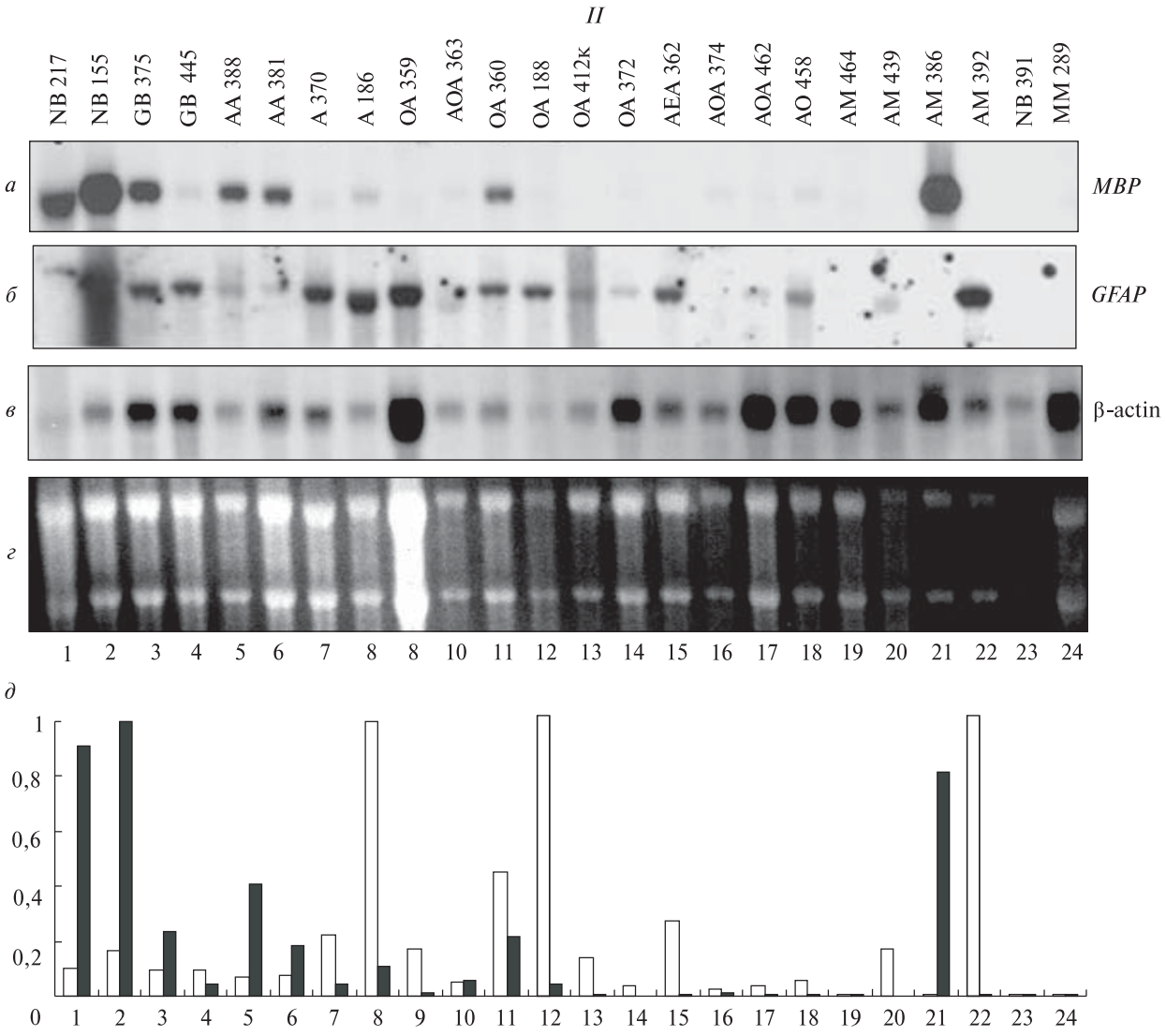

Рис. 2. Продовження

пі з більшим вмістом транскриптів гена *GFAP*). Майже у всіх досліджених гліобластомах ген *GFAP* експресувався на порівняно високому рівні, а мРНК *MBP* або була відсутня, або наявна у мінімальних кількостях. Лише в одній гліобластомі (GB375) виявлений високий рівень експресії гена *MBP*. У більшості олігоастроцитом і одній анапластичній олігоастроцитомі експресія *MBP* дуже низька або відсутня за винятком однієї олігоастроцитоми (зразок OA360), в якій обидва гени експресувалися на високому рівні. В двох інших анапластичних олігоастроцитомах і анапластичній олігодендрогліомі обидва гени не експресувалися. Слід зазначити, що у всіх олігоастроцитомах рівень експресії *GFAP* високий, а у всіх анапластичних олігоастроцитомах – низький.

