

Uloga Wnt signalnog puta u razvoju astrocitnih tumora mozga

Bašić, Mislav

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:166586>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-23**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO - MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

**ULOGA WNT SIGNALNOG PUTA U RAZVOJU ASTROCITNIH TUMORA
MOZGA**

**ROLE OF WNT SIGNAL PATHWAY IN ASTROCYTIC BRAIN TUMOR
FORMATION**

SEMINARSKI RAD

Mislav Bašić

Preddiplomski studij molekularne biologije
(Undergraduate study of Molecular biology)

Mentor: doc. dr. sc. Romana Gračan

Zagreb, 2020.

SADRŽAJ

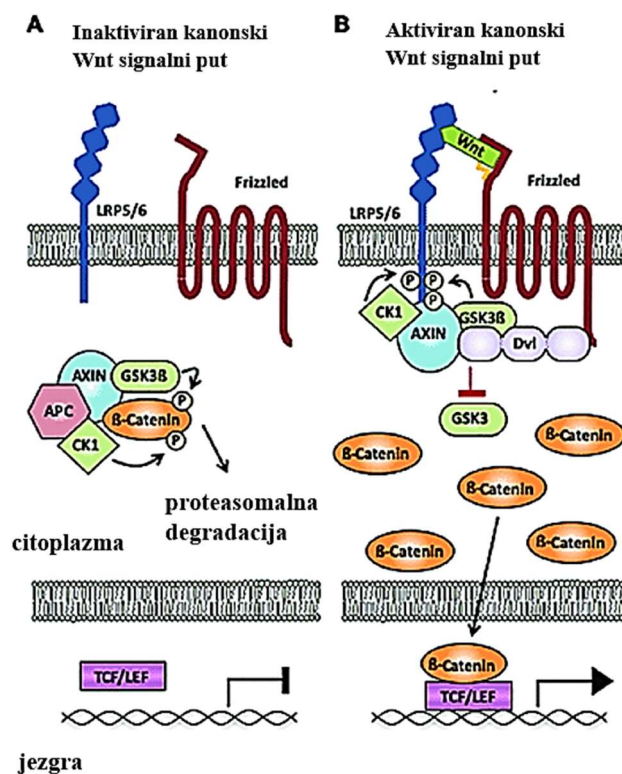
1. UVOD.....	2
2. GENETIČKE I EPIGENETIČKE ALTERNACIJE KOMPONENTI WNT SIGNALNOG PUTA	4
3. POVEĆANA EKSPRESIJA WNT SIGNALNIH KOMPONENTI.....	6
3.1. POVEĆANA EKSPRESIJA TRANSKRIPCIJSKIH FAKTORA TCF-1 I LEF-1	6
3.2. POVEĆANA EKSPRESIJA B-KATENINA.....	7
4. EKSPRESIJSKI UZORCI SFRP-3 U ASTROCITOMIMA I GLIOBLASTOMIMA	8
5. WNT SIGNALIRANJE U GLIOBLASTOMIMA	10
5.1. WNT SIGNALIRANJE U MATIČNIM STANICAMA GLIOBLASTOMA	10
5.2. WNT SIGNALIRANJE U INVAZIJI GLIOBLASTOMA.....	11
5.3. WNT SIGNALIRANJE U TERAPEUTSKOJ REZISTENCIJI	12
5.4. CILJANJE WNT SIGNALIRANJA U GLIOBLASTOMIMA	13
6. MEĐUDJELOVANJE WNT PUTA S DRUGIM SIGNALNIM PUTEVIMA.....	16
6.1. MEĐUDJELOVANJE S EGFR SIGNALNIM PUTEM.....	16
6.2. MEĐUDJELOVANJE S MET SIGNALNIM PUTEM.....	17
6.3. MEĐUDJELOVANJE SA SHH SIGNALNIM PUTEM.....	18
7. LITERATURA.....	19
9. SAŽETAK.....	31
10. SUMMARY	32

1. UVOD

Astrocitni tumori mozga su najučestaliji primarni moždani tumori te se prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO) klasificiraju u 4 različita gradusa malignosti (Louis i sur. 2016). Glioblastomi, najčešći tip glioma, odgovaraju gradusu IV te se klinički ponašaju kao visoko maligni tumori s očekivanom stopom preživljavanja manjom od 1 godine (Ohgaki i Kleihues 2005). Anaplastični astrocitomi (WHO gradus III) također su maligni tumori s očekivanom stopom preživljavanja od 2 do 3 godine nakon uspostavljanja dijagnoze. Difuzni astrocitomi (WHO gradus II) se svrstavaju u gliome nižeg gradusa. Međutim, ovi tumori imaju inherentnu tendenciju za povratak i malignu progresiju (Götze i sur. 2009) Pilocitni astrocitomi (WHO gradus I) su benigni spororastući tumori mozga vrlo učestali u dječjoj dobi (Collins i sur. 2015). Astrociti, specijalizirane glija stanice čija brojnost peterostruko nadmašuje brojnost neurona, imaju ključnu ulogu u razvoju primarnih moždanih tumora (Sofroniew i Vinters 2010). Iako ishodišne stanice astrocitnih glioma još nisu poznate i opsežno se istražuju, zna se da je molekularnu heterogenost astrocitoma iznimna. Histološkim istraživanjima utvrđeno je da glioblastomi pokazuju izrazito veliku inter- i intratumorsku heterogenost (Eder i Kalman 2014). Prethodne studije ukazuju na značajnu ulogu p53, Rb i RTK/Ras signalnih puteva u razvoju glioblastoma i ostalih astrocitoma (Brennan i sur. 2013, Eder i Kalman 2014). TCGA (The Cancer Genome Atlas) grupa identificirala je međusobnu povezanost navedenih signalnih puteva te činjenicu da njihova nepravilna regulacija značajno doprinosi patogenezi glioblastoma. Međutim, rezultati istraživanja brojnih znanstvenih grupa potvrđuju da molekularne promjene u WNT signaliranju također imaju iznimnu ulogu u nastanku moždanih tumora astrocitnog tipa (Nikuševa Martić i sur. 2010, Pećina Šlaus i sur. 2014).

Wnt proteini su obitelj visoko konzerviranih sekrecijskih signalnih molekula. Od otkrića Wnt signaliranja kao onkogene u mišjim modelima karcinoma dojke 1982. (Nusse i Varmus 1982), Wnt signaliranje je iskrsnulo kao kritičan regulator međustaničnih interakcija, određivanja sudbina stanica i njihove migracije. Mutacije u komponentama Wnt signalnog puta dovode do specifičnih razvojnih defekata, dok aberantno Wnt signaliranje vrlo često dovodi do nastanka tumora (Lee i sur. 2015). Kanonska Wnt signalna kaskada je ključni regulator u embrionskim i odraslim matičnim stanicama. Ovo signaliranje započeto je vezanjem liganda Wnt na cistein-bogatu domenu proteina Fzd i LRP obitelji na staničnoj površini. Aktivacija navedenih receptora dovodi do rastavljanja kompleksa koji se sastoji od proteina Dvl, AXIN,

APC i GSK3 β te na taj naćin dolazi do stabilizacije β -katenina. Nefosforilirani β -katenin odlazi u jezgru gdje tvori kompleks s proteinom TCF/LEF i potiče transkripciju Wnt ciljnih gena uključujući c-MYC i ciklin D1 (Sareddy i sur. 2009, Liu i sur. 2011). Wnt signalni put je inaktiviran u odsutnosti liganda Wnt. U ovom slučaju β -katenin tvori kompleks s proteinima Dishevelled, AXIN, APC i GSK3 β . GSK3 β fosforilira β -katenin i on se razgrađuje u proteasomu te ne dolazi do ekspresije Wnt ciljnih gena. Nekanonski Wnt signalni putevi su neovisni o β -kateninu i najčešće su povezani s uspostavom polarnosti i procesa posredovanih citoskeletom (Lee i sur. 2015). Jednostavni shematski pregled kanonskog Wnt signalnog puta prikazan je na Slici 1.



Slika 1. Shematski prikaz kanonskog Wnt signalnog puta. Kada je kanalnski Wnt signalni put inaktiviran, β -katenin je fosforilirani i razgrađuje se u proteasomu (lijevo). Vezanje Wnt liganda na proteine Fzd i LRP na stanićnoj površini dovodi do aktivacije Wnt signalnog puta. β -katenin se više ne fosforilira, nakuplja se u citoplazmi i odlazi u jezgru gdje se veže s proteinom TCF/LEF i potiče transkripciju Wnt ciljnih gena (desno).

(prilagođeno prema Palomer i sur. 2019)

2. GENETIČKE I EPIGENETIČKE ALTERNACIJE KOMPONENTI WNT SIGNALNOG PUTA

Kao što je ranije spomenuto, aberantna aktivacija WNT puta pronađena je u različitim tipovima karcinoma uključujući glioblastome. Mutacije u komponentama WNT signalnog puta (APC-u, β -kateninu, AXIN-u, WTX-u, TCF4) mogu biti uzročnik aktivacije WNT puta u tumorima (Kikuchi 2003, Austinat i sur. 2008, Kim i sur. 2008, Fattet i sur. 2009, Anastas i sur. 2013). Mutacije u WNT signalnim komponentama opsežno su okarakterizirane u kolorektalnim tumorima. Približno 85% kolorektalnih tumora ima mutacije u APC-u, dok su aktivirajuće mutacije u β -kateninu uočene u 50% kolorektalnih karcinoma kod kojih nema mutacija u APC-u (Sparks i sur. 1998, Aust i sur. 2002). APC je negativni regulator aktivacije WNT signalnog puta. Prema tome, većina APC mutacija su mutacije gubitka funkcije. Slično kao i kod karcinoma kolona, mutacije u WNT signalnim komponentama (β -katenin-u, APC-u, AXIN1) okarakterizirane su u meduloblastomima (Zurawel i sur. 1998, Eberhart i sur. 2000, Yokota i sur. 2002, Baeza i sur. 2003, Silva i sur. 2013). Nedavnim genomskim studijama velikih razmjera otkrivene su mutacije u egzonu 3 β -katenina, koji odgovara mjestu fosforilacije, u 18-22% slučajeva meduloblastoma, a u dodatnih 5 % slučajeva otkrivene su mutacije u APC-u ili AXIN1 (Yokota i sur. 2002, Baeza i sur. 2003, Silva i sur. 2013). Mutacije β -katenina, uočene u hepatocelularnom karcinomu i meduloblastomu, dovode do remećenja fosforilacije i degradacije β -katenina, što rezultira hiperaktivacijom WNT signaliranja (Polakis 2007, Austinat i sur. 2008, Fattet i sur. 2009,). Prema tome, mutacijski status navedenih WNT signalnih komponenti je indikator WNT aktivacije u tumorima (Lee i sur. 2015).

