

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«РОССИЙСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР РЕНТГЕНРАДИОЛОГИИ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*

**Регентова Ольга Сергеевна**

**РОЛЬ И МЕСТО МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ  
И РАДИОГЕНОМНЫХ МЕТОДОВ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ТАКТИКИ  
ЛЕЧЕНИЯ И ПРОГНОЗИРОВАНИИ ЕГО РЕЗУЛЬТАТОВ ПРИ  
ДИФФУЗНЫХ СРЕДИННЫХ ГЛИОМАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА  
У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ**

**3.1.6 – Онкология, лучевая терапия**

**ДИССЕРТАЦИЯ  
на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук**

**Научный консультант:**  
академик РАН,  
доктор медицинских наук, профессор  
**Солодкий Владимир Алексеевич**

Москва – 2024

## ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	6
ВВЕДЕНИЕ.....	8
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ДИФFUЗНЫХ СРЕДИННЫХ ГЛИОМ ГОЛОВНОГО МОЗГА У ВЗРОСЛЫХ И ДЕТЕЙ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	18
1.1. Статистика заболеваемости диффузными срединными глиомами головного мозга .....	18
1.2. Классификация диффузных срединных глиом головного мозга .....	22
1.3. Диагностика диффузных срединных глиом головного мозга .....	26
1.3.1. Клиническая картина.....	26
1.3.2. Лучевая диагностика (рентгенологическая, магнитно-резонансная и позитронно-эмиссионная томография).....	29
1.3.3. Морфологическая диагностика .....	38
1.3.4. Молекулярно-биологическая диагностика.....	45
1.4. Лечение.....	53
1.4.1. Хирургическое лечение опухолей головного мозга.....	53
1.4.2. Радиотерапия .....	59
1.4.3. Химиотерапия. Таргетная терапия.....	62
1.4.4. Поиск инновационных методов лечения.....	68
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	80
2.1. Дизайн исследования .....	80
2.2. Методы исследования.....	85
2.3. Предлучевая подготовка больных при диффузных срединных глиомах головного мозга и методики лучевой терапии.....	88
2.4. Молекулярно-генетические методы исследования .....	94
2.5. Статистические методы обработки материала.....	99

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ДИФFUЗНЫХ СРЕДИННЫХ ГЛИОМ ГОЛОВНОГО МОЗГА У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ.....	101
3.1. Анализ мутационного статуса ДНК опухоли в периферической крови или ликворе у пациентов с диффузными срединными глиомами в сравнении с аналогичными данными в ткани опухоли у больных с верифицированными опухолями головного мозга.....	101
3.2. Исследование молекулярно-генетического профиля цодНК у пациентов с диффузными срединными глиомами головного мозга методом NGS (Next Generation Sequencing - секвенирование нового поколения) в ликворе.....	118
3.3. Сравнительная оценка мутационного статуса в ликворе и крови H3F3A(K27M), BRAF (V600E), IDH1 (R132H), IDH2 (R140Q) на этапе до начала химиолучевого лечения.....	124
3.4. Изучение в динамике изменения концентрации свободно циркулирующей ДНК генов BRAF (V600E), IDH1 (R132H), IDH2 (R140Q) и H3F3 (K27M) на фоне химиолучевого лечения.....	151
ГЛАВА 4. АНАЛИЗ ОБЩЕЙ И БЕЗРЕЦИДИВНОЙ ВЫЖИВАЕМОСТИ ПРИ ГЛИОМАХ ВЫСОКОЙ СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ .....	180
4.1. Общая и безрецидивная выживаемость группы пациентов с ГВСЗ до и после проведенного лечения .....	180
4.2. Сравнительный анализ показателей общей и безрецидивной выживаемости между группами пациентов с ГВСЗ, которым проводилось хирургическое лечение и пациентами с ГВСЗ без хирургического лечения.....	182
4.3. Сравнительный анализ показателей ОБ и БВ между группами пациентов с ГВСЗ, у которых в крови была выявлена свободно	

циркулирующая мутантная ДНК генов H3F3A (K27M), BRAF (V600E), IDH1(R132H), IDH2(R140Q) до и после проведенного лечения и пациентов с ГВСЗ без наличия данных мутаций в генах до и после проведенного лечения.....	184
ГЛАВА 5. АНАЛИЗ ОБЩЕЙ И БЕЗРЕЦИДИВНОЙ ВЫЖИВАЕМОСТИ ПРИ ДИФФУЗНЫХ СРЕДИННЫХ ГЛИОМАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ .....	201
5.1. Общая и безрецидивная выживаемость группы пациентов с ДСГ до и после проведенного лечения .....	201
5.2. Сравнительный анализ общей и безрецидивной выживаемости между пациентами с ДСГ, которым проводилось хирургическое лечение и пациентами с ДСГ без хирургического лечения .....	201
5.3. Сравнительный анализ показателей ОБ и БВ пациентов с ДСГ, у которых в крови была выявлена свободно циркулирующая мутантная ДНК генов H3F3A (K27M), BRAF (V600E), IDH1(R132H), IDH2(R140Q) до и после проведенного лечения и пациентов с ДСГ без наличия данных мутаций в генах до и после проведенного лечения .....	204
ГЛАВА 6. РАДИОГЕНОМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДИФФУЗНЫХ СРЕДИННЫХ ГЛИОМ .....	220
6.1. Традиционная оценка МРТ-изображений диффузных срединных глиом у детей.....	220
6.2. Текстурный анализ МРТ - изображений головного мозга у пациентов с диффузными опухолями срединных структур и сравнительный анализ результатов проведенного радиомического исследования с данными традиционной оценки МРТ – изображений .....	230
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	243
ВЫВОДЫ.....	258
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	261

ПРИЛОЖЕНИЕ 1 .....	262
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	263

## **СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ**

- БВ – безрецидивная выживаемость
- БВЦ– Бевацизумаб
- БМИ - биомаркеры изображений
- ВОЗ - Всемирная организация здравоохранения
- ГБ - глиобластома
- ГВСЗ – глиомы высокой степени злокачественности
- ГМ – головной мозг
- ГНСЗ – глиомы низкой степени злокачественности
- Гр – Грей, единица поглощённой дозы
- ГЭБ - гематоэнцефалический барьер
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- ДСГ – диффузные срединные глиомы
- ЖБ – жидкостная биопсия
- КТ – компьютерная томография
- ЛТ – лучевая терапия
- МРТ – магнитно-резонансная томография
- ОАК - общий анализ крови
- ОВ – общая выживаемость
- ОФЭКТ - однофотонная эмиссионная компьютерная томография
- ПЭТ - позитронно-эмиссионная томография
- РТ – радиотерапия
- СОД – суммарная очаговая доза
- СТБ – стереотаксическая биопсия
- ТТ – таргетная терапия
- ФГБУ РНЦРР МЗ РФ – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр рентгенодиагностики»
- ХТ – химиотерапия
- ЦКО – циркулирующие клетки опухоли
- цкПЦР – цифровая капельная ПЦР

цкПЦР (droplet digital PCR)- капельная цифровая полимеразная цепная реакция (кцПЦР)

ЦНС – центральная нервная система

цоДНК – циркулирующие опухолевые ДНК

ЭС – экзосомы

CED- convection – enhanced drug delivery - доставка с усилением конвекции

EGFR (Epidermal growth factor receptor) - рецептор эпидермального фактора роста

MGMT (O-methylguanine-DNA methyltransferase) - б-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы

MLPA (multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) - мультиплексная лигазная цепная реакция

NGS (Next Generation Sequencing) - секвенирование нового поколения

ТМЗ– темозоламид

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность работы**

Диффузные срединные глиомы (ДСГ) головного мозга относятся к числу наиболее тяжелых онкологических заболеваний у детей и взрослых. Удельный вес этой патологии среди всех новообразований ЦНС от 10 до 15%, но, в то же время, она является причиной смерти около 40% больных, заболевших опухолями головного мозга [323].

Радикальное хирургическое удаление ДСГ невозможно в виду их анатомического расположения и инфильтративного характера роста с вовлечением проводящих путей и ядер ствола головного мозга.

Радиотерапия (РТ) на сегодняшний день основной метод лечения данной патологии, однако он не позволяет добиться удовлетворительных результатов в течение уже многих лет. Применение различных вариантов, комбинаций и режимов химиотерапии (ХТ) не улучшили показатели ОВ. При этом степень выраженности токсичности зачастую была сопряжена с фатальными событиями. В настоящее время современные подходы включают применение таргетных препаратов, способных существенно повысить эффективность лечения пациентов с ДСГ, но их применение должно быть обосновано результатами гистологического/биопсийного исследования с оценкой молекулярных изменений. В то же время получение биопсийного материала, зачастую, сопряжено с рядом сложностей или даже невозможно [3, 47].

Хирургическое лечение не является общепринятой процедурой при обследовании больных с ДСГ. Поэтому отсутствует морфологическая верификация опухолевого образования, что лишает возможности повысить эффективность лечения путем применения таких дополнительных к РТ методов лечения, как ХТ и использование таргетных препаратов. В то же время даже наличие гистологического диагноза существенно не влияет на выбор метода лечения и прогноз заболевания [17, 42].

В ряде исследований отмечается относительная безопасность выполнения в специализированных центрах стереотаксической биопсии (СТБ) ДСГ, но широкого применения этот метод пока не получил [455] [360]. По данным SIOP DIPG Network, в которую объединены данные о 694 больных с диффузными инфантильными срединными глиомами из 27 стран Европы и Америки (но без США и Канады), биопсия выполнена у 37% детей. Благодаря проведенной СТБ уровень осложнений (при данной манипуляции) снизился с 11% в 90-х годах прошлого века [55] до 3-5% и ниже согласно данным сегодняшних исследований, при этом летальность при проведении СТБ сократилась практически до нуля. Диагностическая ценность биопсии на данный момент превышает 95% [182, 346, 353]. Следует отметить, что, несмотря на высокую информативность данного метода, СТБ при ДСГ возможна только в небольшом проценте случаев и составляет 10-15% пациентов в связи с особенностями расположения опухолей данной группы.

В связи с этим на сегодняшний день молекулярная диагностика является наиболее перспективным и многообещающим направлением в нейроонкологии, которая способна предоставить клинически полезную информацию и иметь прогностическое значение, выходящее за рамки возможностей гистологической классификации [433]. При невозможности проведения биопсии, одним из альтернативных способов получения информации о молекулярном статусе опухолей головного мозга (ГМ), в том числе при ДСГ, является жидкостная биопсия. Метод заключается в исследовании содержания маркеров опухоли в биологических жидкостях. По данным литературы имеется зависимость между наличием в крови мутаций в генах IDH 1/2 [402], H3F3A [58], ATRX [138], BRAF [413], TERT [155], NTRK 1,2,3 [160, 220], метилированием промотора гена MGMT и эффективностью лечения глиальных опухолей головного мозга полушарных локализаций [444].

Необходимо отметить, что в ряде клинических исследований были предприняты попытки повышения эффективности стандартных методов ХТ и

РТ за счет определения тактики лечения на основании результатов молекулярно-генетического анализа или изучения возможностей повышения эффективности ХТ и РТ на основании использования результатов молекулярного профилирования тканей опухолей. В обзоре Eoghan R. [266] представлены результаты об исследовании гена BRAF V600E/R/K/D и его слиянии (при назначении дабрафениба в комбинации с траметинибом), слиянии генов NTRK1, NTRK2, NTRK3 (при применении ларотректиниба) для формирования индивидуального плана лечения опухолей головного мозга ингибитором TRK-киназы (ларотректиниб, энтректиниб). Результаты показали прогностическую ценность молекулярно-генетических характеристик как при подборе терапии, так и в прогнозировании ответа на проведенное лечение. Также в онлайн-базе данных (<https://clinicaltrials.gov/about-site/about-ctg>) было зарегистрировано исследование (NCT01182350), которое находится в активной фазе. Авторами поставлена цель изучить на основании результатов биопсии ДСГ статус метилирования промотора 6-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы (MGMT) и статус сверхэкспрессии рецептора эпидермального фактора роста (EGFR). Терапия в зависимости от статуса (положительный или отрицательный) предусматривает различное сочетание РТ с таргетными препаратами (бевацизумаб (БВЦ), эрлотиниб, темозоломид (ТМЗ)). Перспективность данных исследований несомненна, в связи с важностью определения молекулярного статуса опухоли и необходимость изучения молекулярно-генетических особенностей ДСГ с целью дальнейшего совершенствования диагностики и терапии.

Жидкостная биопсия материала крови и ликвора при неverified ДСГ с определением молекулярно-генетических маркеров заболевания может являться основой при создании программ уточненной дифференциальной диагностики, прогнозирования и персонализации, в том числе и назначения\определения таргетной терапии

[439], особенно в случаях, когда получение биопсийного материала невозможно и сопряжено с высоким риском для пациента.

На сегодняшний день единственным реальным методом помощи этим больным остается РТ, с помощью которой удастся затормозить рост опухоли и улучшить качество жизни. Основанием для постановки диагноза и определения показаний к проведению курса РТ у пациентов с недифференцированными ДСГ являются данные МР (магнитно-резонансной) - визуализации. Широкое применение за последние полтора десятилетия получили и другие современные методы МР-диагностики, одним из которых является диффузионно-тензорная магнитно-резонансная томография (МРТ). Это метод дает информацию о степени и направленности (анизотропии) диффузии воды в тканях. Но охарактеризовать диффузию молекул воды в неоднородной среде может только вариант диффузионно-взвешенных изображений — диффузионно-куртозисной МРТ. В ряде работ был показан потенциал данного метода в выявлении гистопатологических и молекулярных признаков глиомы или в качестве прогностического фактора при диффузной глиоме. Также одним из наиболее актуальных, современных направлений диагностики и прогнозирования онкозаболеваний является - радиомика, наука, совмещающая в себе радиологию, математическое моделирование и глубокое машинное обучение [110, 163]. Основным понятием радиомики служат биомаркеры изображений (БМИ), представляющие собой вычисленные на основе анализа текстуры цифровых изображений параметры, характеризующие различные патологические изменения. С помощью БМИ проводится количественная оценка результатов цифровых методов визуализации (КТ, МРТ, УЗИ, ПЭТ). Особую роль играет применение БМИ в виде «виртуальной биопсии» [206, 234, 312].

Ручная сегментация глиобластомы мозга на МРТ - очень трудоемкий процесс. Созданная D. Yi с коллегами автоматическая модель для сегментации опухолей головного мозга на основе 274 МРТ изображений, извлеченных из набора данных с открытым доступом [166], может его

значительно облегчить (точность модели - 0,89). Ghaffari M. и соав. [166] исследовали возможность применения алгоритмов радиомики для дифференциальной диагностики различных опухолей головного мозга. Авторы разработали алгоритм на основе 3064 МРТ - изображений 233 больных. Точность классификации по степени злокачественности составила 0,99 и 0,97 соответственно. Показатели радиомики также изучались для оценки ответа на терапию онкозаболеваний у пациентов с раком легких и раком пищевода. Биомаркеры изображений позволяют улучшить прогнозирование местного рецидива, ответ на лечение, чувствительность к химиолучевой терапии и показатели безрецидивной выживаемости [401].

В настоящее время традиционные лучевые и химиолучевые методы лечения исчерпали свой потенциал в нейроонкологии и имеют неутешительные отдалённые результаты, при этом имея лишь паллиативный эффект. Поэтому постоянный поиск новых способов повышения эффективности РТ, определение параметров для индивидуализации ее программ, а также поиск маркеров, способных определить условия необходимой РТ, оценить прогноз\ответ метода является актуальной и практически важной задачей в нейроонкологии. В данном ключе радиомика может решить эти проблемы так как с ее помощью возможно извлечь большое количество признаков, обладающих высоким потенциалом для выявления паттернов и характеристик опухоли.

Таким образом, в настоящее время, определены основные задачи, которые будут способствовать улучшению эффективности лечения пациентов с ДСГ: адекватная диагностика опухолевого процесса, которая позволит проводить подбор ХТ препаратов и тактику РТ; дальнейшие разработки методов РТ, возможностей индивидуализации программ и повышения эффективности лучевых методов; поиск новых таргетных препаратов и способов их доставки. Острая необходимость внедрения новых методов диагностики, неинвазивной молекулярно-генетической верификации опухолей, использование биомаркеров изображений для оценки

безрецидивной выживаемости, изучение чувствительности к химиолучевой терапии и прогнозирование ответа на лечение, а также дальнейшего поиска возможностей улучшить результаты лечения за счет повышения чувствительности опухолей к РТ и раннему применению таргетной терапии у пациентов с ДСГ определяют актуальность настоящего исследования.

### **Цель исследования**

Оптимизация диагностики и тактики лечения диффузных срединных глиом у детей и взрослых на основе анализа результатов комплексного молекулярно-генетического и радиогеномного исследования.

### **Задачи исследования**

1. Изучить молекулярно-генетический профиль циркулирующих опухолевых ДНК (цоДНК) у пациентов с ГВСЗ (в том числе с ДСГ) в периферической крови и ликворе методом полимеразной цепной реакции (цкПЦР), а также в ликворе методом секвенирования нового поколения (NGS).
2. Провести сравнительный анализ частоты выявляемости мутантных форм цоДНК в генах *N3F3A*, *IDH1*, *BRAF* в периферической крови и ликворе с аналогичными данными в ткани опухоли у пациентов с ГВСЗ (в том числе, с ДСГ).
3. Провести анализ МР-изображений у пациентов с ДСГ.
4. Изучить динамику концентрации мутантных форм цоДНК и цоДНК «дикого типа» в генах *N3F3A*, *IDH1*, *IDH2*, *BRAF* в периферической крови и ликворе у пациентов с ГВСЗ (в том числе, с ДСГ) до начала (кровь, ликвор) и после завершения лучевой терапии (кровь) для прогнозирования исхода заболевания.
5. Проанализировать общую и безрецидивную выживаемость в зависимости от данных мутационного статуса цоДНК в крови.
6. Обосновать оптимальный алгоритм обследования и тактику лечения пациентов с ДСГ с учетом результатов изучения молекулярно-генетического

профиля цоДНК в ткани опухоли, периферической крови и ликворе, во взаимосвязи с течением заболевания, данными радиогеномического анализа МР-изображений.

### **Научная новизна**

Впервые проведено исследование методом цкПЦР частоты выявляемости и относительной концентрации свободно циркулирующей опухолевой ДНК мутантных форм и «дикого типа» генов IDH1, IDH2, H3F3A, BRAF в ликворе и плазме периферической крови пациентов с ДСГ.

Впервые доказана сопоставимость результатов выявляемости мутантных форм цоДНК маркерных генов IDH1, H3F3A, BRAF в крови, ликворе и опухолевой ткани пациентов с ГВСЗ и ДСГ.

Впервые установлена конкордантность результатов молекулярно-генетического анализа ликвора у пациентов с ДСГ методами NGS и цкПЦР.