Можна бачити, що між даними, отриманими за допомогою методів SAGE і Нозерн-блот гібридизації, прослідковується чітка відповідність. Деякі розбіжності можна пояснити за рахунок малої кількості зразків пухлин, проаналізованих обома методами. Таким чином, наші дані показують, що ген *MBP* на високому рівні експресується в нормальному головному мозку, однак його експресія істотно зменшуєть-

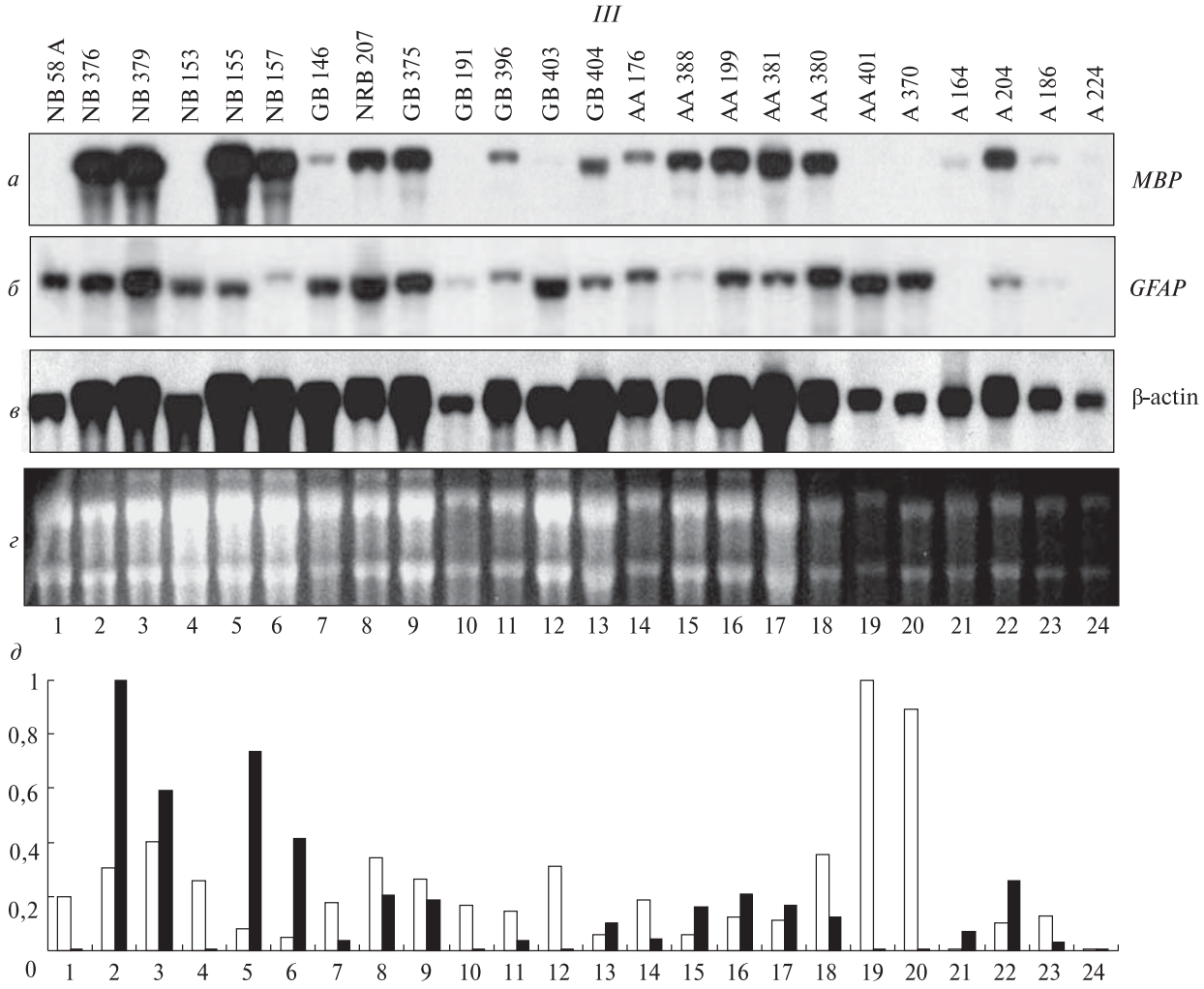

Рис. 2. Закінчення

ся в дифузних та анапластичних астроцитомах і, за деякими винятками, практично відсутня в гліобластомах. Більшість астроцитом характеризуються низьким рівнем мРНК *MBP* і високим рівнем мРНК *GFAP,* що корелює з гістологічним діагнозом гліом астроцитарного походження на різних стадіях їх прогресії. Отримані дані також свідчать про те, що існує окремий підтип астроцитом, в якому, навпаки, вміст мРНК *MBP* вищий, ніж *GFAP*. В «змішаних» гліомах – олігоастроцитомах II і III ступеня злоякісності – переважають пухлини з вищим вмістом мРНК *GFAP*. Крім цього, серед анапластичних олігоастроцитом ідентифіковано дві пухлини, в яких обидва гени практично не експресуються так само, як і в одній проаналізованій анапластичній олігодендрогліомі, тобто в пухлинах олігодендрогліального походження і «змішаних» гліомах рівень експресії гена *MBP* низький. Наші результати знаходяться у відповідності з даними досліджень експресії гена *MBP* на рівні білка, проведених різними науковими групами [10, 11]. Ці дослідження також свідчать, що експресія гена *MBP* не є частою подією в гліомах олігодендрогліального походження, тому він не підходить на роль класичного маркера цих пухлин.

Таким чином, отримані результати вказують на те, що визначення відносних рівнів мРНК *MBP* і *GFAP* може бути корисним для розпізнавання гліальних пухлин, і ці два гени разом із дослідженими нами раніше генами *YKL-40* і

TSC-22 можуть бути включені до панелі маркерних генів, придатних для визначення так званих «генних підписів (сигнатур)» пухлин головного мозку. Однак суворі вимоги щодо клінічної інформативності цих «генних сигнатур» не можуть бути сформульовані без їх перевірки на великій кількості клінічних зразків пухлин та валідованого контролю.