Za razliku od karcinoma kolona i meduloblastoma, u glioblastomima nisu pronađene genomske mutacije u β -kateninu i APC-u (Logan i Nusse 2004, Reya i Clevers 2005). Identificirana je homozigotna deleciju FAT Atipičnog Kadherina 1 (FAT1), negativnog efektoru WNT signaliziranja, u glioblastomima. Gubitak broja ponavljanja FAT1 otkriven je u gotovo 20% glioblastoma. WNT signalno-povezani geni su potaknuti u ovom podsetu glioblastoma, što sugerira da je gubitak FAT1 kritični molekularni događaj za WNT aktivaciju u glioblastomima. Učestalost FAT1 inaktivirajućih mutacija u glioblastomima je oko 1%, prema TCGA (Lee i sur. 2015).

Epigenetičko utišavanje negativnih efektoru WNT puta može aktivirati WNT signaliranje i potaknuti maligno ponašanje u glioblastomima. Topivi Frizzled-povezani proteini

(FRP) su proteini koji se vežu na WNT i interferiraju s WNT signaliranjem. Dickkopf (DKK) se ponaša kao antagonist WNT puta preko vezanja na koreceptor LRP (Shou i sur. 2002). Uistinu, epigenetičko utišavanje gena za WNT inhibitore, učestalo se pojavljuje u gliomima te uključuje hipermetilaciju promotora sFRP-ova (sFRP1, sFRP2, sFRP4, sFRP5) i Naked (NKD1, NKD2). U više od 40 % primjeraka primarnih glioblastoma uočena je hipermetilacija sFRP1, sFRP2 i NKD2 (Roth i sur. 2000). Roth i sur. (2000) okarakterizirali su ulogu sFRP-ova u proliferaciji i migraciji stanica glioma (Roth i sur. 2000). U njihovoj studiji, ektopična ekspresija sFRP-ova smanjila je pokretljivost stanica glioma preko smanjenja MMP2. Hipermetilacija promotora DKK1 identificirana je kod 50 % sekundarnih glioblastoma (Foltz i sur. 2010, Schiefer i sur. 2014). Sveukupno, ove studije ukazuju da glavnu ulogu u aktivaciji WNT puta u glioblastomima imaju epigenetičke promjene, a ne genomske mutacije WNT signalnih komponenti.

3. POVEĆANA EKSPRESIJA WNT SIGNALNIH KOMPONENTI

3.1. Povećana ekspresija transkripcijskih faktora TCF-1 i LEF-1

Medijatori transkripcije Wnt signalnog puta pripadaju TCF/LEF grupi transkripcijskih faktora koji se vežu na DNA (Arce i sur. 2006, Cadigan i Waterman 2012). Funkcije proteina TCF/LEF obitelji su intenzivno istraživane u kontekstu biologije tumora još od njihovog otkrića. Pripadnici TCF/LEF grupe proteina međusobno se razlikuju u svojem obliku i funkciji te se javljaju u različitim izoformama, koje nastaju alternativnim prekrajanjem te aktivacijom alternativnih promotora (Wallmen i sur. 2012). Međutim, svi proteini ove obitelji sadrže očuvanu β -katenin-vezujuću domenu, HGM kutiju, CRD-domenu i C-terminalnu domenu (Arce i sur. 2006). Ekspresijske razine TCF/LEF transkripcijskih faktora u tumorskim stanicama značajno se razlikuju u odnosu na ekspresijske razine u normalnim stanicama (Pećina-Šlaus i sur. 2014).

Pećina-Šlaus i sur. (2014) su u svojoj studiji testirali hipotezu prema kojoj razina ekspresije transkripcijskih faktora TCF-1 i LEF-1 pozitivno korelira s progresijom malignosti astrocitoma te su pokazali da nivo ekspresije navedenih transkripcijskih faktora varira unutar različitih gradusa astrocitnih tumora. U glioblastomima, tumorima najvišeg gradusa malignosti, utvrđena je jaka ekspresija transkripcijskog faktora TCF-1 u 51,6% uzoraka, a jaka ekspresija faktora LEF-1 u 71% uzoraka. Nasuprot tome, benigni pilocitični astrocitomi pokazuju malen ili nikakav stupanj ekspresije TCF-1 (63,2%) i LEF-1 (68,2%). Navedeni rezultati pokazuju da se benigni astrocitomi gradusa I razlikuju od malignih astrocitoma te se karakteriziraju kao spororastući i manje agresivni. Nadalje, u diskriminantnoj funkcijskoj analizi, F-udjeli za jaku i slabu ekspresiju LEF-1 pokazuju da se razina ekspresije LEF-1 značajno razlikuje u astrocitomima gradusa I i II te u glioblastomima ($p < 0,02$). Može se zaključiti da je ekspresija Wnt transkripcijskih faktora svojstvena gliomima višeg gradusa (Pećina-Šlaus i sur. 2014). Sarredy i sur. (2012) utvrdili su povećanu ekspresiju transkripcijskih faktora LEF-1 i TCF-4 u astrocitomima i to da razine ekspresije također pozitivno koreliraju s utvrđenom histološkom malignosti (Sarredy i sur. 2012). Rezultati obje grupe ukazuju na iste zaključke, međutim, bitno je napomenutu činjenicu da su 2 navedene znanstvene grupe jedne od rijetkih koje su se bavile istraživanjem ekspresije proteina TCF/LEF obitelji u astrocitomima te su potrebna daljnja istraživanja prije eksplicitnih zaključaka.

Istraživanja od Pećina-Šlaus i sur. (2014) potvrđuju da postoji razlika u ekspresiji LEF-1 između astrocitoma i glioblastoma. Smanjena ekspresija LEF-1 je već ranije bila povezana s preživljavanjem kolorektalnog karcinoma (Kriegl i sur. 2010) iz čega se vidi da postoji sličnost u ekspresijskim uzorcima različitih karcinoma.

3.2. Povećana ekspresija β -katenina

β -katenin, protein koji obavlja različite funkcije u stanici, prvotno je identificiran kao bitna komponenta u procesima međustanične adhezije. Kasnije je otkriveno da β -katenin ima esencijalnu ulogu u aktivaciji transkripcije Wnt ciljnih gena. β -katenin sadrži 12 armadillo ponavljanja koja vežu proteine APC i AXIN te N- i C- aktivirajuću domenu (Krausova i Korinek 2013). S obzirom na to da β -katenin asocira s transkripcijskim faktorima TCF/LEF kada je transferiran u jezgru (Daniels i Weis 2005), izrazito je zanimljivo istraživati ekspresijske uzorke β -katenina u astrocitnim tumorima mozga.

Povećana ekspresija β -katenina utvrđena je u 53,1% uzoraka moždanih tumora. U 59,4% ovih tumora je zabilježena akumulacija β -katenina u jezgrama, pri čemu su dio glioblastomi (21,4%) a dio astrocitomi (33,3%) (Nikuševa Martić i sur. 2010). Schülle i sur. (2012) u svom radu ukazuju na to da razina ekspresije β -katenina značajno korelira s povećanjem gradusa astrocitoma (Schülle i sur. 2012). Western blot analiza, koju su izveli Sareddy i sur. (2009), pokazuje da se relativni proteinski udio β -katenina progresivno povećava od nižih (II) prema višim (III,IV) gradusima astrocitoma (Sareddy i sur, 2009). Imunolokalizacija β -katenina u jezgri i genetičke promjene u njegovom egzonu 3 otkrivene su u različitim malignim tumorima. Nuklearna lokalizacija β -katenina indikator je toga da je β -katenin stekao onkogenu aktivnost (Polakis 2007).

4. EKSPRESIJSKI UZORCI SFRP-3 U ASTROCITOMIMA I GLIOBLASTOMIMA

Wnt signalni put je na različite načine reguliran brojnim molekulama. Molekule koje reguliraju Wnt signalni put djeluju kao antagonisti ili agonisti, a fino uštímanje njihovog djelovanja važno je za održavanje stanične homeostaze i normalno funkcioniranje tkiva (Pećina-Šlaus i sur. 2016). Aktivacija Wnt signaliranja kontrolirana je od strane različitih antagonista u koje svrstavamo i proteine SFRP obitelji. SFRP proteini su topivi proteini koji inhibiraju Wnt signaliranje tako što se vežu na ligande Wnt ili na Fzd receptore. Kod ljudi pronalazimo 5 tipova SFRP proteina od kojih je SFRP3 ortolog Fzd-povezanog proteina B (Hoang i sur. 1997, Shi i sur. 2007, Bovolenta i sur. 2008). SFRP proteini strukturno nalikuju na Fzd receptore. Na N-terminalnom kraju sadrže cistein bogatu domenu (CRD), koja je vrlo slična CRD domeni Fzd receptora. Ispred CRD domene, nalazi se signalni peptid. Uz CRD domenu, SFRP proteini sadrže i hidrofilnu regiju na C-terminalnom kraju. Za razliku od Fzd receptora, SFRP proteini nemaju transmembransku i citosolnu domenu (Jones i Jomary 2002, Kawano i Kypta 2003, Bovolenta i sur. 2008,).