Впервые методом цкПЦР была изучена динамика изменений в процессе химиолучевого лечения относительной концентрации цоДНК (мутантных форм и генов «дикого типа») в плазме периферической крови пациентов с ГВСЗ и определена значимость изменений относительной концентрации специфичных для глиальных опухолей молекулярно-генетических маркеров в генах IDH1, IDH2, H3F3A, BRAF для прогноза течения и исхода заболевания.

Впервые установлена зависимость спектра выявленных мутантных форм цоДНК генов H3F3, IDH, IDH2, BRAF и относительной концентрации мутантных форм указанных генов в плазме периферической крови и ликворе от локализации опухолевого процесса.

Впервые были применены модели классического и глубокого машинного обучения для анализа радиомических признаков МРТ – изображений и разработан математический метод идентификации текстурных характеристик, характерных для ДСГ с наличием мутации K27M в гене H3F3A.

Впервые предложен алгоритм обследования и мониторинга результатов лечения пациентов с ДСГ, учитывающий результаты изучения молекулярно-генетического профиля цоДНК в ткани опухоли, периферической крови и ликворе, во взаимосвязи с течением заболевания и данные радиогеномического анализа МРТ-изображений головного мозга.

### **Практическая значимость работы**

Пациентам с диффузными срединными глиомами головного мозга до начала радиотерапевтического лечения показано молекулярно-генетическое исследование плазмы периферической крови и люмбального ликвора методом цифрового капельного ПЦР для оценки наличия и относительной концентрации мутантных форм цоДНК маркерных для глиальных опухолей генов IDH1, IDH2, H3F3A, BRAF. Исследование должно проводиться как в случаях наличия результатов исследования опухолевой ткани, так и при его отсутствии (когда проведение хирургической биопсии опухоли невозможно, либо нецелесообразно ввиду характера роста опухоли или серьезного риска фатальных осложнений).

Для оценки эффективности проводимого пациентам с ДСГ радиотерапевтического лечения и прогнозирования вероятности прогрессирования (рецидива) заболевания показано молекулярно-генетическое исследование плазмы периферической крови до начала и после радиотерапевтического лечения для оценки динамики относительной концентрации мутантных форм цоДНК «маркерных генов глиом» IDH1, IDH2, H3F3A, BRAF. При отсутствии выявленных соматических мутаций в исследуемых генах необходима оценка динамики относительной концентрации цоДНК генов «дикого типа» IDH1, IDH2, H3F3A, BRAF.

Комплексное молекулярно-генетическое исследование цоДНК в плазме периферической крови и люмбальном ликворе методом цифрового капельного ПЦР у пациентов с ДСГ в сочетании с текстурным анализом радиомических признаков МР-изображений головного мозга должно проводиться в организациях онкологического профиля, в

специализированных нейрохирургических клиниках при наличии подготовленных специалистов и соответствующего оборудования.

### **Положения, выносимые на защиту**

Исследование мутантных форм свободно циркулирующей опухолевой ДНК в генах IDH1, IDH2, H3F3A, BRAF в плазме периферической крови и ликворе методом ddPCR (цифрового «капельного» ПЦР) адекватно отражает мутационный спектр опухолевой ткани у пациентов с ГВСЗ.

В ликворе и крови пациентов с ГВСЗ (в том числе, с ДСГ) имеются достоверные отличия в частоте выявления мутантных форм цоДНК, а также в значениях показателей относительной концентрации цоДНК мутантных форм и генов «дикого типа» H3F3, IDH, IDH2, BRAF

Спектр мутантных форм свободно циркулирующей опухолевой ДНК генов H3F3, IDH, IDH2, BRAF различается в зависимости от локализации ГВСЗ. Для ДСГ с локализацией в области ствола головного мозга характерна более высокая относительная концентрация мутантных форм опухолевой ДНК.

Анализ изменений относительной концентрации мутантных форм свободно циркулирующей опухолевой ДНК и цоДНК «дикого типа» в генах IDH1, IDH2, H3F3A, BRAF в периферической крови и ликворе до и после проведенного химиолучевого лечения позволяет прогнозировать вероятность возникновения летального исхода и прогрессирования (рецидива) заболевания у пациентов с ГВСЗ (в том числе, с ДСГ).

### **Внедрение результатов работы**

Разработанный комплексный подход в диагностике и мониторинге диффузных срединных глиом головного мозга внедрен в работу отделений клиники радиотерапии ФГБУ РНЦРР МЗ РФ. Используется в преподавательском процессе у ординаторов и аспирантов ФГБУ РНЦРР МЗ РФ и ФДПО ИНОПР РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

## **Апробация работы**

Основные положения и результаты диссертационной работы были доложены и обсуждены на совместном заседании научно-практической конференции и Ученого совета ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации 25.12.2023 г.

07.10.2024 г. состоялась апробация диссертационной работы на совместном заседании научно-практической конференции и Ученого совета ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства Здравоохранения Российской Федерации.

## **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 15 научных работ, среди которых 11 статей опубликованы в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ (из них 3 в журналах, входящих в систему SCOPUS) и 1 статья в зарубежном журнале, входящем в систему SCOPUS.

## **Объем и структура диссертации**

Текст диссертации изложен на 309 страницах машинописного текста, состоит из введения, шести глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, четырех глав с результатами собственных исследований), заключения, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы включающего 457 источников (из них 48 отечественных, 409 зарубежных), иллюстрирована 95 таблицами, 81 рисунками, 1 приложением.

# **ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ДИФFUЗНЫХ СРЕДИННЫХ ГЛИОМ ГОЛОВНОГО МОЗГА У ВЗРОСЛЫХ И ДЕТЕЙ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

## **1.1. Статистика заболеваемости диффузными срединными глиомами головного мозга**

В течение последних десятилетий диффузные срединные глиомы (ДСГ) остаются одними из самых малоизученных в нейроонкологии, где постановка диагноза основана в большинстве своем на оценке клинических проявлений и на характерных магнитно-резонансных (МР) признаках [198, 213].

ДСГ — гетерогенная группа новообразований, которые поражают Варолиев мост, реже — продолговатый мозг и зрительные бугры, еще реже — средний мозг. Опухолью поражается >50% поперечника моста, а чаще — практически весь мост. При рентгенологической визуализации мост раздут и увеличен в размерах, при этом опухолевые клетки также затрагивают препонтийную цистерну и основную артерию [22].

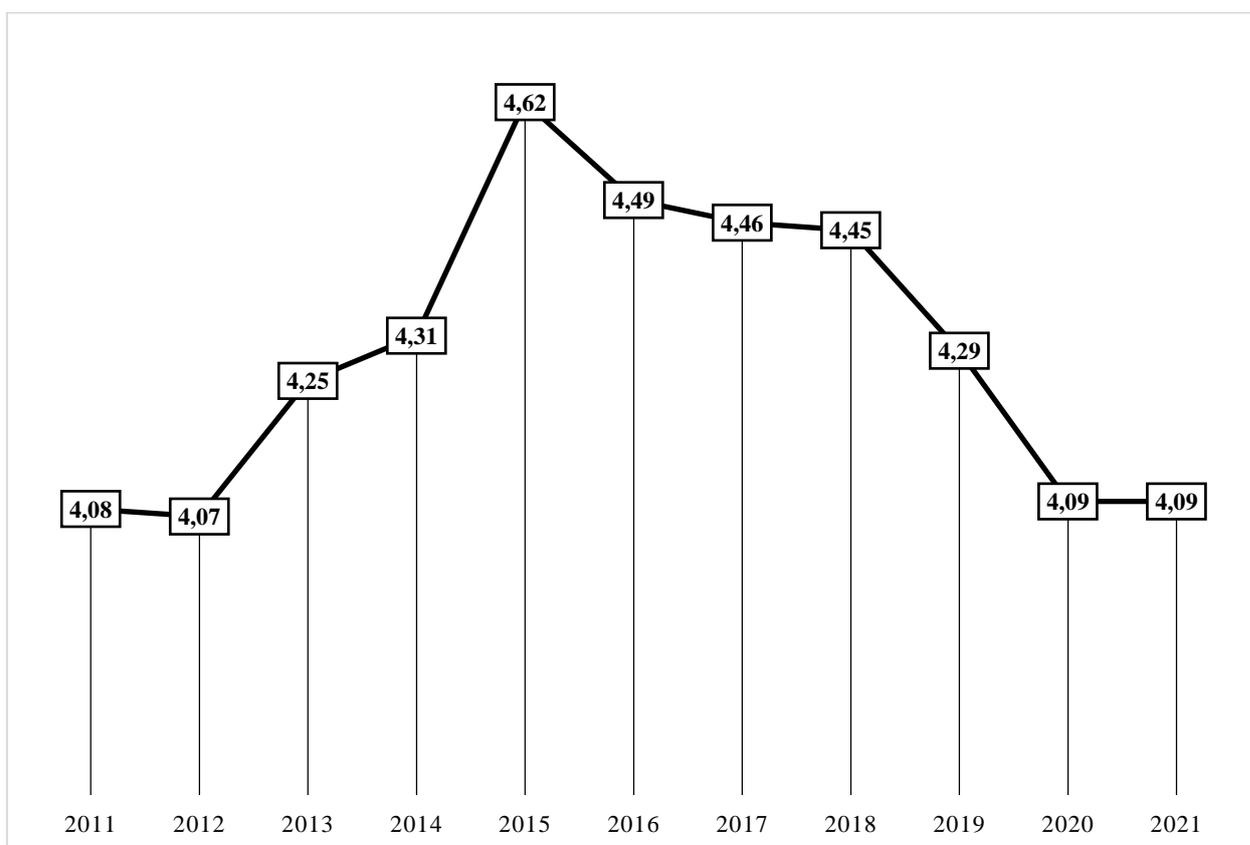
На данный момент, многочисленные научные открытия в области лучевой диагностики, нейрохирургии и молекулярно-генетических исследований произвели революцию в понимании патогенеза ДСГ, но невозможность проведения радикального хирургического удаления опухоли в виду ее анатомического расположения и инфильтративного характера роста с вовлечением проводящих путей и ядер ствола головного мозга приводит к неудовлетворительным результатам терапии. Однако инновационные методы биопсии (жидкостная биопсия, стереотаксическая биопсия и виртуальная биопсия) и доставки препаратов с усилением конвекции (CED - convection – enhanced drug delivery) предоставили новые возможности для совершенствования уже существующей лечебной тактики [27, 455].

Удельный вес ДСГ среди всех новообразований ЦНС составляет от 10 до 15%, но, в то же время, данная патология является причиной смерти около 40% больных с опухолями головного мозга [259]. При этом, примерно у 300 детей в США и Европе ежегодно диагностируется ДСГ [115].

Заболеваемость глиомами среди пациентов детского возраста составляет 45,7% [325], где основную группу представляют глиомы высокой степени злокачественности (ГВСЗ) – 10-20%, из которых до 12% составляют ДСГ [218, 227]. Примерно 80% глиом ствола головного мозга у детей возникают в мосту, в то время как остальные 20% возникают в продолговатом мозге или шейно-медуллярном соединении [154]. Пик заболеваемости приходится на возраст от 6 до 7 лет [97, 373]. Однако актуальных данных о популяционном анализе среди детей в возрасте  $\leq 19$  лет достаточно мало. Так в одном из крупных исследований [335], проведенном в США, изучалась заболеваемость, распространенность и различия в выживаемости за 18-летний период с 2000 по 2017 год у детей и подростков с ГВСЗ. Было установлено, что среди детей и подростков в возрасте от 0 до 19 лет было зарегистрировано 14 402 пациента с ГВСЗ, из которых у 4486 (31,1%) пациентов опухоль локализовалась в стволе головного мозга. Общий показатель заболеваемости составил 0,305 на 100 000 населения, который был выше у детей в возрасте от 1 до 9 лет по сравнению с детьми старшего возраста.

Анализ результатов эпидемиологического исследования в Российской Федерации, приведённого в 2012 году, показал тенденцию к росту уровней заболеваемости опухолями центральной нервной системы (ЦНС), где стандартизированный показатель заболеваемости вырос с 3,2 на 100 тысяч населения в 2000 году до 4,2 на 100 тысяч населения в 2010 году. Среднегодовой темп прироста опередил все другие основные локализации и составил 2,9%. В дальнейшем подобная динамика была зафиксирована и в период с 2011 по 2021 гг. со средними темпами прироста 0,79% (рис. 1) [12]. Согласно последнему статистическому анализу, удельный вес ДСГ среди

всех новообразований ЦНС составляет от 10 до 15%, но, в то же время, данная патология является причиной смерти около 40% больных с опухолями головного мозга [323].



**Рисунок 1.** Динамика показателей заболеваемости населения России злокачественными новообразованиями головного мозга и других отделов ЦНС в 2011-2021 гг. (стандартизованные показатели на 100 тыс. населения, мировой стандарт)

Примечание: Среднегодовой темп прироста – 0,08%; Прирост – 0,79%.

За последние три десятилетия смертность при ДСГ остается неизменной [323], составляя примерно 10-15% всех смертей от опухолей головного мозга у детей [146]. Медиана общей выживаемости (ОВ) остается низкой и составляет 8-11 месяцев [154], но этот показатель существенно различается в разных клинических наблюдениях, что свидетельствует о преимуществе некоторых стратегий лечения ДСГ.

Более 90% детей умирают в течение 2-х лет после постановки диагноза. Тем самым это подтверждает необходимость дальнейшего изучения

патогенеза нейроонкологических заболеваний с целью совершенствования терапии [186].

Существует несколько установленных факторов риска, которые предрасполагают детей к развитию ДСГ, где воздействие ионизирующего излучения является одним из самых изученных факторов [308, 423]. Также могут играть роль такие факторы как использование мобильного телефона, инфекции, травмы и токсины, но они статистически не связаны с развитием опухоли головного мозга, что позволяет предположить, что истинная этиология, скорее всего, многофакторна [68]. Существуют также редкие генетические заболевания, которые предрасполагают ребенка к развитию ДСГ. Большинство из них являются наследственными дефектами регуляции клеточной пролиферации и апоптоза, обычно вызываемыми мутациями зародышевой линии [428]. Дефект в гене TP53, кодирующий p53 (транскрипционный фактор, кодирующий клеточный цикл) [283], приводит к нерегулируемой клеточной пролиферации и повышенному риску злокачественной трансформации [415]. Считается, что мутации MMR (система репарации неспаренных оснований ДНК) связаны с развитием ГВСЗ у этих пациентов, тогда как дефекты APC (adenomatous polyposis coli – ген-супрессор опухолевого роста) более тесно связаны с развитием медуллобластомы [283]. Эти генетические нарушения внесли большой вклад в наше понимание биологии и развития опухоли; однако они могут быть связаны лишь с небольшой частью случаев ДСГ у детей, а остальные в большинстве случаев не имеют известной идентифицируемой причины.

В большинстве своем случаев ДСГ чаще встречаются у детей, но и среди взрослых данная патология имеет быть место и составляет всего 1-2% от всех опухолей головного мозга, где пик заболеваемости приходится на возраст от 20 до 50 лет (средний возраст составляет 34 года) [244, 325]. Среди взрослых опухоль чаще всего поражает Варолиев мост (60-63%), но также выявляются новообразования и в продолговатом мозге (25%) и среднем

мозге (12-15%) [177, 407]. При этом, у 80% пациентов наблюдается сочетанное поражение этих структур ствола головного мозга [177].

В 2021 году были опубликованы данные популяционного исследования с использованием базы данных SEER (течение, распространенность и исходы злокачественных новообразований Национального института рака в США) США) [250], где показатель заболеваемости ДСГ с поправкой на возраст составил 0,311 случая на 100 000 человек в период с 2004 по 2016 год. Большинству пациентов был поставлен диагноз, когда им было от 5 до 9 лет. Дети и подростки (0-19 лет) составили 34,3% от всех пациентов.

Несмотря на небольшой удельный вес ДСГ в структуре всех онкологических заболеваний, высокая смертность и низкий период жизни определяют важность данной патологии. Особенно для пациентов детского возраста, в связи с тем, что социальная значимость в данном случае определяется еще и семейной трагедией при диагностировании опухоли, лечении и потере ребенка [104].

## **1.2. Классификация диффузных срединных глиом головного мозга**

Диагноз глиомы ствола головного мозга долгое время считался единым целым. Сегодня эти опухоли широко классифицируются по МР-картине либо как диффузные внутренние глиомы, чаще всего в мосту, либо как неverifiedированные опухоли ствола мозга, возникающие в тектуме, очагово в среднем мозге, дорсально и экзофитно по отношению к стволу мозга, или в пределах шейно-медуллярного соединения [134].

Классификация опухолей ЦНС долгое время основывалась на данных гистологического исследования, на сегодняшний день этот диагноз зачастую подтвержден дополнительными методами диагностики (иммуногистохимическое и молекулярно-генетическое исследование), которые позволили выделить наиболее значимые биомаркеры, отвечающие за канцерогенез [256]. В последующем были внесены соответствующие

поправки в современную классификацию новообразований ЦНС, отражающие их клинико-патологические характеристики (таблица 1).

При рассмотрении классификации можно увидеть (таблица 1), что в каждой конкретной группе, благодаря молекулярно-генетическому профилю, было введено несколько новых подтипов новообразований, что позволило более персонализировано подходить к выбору терапии, в том числе таргетной. Однако этого недостаточно для решения проблем, связанных с лечением ДСГ, так как эти данные основаны на результатах гистологического исследования материалов, полученных хирургическим путем, которые в большинстве своем неприменимы для исследовательской группы.

**Таблица 1.** Классификация диффузных глиом у взрослых и детей (ВОЗ 2021 года) [256]

<b>1.1. Диффузные глиомы взрослого типа</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Астроцитома, IDH-мутантная</li> <li>• Олигодендроглиома, IDH-мутантная с коделецией 1p/19q</li> <li>• Глиобластома, IDH - дикий тип</li> </ul>
<b>1.2. Диффузные глиомы низкой степени злокачественности детского типа</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Диффузная астроцитома с альтерацией в генах <i>MYB</i>- или <i>MYBL1</i></li> <li>• Ангиоцентрическая глиома</li> <li>• Полиморфная нейроэпителиальная опухоль низкой степени злокачественности у молодого возраста</li> <li>• Диффузная глиома низкой степени злокачественности с альтерацией МАРК пути</li> </ul>
<b>1.3. Диффузные глиомы высокой степени злокачественности детского типа</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Диффузная глиома средней линии с мутацией <i>H3 K27M</i></li> <li>• Диффузная глиома больших полушарий с мутацией <i>H3 G34</i></li> <li>• Диффузная глиома высокой степени злокачественности детского типа, H3-дикий тип и IDH-дикий тип</li> <li>• Глиома полушария головного мозга младенческого типа</li> </ul>

Диффузные ГВСЗ детского типа в настоящее время четко отделены от диффузных ГВСЗ взрослого типа. Полушарная глиома младенческого типа представлена как новый тип, который обычно встречается у детей младшего возраста и связан со слиянием рецепторных тирозинкиназ семейства NTRK (нейротрофная рецепторная тирозинкиназа), ROS1 (протоонкогенная тирозин-протеинкиназа), ALK (рецепторная тирозинкиназа анапластической лимфомы) или MET. В группу ГВСЗ детского типа, НЗ-дикий тип и IDH-дикий тип входят в совершенно разные молекулярные подтипы и, безусловно, нуждается в более детальном исследовании. ГНСЗ детского типа в основном обусловлены повреждением MAPK сигнального пути. В то время как взрослый тип обычно обусловлен мутацией в гене *IDH* [120]. В отличие от диффузных ГНСЗ детского типа, у взрослых эти опухоли с течением времени обычно прогрессируют в ГВСЗ [78, 120]. При диффузных ГВСЗ у детей необходимо также отметить мутацию НЗК27, являющуюся одним из наиболее изученных прогностически неблагоприятных факторов развития опухолей.