Робота частково фінансувалася Національною академією наук України в рамках програми «Новітні медико-біологічні проблеми та оточуюче середовище людини» і програми «Фундаментальні основи геноміки, протеоміки та новітніх біотехнологій» та Міністерством освіти і науки в рамках програми спільних дій між Україною і Францією в галузі науково-технологічного співробітництва «Дніпро».

V.V. Dmitrenko, O.I. Boyko, K.O. Shostak, A.V. Beletskii, T.A. Malisheva, M.I. Shamayev, V.N. Klyuchka, V.D. Rozumenko, Y.P. Zozulya, V.M. Kavsan

EXPRESSION OF MYELIN BASIC PROTEIN AND GLIAL FIBRILLARY ACIDIC PROTEIN GENES IN HUMAN GLIAL TUMORS

Analysis of the expression of genes encoding myelin basic protein (MBP) and glial fibrillary acidic protein (GFAP) genes in human glial tumors was carried out for determination of the expression specificity of these genes according to tumor types and their malignancy. Low levels of *MBP* mRNA in astrocytoma specimens of malignancy grades II-IV and significantly higher levels in perifocal zone adjacent to them have been determined by Northern hybridization. Diffuse astrocytomas and anaplastic astrocytomas are characterized mostly by low level of *MBP* gene expression and high level of *GFAP* gene expression, but distinct subtypes of diffuse and anaplastic astrocytomas with high level of *MBP* gene and low level of *GFAP* gene expression can be also detected that may be the reflection of different oncogenic pathways. Very low levels or even absence of *MBP* mRNA were revealed in oligodendroglioma and all oligoastrocytomas. Thus, Northern hybridization data are correlated with Serial Analysis of Gene Expression (SAGE). Obtained results show that MBP is nonspecific marker for tumors of oligodendroglial origin, but determination of relative levels of *MBP* and *GFAP* mRNAs may be useful for glial tumors recognition. By such a way, these two genes together with previously found by us *YKL-40* and *TSC-22* can be included into the gene panel for the determination of so called «gene signatures» of brain tumors. However, severe requirements in relation to a clinical value of these «gene signatures» can not be formulated without their verification on plenty of clinical samples of tumors and valid control.