Prethodne studije ukazuju na aberantnu ekspresija SFRP proteina u različitim tipovima karcinoma (Hirata i sur. 2010, Surana i sur. 2014). Iako se prvotno smatralo da su SFRP proteini tumor supresori koji inhibiraju Wnt signaliranje, novija otkrića upućuju na to da SFRP proteini stimuliraju i aktiviraju Wnt signalni put (Shi i sur. 2007, Mii i Taira 2011). Nadalje, postoje brojni radovi koji upućuju na prekomjernu ekspresiju SFRP proteina u stanicama karcinoma, što upućuje na njihovu dvostruku ulogu u štetnom Wnt signaliziranju (Mii i Taira 2011, Surana i sur. 2014).

Pećina-Šlaus i sur. (2016) istražili su i usporedili intenzitet ekspresije i lokalizaciju SFRP3 proteina u različitim histopatološkim gradusima astrocitnih tumora. Između različitih gradusa tumora nije zabilježena značajna razlika u broju stanica s niskom ekspresijom ili bez ekspresije SFRP3 proteina. Međutim, kada su istraživani umjereni i povišeni nivoi nuklearne i citoplazmatske ekspresije SFRP proteina, razlike između razine ekspresije i gradusa malignosti su bile statistički značajne. Astrocitomi gradusa I i II pokazuju značno veće vrijednosti umjerene i povišene nuklearne ekspresije. Analiza citoplazmatskih razina ekspresije, pokazala je značajnu razliku u umjerenj ekspresiji između različitih gradusa tumora, dok za povišenu ekspresiju nije utvrđena statistički značajna razlika. Međutim, kada su uzorci podijeljeni u dvije

grupe, prvu koja uključuje astrocitome gradusa II i III i drugu koja uključuje gradus IV, utvrđene su statistički značajne razlike za umjerenu i povišenu citoplazmatsku ekspresiju. Nadalje, umjerena i povišena citoplazmatska ekspresija je statistički veća drugoj grupi. Može se zaključiti da ekspresija SFRP3 proteina u jezgri ima tumor-supresorsku funkciju, dok ekspresija istog proteina u citoplazmi indicira onkogeno svojstva u astrocitomima višeg gradusa (Pećina-Šlaus i sur. 2016). Hirata i sur. (2010) utvrdili su da je razina ekspresije SFRP3 proteina smanjena u primarnim tumorima bubrega, ali se značajno povećava u metastazama navedenog karcinoma. Nadalje, predlažu da protein SFRP3 mijenja svoju funkciju iz tumor supresora u primarnom tumoru bubrega u onkogenu funkciju u metastazama (Hirata i sur. 2010). Sukladno tom istraživanju, Pećina-Šlaus i sur. (2016) donose hipotezu prema kojoj se funkcija proteina SFRP3 mijenja tijekom progresije astrocitoma, dok uočena povećana razina citoplazmatske ekspresije proteina SFRP3 u glioblastomima inducira agresivno ponašane i invaziju (Pećina-Šlaus i sur. 2016).

5. WNT SIGNALIRANJE U GLIOBLASTOMIMA

5.1. Wnt signaliranje u matičnim stanicama glioblastoma

Unatoč kontroverzama u nekim tumorskim modelima, brojne studije podržavaju teoriju prema kojoj su matične stanice glioblastoma (GSC) kritična stanična populacija koja doprinosi malignosti glioblastoma, terapijskoj rezistentnosti prema standardnim terapijama i povratku karcinoma (Das i sur. 2008, Ortensi i sur. 2013, Wang i sur. 2013). Povezanost između WNT signaliranja i GSC objašnjena je u sljedećim studijama. U studiji Zheng i sur. (2010) uočena je amplifikacija *PLAGL2* na kromosomu 20q11.21 u primarnim glioblastomima i staničnim linijama glioblastoma. *PLAGL2* održava mogućnost samoobnavljanja stanica glioblastoma, dok kod neuralnih zamjetnih stanica sprječava diferencijaciju. Prekomjerna ekspresija *PLAGL2* u astrocitima i stanicama glioblastoma dovodi do pojačane regulacije Wnt signalnih komponenti uključujući *WNT6*, *Fzd9* i *Fzd2*. Prema tome, *PLAGL2* ima važnu ulogu u održavanju zamjetnih stanica i gliomogenezi preko aktivacije kanonskog WNT signaliranja (Zheng i sur. 2010, Sekiya i sur. 2014).

Drugi nedavni izvještaj objašnjava ulogu WNT signaliranja u GSCs preko *FoxM1* (Zhang i sur. 2011). U ovoj studiji, autori su pokazali da *FoxM1* potiče translokaciju β -katenina u jezgru tako što se direktno veže na β -katenin. Prema tome, razina ekspresije jezgrenog *FoxM1* korelira s količinom β -katenina u jezgri. Visoke razine *FoxM1* u GSC otkrivene su i u drugim studijama, u kojima je pokazano da je *FoxM1* fosforiliran od strane *MELK*, GSC-obogaćene kinaze, i da promovira samoobnavljanje i kemorezistenciju stanica glioblastoma (Joshi i sur. 2013). U prilog tome, pokazano je da se *FoxM1* selektivno veže na promotor *Sox2*, glavni regulator samoobnavljanja GSC, i da u GSC aktivira programe transkripcije karakteristične za matične stanice (Lee i sur. 2015).

Rheinbay i sur. izvršili su komparativnu analizu kromatinskih stanja u GSC i u stanicama čitavih tumora, te su identificirali set razvojnih transkripcijskih faktora koji je specifičan za GSC. Otkrili su da *ASCL1* aktivira WNT signalni put u GSC preko represije negativnog regulatora *DKK1* (Rheinbay i sur. 2013). S obzirom na to da je aberantna aktivacija WNT puta u glioblastomima uzrokovana epigenetičkim promjenama, izrada širokih genomskih epigenetičkih profila vrlo vjerojatno će doprinjeti većem razumijevanju ulogi WNT puta u GSC. Bartscherer i sur. (2006) otkrili su da je konzervirani transmembranski protein *Evi*, koji sedam

puta prolazi kroz staničnu membranu, uključen u sekreciju WNT liganada u *Drosophili* i humanim stanicama, te da utječe na kanonski i nekanonski WNT signalni put (Bartscherer i sur. 2006, Goodman i sur. 2006, Augustin i sur. 2012,). Pokazali su da je protein Evi snažno eksprimiran u gliomima i da njegovo nedostatak u staničnim linijama glioma remeti staničnu proliferaciju, klonogeni rast i invaziju (Augustin i sur. 2012).

Druge studije su pokazale kako su WNT signalne komponente, kao što su Fzd i Dvl2, prekomjerno eksprimirane u glioblastomima i da navedeni geni potiču klonogeni rast i zadržavanje karakteristika matičnih stanica kod stanica glioblastoma (Holland 2001, Jin i sur. 2011). Iako većina studija navodi kanonsko WNT signaliranje, postoje i studije koje indiciraju i uključivanje nekanonskog WNT signaliranja (Gong i Huang 2012, Gao i sur. 2014).

5.2. Wnt signaliranje u invaziji glioblastoma

Tumorske metastaze su glavni faktor koji doprinosi smrti. Epitelno-mezenhimska tranzicija (EMT) je kritičan proces koji omogućava tumorskim stanicama epitelnog podrijetla da metastaziraju do distalnih organa. Ne iznenađuje činjenica da je Wnt signaliziranje uključeno u oboje, tumorsku invaziju i EMT (Lee i sur. 2015). Nekoliko studija je pokazalo da aktivacija Wnt signalnog puta povećava pokretljivost tumorskih stanica mjehura, dojke i gušterače (Smit i sur. 2011, Xue i sur. 2011, Sarrio i sur. 2012, Joost i sur. 2012). Prekomjerna ekspresija pozitivnih regulatora Wnt signaliranja povećava ekspresiju EMT-povezanih gena kao što su ZEB1, SNAIL, TWIST, SLUG i N-kadherin što indicira ulogu WNT puta u EMT (Howe i sur. 2003, Kemler i sur. 2004, Wellner i sur. 2009, Mikheeva i sur. 2010, Yang i sur. 2010 Han i sur. 2011, Scheel i sur. 2011). Na primjer, ektopična ekspresija konstitutivno aktivnog β -katenina inducira ekspresiju ZEB1 u stanicama glioblastoma i povećava pokretljivost stanica (Kahlert i sur. 2012). Suprotno tome, inhibicija β -katenina suprimira staničnu invaziju u U87MG i LN229 stanicama glioblastoma (Yue i sur. 2010).

Pokazano je da WNT5A potiče migraciju stanica glioblastoma putem aktivacije β -katenin neovisnog puta. Utišavanje WNT5A u stanicama glioma značajno je umanjilo migracijski kapacitet navedenih stanica bez utjecaja na proliferacijsku kinetiku (Kamino i sur. 2011). U skladu s navedenim, ekspresija rekombinantnog WNT5A proteina stimulira migraciju stanica glioblastoma preko povećanja aktivnosti MMP2 (Kamino i sur. 2011). Slični zaključci

dobiveni su prilikom korištenja drugih WNT regulatora kao što su WNT2 i Fzd2 (Pu i sur. 2009, Kamino i sur. 2011).