Тот факт, что ДСГ возникают в определенный момент времени в детском возрасте и в точном анатомическом месте, указывает на наличие у детей факторов микросреды, влияющих на инициацию и рост опухоли. Клетки-предшественники олигодендроцитов, являющиеся возможными предшественниками клеток ДСГ [100], представляют собой монопотентные стволовые клетки, которые самообновляются и генерируют миелинизирующие олигодендроциты.

В нескольких фундаментальных исследованиях были также идентифицированы нейромедиаторы и нейропептиды, которые влияют на поведение клеток глиомы у взрослых. Было показано, что ГВСЗ детского типа, имеющие мутации НЗК27М, отличаются высокой экспрессией дофаминового рецептора D2 [95]. Зарегистрирован и опубликован случай, где было описано улучшение клинических симптомов при применении антагониста DRD2/3 ONC201 у пациента, страдающего ГВСЗ. Глутамат

также усиливает пролиферацию и инвазию клеток глиобластомы (ГБ) посредством аутокринной/паракринной передачи сигналов [95, 100, 208], и эффекты этого нейромедиатора при ДСГ являются областью активного исследования. Подчеркивается важность взаимодействия «нейрон-глиома» и то, что способность клеток глиомы повышать возбудимость окружающих нейронов может выступать в качестве механизма обратной связи, способствующего дальнейшей секреции протуморогенных факторов [100, 208].

Таким образом, молекулярный ландшафт глиом разнообразен и сложен, что требует не только дальнейшего изучения, но и систематизации уже описанных молекулярно-генетических изменений. Вероятно, особенности взаимоотношения данных мутаций значительным образом влияют на эффективность проводимой терапии, а также отвечают и за резистентность к радиотерапии (РТ) и химиотерапии (ХТ).

Большая часть знаний о патологических характеристиках ДСГ получена в результате аутопсийных исследований. Благодаря 38 клиничко-патологическим исследованиям получена информация о морфологии данных опухолей, где 32 случая (84 %) приходились на ГБ, 5 случаев (13 %) – на анапластическую астроцитому и 1 случай (3 %) - на астроцитому [449]. В дальнейшем М. Jansen и соавт. [214] в своем обзоре предоставили данные 108 биопсий из 13 исследований: 35% составили анапластические астроцитомы, 25% — ГБ, 20% — глиомы низкой степени злокачественности, 2% — анапластические олигоастроцитомы, 18% — опухоли неуточненной природы. Необходимо отметить, что в большинстве случаев при аутопсиях наиболее часто регистрировалась ГБ, что скорее всего связано с недостаточным количеством материала при биопсии или анапластической прогрессии опухоли на поздних стадиях заболевания [97]. При анализе других исследований аутопсийного материала нами также было отмечено, что 85% ДСГ – это ГВСЗ и лишь 8-15% составляют ГНСЗ [182].

Безусловно, дальнейшее понимание развития ДСГ может быть достигнуто только в результате исследования биологии опухолей. Изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе патогенеза ДСГ, в ближайшем будущем позволит понять, в чем была неэффективность проводимых ранее методов терапии, а также поможет усовершенствовать классификацию онкологических заболеваний. В свою очередь это приведет к совершенствованию таргетной терапии, нацеленной на конкретные молекулярные мишени, являющиеся ключевыми элементами канцерогенеза ДСГ. Кроме того, персонализированный подход основан на систематизации диагностики, терапии и прогнозирования рецидива ДСГ в соответствии с их генетическими особенностями, что поможет увеличить ОВ пациентов и повысить их качество жизни.

### **1.3. Диагностика диффузных срединных глиом головного мозга**

#### **1.3.1. Клиническая картина**

Клиническая картина пациентов может варьировать в зависимости от типа молекулярно-генетического профиля опухоли, но, прежде всего определяется компрессией или разрушением критических проводящих путей ствола головного мозга. Дисфункция мозжечка, обусловленная периферическим отеком (дизартрия, атаксия, дисметрия), симптоматика поражения пирамидных путей (повышенный мышечный тонус, повышение рефлексов, появление патологических пирамидных знаков и моторный дефицит), а также симптоматика поражения ядер черепных нервов (диплопия, парез отводящего нерва, периферический парез лицевого нерва, бульбарная симптоматика) - все это является «лицом» ДСГ [192][296]. Стоит отметить, что поражение черепных нервов (VI и VII) наиболее часто встречается и специфично для ДСГ [141]. Диплопия и паралич сопряженного взгляда (т.н. отводящий паралич), распространенный начальный признак и плохой прогностический фактор [296]; у детей зачастую эти симптомы проявляются в течение месяца до постановки диагноза [134] [103].

Примерно у трети детей в момент первичной диагностики имеются симптомы повышения внутричерепного давления за счет сдавления Сильвиева водопровода растущей опухолью. В некоторых случаях локальным симптомам предшествуют общемозговые симптомы в виде периодической головной боли, сонливости или бессонницы, изменений поведения. Обычно симптомы развиваются быстро и длительность анамнеза не превышает 3-х месяцев. Более длительный анамнез свидетельствует о необходимости исключения иной патологии [31, 177, 186].

При рассмотрении факторов риска развития ДСГ стоит обратить внимание на то, что данный вопрос всегда вызывает ряд трудностей в нейроонкологии, так как большинство аналитических эпидемиологических исследований либо сравнивают риск развития опухолей мозга у людей с/без определенных характеристик (когортные исследования), либо сравнивают в анамнезе с опухолями головного мозга (случай-контроль исследования) [61] для предоставления информации по широкому кругу возможных факторов риска (питание, курение, алкоголь, профессии, воздействие ионизирующих или неионизирующих радиаций, инфекции, аллергия, травмы головы, семейный анамнез и унаследованные полиморфизмы в генах, связанных с метаболизмом углеводов, окислительным метаболизмом и восстановлением ДНК) [65, 248, 310, 441]. В последние годы описаны данные о влиянии мобильных телефонов [102] и электромагнитных полей [65] на развитие глиом.

Новообразования у детей во многих отношениях принципиально отличаются от тех, которые встречаются у взрослых, имеющих в основном эпителиальное происхождение и в большинстве случаев причин, возникновения которых, связано с длительным воздействием канцерогенов. Опухоли в детском возрасте часто происходят из мезодермы или нейроэктодермы, и, за исключением случаев наследственной предрасположенности к раку, примерно у 10% пациентов их этиология в значительной степени неизвестна. Кроме того, у взрослых клетки с течением

времени последовательно приобретают генетические повреждения, а у детей опухоли обычно вызваны блокированием созревания, происходящим в незрелых клетках [75]. При этом, у детей они несут гораздо меньшее количество генетических aberrаций, часто обусловленных единичным и, следовательно, клональным генетическим фактором, таким как транслокация, приводящая к онкогенному слиянию [172, 261]. Также стоит подчеркнуть, что у детей опухоль в меньшей степени инфильтрирована иммунными клетками, поэтому они часто считаются иммунологически «холодными» опухолями, что необходимо учитывать при диагностике и лечении. Тем самым это объясняет создание отдельной классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), специально посвященной опухолям у детей [169, 437, 443]. Однако генетическая предрасположенность является все же основной и наиболее известной причиной развития рака у детей. Исследования в этой области, включая комплексное профилирование генов зародышевой линии и генома новообразования, весьма актуальны, поскольку они дают важную биологическую информацию о причинах детских глиом и представляют собой уникальную возможность применить эти знания для ранней диагностики в детской онкологии.

В онкологии есть такое понятие как синдромы предрасположенности к раку (СПР) — это различные генетические или эпигенетические состояния, связанные с повышенным риском развития рака по сравнению с общей популяцией. Причины различны и могут включать, но не ограничиваться ими, конституциональные хромосомные аномалии, наличие патогенного гена — в основном инактивирующие, но также и активирующие варианты в отдельных генах, изменения числа копий и эпигенетических механизмов [59, 91, 237]. Характерен и мозаицизм зародышевой линии. Пациентов с СПР необходимо отличать от лиц, имеющих аллели риска развития рака, которые не связаны с определенным синдромом, выявленным в ходе общегеномных ассоциативных исследований [174, 420]. Такие аллели риска развития рака с низкой пенетрантностью, вероятно, способствуют развитию всех видов рака

у детей. Подсчитано, что, по меньшей мере у 10% детей, больных раком, имеется сопутствующий СПР, при этом доля детей с СПР значительно выше для отдельных типов рака [237].

Таким образом, клиническая картина ДСГ многогранна и зависит от расположения опухоли и характера ее роста, поэтому ранняя диагностика и своевременно начатое лечение способны сдержать ее развитие. Но необходима более детальная информация о молекулярно-генетических особенностях заболевания, чтобы создать более персонализированное и комплексное лечение с учетом гетерогенности ДСГ.

### **1.3.2. Лучевая диагностика (рентгенологическая, магнитно-резонансная и позитронно-эмиссионная томография)**

Ранняя диагностика ДСГ определяет успех лечения и соответственно влияет на прогноз заболеваний. Поэтому для принятия правильного решения при выборе лечебной тактики, необходимо применение различных методов визуализации, прежде всего лучевой диагностики, включающей рентгенологический, МР и позитронно-эмиссионный методы обследования, а также их комбинации между собой и с другими методами исследования (табл. 2). Таблица иллюстрирует информативность обследования пациентов, страдающих ДСГ, различными методами визуализации.

При выявлении неврологических симптомов необходимо выполнять МРТ головного мозга с контрастным усилением. МРТ является методом выбора при диагностике ДСГ. На МРТ опухоль обычно определяется как гипоинтенсивное образование в режиме T1 и гиперинтенсивное в режимах T2 и Flair. Степень накопления контрастного вещества (КВ) может быть различной и этот критерий мало помогает в установлении природы образования [186]. Типичная картина ДСГ выглядит как наличие образования плотной или неравномерной структуры, расположенного внутри моста. Инфильтрация может распространяться на средний мозг, зрительные бугры, ножки мозжечка. Продолговатый мозг редко вовлекается в процесс, за

исключением цервико-медуллярных глиом. На МР-картине головного мозга ДСГ представляют собой изоденсивное или гиподенсивное образование без кальцинатов [246].

**Таблица 2.** Чувствительность и специфичность различных методов лучевой диагностики

Метод	Препарат	Специфичность	Чувствительность	Публикации
ПЭТ	F-18-флюцикловин (синтетическая аминокислота)	Выше, чем при использовании C11-метионина в дифференцированной диагностике продолженного роста		[288]
ПЭТ обзор	F-18-FDG	0.22 – 1.00	0.25-1.00	[453]
	C-11-MET	0,6-1.00	0.75-1.00	
МРТ TRAMs	гадолиний содержащий парамагнетик	92%	100%	[176]
Диффузионно-куртозисная МРТ	без	73%	100%	[341]
ASL- перфузия	без	98%	100%	[69]
МР-спектроскопия	без	99%	100%	[9]
Контрастная МР- перфузия	гадолиний содержащий парамагнетик (болус)	98%	100%	[425]
Жидкостная биопсия		91.2%	98%	[161]

Существует множество дополнительных режимов, косвенно указывающих на предполагаемую степень злокачественности, при этом и сама структура образования – наличие кист, зон распада, накопление кальцинатов, также отражает степень злокачественности. Перед началом терапии ДСГ врач обязательно проводит МРТ спинного мозга без/с контрастным усилением для стадирования процесса, а именно исключения метастатического поражения спинного мозга. Это является важным моментом, так как наличие метастазов или их отсутствие определяет объем РТ.

При первичном исследовании опухоль накапливает КВ лишь в 1/2 случаев, иногда контрастирование происходит гетерогенно [41]. Накопление КВ может быть кольцевидным (до 40% наблюдений), что обычно говорит об участках некроза внутри опухоли. В опухоли могут выявляться петехиальные кровоизлияния (13%), но они редко проявляются клинически и обнаруживаются только при помощи высокочувствительных МР методик [253], но в некоторых случаях появление первых симптомов обусловлено кровоизлиянием в опухоль. Также благодаря МРТ визуализируются участки некроза (40%) и гидроцефалия различной степени, которая на момент установки диагноза имеет место в 10—20% случаев. В 2—3% случаев инициально диагностируются метастазы в спинной мозг или супратенториально [416], хотя по данным аутопсий распространение опухоли вне ствола может быть существенно выше и достигать 25—50% [103]. Часто наблюдается сдавление и смещение опухолью базилярной артерии [409]. При МР спектроскопии выявляется умеренное усиление уровня холина и снижение уровня N-ацетиласпартата. В работе Steffen-Smith E.A. et al. [394] установлено, что изменение соотношения между холином и N-ацетиласпартатом в пользу первого является прогностически неблагоприятным признаком. По характеру рентгенологического изображения выделяется два основных типа ДСГ: солидный и солидно-кистозный [253]

В случае выявления разночтений по данным МРТ (недостовверная картина псевдопрогрессии, радионекроз, нетипичная локализация) назначается позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) с метионином или тирозином для оценки степени активности патологического процесса и конкретизации степени злокачественности опухоли.

ПЭТ с метионином занимает важное место в диагностике ДСГ. ПЭТ позволяет получить важную информацию об изменениях физиологии и метаболизма опухоли и окружающей ее ткани [378, 393]. Благодаря ПЭТ стало возможным улучшение клинического ведения пациентов с ДСГ,

исследование предоставляет сведения не только о метаболизме патологического очага, но и о скорости пролиферации и степени инвазии. Также с помощью ПЭТ можно устанавливать взаимосвязь между опухолью и важными функциональными областями головного мозга и контролировать эффекты лечения [54, 190, 193]. По данным Kwon J.W. et al. [242] имеется зависимость степени накопления КВ от степени злокачественности: чем более интенсивно накапливается контраст, тем больше данных за наличие ГБ или анапластической астроцитомы. Однако, в работе Tinkle C.L. et al. [408] при обследовании 22 детей не было выявлено зависимости между характером изображения опухоли на ПЭТ и показателями выживаемости.

На основе клинических и инструментальных данных были выделены определенные критерии, характерные для ДСГ, которые способствуют более эффективной диагностике опухолей. Однако и здесь имеются определенные трудности, с которыми сталкивается специалист, так как описанные критерии не всегда специфичны только для ДСГ и порой можно по-разному определить «типичность» одного и того же случая. Подтверждением данного феномена является проведенное в 2011 г. исследование, в ходе которого большое количество детских нейрохирургов и неврологов оценивали одни и те же данные МРТ: при этом расхождение мнений о «типичности» конкретной опухоли достигало >50% [185].

Спорными моментами для оценки остаются такие признаки, как выраженное накопление контраста, ограничение диффузии, наличие кист и экзофитных компонентов. Сохраняются проблемы и с дифференциальной диагностикой между ДСГ и инфекционным/воспалительным поражением ствола мозга. Поэтому так важно в план обследования включать клинико-анамнестические данные и оценку семиотики поражения по данным нейровизуализации. В большинстве случаев это поможет поставить корректный диагноз, но при атипичной картине или подозрении на редкие заболевания требуется расширенный диагностический поиск.

Важным методом нейровизуализации, позволяющим дифференцировать гнойно-воспалительные, инфекционные процессы от ДСГ, является МРТ [1, 36], при помощи которого дополнительно можно обнаружить сопутствующие осложнения (тромбофлебит вен коры больших полушарий и венозный инфаркт) [36, 170]. При проведении МРТ в T1-режиме отображаются зона гипоинтенсивности, обусловленная центральным некрозом и окруженная тонким изо- или гиперинтенсивным слоем (капсула), и внешняя гипоинтенсивная зона отека. В T2-режиме эти же данные воспроизводятся как гиперинтенсивный сигнал в центральной части очага, хорошо дифференцируемая гипоинтенсивная капсула и окружающий ее гиперинтенсивный отек. FLAIR-режим демонстрирует гипоинтенсивный сигнал с перифокальным сигналом высокой интенсивности от вазогенного отека. При использовании диффузно-взвешенных изображений гной внутри абсцесса имеет типично высокий МР-сигнал [15].

В качестве дополнительного метода возможно применение протонной МР-спектроскопии для дифференциальной диагностики с туберкулёмами и мультиформной ГБ, при которой удаётся определить специфические для абсцессов изменения в спектре метаболитов: появление пиков сукцината, лактата и аминокислот [15][14]. Более сложна диагностика при возможном подозрении на псевдотуморозный энцефаломиелит, особенно при монофокальном поражении, когда имеются все признаки очагового поражения мозга [14]. Поэтому для правильной диагностики необходимо учитывать не только формальные признаки, но и детали анамнеза и тонкие характеристики МР-изображения, проводимое накануне лечение и данные лабораторного поиска. Если при диссеминированном процессе дифференциальный диагноз энцефаломиелита проводится с рассеянным склерозом, то при очаговом поражении – в первую очередь с глиальной опухолью [48, 140].

Стоит отметить тот факт, что в большинстве случаев данные лучевых методов диагностики не всегда специфичны и недостаточно информативны

[64, 252]. Методы медицинской визуализации, позволяют оценить опухоль и ее окружение во всей их полноте [32, 33].

Медицинская визуализация может использоваться и для прогнозирования/оценки индивидуальной реакции пациента на проводимую терапию на всех этапах лечения ДСГ. Структурные медицинские методы визуализации, такие как рентгеновская компьютерная томография (КТ) и обычная МРТ, используются для выявления и изучения анатомических изменений органов и систем. При этом функциональные методы визуализации - МРТ, ПЭТ и однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ), а также гибридные методы (ПЭТ-КТ, ПЭТ-ОФЭКТ и ПЭТ-МРТ), применяются для оценки активности опухоли [319, 320]. Тем самым, на основе анализа большого количества МР-изображений и новых вычислительных технологий исследователи разработали и валидировали модели, которые могут повысить точность диагнозов и оценки терапевтического ответа. Эта концепция была впервые описана как радиомика в 2012 году; специалисты по информатике, радиологи и онкологи видят огромные перспективы использования передовых методов исследования для извлечения информации из медицинских изображений [240].