В.В. Дмитренко, О.И. Бойко, Е.А. Шостак, А.В. Белецкий, Т.А. Малышева, М.И. Шамаев, В.Н. Ключка, В.Д. Розуменко, Ю.А. Зозуля, В.М. Кавсан

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ОСНОВНОГО БЕЛКА МИЕЛИНА И ГЛИАЛЬНОГО КИСЛОГО ФИБРИЛЛЯРНОГО БЕЛКА В ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Проведен анализ экспрессии генов основного белка миелина (MBP, myelin basic protein) и глиального фибриллярного кислого белка (GFAP, glial fibrillary acydic protein) в глиальных опухолях головного мозга человека для определения специфичности экспрессии этих генов в зависимости от типа опухолей и степени их злокачественности. По результатам анализа с использованием Нозерн-блот гибридизации выявлено низкое содержание мРНК *MBP* в образцах астроцитарных глиом II–IV степеней злокачественности и намного более высокое содержание в прилежащей к ним перифокальной зоне, которая проявляет гистологические признаки нормального головного мозга. Подавляющая часть диффузных астроцитом и анапластических астроцитом характеризуется низким уровнем экспрессии гена *MBP* и высоким уровнем экспрессии гена *GFAP*, но можно выделить отдельный подтип диффузных астроцитом и анапластических астроцитом с высоким уровнем экспрессии гена *MBP*, что может быть отображением разных молекулярных путей возникновения астроцитом. Очень низкое содержание или отсутствие мРНК *MBP* выявлено в олигодендроглиоме и во всех олигоастроцитомах. Данные Нозерн-гибридизации коррелируют с серийным анализом генной экспрессии (SAGE). Полученные результаты свидетельствуют о том, что MBP не является специфическим молекулярным маркером опухолей олигодендроглиального происхождения, однако определение относительных уровней мРНК *MBP* и *GFAP* может быть полезным для распознавания глиальных опухолей, и эти два гена вместе с найденными нами ранее *YKL-40* и *TSC-22* могут быть включены в панель генов для определения так называемых «генных подписей (сигнатур)» опухолей головного мозга. Однако строгие требования относительно клинического значения этих «генных сигнатур» не могут быть сформулированы без их проверки на большом количестве клинических образцов опухолей и валидного контроля.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Louis D.N., Ohgaki H., Wiestler O.D., Cavenee W.K., Burger P.C., Jouvet A., Scheithauer B.W., Kleihues P.* The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System // Acta Neuropathol. – 2007. – **114**, № 2. – P. 97–109.
2. *McDonald J.M., See S.J., Tremont I.W., Colman H.,*

Gilbert M.R., Groves M., Burger P.C., Louis D.N., Giannini C., Fuller G., Passe S., Blair H., Jenkins R.B., Yang H., Ledoux A., Aaron J., Tipnis U., Zhang W., Hess K., Aldape K. The prognostic impact of histology and 1p/19q status in anaplastic oligodendroglial tumors // Cancer. – 2005. – **104**, № 7. – P. 1468–1477.