U usporedbi s drugim solidnim tumorima, glioblastomi rijetko metastaziraju. Međutim, stanice glioblastoma rasprostranjuju se u susjedni moždani parenhim. Invazivni i infiltrativni uzorak rasta glioblastoma gotovo u potpunosti onemogućava radikalnu i maksimalnu resekciju tumora (Lee i sur. 2015). Uključenost aktivacije Wnt signaliranja u invazivnost glioblastoma pokazana je u nedavnoj studiji. U toj studiji, autori su dobili visoko invazivne stanične populacije glioblastoma preko serije *in vivo* trasplantacija i analizirali su mRNA ekspresijske profile navedenih populacija. Fzd4, pozitivni Wnt regulator, identificiran je kao uzročni efektor invazivnog fenotipa stanica glioblastoma (Jin i sur. 2011). Zajedno, navedena otkrića kolektivno upućuju na to da Wnt signaliranje ima kritičnu ulogu u invaziji glioblastoma. Također, ukazuju na važnost razvoja terapijskih liječenja koja obuhvaćaju navedene spoznaje o ulozi Wnt signaliranja u tumorskoj invaziji (Lee i sur. 2015).

5.3. Wnt signaliranje u terapijskoj rezistenciji

Većina karcinoma razvija rezistenciju prema radioterapiji i kemoterapiji. Nekoliko studija predlaže da upravo aktivacija Wnt signaliranja inducira rezistenciju na lijekove kod različitih tipova karcinoma, uključujući tumore jajnika, kolona i gušterače (Varma i sur. 2005, Peng i sur. 2011, Anastas i sur. 2014). Na primjer, WNT5A je pojačano reguliran u karcinomu jajnika koji je razvio otpornost prema oksaliplatinu (Varma i sur. 2005). Ektopična ekspresija WNT5A potiče pojačanu rezistenciju stanica tumora jajnika na paclitaxel, 5-fluorouracil, epirubicin i etopozid (Peng i sur. 2011). WNT5A aktivira Akt signaliranje i potiče rezistenciju stanica kolona prema inhibitorima histonskih deacetilaza (Bordonaro i sur. 2011). Nasuprot tome, inhibicija WNT5A dovodi do povećanja učestalosti lijekom uzrokovane apoptoze stanica karcinoma gušterače (Griesmann i sur. 2013). Auger i sur. (2006) navode kako Wnt signaliranje potiče rezistenciju na temozolomid, standardni kemoterapeutik u liječenju pacijenata oboljelih od glioblastoma. Aktivacija Wnt signalnih komponenti, kao što je Fzd2, također potiče rezistenciju na temozolomid (Auger i sur. 2006).

WNT signaliranje također doprinosi rediorezistenciji tumorskih stanica. Bao i sur. (2006) pokazali su da su CD133⁺ GSC-obogaćene stanice rezistentnije na iradijaciju od CD133⁻ stanica. CD133⁺ stanice imaju pojačan mehanizme popravka DNA (Bao i sur. 2006). Zhang i

sur. (2012) pokazali su da FoxM1 potiče radiorezistenciju glioblastoma preko pojačane regulacije Rad51, kritične komponente u procesima popravka oštećene DNA (Zhang i sur. 2012). Koristeći *in vivo* ortotopične ksenograftne tumorske modele u kombinaciji s *in vivo* iradijacijom, Kim i sur. (2012) su odredili gene koji su pojačano eksprimirani u radiorezistentnim stanicama glioblastoma. Pojačano su eksprimirani WNT signalno-povezani geni, kao što su WISP1, Fzd1, LEF1, TCF4, WNT9B i AXIN2. Inhibicija WNT puta inhibitorom XAV939 povećala je osjetljivost stanica glioblastoma na zračenje (Kim i sur. 2012).

5.4. Ciljanje Wnt signaliranja u glioblastomima

Brojne istraživačke grupe povezuju ekspresijske razine gena za komponente Wnt puta s lošim prognozama pacijenata oboljelih od glioma. Ekspresijske razine komponenta Wnt puta analizirane su pomoću RT-PCR-a i imunohistokemijskog bojanja. Ekspresija mRNA za β -katenin, Dvl3 i ciklin D1 znatno je povećana u gliomima u odnosu na netumorsko moždano tkivo. Štoviše, proteinske razine β -katenina, TCF4, LEF1, c-MYC, n-MYC, c-JUN i ciklina D1 koreliraju sa stupnjem glioma. Među navedenim komponentama, β -katenin pokazuje značajnu pozitivnu korelaciju s TCF4 i LEF1 (Saraddey i sur. 2009). U drugoj studiji je ekspresija WNT1, β -katenina i ciklina D1 povezana s malignošću i kliničkim ishodom pacijenata s glioblastomom (Liu i sur. 2011). Nedavne genomske studije identificirale su genetičku i molekularnu heterogenost glioblastoma. Pokazalo se da LEF1, ključni efektor Wnt signaliranja, regulira intratumorsku heterogenost (Rheinbay i sur. 2013, Sottoriva i sur. 2013).

Terapeutska efikasnost inhibitora WNT signaliranja ustanovljena je kod raznih tipova karcinoma. Međutim, relativno se malo zna o WNT inhibitorima koji su klinički upotrebljivi u liječenju glioblastoma. Nekoliko lijekova, koji ciljaju upravo na WNT signaliranje u liječenju glioblastoma, testira se kliničkim ispitivanjima. Ovi lijekovi mogu se ugrubo razvrstati u 3 grupe: nesteroidni protuupalni lijekovi, kemijski inhibitori u obliku malih molekula i terapeutska antitijela koja ciljaju različite komponente WNT signalnog puta (Lee i sur. 2015).

Nesteroidni protuupalni lijekovi (NSAID) koriste se za liječenje upala, boli i groznice. NSAID inhibiraju aktivnost ciklooksigenazne (COX-1 i COX-2), enzima potrebnog za sintezu prostaglandina. Međutim, pokazalo se da NSAID uz protuupalne efekte imaju i antitumorski efekt, te da efikasno prolaze kroz krvno-moždanu barijeru (Courad i sur. 2001, Parepally i sur.

2006). Zbog navedenih činjenica, NSAID su privukli veliku pozornost kao potencijalni protutumorski faktori. Aspirin je mala molekula, topiva u mastima, koja se koristi za ublažavanje boli. Nekoliko studija predložilo je da aspirin inhibira proliferaciju tumorskih staničnih linija koje ne eksprimiraju COX-1 i COX-2 (Zhang i sur. 1999). Prethodne studije pokazale su da aspirin negativno regulira WNT signaliranje u kolorektalnim tumorskim stanicama (Dihlmann i sur. 2001). Potvrđeno je da dnevna upotreba aspirina tijekom perioda od minimalno 5 godina smanjuje rizik za nastanak tumora kolona (Thun i sur. 1991, Baron i sur. 2003, Sandler i sur. 2003). U glioblastomima, aspirin inhibira proliferaciju i invazivnost te potiče apoptozu preko G0/G1 "arresta" u U87MG i A172 stanicama. Do ovog efekta dolazi zbog inhibicije Wnt signaliranja. Aktivnost TCF/LEF promotora i ekspresija Wnt ciljnih gena (c-MYC, Cyclin D1 i FRA-1) smanjene su u aspirinom tretiranim staničnim linijama glioblastoma (Lan i sur. 2011). Diklofenak je tradicionalni NSAID i funkcionira tako da potiče inhibiciju COX-1 i COX-2, dok je celekoksib novi lijek koji selektivno inhibira aktivnost COX-2. Tretman navedenim lijekovima reducira proliferaciju, formaciju kolonija i migraciju stanica glioma (Sareddy i sur. 2013).

Nedavnim kemijskim probirom identificirano je nekoliko inhibitora u obliku malih molekula i antitijela koji ciljaju na Wnt signaliranje (De Robertis i sur. 2013). 16 000 nasumično odabranih malih molekula je korišteno u spomenutom kemijskom probiru. SEN461 je selektiran kao jaki inhibitor Wnt signaliranja i potvrđen mu je molekularni mehanizam djelovanja. SEN461 sprječava proteasomalnu degradaciju AXIN-a. Stabilizacija AXIN-a povećava citoplazmatsku razinu fosforiliranog β -katenina, što u konačnici uzrokuje smanjenjem ukupne količine β -katenina. Eksperimentalno je utvrđeno da je SEN461 poglavito odgovoran za inhibiciju rasta putem blokiranja Wnt signaliranja u stanicama glioblastoma (De Robertis i sur. 2013). XAV939 je antagonist tankiraze (TRF-1, TNK), a djeluje tako da ju stabilizira te inhibira njenu interakciju s AXIN-om. Aktivnost TNK posreduje ubikvitinaciju i proteasomalnu degradaciju AXIN-a. XAV939 u biti kontrolira Wnt signalni put tako što stabilizira AXIN (Huang i sur. 2009). Kim i sur. su pokazali da XAV939 snažno inhibira Wnt signaliranje u radiorezistentnim U373 stanicama glioblastoma (Kim i sur. 2012).

Antitijela koja ciljaju Wnt signalni put su podijeljena u sljedeće kategorije: anti-ligand antitijela, koja zarobljuju i neutraliziraju Wnt ligande (WNT1, WNT2, WNT5A i sFRP2), i anti-Fzd antitijela (Fzd5 i Fzd10) (Lee i sur. 2015). Većina antitijela suprimira *in vitro/in vivo* proliferaciju i migraciju stanica karcinoma pluća, želudca, dojke i kolorektalnog karcinoma. Kako bi se povećala mogućnost prolaska navedenih antitijela kroz krvno-moždanu barijeru, u

njihovom razvoju se koriste novi pristupi kao što su nanočestična konjugacija i inženjerstvo antitijela (Gabathuler 2010, Hernandez-Pedro i sur. 2013).