Изображения, полученные при МРТ, являются суррогатами фенотипического проявления болезни, а радиологические отчеты (врачебные протоколы с интерпретацией изображений) – это описания фенотипов визуализации. Специфические радиологические опухолевые фенотипы могут быть использованы в качестве суррогатов для описания экспрессии генов. Фенотипы визуализации часто представлены в виде систем классификаций, которые помогают разделять пациентов по подгруппам или субпопуляциям для выбора лечения или оценки прогноза [16, 456].

Цель радиомики и текстурного анализа — построить стандартизированную прогностическую модель для оценки клинических результатов с выбранными функциями. Радиомика занимается проблемами

углубленного анализа графических медицинских данных – это направление, сочетающее в себе радиологию, математическое моделирование и глубокое машинное обучение. Этот гибридный подход включает в себя анализ текстуры изображения и количественную оценку признаков. Анализ текстур (текстурный анализ) изображений обеспечивает объективную количественную оценку неоднородности опухоли путем распределения и взаимосвязи уровней пикселей или вокселей серого в изображении [260, 295]. Учитывая неинвазивность радиомического метода, текстурный анализ изображений может быть представлен как «виртуальная биопсия» [252].

В процессе анализа из медицинских изображений извлекаются количественные характеристики, а затем эти характеристики связываются с биологическими конечными точками и клиническими результатами. Исследования, в которых была обнаружена связь между радиометрическими и молекулярно-генетическими параметрами, подпадают под определение радиогеномики [77], которая объединяет фенотипы изображений с молекулярными профилями опухолей для построения прогностических моделей, определяющих диагностику, лечение и прогноз патологии [15, 16, 88, 418].

Основным понятием радиомики служат биомаркеры изображений (БМИ), представляющие собой вычисленные на основе анализа текстуры цифровых изображений параметры, характеризующие различные патологические изменения. С помощью БМИ проводится количественная оценка результатов цифровых методов визуализации (КТ, МРТ, УЗИ, ПЭТ). Особую роль играет применение БМИ в виде «виртуальной биопсии» [234]. Так на основании анализа текстуры двумерной или трехмерной картины опухоли радиомика ставит перед собой задачу высоко достоверного разграничения доброкачественных и злокачественных опухолей, выполняя роль «виртуальной биопсии» [6]. В последующем большие объемы полученных радиомических и клинических данных анализируются с целью выявления признаков, указывающих на предполагаемую взаимосвязь

фенотипа, представленного на изображении, с гистологической структурой опухоли. Для проведения анализа данных применяются методы машинного обучения.

Большинство исследований в области радиогеномики на сегодняшний день сосредоточено на выявлении ключевых рентгенографических и генетических корреляций при мультиформной ГБ и других ГВСЗ у взрослых [142, 165, 180, 456], которые, подобно ДСГ, имеют особенно неблагоприятный прогноз и критическую потребность в неинвазивных методах диагностики. Используя новые инновационные радиогеномные подходы, были выявлены ассоциации между прогностически значимыми профилями экспрессии генов, наличием или отсутствием генетических изменений и хромосомными приростами/потерями при ГБ с особенностями макроскопической МРТ, такими как увеличение опухоли, некроз, отек, размер опухоли и/или показатели объема мозговой крови [212, 343, 442]. Если ранее радиогеномный анализ ограничивался только опухолями ЦНС у взрослых, то в последние годы данный метод распространен и в детской нейроонкологии, где открытием стало выявление прогностических МРТ-коррелятов молекулярных подгрупп при медуллобластоме и атипичных тератоидных/рабдоидных опухолях [337, 442, 456].

Большую популярность набирает идея построения прогностических моделей выживаемости у пациентов с опухолями головного мозга, основываемые на данных анализа радиомических признаков диагностических изображений. Например, в работе китайских ученых J. Lao et al. (2017) проводилось исследование радиомических признаков с целью построения прогностических моделей у пациентов с ГБ. В исследовании изучались T1, T1C, T2, FLAIR модальности МРТ пациентов с глиобластомой (n=112). Была показана способность модели к прогнозированию общей выживаемости у больных с ГБ. В результате исследования на основании радиомических признаков получилось стратифицировать пациентов с высоким и низким риском [245]. Ценные опытные данные представлены в

работе Данилова Г.В. с соавт. (2022, НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко», МГУ им. М.В. Ломоносова), цель которой состояла в оценке диагностической точности глубокого машинного обучения в типировании глиом по степени злокачественности ВОЗ (I—IV) на основании данных МРТ. В работе использовались две архитектуры сверточных нейронных сетей: DenseNet – адаптированная для работы с 3D изображениями и Resnet200e – для обработки двухмерных изображений. В качестве оптимизатора градиентной панели использовали алгоритм Adam. В массив данных вошли T1 – взвешенные аксиальные изображения МРТ (n=707). В результате обучения были получены следующие показатели качества классификации: точность AUC для 3D-подхода при различении типов глиомы составила 0,95, а для 2D-подхода - 0,72, что соответствует точности 83% и 50% соответственно [5].

На базе ФГБУ «РНЦРР» также проводятся исследования с применением технологии радиомики в нейроонкологии, где объектом изучения были пациенты ДСГ головного мозга. Одной из задач исследования - определить возможность разделения этой когорты пациентов на группы риска и стратификации прогноза заболевания по данным МРТ-изображений с помощью текстурного анализа. Критерии включения: неverified диффузные опухоли ствола мозга, МРТ-изображения до лучевой терапии, возраст пациентов до 18 лет. Опыт ФГБУ «РНЦРР» показывает, что трудность построения эффективной прогностической модели заключается в наличии многочисленных факторов, имеющих влияние на сроки выживаемости. К таким факторам можно отнести возраст, соматический статус, локализация, структура и объемы опухоли, наличие мутаций. После получения удовлетворительных критериев эффективности модели при классификации пациентов она может быть применена в клинической практике для оценки прогноза заболевания и, возможно, оптимизации тактики лечения [29, 32, 33].

Многогранность рентгенологической картины и отсутствие морфологической верификации ДСГ являются одними из наиболее серьезных проблем в современной нейроонкологии. Сегодняшние достижения в области молекулярной генетики позволили выявить популяции опухолевых клеток, которые характеризуются различными биологическими свойствами в пределах одного типа, способствуя разной степени чувствительности к РТ.

Радиологическая гетерогенность связана с разным молекулярно-генетическим и функциональным состоянием опухоли [21, 119, 278]. Сопоставимость данных визуализации и пролиферации ДСГ является важной задачей, которую необходимо решить, чтобы улучшить показатели ОВ, повысить качество жизни пациентов.

Таким образом, лучевая диагностика с каждым годом совершенствуется, позволяя более адекватно и прецизионно формировать представление о патологическом процессе в нейроонкологии. Радиомика является современным направлением, занимающим важное место среди новых технологий в сфере медицинских наук и применяемым в клинической практике для прогнозирования эффективности лечения.

### **1.3.3. Морфологическая диагностика**

Анализ генетических изменений опухоли занимает важное место в принятии решений о тактике лечения. Оценка мутационного профиля новообразования обычно выполняется с использованием фрагмента первичной опухоли или метастаза, но существует несколько ограничений, связанных с таким анализом [344]. Получение биопсийного материала требует хирургического вмешательства, что в нейроонкологии имеет определённые ограничения. При ДСГ доступность пораженной ткани является проблематичной. Более того внутриопухолевая гетерогенность и объем получаемого для анализа материала при малоинвазивных хирургических методах может привести к недостоверным результатам

обнаружения биомаркеров, особенно при тестировании одного биоптата [57, 70, 356].

Развитие глиом тесно связано как с процессом воспаления, так и с особенностью иммунного ответа [124, 289]. Высокое соотношение нейтрофилов и лимфоцитов коррелирует с неблагоприятным прогнозом при многих злокачественных новообразованиях, включая глиомы. С точки зрения системной воспалительной реакции, каскад коагуляции также играет ключевую роль в прогрессировании опухоли и метастазировании [275, 406]. Фибриноген является ключевым регулятором прогрессирования рака, а его высокий уровень коррелирует с плохим прогнозом у пациентов, страдающих глиомой [189]. Ассоциированное с опухолевыми клетками отложение тромбоцитов и фибрина способствует образованию физического барьера на периферии опухоли, предотвращая формирование НК-клеток с их последующим установлением контакта с опухолевыми клетками-мишенями, тем самым снижая скорость их выведения [257]. Фибриноген, как белок острой фазы, обычно высвобождается при наличии злокачественных опухолей или системного воспаления за счет секреции интерлейкин-6, продуцируемого опухолевыми клетками, при этом они могут синтезировать фибриноген самостоятельно. Образующийся фибриноген, в свою очередь, способствует пролиферации опухоли и ангиогенезу путем взаимодействия с VEGF и фактором роста фибробластов-2 [447]. В исследовании, которое было проведено Yiyang Wu и его коллегами в 2019 году, было обнаружено, что у пациентов с высоким уровнем предоперационного фибриногена, страдающих глиомой, ОВ была ниже, чем у пациентов с низким уровнем предоперационного фибриногена [446].

Альбумин и глобулин, как основные компоненты сывороточного белка, тесно связаны с состоянием иммунной системы. Соотношение альбумина к глобулину считается эффективным сочетанием двух сильных прогностических факторов, поэтому их низкое соотношение может

предсказать ухудшение результатов выживаемости при многих заболеваниях, включая ГБ [188].

Тем самым, соотношение нейтрофилов и лимфоцитов, альбумина к глобулину и уровень фибриноген имеют важное прогностическое значение у пациентов с глиомой.

Морфологическая верификация структуры ДСГ связана с риском повреждения структур ствола, поэтому совершенствование различных методик биопсии является одной из приоритетных задач в онкологии. В настоящее время стереотаксическая биопсия (СТБ) используется достаточно широко, поскольку получение гистологического материала позволяет определить лечебную тактику, особенности опухоли, ее молекулярную структуру и разработать направление таргетной терапии [353]. В ряде исследований показана высокая эффективность и относительная безопасность данной процедуры. Лучшей мишенью для забора материала при СТБ является гипоинтенсивная зона, накапливающая КВ на МРТ в режиме T2, поскольку эти признаки свидетельствуют о наличии очаговой анаплазии [196, 211, 374, 389].

Другая сторона данной проблемы – это наличие гетерогенности в опухоли, которая существенным образом усложняет характеристику процесса. Необходимость последовательного мониторинга прогрессирования и формирования устойчивости к предшествующему лечению с помощью повторных биопсий на практике нелегко осуществить, а тестирование архивных образцов может быть неоптимальным из-за эволюции опухолевого субстрата.

Актуальным направлением в диагностике онкологических заболеваний является «жидкостная биопсия», которая позволяет с высокой точностью и безопасностью оценивать природу опухолевого процесса и эффективность лечения [28]. Первоначально предназначавшаяся в основном для анализа циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК), «жидкостная биопсия» теперь используется для анализа многих маркеров опухолевых клеток в

биологических жидкостях (кровь, спинномозговая жидкость, моча). Маркеры могут быть представлены в виде опухолеспецифичных белков, отдельных клеток опухоли или их скоплений, нуклеиновых кислот, экзосом, тромбоцитов, образованных опухолью и др. Однако эти маркеры могут также присутствовать в небольших концентрациях в крови здоровых людей, что создает трудности не только в диагностическом плане, но и при лечении онкологических заболеваний [45, 277, 365]. Жидкостная биопсия в большей степени, чем СТБ отражает гетерогенность опухоли и позволять отслеживать эволюцию опухоли на фоне терапии.

Выявление в ликворе и крови больных опухолями мозга ЦКО стало доступным с созданием специализированной лабораторной аппаратуры [50]. Выделение ЦКО из общего количества клеток, присутствующих в ликворе или крови, технологически весьма сложно. Чаще всего используется метод «положительной селекции», основанный на определении белков на поверхности клетки при помощи антител [147]. Применение этого метода основано на определении наличия на клетке белков, специфичных для данного вида опухоли. Другим вариантом выделения из жидкой среды (кровь или ликвор) является метод «отрицательной селекции», заключающийся в удалении из биологической жидкости клеток, не относящихся к данной опухоли [345].

При опухолях головного мозга в крови и спинномозговой жидкости (ликвор) обнаруживаются именно фрагменты опухолевой ДНК (цоДНК) длиной  $\approx 150-200$  п.н., которые более специфичны и могут отражать различные типы мутаций (например, точечные мутации и амплификации) в клетках глиомы. Кроме того, цоДНК являются более богатым источником опухолевых биомаркеров, чем циркулирующие опухолевые клетки [464, 477]. Учитывая наличие ГЭБ, можно полагать, что ликвор предоставляет более детальную характеристику опухоли, чем плазма, и содержит определенные биомаркеры, которые вряд ли можно обнаружить в плазме [276].

Обнаружение в крови и ликворе цоДНК стало многообещающим неинвазивным биомаркером для определения наличия опухоли, в ряде случаев, может существенно опережать изменения на КТ и МРТ, что было показано во многих исследованиях [128, 326, 390]. Анализ изменения содержания нуклеиновых кислот опухоли в течение РТ или после ее окончания позволяет проводить оценку эффекта проводимого лечения и прогноза заболевания. При этом, благодаря степени изменения концентрации нуклеиновых кислот опухоли после первых сеансов РТ, возможно оценить радиочувствительность опухоли [115, 390].

Динамика уровня нуклеиновых кислот опухоли в процессе лечения может быть основанием для изменения программы лечения или подключения других методов.

В 2022 году James Tanner McMahon и соав. провели систематический обзор и мета-анализ, которые выявили большую эффективность определения цоДНК в ликворе (AUC=0,947) по сравнению с плазмой (AUC=0,741). Также была продемонстрирована более высокая чувствительность обнаружения цоДНК при ГВСЗ по сравнению с глиомами низкой степени злокачественности [281].

Масштабы применения жидкостной биопсии в детской нейроонкологии отстают от аналогичных у взрослых, исследования до сих пор в основном были ретроспективными, подтверждающими концепцию в небольших когортах. Тем не менее, эти исследования показывают, что технология обладает значительным потенциалом. Определение цоДНК в плазме крови было протестировано у детей с медуллобластомами, где их наличие было зарегистрировано у 40% пациентов [82]. Мутации в гене гистона H3 также были обнаружены в плазме крови пациентов с ДСГ [204]. Martinez-Ricarte и соав. удалось классифицировать 17 из 20 пациентов (включая 2 детей) с диффузными глиомами, проанализировав только 7 генов в цоДНК из ликвора [272]. Paret и соав. сообщили об одном клиническом случае нейроэпителиальной опухоли высокой степени злокачественности ЦНС с

внутренней тандемной дупликацией BCOR, где концентрация цоДНК в плазме коррелировало с развитием рецидива заболевания [330]. ГЭБ значительно ограничивает поступление цоДНК в кровь [276], поэтому альтернативным источником цоДНК при опухолях головного мозга является именно ликвор, который содержит цоДНК в определенной степени и у взрослых пациентов [382]. Методы обнаружения цоДНК находятся на стадии развития [383]. При подозрении на опухоль ЦНС польза люмбальной пункции для получения ликвора для анализа цоДНК может перевесить риски, связанные с забором образцов ткани.

В отличие от взрослых пациентов среди детей очень редко встречается синхронность патологии, а сама опухоль состоит в основном из незрелых и быстрорастущих опухолевых клеток, тем самым данные жидкостной биопсии у детей отражают именно динамику опухолевого процесса по сравнению со взрослыми пациентами. Необходимы более масштабные клинические исследования, чтобы в полной мере изучить потенциал диагностики на основе жидкостной биопсии и мониторинга эффективности проводимой терапии [305]. В настоящее время начаты первые рандомизированные контролируемые исследования в области детской онкологии с применением жидкостной биопсии (NCT02546453, NCT03496402, NCT03336931).

Жидкостная биопсия направлена не только на обнаружение бесклеточных циркулирующих нуклеиновых кислот (ДНК, мРНК, некодирующие РНК, такие как микро-РНК или длинные некодирующие РНК), но и на выявление образованных опухолью тромбоцитов (ТЕР) или везикул, таких как экзосомы (ЭС) размером от 30 до 2000 нм, проходящие через все биологические барьеры и содержащие фрагменты ДНК, специфичные для каждого вида клеток. Биологические функции ЭС разнообразны: ремоделирование клеток, внутриклеточные коммуникации, изменение микроокружения опухоли, регулирование иммунных функций. ЭС рассматриваются как возможный источник макромолекул для проведения жидкостной биопсии при опухолях мозга [372]. В результатах

многочисленных исследований было показано, что в ЭС могут быть обнаружены специфические альтерации в гене EGFR [154], фрагменты РНК ГБ [386], фрагменты мутантного гена IDH1 [114] и онкоген EGFRvII [149]. По данным этих исследований, чувствительность метода при исследовании ликвора составляет 63% и специфичность 100% [114].

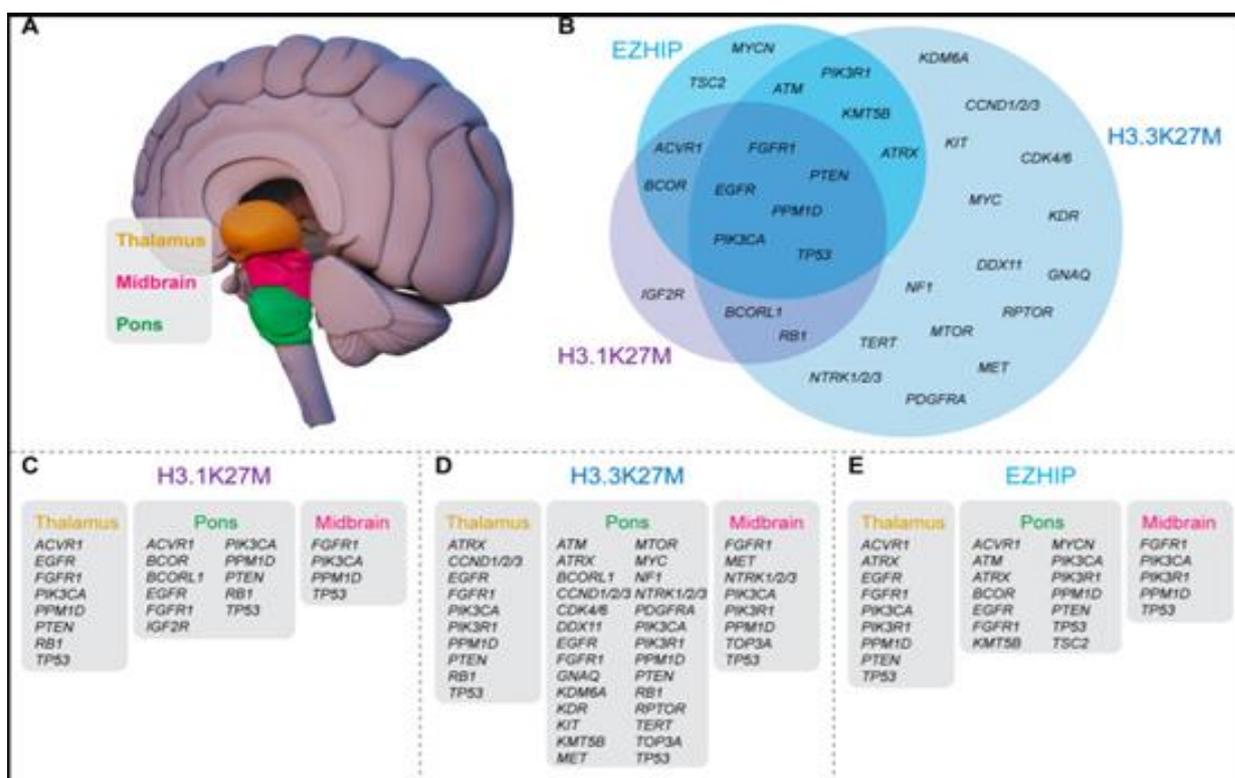
Следующими перспективными и важными компонентами выявляемым при жидкостной биопсии являются-TEPs, являющиеся центральными игроками в системном и локальном ответе на рост опухоли. Опухолевые клетки изменяют профиль РНК этих тромбоцитов [81]. Более того, TEPs могут обладать способностью непосредственно поглощать (сплайсировать) циркулирующую мРНК, секретлируемую опухолевыми клетками, а также могут сами подвергаться сплайсингу в ответ на сигналы, высвобождаемые опухолевыми клетками и их микроокружением, такими как стромальные и иммунные клетки. Тромбоциты также способны изолировать солюбилизированные ассоциированные с опухолью белки [233]. Эти взаимодействия между тромбоцитами и опухолевыми клетками могут представлять интересный потенциал для диагностики и мониторинга эволюции опухоли в ближайшем будущем [99].