3. *Schmidt M.C., Antweiler S., Urban N., Mueller W., Kuklik A., Meyer-Puttlitz B., Wiestler O.D., Louis D.N., Fimmers R., von Deimling A.* Impact of genotype and morphology on the prognosis of glioblastoma // J. Neuropathol. Exp. Neurol. – 2002. – **61**, № 4. – P. 321–328.
4. *Baumann N., Pham-Dinh D.* Biology of oligodendrocyte and myelin in the mammalian central nervous system // Physiol. Rev. – 2001. – **81**, № 2. – P. 871– 927.
5. *Дмитренко В.В., Бойко О.І., Шостак К.О., Вітак Н.Я., Букреєва Т.В., Розуменко В.Д., Малишева Т.А., Шамаєв М.І., Зозуля Ю.П., Кавсан В.М.* Характеристика генів зі зниженою експресією в гліомах людини – потенційних пухлиносупресорних генів // Біополімери і клітина. – 2007. – **23**, № 4. – С. 347–362.
6. *Landry C.F., Verity M. A., Cherman L., Kashima T., Black K., Yates A., Campagnoni A.T.* Expression of oligodendrocytic mRNAs in glial tumors: changes associated with tumor grade and extent of neoplastic infiltration // Cancer Res. – 1997. – **57.** – P. 4098–4104.
7. *Golfinos J.G., Norman S.A., Coons S.W., Norman R.A., Ballecer C., Scheck A.C.* Expression of the genes encoding myelin basic protein and proteolipid protein in human malignant gliomas // Clin. Cancer Res. – 1997. – **3**, № 5. – P. 799–804.
8. *Popko B., Pearl D.K., Walker D.M., Comas T.C., Baerwald K.D., Burger P.C., Scheithauer B.W., Yates A.J.* Molecular markers that identify human astrocytomas and oligodendrogliomas // J. Neuropathol. Exp. Neurol. – 2002. – **61**, № 4. – P. 329–338.
9. *Figols J., Iglesias-Rozas J.R., Kazner E.* Myelin basic protein (MBP) in human gliomas: a study of twenty-five cases // Clin. Neuropathol. – 1985. – **4**, № 3. – P. 116–120.
10. *Nakagawa Y., Perentes E., Rubinstein L.J.* Immunohistochemical characterization of oligodendrogliomas: an analysis of multiple markers // Acta Neuropathol. – 1986. – **72**. – P. 15–22.
11. *Tanaka J., Hokama Y., Nakamura H.* Myelin basic protein as a possible marker for oligodendroglioma // Acta Pathol. Japan. – 1988. – **38**, № 10. – P. 1297–1303.
12. *Eng L.F., Vanderhaeghen J.J., Bignami A., Gerstl B.* An acidic protein isolated from fibrous astrocytes // Brain Res. –1971. – **28**. – P. 351–354.
13. *Eng L.F., Lee Y.L.* Intermediate filaments in astrocytes // Neuroglia. – New York : Oxford Univ. Press, 1995. – P. 650–667.
14. *Mapstone T.B., Galloway P.G.* Expression of glial fibrillary acidic protein, vimentin, fibronectin, and N-myc oncoprotein in primary human brain tumor cell explants // Pediatr. Neurosurg. – 1991–1992. – **17**, № 4. – P. 169–174.
15. *Studer A., de Tribolet N., Diserens A.C., Gaide A.C., Matthieu J.M., Carrel S., Stavrou D.* Characterization of four human malignant glioma cell lines // Acta Neuropathol. – 1985. – **66**, № 3. – P. 208–217.
16. *Velasco M.E., Dahl D., Roessmann U., Gambetti P.* Immunohistochemical localization of glial fibrillary acidic protein in human glial neoplasms // Cancer. – 1980. – **45**. – P. 484–494.
17. *Herpers M.J., Budka H.* Glial fibrillary acidic protein (GFAP) in oligodendroglial tumors: gliofibrillary oligodendroglioma and transitional oligoastrocytoma as subtypes of oligodendroglioma // Acta Neuropathol. (Berlin). – 1984. – **64**. – P. 265–272.
18. *Tascos N.A., Parr J., Gonatas N.K.* Immunocytochemical study of the glial fibrillary acidic protein in human neoplasms of the central nervous system // Hum. Pathol. – 1982. – **13**. – P. 454–458.
19. *Van der Meulen J.D.M., Houthoff H.J., Ebels E.J.* Glial fibrillary acidic protein in human gliomas // Neuropathol. Appl. Neurobiol. – 1978. – **4**. – P. 177–190.
20. *Chomchinsky P., Sacchi N.* Single step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction // Anal. Biochem. – 1987. – **162**, № 1. – P. 156–159.
21. *Sambrook J., Fritch E.F., Maniatis T.* Molecular cloning. A laboratory manual. – Cold Spring Harbor, New York : Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. – 625 p.
22. *Kavsan V., Shostak K., Dmitrenko V., Zozulya Y., Rozumenko V., Demotes-Mainard J.* Characterization of genes with increased expression in human glioblastomas // Цитология и генетика. – 2005. – **39**, № 6. – С. 37–49.
23. *Kavsan V.V., Dmitrenko V.V., Shostak K.O., Bukreieva T.V., Vitak N.Y., Simirenko O.E., Malisheva T.A., Shamayev M.I., Rozumenko V.D., Zozulya Y.A.* Comparison of microarray and SAGE techniques in gene expression analysis of human glioblastoma // Цитология и генетика. – 2007. – **41**, № 1. – С. 36–55.

Надійшла 11.03.08