6. MEĐUDJELOVANJE WNT PUTA S DRUGIM SIGNALNIM PUTEVIMA

6.1. Međudjelovanje s EGFR signalnim putem

Hiperaktivacija i amplifikacija EGFR uočena je kod 60% pacijenata koji boluju od glioblastoma (Ekstrand i sur. 1992, Watanabe i sur. 1996, Ohgaki i sur. 2004, Huang i sur. 2009). Nekoliko aktivacijskih mutacija, od kojih je najistaknutija mutacija EGFRvIII, također je zabilježeno u glioblastomima i poznato je da te mutacije potiču razvoj karcinoma. Aktivacija EGFR inducira nizvodno mitogeno signaliranje u koje su uključeni mitogenom-aktivirajuća protein kinaza, fosfatidilinozitol 3-kinaza/Akt, transduktori i aktivatori transkripcije STAT puteva (Huang i sur. 2009, Karpel-Massler i sur. 2009).

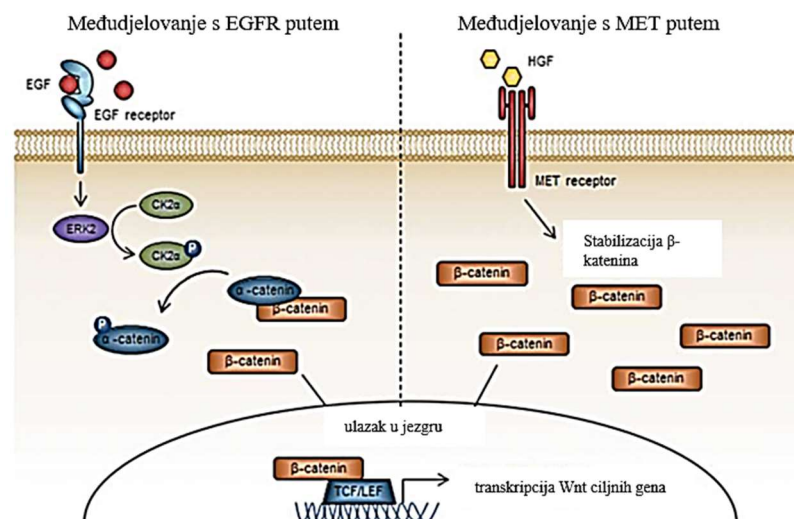
Bioinformatička analiza pomoću STRING-a (Search Tool for Retrieval of Interacting Genes/Proteins) upućuje na to da je β -katenin udružen s nekoliko gena, uključujući Akt1, CCND1, JUN, tumor supresor p53 i VEGFA (Yue i sur. 2010). Povrh toga, mnogi signalni putevi, uključujući mitogenom-aktivirajuću protein kinazu, inzulin, fokalnu adheziju i ErbB puteve, povezani su s β -kateninom. Bazirajući se na ovoj analizi, napravljeno je nekoliko studija kako bi se pronašla povezanost između puteva EGFR i Wnt. Jedna studija je pokazala da inhibicija β -katenina u staničnim linijama glioblastoma (U87MG i LN229) dovodi do smanjene regulacije EGFR, STAT3, Akt1, MMP2, MMP9, FRA-1 i c-MYC. U drugoj studiji, smanjena regulacija TCF4 reducirala je ekspresiju Akt1 preko vezanja na Akt1 promotor, što ukazuje na poveznicu između AKT i Wnt signalnih puteva (Chen i sur. 2011).

Nekoliko studija ukazuje na to da je EGFR signaliranje uzvodni regulator Wnt signalnog puta (Lu i sur. 2003, Ji i sur. 2009). EGF-om inducirana povećana regulacija ERK2 rezultira fosforilacijom CK2 α , a zatim i CK2 α te fosforilacijom α -kateninana na položaju S641 (Ji i sur. 2009). CK2 α -posredovana fosforilacija α -katenina oslobađa α -katenin s β -katenina, što omogućava ulazak β -katenina u jezgru te njegovo vezanje s TCF/LEF (Slika 2. lijevo). U prilog tome, kronični tretman EGF-om rezultira smanjenom regulacijom transkripcije kaveolina-1 i E-kadherina. Gubitak kaveolina-1 inducira transaktivaciju β -katenina, dok nedostatak E-kadherina sprječava međustanično povezivanje i inducira EMT (Lu i sur. 2003).

6.2. Međudjelovanje s MET signalnim putem

Receptor faktora rasta hepatocita (MET) ima iznimnu ulogu u rastu karcinoma, održavanju matičnih stanica i metastaziranju (Kong i sur. 2009, Joo i sur. 2012). Ekspresijski nivoi MET u glioblastomima rezultiraju s malignošću i rijetkim preživljavanjem pacijenata (Nabeshima i sur. 1997, Louis 2006).

Brojni dokazi upućuju na međusobnu povezanost MET i Wnt signaliranja u karcinomima, međutim, navedena povezanost nije još do kraja razjašnjena u glioblastomima. Poznato je da aktivacija MET puta potiče stabilizaciju β -katenina. Stabilizirani β -katenin odlazi u jezgru te se veže na TCF/LEF transkripcijski faktor (Slika 2. desno). Štoviše, inhibicija MET puta malim molekulama dovodi do blokade translokacije β -katenina u jezgru i do smanjene aktivnosti TCF/LEF promotora, što ukazuje na to da je MET signaliranje mogući uzvodni regulator Wnt signaliranja (Kim i sur. 2013).



Slika 2. Međudjelovanje Wnt signaliziranja s EGFR (lijevo) i MET signaliziranjem (desno). Ligandom posredovana aktivacija EGFR puta dovodi do fosforilacije CK2 α što rezultira oslobađanjem α -katenina s β -katenina. β -katenin zatim odlazi u jezgru gdje se veže na TCF/LEF (lijevo). Aktivacija MET puta povećava stabilnost β -katenina. Stabilizirani β -katenin je translociran u jezgru i veže se na TCF/LEF te potiče ekspresiju Wnt ciljnih gena (desno).

(preuzeto i prilagođeno iz Lee i sur. 2015)

6.3. Međudjelovanje sa SHH signalnim putem

SHH signalni put je ključni signalni put u staničnoj proliferaciji i tumorigenezi (Dahmane i sur. 2001, Pasca i sur. 2003, Takezaki i sur. 2011). Studije molekularnih klasifikacija meduloblastoma upućuju na to da su SHH i Wnt najistaknutiji signalni putevi u formaciji navedenih tumora (Northcott i sur. 2011, Taylor i sur. 2012). GLI1 u stanicama meduloblastoma fizički interreagira s β -kateninom i dovodi do njegove degradacije, što ukazuje na to da SHH i Wnt put vrlo vjerojatno nisu istovremeno aktivirani u meduloblastomima (Zinke i sur. 2015). Mutacije u SHH signalnim komponentama, kao što su PTCH1 i SUFU, koje dovode do aberantne aktivacije SHH signaliranja pronađene su kod 30% pacijenata s meduloblastomom (Taylor i sur. 2002).

7. LITERATURA

- Anastas, J. N., Kulikauskas, R. M., Tamir, T., Rizos, H., Long, G. V. i sur. (2014). WNT5A enhances resistance of melanoma cells to targeted BRAF inhibitors. *The Journal of clinical investigation*, 124(7), 2877-2890.
- Anastas, J. N., Moon, R. T. (2013). WNT signalling pathways as therapeutic targets in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 13(1), 11-26.
- Arce, L., Yokoyama, N. N., Waterman, M. L. (2006). Diversity of LEF/TCF action in development and disease. *Oncogene*, 25(57), 7492-7504.
- Auger, N., Thillet, J., Wanherdrick, K., Idbaih, A., Legrier, M. E i sur. (2006). Genetic alterations associated with acquired temozolomide resistance in SNB-19, a human glioma cell line. *Molecular cancer therapeutics*, 5(9), 2182-2192.
- Augustin, I., Goidts, V., Bongers, A., Kerr, G., Vollert, G. i sur. (2012). The Wnt secretion protein Evi/Gpr177 promotes glioma tumourigenesis. *EMBO molecular medicine*, 4(1), 38-51.
- Aust, D. E., Terdiman, J. P., Willenbacher, R. F., Chang, C. G., Molinaro-Clark, F. M. i sur. (2002). The APC/ β -catenin pathway in ulcerative colitis-related colorectal carcinomas: A mutational analysis. *Cancer*, 94(5), 1421-1427.
- Austinat, M., Dunsch, R., Wittekind, C., Tannapfel, A., Gebhardt, R., Gaunitz, F. (2008). Correlation between β -catenin mutations and expression of Wnt-signaling target genes in hepatocellular carcinoma. *Molecular cancer*, 7(1), 1-9.
- Baeza, N., Masuoka, J., Kleihues, P., Ohgaki, H. (2003). AXIN1 mutations but not deletions in cerebellar medulloblastomas. *Oncogene*, 22(4), 632-636.
- Bao, S., Wu, Q., McLendon, R. E., Hao, Y., Shi, Q. i sur. (2006). Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response. *nature*, 444(7120), 756-760.
- Baron, J. A., Cole, B. F., Sandler, R. S., Haile, R. W., Ahnen, D. i sur. (2003). A randomized trial of aspirin to prevent colorectal adenomas. *New England Journal of Medicine*, 348(10), 891-899.