Таким образом, большой потенциал жидкостной биопсии для исследований в области нейроонкологии только начинает изучаться, в особенности у детей, страдающих ДСГ. Выявление в крови и ликворе опухолевых клеток, экзосом и фрагментов ДНК/РНК опухоли является своеобразным мониторингом течения опухолей мозга в режиме «реального времени». Однако необходимо понимать, что повышение эффективности и достоверности и точность анализа биомаркеров из жидких биоматериалов станет возможным только в том случае, если продолжится изучение молекулярно-генетического ландшафта ДСГ. В свою очередь это поможет оценить специфичность и продемонстрировать эффективность нескольких маркеров, обнаруженных при помощи жидкостной биопсии, что и объясняет актуальность проводимого нами исследования.

### 1.3.4. Молекулярно-биологическая диагностика

За последние 10 лет произошел фундаментальный сдвиг парадигмы в области диагностики ДСГ. Наиболее значимыми открытиями были идентификация мутаций изоцитратдегидрогеназы 1 (IDH1) и 2 (IDH2), обнаруженных в астроцитомах и олигодендроглиомах [333], мутации гомолога вирусного онкогена B-Raf мышшиной саркомы (BRAF) в ряде глиальных и глионейрональных опухолей низкой степени злокачественности [379], мутации гистона H3K27M в глиомах ствола головного мозга и последующее обнаружение этой мутации у пациентов, страдающих ДСГ [231], определение молекулярных признаков для диагностики ГБ IDH-«дикого типа», в частности, увеличение хромосомы 7, потеря хромосомы 10, амплификация EGFR и мутация промотора обратной транскриптазы теломеразы (TERT) [395]. Кроме того, описаны и более редкие мутации гистона H3 G34R/V, которые клинически и биологически отличаются от опухолей с мутацией H3K27M [395]. Местоположение опухолей с данными мутациями, затрагивающие жизненно важные центры и проводящие пути мозга, обуславливает катастрофические последствия для пациентов и колоссальные трудности при выборе терапии (рис. 2).

Полученные данные вошли в обновленную классификацию опухолей ЦНС ВОЗ 2021 г. (издание 6-е, пересмотренное), что позволило при диагностике и терапии учитывать не только гистологические, но и молекулярно-генетические особенности опухоли. Определение мутационного статуса генов IDH1, IDH2, а также коделеции 1p/19q стало необходимым для окончательной верификации гистологических вариантов глиом у взрослых пациентов, а определение мутации K27M в гене H3F3A стало обязательным для исключения ДСГ у детей, характеризующиеся крайне агрессивным клиническим течением и неблагоприятным прогнозом [217, 254].



**Рисунок 2.** Локализация мутаций генов, лежащих в основе развития ДСГ

В дальнейшем была продемонстрирована диагностическая и прогностическая ценность и других молекулярно-генетических аномалий, которые также были внесены в классификацию и применяются в рутинной практике, являясь неотъемлемым этапом окончательной постановки диагноза, а также определения тактики лечения пациентов с учетом генетического профиля опухоли [160, 410].

Необходимые молекулярно-биологические исследования имеют как прогностическую, так и диагностическую роль. Благодаря знаниям о молекулярно-генетических особенностях патогенеза ДСГ, появилась возможность непрерывного совершенствования иммуногистохимического исследования, который является важным методом диагностики онкологических заболеваний. Традиционный ряд маркеров происхождения опухолей, такие как глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP), S100, синаптофизин, цитокератины или CD (кластер дифференцировочных антигенов), служит полезным руководством при определении происхождения новообразований. Например, GFAP экспрессируется не только в зрелых

астроцитах, но и в нервных стволовых клетках. При этом GFAP экспрессируется многими типами глиальных опухолей [338] и, следовательно, может дать только первое представление о патологии без дальнейшего прогноза. В последующем стало доступным идентификация точечных мутаций в генах, что в свою очередь привело к разработке антител специфичных к данным мутациям, например, против IDH1 R132H [454], BRAF V600E [109] или гистона H3K27M [157], позволяющие быстро и надежно выявлять эти мутации.

Также в диагностике опухолей широко используется флуоресцентная или хромогенная гибридизация *in situ* (FISH, CISH), которая применяется для идентификации изменений числа копий (таких как амплификация EGFR, 1p/19q, амплификация MYC) на срезах тканей. FISH сочетает в себе преимущества классических цитологических, цитогенетических и новейших молекулярных методов. Подобно классическим методам, материалом для FISH-исследования служат тканевые, клеточные и хромосомные препараты. Однако объектом исследования являются не морфологические особенности ткани, клеток или хромосом, а уникальные нуклеотидные последовательности конкретной хромосомы или ее отдельного участка. Соответственно, выявляемые изменения считаются генетическими (этиопатогенетическими), а не морфологическими (фенотипическими) [151].

Секвенирование по Сэнгеру — это экономичный и высокоинформативный тест для выявления тех мутаций, которые не могут быть обнаружены с помощью мутационно-специфических антител [125]. Например, мутация промотора TERT, диагностически значимая при IDH-мутантных олигодендроглиомах, IDH-ГБ «дикого типа» и прогностически значимые при менингиомах, могут быть обнаружены только методами, основанными на анализе ДНК. В то время как антитело может быть использовано для выявления наиболее распространенной мутации гена IDH (IDH1 R132H) в 90% случаев, а оставшиеся 10% могут быть обнаружены только с помощью секвенирования генов IDH1 и IDH2 [137, 280, 368].

Однако, из-за низкой производительности, данные методы ориентированы исключительно на тестирование наиболее распространенных мутаций в целевых генах. Кроме того, следует отметить, что ДСГ отличаются высокой степенью гетерогенности, где можно выделить участки опухоли с различной степенью злокачественности. Поэтому актуальным становится секвенирование «нового поколения» — NGS (от англ. next-generation sequencing), позволяющее исследовать одновременно несколько (десятки) генов.

Мультиплексная амплификация линированных зондов (MLPA) – это молекулярно-генетический метод определения относительного количества копий определенных участков ДНК. Данная технология позволяет детектировать делеции и дубликации экзонов, целых генов или протяженных участков хромосом, а также определять число хромосом (анеуплоидии). За одну реакцию возможно определить количество копий до 50 различных участков ДНК (экзонов в одном гене или генов в определенном хромосомном локусе). Park и соав. в 2011 году показали, что сочетанное применение методов метил-специфической MLPA (MS-MLPA) и метил-специфической ПЦР (MSP) в 93% случаев способствовало выявлению псевдопрогрессии среди пациентов, страдающих ГВСЗ [331]. Недостатком анализов MLPA является то, что они разрабатываются заранее и требуют основных этапов валидации после внесения изменений.

Новые технологии секвенирования позволили усовершенствовать открытый более 30 лет назад и основанный на электрофорезе метод Сэнгера, недостатками которого являются низкая пропускная способность и относительно высокая стоимость. Технологии NGS позволяют секвенировать одновременно тысячи молекул ДНК, тем самым повышая скорость исследования и увеличивая объем получаемых данных, при этом снижая себестоимость анализа. Принцип NGS основан на массовом параллельном секвенировании специальным образом подготовленных одностранных библиотек фрагментированной ДНК исследуемых образцов. NGS позволяют

секвенировать как весь геном или экзом, так и использовать панели, включающие только необходимые таргетные гены, изменения в которых характерны для каждой локализации опухоли, тем самым снижая себестоимость анализа, увеличивая его производительность и упрощая обработку и интерпретацию полученных данных. Такие генетические тесты являются диагностическими и прогностическими факторами в клинической онкологии и играют важную роль при выборе тактики лечения для каждого пациента [63].

Используя таргетное секвенирование с применением NGS, Keller и его коллеги [229] протестировали образцы 4-х пациентов с диагнозом ГВСЗ и выявили более 1300 однонуклеотидных замен в 132 целевых генах, ассоциированных с данной локализацией опухоли, 34-64% (в зависимости от образца) из которых аннотированы в базе данных SNP. Этот факт свидетельствует о возможности эффективного применения целевого ресеквенирования в персонализированной медицине для оценки соответствующего генотипа. Чувствительность метода NGS позволяет использовать его для поиска специфических мутаций в циркулирующей опухолевой ДНК в плазме крови [131]. С помощью высокопроизводительного секвенирования Forshew удалось идентифицировать соматические мутации в генах KRAS, TP53 и EGFR в плазме крови онкологических больных даже с низкой частотой мутантного аллеля - около 2% [152].

Практической реализацией молекулярно-генетического исследования материала опухоли является FoundationOne®CDx, который представляет собой диагностический тест *in vitro*, основанный на NGS, предназначенный для анализа основных классов геномных изменений в 324 генах. Предоставляет сведения о микросателлитной нестабильности (MSI - microsatellite instability) и мутационной нагрузке опухоли (TMB – tumor mutational burden) с использованием ДНК, выделенной из фиксированных в формалине и залитых парафином образцов опухолевой ткани. Данный метод

позволяет персонализировать лечение для каждого ребенка, имеющего гистологический материал [291]. Однако, при ДСГ такой метод не применим и, как следствие, приходится искать альтернативное решение проблемы в виде максимально чувствительных и специфичных методов для анализа других биологических сред у пациентов без верификации диагноза.

В зависимости от региона генома, выбранного для тестирования, существуют случаи, когда ДНК опухоли сложно детектируется из-за особенностей первичной структуры и геномной пространственной организации, характерной для клеток определенных тканей. Поэтому применяется капельная ПЦР (цкПЦР), позволяющая преодолеть эти ограничения. Данный метод обладает высокой чувствительностью, что позволяет быстро обнаруживать различные последовательности ДНК и ее копии. ЦкПЦР позволяет проводить количественную оценку без использования традиционных стандартов, а также, благодаря высокой чувствительности, детектировать редкие варианты последовательностей на фоне большого количества их «дикого типа» [197, 294]. Таким образом, цкПЦР позволяет отслеживать динамику ответа на проводимое лечение, при необходимости модифицировать его, а также выявлять признаки возможного рецидива при невозможности получения биопсийного материала.

Внедрение профилирования метилирования ДНК привело к дальнейшему прогрессу в области диагностики и прогнозирования ДСГ как у детей, так и у взрослых, так как это позволяет более точно установить прогноз, гистогенез и молекулярный профиль опухоли [262, 329].

Результаты различных современных методов лабораторной диагностики в нейроонкологии раскрыли многогранность изменений в опухолях ЦНС (табл. 3), стало более объяснимо отсутствие успеха в комплексном лечении детей с ГВЗС и самое главное - формируются векторы персонализированной диагностики и лечения этой группы пациентов.

**Таблица 3.** Чувствительность и специфичность различных методов молекулярной диагностики

Публикация	Метод	Опухоль	Чувствительность/ Специфичность
Nat. Med., 2014	CAPP-Seg	Немелкоклеточная карцинома легких	100% для II-IV стадии; 50% для I стадии; 96%
Annals of Oncology, 2016	цкПЦР	меланома	89% / 94%
Acta Neuropathol. Commun., 2017	цкПЦР	ДСГ у детей	87,5% / 100%
Neuro. Oncol, 2017	цкПЦР	ГБ	61% / 98%

Успехи в области молекулярно-биологической диагностики сделали возможным дополнительно стратифицировать IDH-мутантные астроцитомы не только по гистологическим признакам, но и по наличию гомозиготной потери ингибитора циклинзависимой киназы 2A/B (CDKN2A/B). Наличие этой мутации является лучшим предиктором выживаемости, чем наличие микрососудистых разрастаний или некроза [203].

В дальнейшем было обнаружено, что не все ГВСЗ гистологически характеризуются высокой степенью злокачественности. Многие опухоли считались по клиническим и гистологическим признакам диффузными астроцитомами, но благодаря молекулярно-биологической диагностике было установлено, что это были ранние формы ГВСЗ [127, 316, 321, 357, 358]. Это распознавание стало возможным за счет выявления характерных диагностических маркеров, таких как комбинация мутаций промотора TERT, амплификации EGFR, усиление хромосомы 7, потеря хромосомы 10 при отсутствии мутации IDH [92, 155, 321, 402]. В конечном счете, это привело к рекомендации консорциума cIMPACT-NOW (Consortium to Inform Molecular and Practical Approaches to CNS Tumor Taxonomy – консорциум по информированию о молекулярных и практических подходах к систематике опухолей ЦНС) идентифицировать все опухоли с вышперечисленными признаками, как ГБ IDH-«дикого типа», независимо от гистологического вида [255, 432].

Опухоли с мутациями гистона H3 K27M или гистона H3 G34R характеризуются совершенно различными клиническими,

визуализирующими, гистологическими и молекулярными особенностями. Прогностическое значение мутации H3 K27M широко изучалось при ДСГ [52, 107, 126, 139, 232, 258, 286, 448], что послужило началом для последующих исследований модификаторов хроматина в патогенезе опухолей головного мозга, и привело к выявлению потенциальных терапевтических мишеней [158, 300].

Описано четыре молекулярно-генетических профиля опухолей: H3.3 G34-мутантный тип (15%), H3.3/H3.1 K27-мутантный тип (43%), IDH1-мутантный тип (6%) и H3/IDH дикий тип (36%) [438], но это только отчасти позволило прогнозировать выживаемость детей с ГБ [421].

Первоначально мутация H3 K27M была идентифицирована у детей, страдающих ГВСЗ, но с появлением мутационно-специфических антител эти опухоли все чаще стали обнаруживаться и у взрослых. Одной из важных особенностей данных опухолей является связь мутации K27M со срединной локализацией и плохим клиническим прогнозом. В отличие от диффузных глиом ствола у детей, где частота мутации K27M в гене *H3F3A* достигает 80%, у взрослых H3 K27M с наибольшей частотой встречается в ГВСЗ таламуса и спинного мозга [286, 388]. Более того, если для детей, страдающих ДСГ наличие H3 K27M – крайне неблагоприятный прогностический фактор, то для супратенториальных глиом у взрослых с мутацией K27M и диким типом гена *H3F3A* показатели выживаемости достоверно не отличаются. H3 K27M может присутствовать как в гистологически верифицированных ГВСЗ, так и в ГНСЗ [286]. Тем самым ГВСЗ с мутацией H3 K27M обладают более агрессивным клиническим течением в сравнении с ГВСЗ другой генетической природы.

В последние годы огромное количество исследований посвящено именно изучению канцерогенеза ДСГ на молекулярно-генетическом уровне, что позволяет выявлять наиболее значимые молекулярные мишени, которые вносят существенный вклад в понимание патофизиологии ДСГ. Мутации в генах IDH1/2, TP53, EGFR, BRAF, H3K27M, а также статус метилирования

гена MGMT наиболее часто рассматриваются как одни из самых перспективных прогностических маркеров ДСГ. Поэтому необходимо продолжить изучение патогенеза ДСГ для идентификации генетических маркеров, дифференцирующих пациентов по степени ответа на терапию; а также для выделения пациентов с повышенным риском раннего рецидива.

## **1.4. Лечение**

### **1.4.1. Хирургическое лечение опухолей головного мозга**

Хирургическое лечение опухолей головного мозга разделяется на два больших раздела: один посвящен внемозговым опухолям (менингиомы, невриномы, хемодектомы, а также аденомы гипофиза, хотя по классификации 2022 года последние отнесены к опухолям эндокринной системы [71]), а другой - внутримозговым опухолям, подавляющее большинство которых составляют глиомы.

В настоящее время у подавляющего большинства пациентов с экстрацеребральными новообразованиями есть возможность провести радикальную операцию в 90-95% случаев с минимальной летальностью, не превышающей 1-3% и с низкой частотой послеоперационных осложнений. При этом частота рецидивов не превышает 10-12%, а качество жизни остается высоким, и не менее 50-60% из них возвращаются к трудовой деятельности [4, 23].

Совершенно иная обстановка обстоит с лечением внутримозговых опухолей, среди которых глиомы составляют 40-60% (более половины из них представлены злокачественными формами) [23, 133]. Объем хирургического вмешательства – фактор, который влияет на безрецидивную и ОВ пациентов.

Оперативное лечение ДСГ кардинальным образом отличается от других онкологических заболеваний, в особенности среди детей, что обусловлено в первую очередь особенностями топографии и направлением роста опухоли, а также взаимоотношением с окружающими функционально значимыми мозговыми структурами, подкорковыми образованиями мозга,

магистральными стволами средней мозговой артерии и крупными венозными коллекторами. В связи с этим радикальное удаление ДСГ не проводится, а максимально возможный объем — это СТБ, при этом данный метод используется исключительно с целью верификации диагноза и проведения молекулярно-генетического исследования ткани для персонализации лечения.

Стереотаксическая биопсия – это малоинвазивное эффективное хирургическое вмешательство позволяющее проводить забор патологически измененной мозговой ткани. С помощью СТБ возможно в кратчайшие сроки определить гистологическую и цитологическую структуру опухоли и подобрать оптимальную тактику дальнейшего ведения пациента. СТБ в первую очередь показана для гистопатологической диагностики опухоли головного мозга у пациентов, для которых резекция не является «методом выбора». В эту группу как раз и входят пациенты с ДСГ. Необходимость в дифференциальной диагностике между рецидивом опухоли и РН также может быть показанием для СТБ [285].

Согласно SIOP DIPG Network, объединяющей данные о 694 пациентах с ДСГ из 27 стран Европы и Америки (без США и Канады), биопсия выполнена у 37% пациентов [416]. Большинство исследований связано со взрослыми пациентами, которым процедура проводилась в полусидячем положении под местной анестезией, но достаточно мало сведений о применении СТБ у детей. Кроме того, в большинстве случаев опухолевый процесс у детей представлен ДСГ, при которых биопсия тканей также не проводилась в течение десятилетий [55]. Тем самым это объясняет высокую частоту ошибок при установлении молекулярно-генетического типа опухоли и, следовательно, значительно снижается успех в выборе адекватного вида терапии. Поэтому так важно изучать эффективность и целесообразность СТБ у детей [111, 334, 363].

Vedantam Rajshekhar и Ranjith K. Moorthy были первыми, кто в 2010 году опубликовали самую крупную серию отчетов о результатах СТБ ствола

головного мозга у детей [353], а в 2015 году Stephanie Puget и соавт. предоставили данные о проведенном проспективном анализе биопсий 130 детей, страдающих ДСГ. Данные исследования показали ее безопасность с возможностью последующего интегрирования СТБ в клиническую практику [346]. Однако единого мнения о показаниях к СТБ образований ствола головного мозга у детей нет.

На основании опыта и результатов хирургического лечения, проведенного Кадыровым Ш.У., при диффузных глиомах удаление считается показанным в случаях, когда при МРТ в пределах диффузной опухоли выявляется компактная (МРТ отграниченная) часть, которая состоит из опухолевого компонента. При этом отмечается дислокация смежных структур, характеризующая клинические проявления в зависимости от топографии новообразования. Удаление противопоказано при наличии опухоли, которая имеет МР - сигнал характерный для диффузного поражения мозга, когда деформация смежных структур отсутствует или минимальная. В этих случаях хирургическое вмешательство сводится к проведению СТБ для верификации диагноза и определения объема дальнейшей терапии [11].

Применение СТБ позволяет поставить диагноз в 95% случаев. Однако, примерно в 10% случаев диагноз неверен и не согласуется с результатами гистопатологического исследования образца опухоли, полученного при трепанации черепа или при аутопсии.

Несомненно, роль СТБ головного мозга в диагностике и оценке патоморфоза ДСГ с каждым годом неуклонно растет. Но, несмотря на свое широкое применение, СТБ сопряжена с риском осложнений в виду особенностей анатомии головного мозга, тем самым это может привести к послеоперационным осложнениям различной степени тяжести. В большинстве случаев к осложнениям СТБ относятся кровотечение, ухудшение неврологического статуса и инфекция. Показатели смертности [60, 385, 389] и осложнений [60] достигают 3,8% и 12% соответственно. При ДСГ риск кровоизлияний при выполнении СТБ возрастает. По литературным

данным, уровень смертности при биопсии супратенториальной локализации составляет менее 1%, а при опухолях ствола – примерно 4%. Это позволяет отнести СТБ новообразований головного мозга к относительно безопасной процедуре с диагностической достоверностью 93–96% по данным крупных нейрохирургических центров [43]. Malone et al. составили отчет о смертности, связанной с СТБ, где в 13% случаев это было связано с кровотечениями во время биопсии [267].

В большинстве исследований указывается умеренная частота кровоизлияний в диапазоне от 0,3% до 7%, но Kulkarni et al. [239] обнаружили достаточно высокий уровень скрытых кровоизлияний (54%), которые приводили к отсроченному неврологическому дефициту, возникающему при поражении значимых областей мозга (базальные ганглии, ствол мозга, двигательная или зрительная кора и речевые области).

Результаты одного из самых интересных исследований были опубликованы в 2010 году, где Masamitsu et al. изучали взаимосвязь между локализацией опухоли и возможным развитием осложнений после СТБ. Под контролем КТ было проведено 58 раз СТБ 56 пациентам с 1988 по 2007 годы. Критерии отбора для СТБ были следующие: локализация опухоли в области ствола головного мозга, базальных ганглиев, шишковидного тела и таламуса. Исключались случаи с тяжелой неврологической деформацией, где рентгенологические исследования показали повышенное внутричерепное давление. Также не включались пациенты со склонностью к кровотечениям, которые невозможно было контролировать. Авторы показали, что в трех случаях (5,2%) было зафиксировано внутриопухолевое кровоизлияние, а в двух случаях (3,4%) наблюдался стойкий гемипарез. Среди пациентов с локализацией опухолей в других областях, осложнений и летальных исхода во время проведения СТБ не было зарегистрировано [274]. Также авторы подробно изучили описание осложнений после СТБ в 575 случаях (записи MEDLINE за период с 1998 по 2006 год исследований), где частота составила 6,4% (37/575) [274].

Таким образом, использование СТБ может сопровождаться различного рода осложнениями, которые также приводят и к фатальному исходу, в особенности при расположении опухолей в срединных структурах головного мозга. Поэтому существует необходимость в развитии менее инвазивных методов обследования, позволяющих систематически и в режиме реального времени отслеживать изменения патологического очага, тем самым это поможет снизить процент осложнений и повысить диагностическую ценность исследований.

За последние 30 лет в литературе сообщалось примерно о 300 процедурах СТБ головного мозга с помощью роботов, но результаты большинства из них были опубликованы только за последние 5 лет [79, 101, 121, 181, 247, 270, 292, 351].

В крупнейшей на сегодняшний день серии исследований De Benedictis и соавт. использовали робот ROSA (Medtech, Франция) и выполнили 128 роботизированных операций 115 детям, включая 26 процедур СТБ головного мозга [79]. Авторы сообщили, что методика была точной при диагностике тканей в 25/26 случаях. У одного пациента наблюдалось временное ухудшение неврологических симптомов, но в остальном никаких осложнений отмечено не было. LeFranc и соавт. использовали робот ROSA у 100 пациентов, включая нескольких детей (средний возраст 59 лет; диапазон 7-86 лет) [247]. Гистологическая верификация была произведена в 97/100 случаях. При визуализации у шести пациентов была обнаружена послеоперационная гематома, которая в двух случаях сопровождалась временным ухудшением неврологических симптомов. Еще у четырех пациентов также наблюдалось временное ухудшение неврологических симптомов. Naegelen и соавт. использовали робота Neuromate и выполнили СТБ ствола головного мозга у 15 пациентов, среди которых было 5 детей [181].

В будущем станет возможным широкое использование данного метода, но необходимы исследовательские базы и сравнительные исследования для оценки как традиционной СТБ, так и этой роботической модификации.

Методы визуализации ГВСЗ также помогают в решении вопроса, связанного с выбором хирургической тактики. Детальное МРТ ангиографическое исследование позволяет определить расположение опухоли и особенности ее васкуляризации, что, несомненно важно при проведении оперативного вмешательства.

Среди взрослых пациентов применяется и хирургическое лечение с использованием минимально инвазивных методов циторедукции (стереотаксическая криодеструкция - СТК, стереотаксическая брахитерапия), доказавшее свою безопасность и эффективность у больных с небольшими супратенториальными глиомами любой локализации [238, 282, 376]. Дополнительное использование такого высокоточного нейрохирургического/онкологического метода, как СТК, который менее подвержен ограничениям, обусловленным локализацией опухоли, возможно, позволит улучшить соотношение «риск/польза» у значительного числа больных даже с большими глиомами или опухолями сложной локализации. Применение комбинированных операций при глиомах наиболее перспективно при распространении новообразования в островковую долю, зрительный бугор, мозолистое тело, базальные ганглии, медиобазальные структуры височной доли и область центральных извилин [37].

Таким образом, проведение радикального хирургического лечения невозможно при ДСГ, результаты исследования ткани опухоли, полученной при СТБ, являются перспективной для возможного проведения таргетной терапии, что при совместном применении РТ представляет собой комплексную терапию опухолей, направленную на более эффективное улучшение показателей выживаемости.

### 1.4.2. Радиотерапия

Радиотерапия (РТ) является стандартным методом лечения ДСГ. Текущая стандартная схема облучения предусматривает подведение СОД 54-60 Гр в традиционном режиме фракционирования (обычно 1,8–2 Гр ежедневно) в течение 6 недель [213, 287, 451]. Также применяются и другие режимы фракционирования дозы: среднее фракционирование по 3 Гр 13- 15 раз, до СОД 39-45 Гр, 2,8 Гр x 16 до 44,8 Гр [213, 287, 451] и мультифракционирование по 1,17 Гр x 2 раза в день с 4-6 часовым интервалом до СОД 70,2 Гр [201]. Данные режимы фракционирования предварительно оценивались по показателям безрецидивного течения и выживаемости, при всех вариантах фракционирования примерно одинаковыми. Медиана продолжительности жизни после окончания лечения при всех вариантах фракционирования колебалась в пределах 7,8-9,5 месяцев, ремиссия в течение года сохранялась примерно у 20% больных, годичный срок переживали от 12% до 36%, двухгодичный около 13% детей. В среднем длительность ремиссии составила 6,4 месяца и медиана продолжительности жизни 9,3 месяца. Осложнения при использовании фракций по 3 Гр до СОД 45 Гр в виде отека опухоли, отмечены только в работе Negretti L. et al. [309].

Недавний систематический обзор, проведенный Gallitto и соавт., был посвящен роли РТ в лечении ДСГ и показал следующее: медиана ОВ пациентов, получавших стандартную или модифицированную гипер- или гипофракционированную РТ, оставалась неизменной в период с 1988 по 2017 год [159]. Повторное облучение ДСГ у детей продлевало выживаемость примерно на 4 месяца. Во всех рассмотренных исследованиях использовался фотонный пучок РТ.

Протонно-лучевая терапия — это новый метод, который обладает способностью более точно воздействовать на опухоль и, таким образом, уменьшать степень радиационного облучения и потенциального повреждения здоровой ткани. Данный вид терапии приводил к РН, как и при

обычной фотонной терапии [159, 304], при этом сообщалось о более высокой частоте появления РН при ДСГ [93, 236, 348]. Тем самым протонно-лучевая терапия не показана при ДСГ в виду более раннего срока развития РН [35].

Janssen и соавт. оценили гипофракционированную РТ по сравнению с обычной и не обнаружили никакого влияния на общую выживаемость [215]. Гиперфракционированный подход (СОД 78 Гр) также не имеет преимущества в сравнении со стандартным по отношению к общей выживаемости [269]. После РТ рецидив опухоли возникает примерно через 6 месяцев после лечения [143].

Следовательно, для пациентов с рецидивирующими или прогрессирующими опухолями повторное облучение фотонным пучком является наиболее лучшим вариантом, помогающим контролировать процесс прогрессирования опухоли [143].

Одно из последствий РТ - нейротоксичность. Риск радиационно-индуцированного повреждения головного мозга зависит от дозы (либо суммарной дозы, либо от режима фракционирования), продолжительности лечения и объема облученной ткани здорового мозга [3, 44].

За последние десятилетия лечение ДСГ не принесло ожидаемых результатов. Еще не до конца понятны механизмы инициации и прогрессирования ДСГ, недостаточно изучены факторы, отвечающие за устойчивость клеток опухоли к ионизирующему излучению.

Следует упомянуть и о РТ ионами углерода, где используются преимущества уникальных физических и биологических принципов по сравнению с обычной лучевой терапией. Данный метод имеет хорошие перспективы при лечении радиорезистентных опухолей, таких как ДСГ. Точные радиобиологические механизмы ионотерапии углеродом еще предстоит полностью выяснить, существует несколько теоретических и наблюдаемых преимуществ ионотерапии углеродом по сравнению с РТ [352]. В настоящее время существует 12 центров в 5 странах (Япония, Германия,

Китай, Италия и Австрия), которые применяют данный вид терапии [268, 352].

Преодоление радиорезистентности, возможно благодаря радиосенсибилизаторам (локальная гипертермия, гипергликемия, электронно-акцепторные соединения – метронидазол, химиотерапевтические препараты, различные кислоты, метаболиты и др.). Необходимо отметить, что одним из мало изученных, но перспективных радиосенсибилизаторов – является вальпроевая кислота (ВПК).

В вопросе применения ВПК при глиомах «точка далеко еще не поставлена». Эта проблема продолжает изучаться в исследовании 3 фазы по Германскому протоколу HIT HGG 2013, которое планировалось завершить 31 декабря 2023 года [55]. В HIT HGG 2013 участвуют более чем 50 клиник Германии, они планируют набрать в исследование около 170 пациентов. В данный протокол включаются дети и подростки от 3 до 18 лет с ГВСЗ, ДСГ, а также глиоматозом головного мозга. Основной целью исследования является изучение эффективности совместного применения ВПК и химиолучевого лечения (РТ+темозоломид). Однако необходимо дальнейшее исследование перспектив использования ВПК и особенностей применения ВПК среди детей, отработка режимов её применения в программах комплексного лечения больных злокачественными глиомами не только как противосудорожного средства, но и в качестве препарата, улучшающего результаты противоопухолевой терапии.

Поэтому разработка новых терапевтических подходов, модификации вариантов РТ, включая определение ведущих молекулярных мишеней, актуальна и имеет большие перспективы в терапии ДСГ. Однако из-за сложного анатомического расположения опухолей, отсутствия необходимых биопсийных образцов, клинических баз данных или клеточных линий, полученных от пациентов, наше понимание биологии ДСГ и разработка таргетных методов лечения значительно затруднены.

### **1.4.3. Химиотерапия. Таргетная терапия.**

Опухолевые клетки способны к поддержанию пролиферативной передачи сигналов, уклонению от супрессоров роста, сопротивлению клеточной гибели, обеспечению репликативного бессмертия, индукции ангиогенеза, активации инвазии и метастазирования, перепрограммированию энергетического метаболизма и уклонению от иммунного разрушения [2, 183, 184]. Необходимо подчеркнуть, что одной из самых сложных проблем является способность раковых клеток ускользать от иммунной системы за счет многочисленных мутаций, возникающих в опухолевых антигенах. Тем самым для более эффективного воздействия на опухолевый процесс необходим именно комплексный подход, где различные виды терапии параллельно или последовательно воздействуют на многочисленные молекулярные мишени, играющие ведущую роль в канцерогенезе ДСГ, что позволяет блокировать все возможности опухоли к маскировке от иммунного надзора, повторной пролиферации и мутациям.

Важным методом терапии в нейроонкологии является ХТ, которая применяется как отдельный метод лечения, так в комбинации с РТ. Но, к сожалению, у детей с ДСГ значительного прогресса в части улучшения выживаемости при ее применении за последние десятилетия не было отмечено [144].

Основным компонентом в химиотерапии ГВСЗ как в монорежиме, так и в качестве радиосенсибилизатора является темозоломид (ТМЗ). Основной отличительной особенностью ТМЗ от многих других химиопрепаратов является его способность проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), что обеспечивает эффективность при применении у пациентов с ГВСЗ. В недавнем исследовании, проведенном Izzuddeen и соавт. в 2019 году, оценивалась эффективность применения ТМЗ после обычной РТ по сравнению с одной только РТ у 33 пациентов. Медиана общей выживаемости (ОВ) в экспериментальной группе составила 12 месяцев, при этом только на месяц больше, чем в группе обычного лечения. Однако имела место

значительная гематологическая токсичность, связанная с терапией ТМЗ [209]. В 2011 году Cohen и соавт. получили схожие результаты [122]. Результаты второго этапа исследования в Соединенном Королевстве (CNS 200704) с участием 43 пациентов также не показали никаких преимуществ при длительных режимах ТМЗ, назначаемых вместе с РТ, пациентам, которые получали только РТ [67]. Предполагается, что отсутствие нарушения ГЭБ при ДСГ по сравнению с другими глиомами объясняет ограниченное проникновение препарата и, следовательно, отсутствие ответа на лечение [112]. Проведенный анализ доступной научной информации позволяет констатировать некоторое увеличение продолжительности жизни и периода ремиссии заболевания для части больных злокачественной глиомой полушарий головного мозга после внедрения в клиническую практику ТЗМ. В то же время использование ТЗМ при диффузно растущих опухолях ствола мозга не улучшило результаты лучевой терапии, но увеличило токсичность [46].

Наличие ряда специфических мутаций, а также их комбинаций у пациентов с ДСГ определяет устойчивость к традиционным химиотерапевтическим препаратам.

Новые лекарственные подходы с доказанным успехом при других нейроонкологических злокачественных новообразованиях также были протестированы при ДСГ (этопозид, карбоплатин, винкристин, метотрексат, бусульфан и бевацизумаб). В исследовании, проведенном Farrar и соавт. рассмотрели целесообразность введения перед облучением цисплатина и метотрексата, показав увеличение медианы выживаемости до 17 месяцев, но параллельно данное лечение сопровождалось более высокой токсичностью. Тем самым это приводило к длительным госпитализациям в экспериментальной группе, получавшей ХТ в комбинации с РТ [153].

Hargrave и соавт. провели мета-анализ 29 клинических исследований с участием 973 пациентов и пришли к выводу, что нет выраженного

улучшения течения ГВСЗ до, во время или после обычной РТ, или в комбинации с ХТ [186].

Проводилось клиническое исследование (ACNS0822) [355], где сравнивались результаты лечения вориностатом, бевацизумабом (БВЦ) или ТМЗ, назначаемыми одновременно с обычной РТ с дальнейшим введением БВЦ и ТМЗ в качестве поддерживающей терапии. Отмечены значительные гематологические и системные токсические эффекты наряду с увеличением частоты внутричерепных кровоизлияний. В клиническом исследовании HERBY (NCT01390948) оценивалось добавление БВЦ к обычной РТ плюс ТМЗ. Это показало, что добавление БВЦ к РТ с ТМЗ не улучшало бессобытийную выживаемость [171].

Предпринята попытка высокодозной миелоаблативной химиотерапии с трансплантацией аутологичных стволовых клеток, но она оказалась безуспешной. Результаты этого исследования показали, что медиана выживаемости пациентов составила всего 10 месяцев без какой-либо существенной пользы по сравнению с одной только РТ [264].

Тем самым, это подтверждает тот факт, что ДСГ не реагируют как на традиционные методы терапии, так и на высоко цитотоксичные варианты химиотерапии. Выявление молекулярных мишеней даст возможность воздействовать на ДСГ более персонализировано, приводя к улучшению терапевтической эффективности, повышению безопасности и снижению риска нейротоксичности.

Выявление и изучение молекулярных мишеней, которые в большей степени отвечают за развитие и прогрессирование опухолей, приводит к созданию более безопасных и эффективных таргетных препаратов, обладающие целенаправленным воздействием (табл. 4).