- Bartscherer, K., Pelte, N., Ingelfinger, D., Boutros, M. (2006). Secretion of Wnt ligands requires Evi, a conserved transmembrane protein. *Cell*, 125(3), 523-533.
- Bordonaro, M., Tewari, S., Cicco, C. E., Atamna, W., Lazarova, D. L. (2011). A switch from canonical to noncanonical Wnt signaling mediates drug resistance in colon cancer cells. *PLoS One*, 6(11), e27308.
- Bovolenta, P., Esteve, P., Ruiz, J. M., Cisneros, E., Lopez-Rios, J. (2008). Beyond Wnt inhibition: new functions of secreted Frizzled-related proteins in development and disease. *Journal of cell science*, 121(6), 737-746.
- Brennan, C. W., Verhaak, R. G., McKenna, A., Campos, B., Nounshmehr, H. i sur (2013). The somatic genomic landscape of glioblastoma. *Cell*, 155(2), 462-477.
- Cadigan, K. M., Waterman, M. L. (2012). TCF/LEFs and Wnt signaling in the nucleus. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 4(11), a007906.
- Chen, L., Huang, K., Han, L., Shi, Z., Zhang, K. i sur (2011). β -catenin/Tcf-4 complex transcriptionally regulates AKT1 in glioma. *International journal of oncology*, 39(4), 883-890.
- Collins, V. P., Jones, D. T., Giannini, C. (2015). Pilocytic astrocytoma: pathology, molecular mechanisms and markers. *Acta neuropathologica*, 129(6), 775-788.
- Courade, J. P., Besse, D., Delchambre, C., Hanoun, N., Hamon, M. i sur. (2001). Acetaminophen distribution in the rat central nervous system. *Life sciences*, 69(12), 1455-1464.
- Dahmane, N., Sánchez, P., Gitton, Y., Palma, V., Sun, T. i sur.(2001). The Sonic Hedgehog-Gli pathway regulates dorsal brain growth and tumorigenesis. *Development*, 128(24), 5201-5212.
- Daniels, D. L., Weis, W. I. (2005). β -catenin directly displaces Groucho/TLE repressors from Tcf/Lef in Wnt-mediated transcription activation. *Nature structural & molecular biology*, 12(4), 364-371.
- Das, S., Srikanth, M., Kessler, J. A. (2008). Cancer stem cells and glioma. *Nature clinical practice Neurology*, 4(8), 427-435.

- De Robertis, A., Valensin, S., Rossi, M., Tunici, P., Verani, M. i sur. (2013). Identification and characterization of a small-molecule inhibitor of Wnt signaling in glioblastoma cells. *Molecular cancer therapeutics*, 12(7), 1180-1189.
- di Magliano, M. P., Hebrok, M. (2003). Hedgehog signalling in cancer formation and maintenance. *Nature reviews cancer*, 3(12), 903-911.
- Dihlmann, S., Siermann, A., von Knebel Doeberitz, M. (2001). The nonsteroidal anti-inflammatory drugs aspirin and indomethacin attenuate β -catenin/TCF-4 signaling. *Oncogene*, 20(5), 645-653.
- Eberhart, C. G., Tihan, T., Burger, P. C. (2000). Nuclear localization and mutation of β -catenin in medulloblastomas. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 59(4), 333-337.
- Eder, K., & Kalman, B. (2014). Molecular heterogeneity of glioblastoma and its clinical relevance. *Pathology & Oncology Research*, 20(4), 777-787.
- Ekstrand, A. J., Sugawa, N., James, C. D., Collins, V. P. (1992). Amplified and rearranged epidermal growth factor receptor genes in human glioblastomas reveal deletions of sequences encoding portions of the N-and/or C-terminal tails. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(10), 4309-4313.
- Fattet, S., Haberler, C., Legoix, P., Varlet, P., Lellouch-Tubiana, A. i sur. (2009). Beta-catenin status in paediatric medulloblastomas: correlation of immunohistochemical expression with mutational status, genetic profiles, and clinical characteristics. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*, 218(1), 86-94.
- Gabathuler, R. (2010). Approaches to transport therapeutic drugs across the blood–brain barrier to treat brain diseases. *Neurobiology of disease*, 37(1), 48-57.
- Gao, X., Mi, Y., Ma, Y., Jin, W. (2014). LEF1 regulates glioblastoma cell proliferation, migration, invasion, and cancer stem-like cell self-renewal. *Tumor Biology*, 35(11), 11505-11511.
- Gong, A., Huang, S. (2012). FoxM1 and Wnt/ β -catenin signaling in glioma stem cells. *Cancer research*, 72(22), 5658-5662.

- Goodman, R. M., Thombre, S., Firtina, Z., Gray, D., Betts, D. i sur. (2006). Sprinter: a novel transmembrane protein required for Wg secretion and signaling. *Development*, 133(24), 4901-4911.
- Götze, S., Wolter, M., Reifenberger, G., Müller, O., Sievers, S. (2010). Frequent promoter hypermethylation of Wnt pathway inhibitor genes in malignant astrocytic gliomas. *International Journal of Cancer*, 126(11), 2584-2593.
- Griesmann, H., Ripka, S., Pralle, M., Ellenrieder, V., Baumgart, S. i sur. (2013). WNT5A-NFAT signaling mediates resistance to apoptosis in pancreatic cancer. *Neoplasia*, 15(1), 11-IN9.
- Han, S. P., Kim, J. H., Han, M. E., Sim, H. E., Kim, K. S. i sur. (2011). SNAIL is involved in the proliferation and migration of glioblastoma cells. *Cellular and molecular neurobiology*, 31(3), 489-496.
- Hernández-Pedro, N. Y., Rangel-López, E., Vargas Félix, G., Pineda, B., Sotelo, J. (2013). An update in the use of antibodies to treat glioblastoma multiforme. *Autoimmune diseases*, 2013.
- Hirata, H., Hinoda, Y., Ueno, K., Majid, S., Saini, S., Dahiya, R. (2010). Role of secreted frizzled-related protein 3 in human renal cell carcinoma. *Cancer Research*, 70(5), 1896-1905.
- Hoang, B., Moos, M., Vukicevic, S., Luyten, F. P. (1996). Primary structure and tissue distribution of FRZB, a novel protein related to Drosophila frizzled, suggest a role in skeletal morphogenesis. *Journal of Biological Chemistry*, 271(42), 26131-26137.
- Holland, E. C. (2001). Gliomagenesis: genetic alterations and mouse models. *Nature Reviews Genetics*, 2(2), 120-129.
- Howe, L. R., Watanabe, O., Leonard, J., Brown, A. M. (2003). Twist is up-regulated in response to Wnt1 and inhibits mouse mammary cell differentiation. *Cancer research*, 63(8), 1906-1913.
- Huang, P. H., Xu, A. M., White, F. M. (2009). Oncogenic EGFR signaling networks in glioma. *Science signaling*, 2(87), re6-re6.
- Huang, S. M. A., Mishina, Y. M., Liu, S., Cheung, A., Stegmeier, F. i sur. (2009). Tankyrase inhibition stabilizes axin and antagonizes Wnt signalling. *Nature*, 461(7264), 614-620.

- Ji, H., Wang, J., Nika, H., Hawke, D., Keezer, S. i sur. (2009). EGF-induced ERK activation promotes CK2-mediated disassociation of α -catenin from β -catenin and transactivation of β -catenin. *Molecular cell*, 36(4), 547-559.
- Jin, X., Jeon, H. Y., Joo, K. M., Kim, J. K., Jin, J. i sur. (2011). Frizzled 4 regulates stemness and invasiveness of migrating glioma cells established by serial intracranial transplantation. *Cancer research*, 71(8), 3066-3075.
- Jones, S. E., Jomary, C. (2002). Secreted Frizzled-related proteins: searching for relationships and patterns. *Bioessays*, 24(9), 811-820.
- Joo, K. M., Jin, J., Kim, E., Kim, K. H., Kim, Y. i sur. (2012). MET signaling regulates glioblastoma stem cells. *Cancer research*, 72(15), 3828-3838.
- Joost, S., Almada, L., Rohnalter, V., Holz, P. S., Vrabel, A. M. i sur. (2012). GLI1 inhibition promotes epithelial-to-mesenchymal transition in pancreatic cancer cells. *Cancer research*, 72(1), 88-99.
- Joshi, K., Banasavadi-Siddegowda, Y., Mo, X., Kim, S. H., Mao, P. i sur. (2013). MELK-dependent FOXM1 phosphorylation is essential for proliferation of glioma stem cells. *Stem cells*, 31(6), 1051-1063.
- Kahlert, U. D., Maciaczyk, D., Doostkam, S., Orr, B. A., Simons, B. i sur. (2012). Activation of canonical WNT/ β -catenin signaling enhances in vitro motility of glioblastoma cells by activation of ZEB1 and other activators of epithelial-to-mesenchymal transition. *Cancer letters*, 325(1), 42-53.
- Kamino, M., Kishida, M., Kibe, T., Ikoma, K., Iijima, M. i sur. (2011). Wnt-5a signaling is correlated with infiltrative activity in human glioma by inducing cellular migration and MMP-2. *Cancer science*, 102(3), 540-548.
- Karpel-Massler, G., Schmidt, U., Unterberg, A., Halatsch, M. E. (2009). Therapeutic inhibition of the epidermal growth factor receptor in high-grade gliomas: where do we stand?. *Molecular Cancer Research*, 7(7), 1000-1012.
- Kawano, Y., Kypta, R. (2003). Secreted antagonists of the Wnt signalling pathway. *Journal of cell science*, 116(13), 2627-2634.

- Kemler, R., Hierholzer, A., Kanzler, B., Kuppig, S., Hansen, K., i sur. (2004). Stabilization of β -catenin in the mouse zygote leads to premature epithelial-mesenchymal transition in the epiblast. *Development*, *131*(23), 5817-5824.
- Kikuchi, A. (2003). Tumor formation by genetic mutations in the components of the Wnt signaling pathway. *Cancer science*, *94*(3), 225-229.
- Kim, K. H., Seol, H. J., Kim, E. H., Rhee, J., Jin, H. J. i sur. (2013). Wnt/ β -catenin signaling is a key downstream mediator of MET signaling in glioblastoma stem cells. *Neuro-oncology*, *15*(2), 161-171.
- Kong, D. S., Song, S. Y., Kim, D. H., Joo, K. M., Yoo, J. S. i sur. (2009). Prognostic significance of c-Met expression in glioblastomas. *Cancer*, *115*(1), 140-148.
- Kim, Y. D., Park, C. H., Kim, H. S., Choi, S. K., Rew, J. S., i sur. (2008). Genetic alterations of Wnt signaling pathway-associated genes in hepatocellular carcinoma. *Journal of gastroenterology and hepatology*, *23*(1), 110-118.
- Krausova, M., Korinek, V. (2014). Wnt signaling in adult intestinal stem cells and cancer. *Cellular signalling*, *26*(3), 570-579.
- Kriegel, L., Horst, D., Reiche, J. A., Engel, J., Kirchner, T., & Jung, A. (2010). LEF-1 and TCF4 expression correlate inversely with survival in colorectal cancer. *Journal of translational medicine*, *8*(1), 123.
- Lan, F., Yue, X., Han, L., Yuan, X., Shi, Z. i sur. (2011). Antitumor effect of aspirin in glioblastoma cells by modulation of β -catenin/T-cell factor-mediated transcriptional activity. *Journal of neurosurgery*, *115*(4), 780-788.
- Lee, Y., Lee, J. K., Ahn, S. H., Lee, J., Nam, D. H. (2016). WNT signaling in glioblastoma and therapeutic opportunities. *Laboratory investigation*, *96*(2), 137-150.
- Lee, Y., Kim, K. H., Kim, D. G., Cho, H. J., Kim, Y. i sur. (2015). FoxM1 promotes stemness and radio-resistance of glioblastoma by regulating the master stem cell regulator Sox2. *PloS one*, *10*(10), e0137703.
- Liu, C., Tu, Y., Sun, X., Jiang, J., Jin, X. i sur. (2011). Wnt/beta-Catenin pathway in human glioma: expression pattern and clinical/prognostic correlations. *Clinical and experimental medicine*, *11*(2), 105-112.

- Logan, C. Y., Nusse, R. (2004). The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 20, 781-810.
- Louis, D. N., Perry, A., Reifenberger, G., Von Deimling, A., Figarella-Branger, D. i sur. (2016). The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Acta neuropathologica*, 131(6), 803-820.
- Louis, D. N. (2006). Molecular pathology of malignant gliomas. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.*, 1, 97-117.
- Lu, Z., Ghosh, S., Wang, Z., & Hunter, T. (2003). Downregulation of caveolin-1 function by EGF leads to the loss of E-cadherin, increased transcriptional activity of β -catenin, and enhanced tumor cell invasion. *Cancer cell*, 4(6), 499-515.
- Mii, Y., Taira, M. (2011). Secreted Wnt “inhibitors” are not just inhibitors: Regulation of extracellular Wnt by secreted Frizzled-related proteins. *Development, growth & differentiation*, 53(8), 911-923.
- Mikheeva, S. A., Mikheev, A. M., Petit, A., Beyer, R., Oxford, R. G. i sur. (2010). TWIST1 promotes invasion through mesenchymal change in human glioblastoma. *Molecular cancer*, 9(1), 1-18.
- Nabeshima, K., Shima, Y., Sato, S., Kataoka, H., Moriyama, T. i sur. (1997). Expression of c-Met correlates with grade of malignancy in human astrocytic tumours: an immunohistochemical study. *Histopathology*, 31(5), 436-443.
- Nikuševa-Martić, T., Šerman, L., Zeljko, M., Vidas, Ž., Gašparov, S., i sur. (2013). Expression of secreted frizzled-related protein 1 and 3, T-cell factor 1 and lymphoid enhancer factor 1 in clear cell renal cell carcinoma. *Pathology & Oncology Research*, 19(3), 545-551.
- Nikuševa Martić, T., Pećina-Šlaus, N., Kušec, V., Kokotović, T., Mušinović, H. i sur. (2010). Changes of AXIN-1 and beta-catenin in neuroepithelial brain tumors. *Pathology & Oncology Research*, 16(1), 75-79.
- Northcott, P. A., Korshunov, A., Witt, H., Hielscher, T., Eberhart, C. G. i sur. (2011). Medulloblastoma comprises four distinct molecular variants. *Journal of clinical oncology*, 29(11), 1408.

- Nusse, R., Varmus, H. E. (1982). Many tumors induced by the mouse mammary tumor virus contain a provirus integrated in the same region of the host genome. *Cell*, 31(1), 99-109.
- Ohgaki, H., Kleihues, P. (2005). Population-based studies on incidence, survival rates, and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 64(6), 479-489.
- Ohgaki, H., Dessen, P., Jourde, B., Horstmann, S., Nishikawa, T., et al. (2004). Genetic pathways to glioblastoma: a population-based study. *Cancer research*, 64(19), 6892-6899.
- Ortensi, B., Setti, M., Osti, D., Pelicci, G. (2013). Cancer stem cell contribution to glioblastoma invasiveness. *Stem cell research & therapy*, 4(1), 1-11.
- Parepally, J. M. R., Mandula, H., Smith, Q. R. (2006). Brain uptake of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: ibuprofen, flurbiprofen, and indomethacin. *Pharmaceutical research*, 23(5), 873-881.
- Pećina-Šlaus, N., Gotovac, K., Kafka, A., Tomas, D., Borovečki, F. (2014). Genetic changes observed in a case of adult pilocytic astrocytoma revealed by array CGH analysis. *Molecular Cytogenetics*, 7(1), 95.
- Pećina-Šlaus, N., Kafka, A., Varošaneć, A. M., Marković, L., Krsnik, Ž., Njirić, N., Mrak, G. (2016). Expression patterns of Wnt signaling component, secreted frizzled-related protein 3 in astrocytoma and glioblastoma. *Molecular medicine reports*, 13(5), 4245-4251.
- Pećina-Šlaus, N., Kafka, A., Tomas, D., Marković, L., Okštajner, P. K., Sukser, V., Krušlin, B. (2014). Wnt signaling transcription factors TCF-1 and LEF-1 are upregulated in malignant astrocytic brain tumors. *Histology and histopathology*, 29(12), 1557-64.
- Palomer, E., Buechler, J., Salinas, P. C. (2019). Wnt signaling deregulation in the aging and Alzheimer's brain. *Frontiers in cellular neuroscience*, 13, 227.
- Peng, C., Zhang, X., Yu, H., Wu, D., Zheng, J. (2011). Wnt5a as a predictor in poor clinical outcome of patients and a mediator in chemoresistance of ovarian cancer. *International Journal of Gynecologic Cancer*, 21(2).

- Polakis, P. (2007). The many ways of Wnt in cancer. *Current opinion in genetics & development*, 17(1), 45-51.
- Reya, T., Clevers, H. (2005). Wnt signalling in stem cells and cancer. *Nature*, 434(7035), 843-850.
- Rheinbay, E., Suvà, M. L., Gillespie, S. M., Wakimoto, H., Patel, A. P. i sur. (2013). An aberrant transcription factor network essential for Wnt signaling and stem cell maintenance in glioblastoma. *Cell reports*, 3(5), 1567-1579.
- Roth, W., Wild-Bode, C., Platten, M., Grimmel, C., Melkonyan, H. S., Dichgans, J., Weller, M. (2000). Secreted Frizzled-related proteins inhibit motility and promote growth of human malignant glioma cells. *Oncogene*, 19(37), 4210-4220.
- Sandler, R. S., Halabi, S., Baron, J. A., Budinger, S., Paskett, E. i sur. (2003). A randomized trial of aspirin to prevent colorectal adenomas in patients with previous colorectal cancer. *New England Journal of Medicine*, 348(10), 883-890.
- Sareddy, G. R., Kesanakurti, D., Kirti, P. B., & Babu, P. P. (2013). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs diclofenac and celecoxib attenuates Wnt/ β -catenin/Tcf signaling pathway in human glioblastoma cells. *Neurochemical research*, 38(11), 2313-2322.
- Sareddy, G. R., Geeviman, K., Panigrahi, M., Challa, S., Mahadevan, A., Babu, P. P. (2012). Increased β -catenin/Tcf signaling in pilocytic astrocytomas: a comparative study to distinguish pilocytic astrocytomas from low-grade diffuse astrocytomas. *Neurochemical research*, 37(1), 96-104.
- Sareddy, G. R., Panigrahi, M., Challa, S., Mahadevan, A., Babu, P. P. (2009). Activation of Wnt/ β -catenin/Tcf signaling pathway in human astrocytomas. *Neurochemistry international*, 55(5), 307-317.
- Sarrio, D., Franklin, C. K., Mackay, A., Reis-Filho, J. S., Isacke, C. M. (2012). Epithelial and mesenchymal subpopulations within normal basal breast cell lines exhibit distinct stem cell/progenitor properties. *Stem cells*, 30(2), 292-303.
- Scheel, C., Eaton, E. N., Li, S. H. J., Chaffer, C. L., Reinhardt, F., i sur. (2011). Paracrine and autocrine signals induce and maintain mesenchymal and stem cell states in the breast. *Cell*, 145(6), 926-940.