**Таблица 4.** Таргетные препараты, применяемые при лечении ГВСЗ и ДСГ

Номер NCT	Заголовок	Способ лечения	Полученные результаты
NCT 02607124	Исследование эффективности применения рибоциклиба после РТ у детей с ДСГ (фазы I/II)	Рибоциклиб РТ	10 пациентов. 1-летняя и медиана ОВ составила 89% и 16,1 месяцев соответственно. Введение рибоциклиба после ЛТ не приводит к значительному улучшению ОВ [130].
NCT 01189266	Исследование эффективности применения вориностата и РТ с последующей поддерживающей терапией вориностатом у детей с ДСГ: отчет группы детских онкологов (фазы I/II)	Вориностат РТ	12 человек. вориностат, назначаемый одновременно с РТ и с последующим его введением, хорошо переносился детьми, но не улучшал годовую ОВ [398].
NCT 00036569	Исследование фазы II пегилированного интерферона альфа 2b у детей с ДСГ	Адьювантная терапия Пегилированный интерферон альфа	32 пациента с ДСГ. Исследование не привело к значительному улучшению 2-летней ОВ у детей с ДСГ [429]
NCT 01514201	Велипариб, РТ и темозоломид при лечении пациентов с впервые диагностированными ДСГ	Темозоломид Велипариб РТ	66 пациентов. Добавление велипариба к РТ с последующим введением ТМЗ не улучшало выживаемость пациентов с ДСГ с 1- и 2-летней ОВ 37,2% и 5,3%, соответственно [73]
NCT 00879437	Применение вальпроевой кислоты, РТ и БВЦ у детей с ДСГ	Вальпроевая кислота БВЦ РТ	20 пациентов с ДСГ. Добавление вальпроевой кислоты и бевацизумаба к лучевой терапии не улучшало бессобытийную выживаемость (7,8 мес) или ОВ (10,3 мес) у детей с ДСГ [399]
NCT 01836549	Иметелстат натрия в лечении молодых пациентов с рецидивирующими или рефрактерными опухолями головного мозга	Иметелстат натрия	42 пациента и 9 пациентов с ДСГ. объективных результатов в когорте ДСГ не наблюдалось [369]
NCT 03257631	Исследование монотерапии помалидомидом у детей с рецидивирующими и прогрессирующими первичными опухолями головного мозга	Помалидомид	52 пациента, 11 пациентов страдало ДСГ. В когорте ДСГ объективного ответа не наблюдалось, медиана ОВ составила 5,06 месяца [145]

Следует упомянуть и о токсичности для ЦНС различных методов терапии, что в свою очередь приводит к развитию множества побочных эффектов при лечении онкологических больных. Некоторые осложнения со стороны ЦНС возникают во время лечения, в то время как другие возникают через месяцы или даже годы спустя. Было признано, что РТ, традиционная цитотоксическая ХТ и новые таргетные методы лечения вызывают побочные эффекты со стороны ЦНС; кроме того, риск нейротоксичности может увеличиваться при комбинированной терапии [167, 168].

Однако, несмотря на то, что РН достаточно хорошо описан, частота его возникновения у детей неизвестна достаточно хорошо [113, 224, 271]. Кроме того, эпидемиологические данные о РН в большинстве случаев представлены взрослыми пациентами.

В одних из первых отчетов Marks и его коллег включили 21 ребёнка в возрасте до 15 лет в общей выборке исследования из 152 пациентов [271], где у одного ребёнка (10 лет) с нейрофиброматозом, получившего 60 Гр по поводу астроцитомы правой лобной доли, развился симптоматический РН в течение 5 месяцев после лечения. Kalapurakal J. и соав. рассмотрели 33 ребёнка, получавших РТ по поводу различных опухолей головного мозга [224]. В этой группе у одного ребёнка (3,0%) с глиомой моста низкой степени злокачественности развился симптоматический РН через 1 год после РТ. Также были описаны серии псевдопрогрессий у детей с опухолями головного мозга, проходивших лечение в Университете Рочестера [61]. В исследование был включен 141 ребёнок, где 77 детей получили РТ, 17 из них имели изменения изображения, соответствующие РН/псевдопрогрессированию со средним сроком начала через 2,4 месяца (диапазон 0,7–8,3).

В 2015 году Plimpton S. R. и соавт. [340] проанализировали частоту возникновения РН у детей с опухолями головного мозга: **частота** - 5%, что выше, чем можно было бы предсказать на основе анализа данных QUANTEC по взрослым. Кроме того, среднее время появления РН было коротким (1,2 месяца), в то время как у взрослых, страдающих глиомами, среднее время до

РН составило 11,6 месяцев [364]. Указанные различия объясняются повышенной чувствительностью развивающегося мозга детей к РТ, что также сопровождается более частым и тяжелым нейрокогнитивным дефицитом, наблюдаемым у детей младшего возраста после РТ [281].

Рост и распространение метастазов опухоли напрямую зависит от степени развития микрососудов в малигнизированной ткани, поэтому блокирование ангиогенеза является наиболее эффективным решением при терапии ДСГ, характеризующихся высокой степенью васкуляризации [318]. Данный факт необходимо учитывать при выборе методов лечения РН головного мозга, так как в основе его развития также лежит сосудистый механизм [284].

Касательно таргетной терапии, то существует генно-инженерный биологический препарат, который прицельно подавляет процесс ангиогенеза – БВЦ (рекомбинантное гиперхимерное гуманизированное моноклональное антитело). Клинические исследования продемонстрировали, что БВЦ увеличивает показатель выживаемости без прогрессии опухоли [178, 318, 342], приостанавливает прогрессию ГБ и сдерживает перитуморальный отек [306, 313, 317, 318, 342]. В 2011 году Levin и соавт. опубликовали собственные данные проспективного рандомизированного исследования, где пациенты с опухолями головного мозга и РН находились на терапии БВЦ [249]. Оценивалось влияние препарата на рентгенографическую и клиническую активность, где среднее процентное изменение объема РН в постконтрастных исследованиях T1 и FLAIR составило 59% и 63% соответственно. Результаты исследования, проведенного Voothe и соавт., также подтверждают, что лечение БВЦ может привести к резкому уменьшению воспаления и отеков. В последующем результаты многих исследований подтвердили эффективность данного моноклонального антитела в качестве препарата для лечения РН головного мозга [89].

Однако размер выборки в большинстве исследований был небольшим, и многие исследования представляли собой отчеты; в результате многие

вопросы остаются без ответа. Поэтому необходимы дальнейшие исследования, которые смогли бы заполнить многочисленные пробелы, касающиеся профилактики и терапии РН.

Безусловно, БВЦ является одним из наиболее эффективных препаратов таргетной терапии, который сужает кровеносные сосуды, уменьшает сосудистую проницаемость при РН головного мозга и уменьшает отек головного мозга, тем самым облегчая симптомы пациента и улучшая качество жизни. Однако некроз необратим, и до тех пор, пока сохраняется патологическая основа для некроза, новые сосуды будут образовываться и приводить к прогрессированию патологического процесса.

Поскольку раннее выявление заболевания и своевременное начало РТ способствуют увеличению ОВ детей с опухолями мозга, снижение токсичности для здоровых тканей головного мозга должно быть приоритетной задачей для радиотерапевта.

#### **1.4.4. Поиск инновационных методов лечения**

Первые результаты изучения ДСГ на молекулярно-генетическом уровне показали, что опухоли постоянно эволюционируют и имеют поликлональную, генетически и фенотипически гетерогенную популяцию клеток с множественными геномными изменениями, дисрегулированными внутриклеточными сигнальными путями, пластично реорганизующуюся в процессе терапии. Тем самым данные особенности ДСГ делают существующую терапию малоэффективной. В связи с этим поиск новых эффективных методов противоопухолевой терапии остается крайне актуальным.

#### **Иммунотерапия**

Иммунотерапия — это новая терапевтическая область, в которой используется множество различных методов для стимуляции существующего иммунного ответа организма на рак. Данная терапия продемонстрировала заметный успех при гематологических злокачественных новообразованиях,

невосприимчивых к традиционным методам лечения, таким как хирургическое лечение, РТ и ХТ [85, 173, 210].

Т-клеточная терапия химерным рецептором антигена (CAR)-Т-клеточная терапия) — это новая форма лечения рака, одобренная FDA. Терапия, разработанная на собственных Т-клетках пациента для поиска и уничтожения раковых клеток, внесла значительный вклад и произвела переворот в мире иммуноонкологии. CAR является модифицированным поверхностным рецептором, который прибавляет специфичность Т-клеткам к предварительно определенному антигену-мишени, выставленному на опухолевых клетках. Эти синтетические рецепторы интегрируются в Т-клетки, полученные от пациента, и повторно вводятся пациенту: таким образом, они представляют собой особый вид персонализированной терапии опухолей [175, 221, 311, 367].

Впервые о CARs было сообщено в середине 1980-х годов [303]; однако они были успешно внедрены в клиническую практику только в последние годы. Конструкция CAR сложна: от внеклеточного до внутриклеточного домена они сконструированы с использованием короткоцепочечного вариабельного фрагмента (scFv), который непосредственно связывается с выбранным антигеном, шарнирно-линкерной областью, трансмембранным доменом, костимулирующим доменом и внутриклеточным сигнальным хвостом CD3z [72, 83, 303].

Терапия CAR-Т-клетками нацелена на опухолеспецифические антигены и может быть более полезной при опухолях головного мозга у детей, у которых отсутствует высокая мутационная нагрузка соматической опухоли. В 2016 году было продемонстрировано первое доказательство того, что терапия CAR-Т-клетками при опухолях головного мозга может привести к клинической и рентгенологической регрессии. В частности, повторное внутривенное и интратекальное введение CAR-Т-клеток, нацеленных на рецептор  $\alpha 2$  интерлейкина-13 (IL-13Ra2), антиген, ассоциированный с глиомой, продемонстрировало выраженную регрессию опухоли в

мультифокальных участках у одного взрослого пациента с ГВСЗ; однако рецидив у пациента произошел через 6 месяцев с опухолью, не содержащей антигена (IL-13Ra2-отрицательный) [94, 263, 290]. Следует также отметить, что, хотя в этой публикации сообщалось только об одном пациенте из когорты из семи пациентов, участвовавших в исследовании I фазы (ClinicalTrials.gov NCT02208362), исследование все еще продолжается, и его результаты еще не опубликованы. Несмотря на единичный рецидив с удаленной антигеном опухолью, это исследование показало, что CAR-T-клетки могут быть безопасно доставлены в мозг без тяжелой нейротоксичности или синдрома высвобождения цитокинов [94].

Опубликованные клинические исследования CAR-T-клеточной терапии при глиальных опухолях ЦНС включают CARs, направленные против антигенов-мишеней HER2 [51] и варианта III рецептора эпидермального фактора роста (EGFRvIII) [118, 322].

Таким образом, успешное применение иммунотерапии при ДСГ у детей сама по себе сложная особая задача из-за уникальности растущего мозга ребенка. Но для более глубокого понимания необходимы дальнейшие исследования нормальной иммунной среды головного мозга ребенка и их изменений на клеточном уровне при развитии патологии. Также необходимо рассмотреть вопрос о том, как наилучшим образом отслеживать реакцию на терапию в этом относительно труднодоступном месте и управлять потенциально повышенными рисками нейротоксичности.

### **Онколитическая виротерапия**

История виротерапии началась в 1904 г., когда George Dock описал клинический случай с резким снижением числа лейкоцитов у больного лейкозом после перенесенного гриппа [132]. В дальнейшем в 1912 г. Nicola De Rube описал случай исчезновения раковой опухоли шейки матки у пациентки после введения живой вакцины против бешенства в связи с укусом собаки. В 1940 г. Pask провел первые клинические испытания,

применив вакцину против бешенства для лечения меланомы, что вызвало частичную ремиссию заболевания [327].

Современная эра онколитической виротерапии началась в 90-х годах прошлого столетия, когда развитие генной инженерии сделало возможным конструирование вирусного генома, а понимание основных молекулярно-генетических механизмов канцерогенеза и вирусной инвазии позволило определить мишени, обеспечивающие тропность вирусов к опухолевым клеткам.

Онколитическими вирусами могут быть непатогенные или слабопатогенные для человека вирусные штаммы «дикого типа» и естественно ослабленные штаммы, используемые без генетических модификаций (например, реовирус). Кроме того, создаются генетически модифицированные вирусы с изменениями в геноме, приводящими к снижению вирусной патогенности и повышению терапевтического эффекта [66].

Первый лабораторный вирус для онколитической терапии был создан на основе Herpes simplex virus (HSV; вирус простого герпеса) в 1991 г. R. Martuza и соавт. [273]. В 1996 г. были опубликованы данные о первом генно-инженерном онколитическом аденовирусе [86]. В настоящее время известны более 20 потенциальных онколитических вирусов более чем из 10 различных вирусных семейств. В фазе клинических испытаний находятся онколитические вирусы, созданные на основе HSV, аденовируса, вируса болезни Ньюкасла, реовируса, парвовируса H1, вируса кори, вируса полиомиелита.

Однако опасения, связанные с возможным развитием серьезных побочных эффектов и появление химиотерапии, остановили ранний прогресс онколитической виротерапии [391]. ДСГ особенно подходят для терапии онколитическими вирусами из-за локализации опухоли в головном мозге, отсутствия отдаленных метастазов и окружения роста опухоли в основном

постмитотическими клетками, что позволяет использовать вирусы, для репликации которых требуются активные клеточные циклы [440].

Онколитическая виротерапия представляет собой многообещающую форму иммунотерапии для лечения ДСГ, которую можно разделить на две группы: 1) вирусы, обладающие способностью к репликации в раковых клетках для их уничтожения; и 2) вирусные векторы с дефицитом репликации, используемые в качестве средств доставки терапевтических генов.

В настоящее время специфические онколитические вирусы были генетически нацелены на связанные с патогеном рецепторы, присутствующие на опухолевых клетках, чтобы достигнуть эффективной и селективной репликации. Вирусная инфекция и амплификация в конечном итоге вызывают у хозяина противоопухолевый иммунный ответ и уничтожают раковые клетки.

Недавно Desjardins и соавт. описали новый метод усиленной конвекционной доставки (CED) рекомбинантной непатогенной химеры полиомиелита-риновируса (PVSRIPO) [129]. PVSRIPO - представляет собой генетически рекомбинантный непатогенный полиовирус: риновирусная химера с опухолеспецифическим фенотипом условной репликации. Предварительные данные показали, что выживаемость среди пациентов, получавших иммунотерапию PVSRIPO, была выше через 24 и 36 месяцев, чем среди контрольной группы. На основании результатов I фазы на данный момент проводится рандомизированное исследование II фазы (NCT02986178) применения только PVSRIPO или в комбинации с одноцикловым приемом ломустина у пациентов с рецидивирующей ГБ [362].

На данный момент проводятся многочисленные исследования с использованием модифицированных конструкций HSV, это может быть вариантом для использования в качестве кандидата для терапии ГБ. Следует отметить, что, несмотря на общую безопасность применения онколитической

виротерапии, умеренная клиническая эффективность пока не соответствует доклиническим ожиданиям лабораторных экспериментов.

Будущее направление онколитической вирусной терапии необходимо сосредоточить на комбинациях с другими видами терапии, так как именно комплексный подход в лечении ДСГ является наиболее эффективным и безопасным.

### **Вакциноterapia**

Вакциноterapia против рака показала большие перспективы как с профилактической, так и с терапевтической точки зрения [202, 375]. Учитывая, что антигены, специфичные для ГБ, встречаются редко, мишенями являются антигены, ассоциированные с опухолью. На сегодняшний день лишь несколько препаратов прошли в III фазу клинических испытаний среди пациентов, страдающих ДСГ. Наиболее изученным опухолеспецифичным антигеном является EGFRvIII, который является конститутивно активной мутантной формой EGFR, экспрессируемой только в 25-30% ГБ [370].

Риндопепимут (также известный как CDX-110), пептидная вакцина, нацеленная на EGFRvIII, была протестирована в нескольких клинических испытаниях. Было проведено международное исследование (NCT01480479) для оценки эффективности риндопепимута у пациентов с диагностированной EGFRvIII-положительной GBM. Анализ первичного исследования не показал преимущества в выживаемости пациентов, которые получали риндопепимут с TMZ по сравнению с теми, кто получал только TMZ. Данные двойного слепого рандомизированного исследования II фазы (NCT01498328) в небольшой когорте пациентов с рецидивирующим EGFRvIII-положительной ГБ свидетельствуют о благоприятных результатах применения риндопепимута в сочетании со стандартным БВЦ по сравнению с приемом только БВЦ [431][354].

Подводя итог, текущие результаты клинических испытаний вакцин против ГВСЗ не очень многообещающие, отсутствие ГБ-специфического

антигена и высокая гетерогенность опухолей создают проблемы для вакцинотерапии ГБ.

В последнее время достижения в секвенировании следующего поколения и новые инструменты биоинформатики позволили систематически открывать опухолевые неоантигены, формирующиеся благодаря соматическим мутациям опухоли, что и делает их опухолеспецифичными [87]. Неоантигены высокоспецифичны для отдельных пациентов, и, следовательно, противораковые вакцины, нацеленные на неоантигены, могут эффективно запускать реакции Т-клеток *de novo* против неоантигенов, тем самым достигая персонализированного точного лечения. Первоначальные исследования персонализированных вакцин на основе неоантигена продемонстрировали надежную опухолеспецифическую иммуногенность и противоопухолевую активность у пациентов, страдающих меланомой и другими видами рака [87][230].

Учитывая, что вакцины, нацеленные на неоантиген, способны изменять микроокружение ГБ, сочетание вакцинации с другими методами терапии, такими как ингибирование иммунных контрольных точек, может иметь больше перспектив и возможностей.

Учитывая, что отсутствие высокой экспрессии ДСГ-специфических антигенов является ограничивающим фактором при разработке стратегий на основе пептидных вакцин, персонализированные вакцины на основе неоантигенов привлекли большое внимание при вакцинотерапии опухолей, хотя их клиническая эффективность требует дальнейшего изучения.

### **Фокусированная ультразвуковая терапия**

Методы улучшения доставки терапевтических агентов к опухолевым клеткам варьируются от химического разрушения самого ГЭБ до модификации терапевтических агентов и их носителей [366]. Также существует и другой многообещающий метод, который предполагает временное механическое вскрытие ГЭБ целенаправленным и

локализованным образом с помощью МР-управляемого сфокусированного ультразвука (MRgFUS) для доставки лекарств [194].

ГЭБ — это полупроницаемая мембрана, которая отделяет мозг от кровеносного русла. Этот барьер состоит из эндотелиальных клеток, астроцитов и перицитов. Мембрана имеет особо «плотное» расположение капилляров, что и является основой барьера, предохраняющего мозг от проникновения большинства веществ, циркулирующих в крови, что и представляет особую проблему для доставки лекарств [105].

После нескольких десятилетий доклинических исследований сфокусированная ультразвуковая терапия была впервые применена у пациентов, страдающих ГБ [136], а в 2016 году проведено первое одноцентровое исследование (NCT02253212) для оценки безопасности и возможности повторного применения сфокусированной ультразвуковой терапии при рецидиве ГБ. Результаты показали, что сфокусированная ультразвуковая терапия как новый метод лечения пациентов с ГБ был безопасным и необременительным [105, 207]. Кроме того, сфокусированная ультразвуковая терапия может сочетаться с другими методами лечения с целью улучшения результатов терапии [207].