- Schüle, R., Dictus, C., Campos, B., Wan, F., Felsberg, J. i sur. (2012). Potential canonical wnt pathway activation in high-grade astrocytomas. *The Scientific World Journal*, 2012.
- Sekiya, R., Maeda, M., Yuan, H., Asano, E., Hyodo, T. i sur. (2014). PLAGL2 regulates actin cytoskeletal architecture and cell migration. *Carcinogenesis*, 35(9), 1993-2001.
- Shi, Y., He, B., You, L., Jablons, D. M. (2007). Roles of secreted frizzled-related proteins in cancer. *Acta Pharmacologica Sinica*, 28(9), 1499-1504.
- Shou, J., Ali-Osman, F., Multani, A. S., Pathak, S., Fedi, P., Srivenugopal, K. S. (2002). Human Dkk-1, a gene encoding a Wnt antagonist, responds to DNA damage and its overexpression sensitizes brain tumor cells to apoptosis following alkylation damage of DNA. *Oncogene*, 21(6), 878-889.
- Silva, R. D. (1807). CTNNB1, AXIN1 and APC expression analysis of different medulloblastoma variants. *Clinics* [online]. 2013, vol. 68, n. 2. ISSN, 5932, 167-172.
- Smit, M. A., Peeper, D. S. (2011). Zeb1 is required for TrkB-induced epithelial-mesenchymal transition, anoikis resistance and metastasis. *Oncogene*, 30(35), 3735-3744.
- Sofroniew, M. V., & Vinters, H. V. (2010). Astrocytes: biology and pathology. *Acta neuropathologica*, 119(1), 7-35.
- Sottoriva, A., Spiteri, I., Piccirillo, S. G., Touloumis, A., Collins, V. P. i sur. (2013). Intratumor heterogeneity in human glioblastoma reflects cancer evolutionary dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(10), 4009-4014.
- Sparks, A. B., Morin, P. J., Vogelstein, B., Kinzler, K. W. (1998). Mutational analysis of the APC/ β -catenin/Tcf pathway in colorectal cancer. *Cancer research*, 58(6), 1130-1134.
- Surana, R., Sikka, S., Cai, W., Shin, E. M., Warriar, S. R. i sur. (2014). Secreted frizzled related proteins: Implications in cancers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, 1845(1), 53-65.
- Takezaki, T., Hide, T., Takanaga, H., Nakamura, H., Kuratsu, J. I., Kondo, T. (2011). Essential role of the Hedgehog signaling pathway in human glioma-initiating cells. *Cancer science*, 102(7), 1306-1312.

- Taylor, M. D., Northcott, P. A., Korshunov, A., Remke, M., Cho, Y. J. i sur. (2012). Molecular subgroups of medulloblastoma: the current consensus. *Acta neuropathologica*, 123(4), 465-472.
- Taylor, M. D., Liu, L., Raffel, C., Hui, C. C., Mainprize, T. G. i sur. (2002). Mutations in SUFU predispose to medulloblastoma. *Nature genetics*, 31(3), 306-310.
- Thun, M. J., Namboodiri, M. M., Heath Jr, C. W. (1991). Aspirin use and reduced risk of fatal colon cancer. *New England Journal of Medicine*, 325(23), 1593-1596.
- Varma, R. R., Hector, S. M., Clark, K., Greco, W. R., Hawthorn, L., Pendyala, L. (2005). Gene expression profiling of a clonal isolate of oxaliplatin-resistant ovarian carcinoma cell line A2780/C10. *Oncology reports*, 14(4), 925-932.
- Wallmen, B., Schrempp, M., Hecht, A. (2012). Intrinsic properties of Tcf1 and Tcf4 splice variants determine cell-type-specific Wnt/ β -catenin target gene expression. *Nucleic acids research*, 40(19), 9455-9469.
- Wang, J., Ma, Y., Cooper, M. K. (2013). Cancer stem cells in glioma: challenges and opportunities. *Translational cancer research*, 2(5), 429.
- Watanabe, K., Tachibana, O., Sato, K., Yonekawa, Y., Kleihues, P., Ohgaki, H. (1996). Overexpression of the EGF receptor and p53 mutations are mutually exclusive in the evolution of primary and secondary glioblastomas. *Brain pathology*, 6(3), 217-223.
- Wellner, U., Schubert, J., Burk, U. C., Schmalhofer, O., Zhu, F. i sur. (2009). The EMT-activator ZEB1 promotes tumorigenicity by repressing stemness-inhibiting microRNAs. *Nature cell biology*, 11(12), 1487-1495.
- Xue, Y., Li, L., Zhang, D., Wu, K., Chen, Y. i sur. (2011). Twisted epithelial-to-mesenchymal transition promotes progression of surviving bladder cancer T24 cells with hTERT-dysfunction. *PLoS One*, 6(11), e27748.
- Yang, H. W., Menon, L. G., Black, P. M., Carroll, R. S., Johnson, M. D. (2010). SNAI2/Slug promotes growth and invasion in human gliomas. *BMC cancer*, 10(1), 301.
- Yokota, N., Nishizawa, S., Ohta, S., Date, H., Sugimura, H., Namba, H., Maekawa, M. (2002). Role of Wnt pathway in medulloblastoma oncogenesis. *International journal of cancer*, 101(2), 198-201.

- Yue, X., Lan, F., Yang, W., Yang, Y., Han, L. i sur. (2010). Interruption of β -catenin suppresses the EGFR pathway by blocking multiple oncogenic targets in human glioma cells. *Brain research*, 1366, 27-37.
- Zhang, N., Wu, X., Yang, L., Xiao, F., Zhang, H. i sur. (2012). FoxM1 inhibition sensitizes resistant glioblastoma cells to temozolomide by downregulating the expression of DNA-repair gene Rad51. *Clinical cancer research*, 18(21), 5961-5971.
- Zhang, N., Wei, P., Gong, A., Chiu, W. T., Lee, H. T. i sur. (2011). FoxM1 promotes β -catenin nuclear localization and controls Wnt target-gene expression and glioma tumorigenesis. *Cancer cell*, 20(4), 427-442.
- Zhang, X., Morham, S. G., Langenbach, R., Young, D. A. (1999). Malignant transformation and antineoplastic actions of nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs) on cyclooxygenase-null embryo fibroblasts. *The Journal of experimental medicine*, 190(4), 451-460.
- Zheng, H., Ying, H., Wiedemeyer, R., Yan, H., Quayle, S. N. i sur. (2010). PLAGL2 regulates Wnt signaling to impede differentiation in neural stem cells and gliomas. *Cancer cell*, 17(5), 497-509.
- Zinke, J., Schneider, F. T., Harter, P. N., Thom, S., Ziegler, N. i sur. (2015). β -Catenin-Gli1 interaction regulates proliferation and tumor growth in medulloblastoma. *Molecular cancer*, 14(1), 1-9.
- Zurawel, R. H., Chiappa, S. A., Allen, C., Raffel, C. (1998). Sporadic medulloblastomas contain oncogenic β -catenin mutations. *Cancer research*, 58(5), 896-899.

9. SAŽETAK

Astrocitni tumori mozga su najučestaliji primarni moždani tumori te se prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO) klasificiraju u 4 različita gradusa malignosti: glioblastome (gradus IV), anaplastične astrocitome (gradus III), difuzne astrocitome (gradus II) i pilocitne astrocitome (gradus I). Rezultati brojnih istraživanja upućuju na to da molekularne promjene u Wnt signalnom putu imaju važnu ulogu u nastanku tumora ove vrste, stoga je važno istraživati navedeni put kako bi se u potpunosti razumjela njegova uloga u razvoju astrocitnih tumora. Glavnu ulogu u aberantnoj aktivaciji Wnt signaliranja u glioblastomima i ostalim astrocitomima imaju epigenetičke promjene u genima koji kodiraju za komponente Wnt signalnog puta. Povećana ekspresija Wnt signalnih komponenti, transkripcijskih faktora TCF-1 i LEF-1 te β -katenina, karakteristična je za astrocitne tumore mozga. Tijekom progresije astrocitoma, protein SFRP-3 mijenja svoju funkciju iz tumor-supresorske u onkogenu te potiče agresivno ponašanje i invaziju. Matične stanice glioblastoma (GSC) su populacija stanica koja doprinosi malignosti glioblastoma, terapijskoj rezistentnosti i povratku karcinoma. U brojnim istraživanjima utvrđena je aberantna aktivacija Wnt signalnog puta u GSC. Wnt signalni put, također je uključen i u aktivaciju invazivnog rasta glioblastoma preko svojih signalnih komponenti kao što su β -katenin, WNT5A i Fzd4. Velik problem u liječenju glioblastoma uzrokuje razvoj rezistencije karcinoma prema radioterapiji i kemoterapiji, a Wnt signalni put ima bitnu ulogu i u ovoj pojavi. U liječenju glioblastoma koriste se 3 grupe lijekova koji ciljaju na Wnt signaliranje: nesteroidni protuupalni lijekovi, kemijski inhibitori u obliku malih molekula i terapijska antitijela. Signalni putevi EGFR i MET međudjeluju s Wnt putem u glioblastomima, dok SHH put nije aktiviran istovremeno s Wnt putem.

10. SUMMARY

Astrocytic brain tumours are the most common primary brain tumours according to World Health Organization (WHO) and they are classified into 4 different malignancy grades: glioblastoma (grade IV), anaplastic astrocytoma (grade III), diffuse astrocytoma (grade II) and pilocytic astrocytoma (grade I). Results of many research show that molecular changes in Wnt signal pathway have important role in formation of these tumours, therefore it is important to explore this pathway to fully understand its role in astrocytic brain tumours formation. Epigenetic changes in genes that encode components of Wnt signal pathway have main role in aberrant activation of Wnt signaling in glioblastoma and other astrocytoma. Upregulation of Wnt signaling components, transcription factors TCF-1 and LEF-1 as well as β -catenin, are characteristics of astrocytic brain tumours. During astrocytoma progression, SFRP-3 protein changes its function from tumour suppressor to oncogenic and it promotes aggressive behaviour and invasion. Glioblastoma stem cells (GSC) are population of cells which contributes to glioblastoma malignancy, therapeutic resistance and recurrence. Aberrant activation of Wnt signal pathway in GSC has been determined in numerous research. Wnt signaling components, such as β -catenin, WNT5A and Fzd4, are important in activation of invasive growth of glioblastoma. Appearance of radiotherapy and chemotherapy resistance is very big problem in glioblastoma treatment and Wnt signal pathway has big role in this phenomena. In glioblastoma treatment, 3 groups of drugs that target Wnt signaling are used: non-steroidal anti-inflammatory drugs, small-molecule chemical inhibitors and therapeutic antibodies. EGFR and MET signal pathways interact with Wnt pathway in glioblastoma, whereas SHH pathway and Wnt pathway are not activated at the same time.