Не нарушая целостности окружающих тканей, высокоинтенсивный сфокусированный ультразвук позволяет разрушать ткань опухоли, то есть, осуществлять «неинвазивную операцию». Для достижения этого эффекта используются звуковые волны частотой 0,8—4 МГц с интенсивностью 100—10 000 Вт/см<sup>2</sup>. Интенсивность ультразвука, применяемого с терапевтической целью, подразделяется на высокую (1000 - 10000 Вт/см<sup>2</sup>), среднюю и низкую (<3 Вт/см<sup>2</sup>). Для сравнения: при ультразвуковой диагностике мощность воздействия на ткани колеблется от 0,004 до 7,5 Вт/см<sup>2</sup> [18, 24].

На сегодняшний день существуют и другие методы механического разрушения ГЭБ — это гистотрипсия, в основе которой лежит технология пульсирующего сфокусированного ультразвука, где инициирование и контроль акустической кавитации позволяет проводить точную

механическую фрагментацию тканей. Также была создана методика применения низкоинтенсивного фокусированного ультразвука (НФУ). Как показали доклинические и клинические исследования, она способна временно (на 24-72 часа), без повреждения тканей открывать ГЭБ, способствуя проникновению противоопухолевых препаратов в зону расположения глиомы, причем возможны повторные сеансы ее проведения. Данная методика предусматривает использование ультразвуковых волн низкой мощности в сочетании с вводимыми внутривенно микропузырьками [30]. Когда проходящие по кровеносному руслу микропузырьки подвергаются воздействию НФУ, они начинают периодически расширяться и сокращаться. Этот процесс носит название стабильной кавитации, он оказывает механическое воздействие на стенки сосудов, приводя к реорганизации белков с плотными контактами и усилению проникновения лекарственных препаратов через ГЭБ. При этом, благодаря указанному феномену кавитации, для нарушения ГЭБ требуется меньшая мощность ультразвука, что обеспечивает ее безопасность, показанную в ряде экспериментов на мелких и крупных животных. Однако обратная сторона этого метода – замедление выведения противоопухолевых препаратов из ткани головного мозга [56, 80, 243, 251, 332, 411]. Кроме того, временное нарушение ГЭБ при воздействии НФУ может вызывать острую воспалительную реакцию, приводящую к активации элементов иммунной системы в микроокружении ГЭБ [80].

Разрабатывается новое направление - сонодинамическая терапия (СДТ), при которой ФУ локально преобразует неактивное в отношении опухоли вещество в противоопухолевый препарат. В качестве соносенсибилизирующего вещества, применяют, например, препараты 5-ALA и Флуоросцеин. Эти препараты селективно накапливаются в опухолях, таких, как ГЭБ, и применяются в настоящее время для улучшения визуализации опухоли во время нейрохирургического вмешательства, поскольку они активируются не только звуком, но и светом [359].

Одним из многообещающих направлений в поиске эффективного метода лечения ДСГ является тераностика, которая значительным образом помогает таргетной терапии. В данном случае альтернативной стратегией доставки лекарств непосредственно в опухолевую ткань, полностью минуя ГЭБ, является CED [455]. Это относительно мало рискованный метод введения терапевтических препаратов непосредственно в опухоль головного мозга и вокруг нее посредством гидравлического давления через микрокатетеры [455]. Он предназначен для направления лекарств в определенную область мозга в эффективных концентрациях. Различные агенты тестируются на стабильность и эффективность при использовании с CED. В литературе изложен результат использования усиления конвекции для доставки радиоиммунотерапевтического агента детям [392]. Первые результаты показали, что общая выживаемость составляет 15,3 месяца, при этом трое детей прожили более трех лет [404]. В другом исследовании, проведенном Szychot et al., девять детей лечили CED инфузиями Карбоплатина и Вальпроата натрия, которое показало долгосрочную выживаемость пациентов. Поскольку CED концентрирует лекарства в определенной области мозга, в связи с этим системная токсичность ограничена [148].

Таким образом, накопленный опыт применения различных современных методов терапии ДСГ недостаточен для достижения значительного клинического эффекта, поэтому необходимо применять комбинированный подход, являющийся более перспективным. Несмотря на достигнутые клинические результаты, продолжение исследований оправдано, учитывая ускоряющиеся темпы прогресса. Кроме того, необходимо учесть значимый вклад ГЭБ в безуспешность лечения при ДСГ. Тем самым необходимо задуматься о более безопасной и эффективной технологии разрушения ГЭБ или разработке агентов, проникающих через ГЭБ, также возможно создание технологии доставки имплантируемых лекарств в обход ГЭБ.

Таким образом, на данный момент успехи в терапии ДСГ незначительны, так как существующие виды хирургического и консервативного (РТ и ХТ) лечения с помощью различных вариантов фракционирования дозы облучения и применения цитотоксических препаратов в большинстве случаев позволяют достичь только временного улучшения и некоторого продления срока жизни. Шансы на достижение стойкого эффекта полностью зависят от биологических особенностей опухоли.

Благодаря проводимым исследованиям молекулярного и эпигенетического ландшафта опухолей ЦНС за последние десятилетия стало возможным понимание особенностей их патогенеза. Тем самым это позволит в ближайшем будущем разработать более перспективные методы терапии, а также оценить все риски и прогноз нейроонкологических заболеваний.

Необходимо учитывать и микроокружение опухолей, что является неблагоприятным фактором для воздействия противоопухолевых препаратов, поэтому мы должны осознавать эту сложность при разработке новых методов терапии или при совершенствовании существующих. Также необходимо отметить и радиорезистентность опухолей, что создает целый ряд трудностей. Следовательно, так актуальны именно комплексные подходы в лечении ДСГ. Учитывая, что иммунотерапия и традиционное лечение воздействуют на разные мишени, синергическое или комбинированное лечение может достичь лучших терапевтических результатов.

На сегодняшний день использование данных, полученных в ходе клинических исследований, при создании новых методов лечения является трудоёмким процессом, так как сохраняются вопросы касательно ключевых молекулярных мишеней в канцерогенезе и преодоления резистентности к препаратам. Однако созданная и постоянно совершенствующаяся таргетная терапия может быть многообещающим и результативным направлением в лечении ДСГ, в особенности в комбинации с РТ.

Современные подходы в лечении ДСГ должны учитывать гетерогенность опухолей, молекулярные мишени и проницаемость ГЭБ. Также необходимо принимать во внимание необходимость комплексного лечения ДСГ, чтобы иметь возможность воздействовать на различные стороны опухолевого процесса. В эпоху развивающихся технологий в области молекулярно-генетических исследований появилась уникальная возможность улучшить результаты лечения пациентов с ДСГ. Возможности анализа течения заболевания в динамике с помощью применения текстурного анализа параллельно с МР- контролем поможет своевременно персонализировать противорецидивное лечение. Также существует необходимость найти связь между геномными, эпигенетическими и протеомными данными с множеством различных таргетных средств, чтобы преобразовать это в значимые методы лечения и улучшить клинические результаты для больных с ДСГ.

## **ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1. Дизайн исследования**

На базе отделений клиники лучевой терапии ФГБУ «Российского научного центра рентгенорадиологии» (РНЦРР), в период с 2014 по 2023 г.г. проведено лечение 559 пациентов со злокачественными глиомами головного мозга. Из данной выборки в раздел молекулярно-биологического исследования было включено 209 пациентов, из них 128 пациентам проводилось хирургическое лечение с последующей гистологической оценкой операционного материала и молекулярно-генетическим исследованием ткани опухоли (рис.3).

Участие в исследовании являлось добровольным, до включения в исследование с пациентом или его законным представителем врачом была проведена беседа, в которой был подробно разъяснен ход исследования, обозначены возможные риски. Пациентом или его законным представителем подписано информированное добровольное согласие на участие в исследовании (форма информированного добровольного согласия утверждена на заседании Независимого этического комитета ФГБУ «РНЦРР» Минздрава России, протокол № 3/2022 от 12.12.2022г). Все исследования с участием пациентов проведены с соблюдением принципов и требований, надлежащей клинической практики, в соответствии с этическими нормами и требованиями Хельсинкской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации (64-я редакция, октябрь 2013 г.).

Набор пациентов и основные этапы исследования проведены в условиях стационара. Данное исследование также включало ретроспективный анализ клинико-рентгенологических данных, лечебной тактики, ближайших и отдаленных результатов лечения 209 пациентов, катамнез которых был прослежен вплоть до конца 2024 года (табл.5).

**Таблица 5.** Общая характеристика 209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 пациентов с ДСГ

Характеристика		Показатель
Пол	Мужской	52.6% (n=110)
	Женский	47.4% (n=99)
Возраст, Me [Q25%;Q75%] лет		20.82 [7.0;25.0]
Возраст	До 18 лет	74.2% (n=155)
	19 лет и более	25.8% (n=54)
Объем опухоли по данным МРТ, Me [Q25%;Q75%] см <sup>3</sup>		55.70 [22.96;74.33]
Локализация	C71.0 (большой мозг, кроме долей и желудочков)	0.9% (n=2)
	C71.1 (лобная доля)	8.1% (n=17)
	C71.2 (височная доля)	4.7% (n=10)
	C71.3 (теменная доля)	1.9% (n=4)
	C71.4 (затылочная доля)	0.9% (n=2)
	C71.5 (желудочек мозга)	0.9% (n=2)
	C71.6 (мозжечок)	5,3%(n=11)
	C71.7 (ствол мозга)	52.6% (n=109)
	C71.8 (поражение головного мозга более одной локализации)	10.0% (n=21)
	C71.9 (неуточненная локализация головного мозга)	12.9% (n=27)
	C72 (спинной мозг)	1.4% (n=3)
	D33.1 (доброкачественное образование ЦНС)	0.5% (n=1)
Локализация	Диффузная опухоль ствола	52.6% (n=109)
	Диффузная опухоль таламуса	10.0% (n=21)
	Другие локализации	37.4% (n=79)
Хирургическое лечение		61.2% (n=128)
NGS, ткань		96 образцов
NGS, ликвор		21 образец
цкПЦР, ликвор		96 образцов
цкПЦР, кровь		627 образцов

Для анализа информации источником исследования являлась первичная медицинская документация: истории болезни стационарного больного, амбулаторные карты, МР-данные перед началом РТ или химиолучевой терапии, технологические карты лучевой терапии. Нами также были разработаны следующие критерия включения:

1. Возраст пациента более 3-х лет;
2. Первичные больные с глиомами высокой степени злокачественности головного мозга с обязательным морфологическим подтверждением;

3. Первичные не оперированные, но имеющие характерную клиничко-рентгенологическую картину диффузной срединной глиомы;
4. Пациенты должны иметь неврологический статус Карновского (для пациентов старше 16 лет) или Лански (для пациентов моложе или равный 16 годам), превышающий или равный 50%, оцененный в течение двух недель после включения в исследование;
5. Пациенты не должны получать какую-либо предшествующую химиотерапию, лучевую, таргетную, иммунотерапию, вирусотерапию;
6. Срок МР-исследования перед началом курса РТ или ХЛТ не должен превышать 2-3 недели;
7. Пациенты должны начать лучевую терапию в срок не более 30 дней после операции или установки рентгенологического диагноза;
8. Все пациенты и/или их законные представители должны подписать письменное информированное согласие.

Также мы учли и критерии исключения:

1. Пациенты, получающие противоопухолевую многокомпонентную терапию;
2. Пациенты с неконтролируемыми инфекционными заболеваниями;

Пациентам было проведено гистологическое исследование ткани опухоли, где было установлено следующее:

- гистология Gr 1-2 (низкая степень злокачественности опухоли мозга) – 10
- гистология Gr 3-4 (высокая степень злокачественности опухоли мозга) – 118

В последующем были сформированы 3 исследовательские группы (рис.3):

1 группа – 96 больных, которым на первом этапе было проведено хирургическое вмешательство различного объёма, которое позволило в дальнейшем провести молекулярно-генетическое исследование материала опухоли с целью определения мутационного статуса генов BRAF (мутация

V600E), H3F3A (мутация K27M), IDH1(мутация R132H) и IDH2 (мутация R140Q).

59 пациентам с ГВСЗ из этой группы после проведения молекулярно-генетического исследования материала опухоли было проведено взятие ликвора накануне курса РТ и периферической венозной крови трижды (накануне, в процессе и после проведения курса РТ), с последующей оценкой количества свободно циркулирующей мутантной ДНК и ДНК «дикого типа» для генов BRAF (мутация V600E), H3F3A (мутация K27M), IDH1 (R132H) и IDH2 (R140Q). Диагноз диффузная срединная глиома (ДСГ) был установлен для 28 больных этой подгруппы.

2 группа - 96 пациентов, которым была выполнена процедура взятия материала ликвора и периферической крови до проведения этапа химиолучевого лечения с последующей оценкой количества свободно циркулирующей мутантной ДНК и ДНК «дикого типа» для генов BRAF (мутация V600E), H3F3A (мутация K27M), IDH1 (R132H) и IDH2 (R140Q). У 57 больных этой группы были зафиксированы ДСГ.

3 группа - 209 пациентов, процедуры взятия образцов периферической крови были проведены до начала (индекс в данных 1), в процессе проведения (индекс 2) и после завершения дистанционной лучевой терапии (индекс 3) с последующей оценкой количества свободно циркулирующей мутантной ДНК и ДНК «дикого типа» для генов BRAF (мутация V600E), H3F3A (мутация K27M), IDH1 (R132H) и IDH2 (R140Q). У 130 пациентов из этой группы (в том числе детей - 122) был установлен диагноз ДСГ.

Всем пациентам перед началом специфической терапии были выполнены следующие исследования:

- 1) МРТ головного мозга как с контрастным усилением, так и без него (по показаниям);
- 2) оценка соматического и неврологического статуса, нейроофтальмологическое обследование;

3) консультация детского онколога для определения показаний к адьювантной химиотерапии, нейрохирурга для определения показаний и объема нейрохирургического лечения, а также при наличии гидроцефалии - определение показаний к выполнению вентрикулоперитонеального шунтирования.

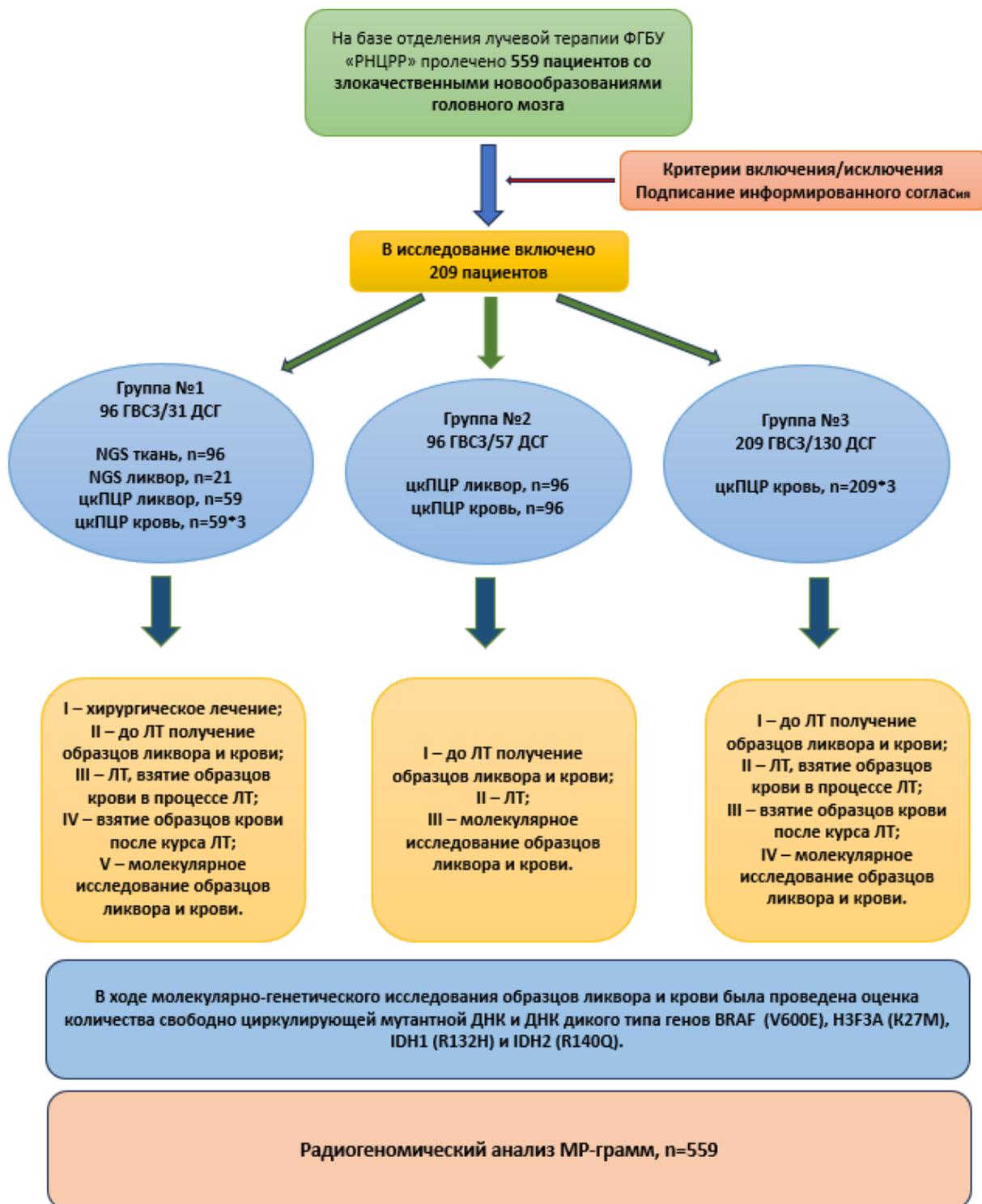


Рисунок 3. Дизайн раздела молекулярно-биологического исследования.

После установки окончательного диагноза, анализа данных МРТ ЦНС и гистологической картины опухоли прооперированных больных, стадирования процесса, пациентам проводилось лучевое или химиолучевое лечение.

## **2.2. Методы исследования**

### **2.2.1. Консультация онколога и нейрохирурга**

В процессе исследования у всех пациентов был собран тщательный анамнез. Клиническая картина заболевания при первичном обращении в основном выражалась локальными симптомами поражения стволовых структур, которые схематично можно разделить на две основных группы: симптомы поражения структур моста (нарушение функции черепно-мозговых нервов) и поражения длинного тракта (парезы и параличи конечностей).

Характерные симптомы при ГВСЗ зависят от расположения опухоли и ее размера, поэтому они крайне разнообразны и могут включать судороги, расстройства речи, памяти, двигательные нарушения и другие. Поражение лобной доли сопровождается когнитивными нарушениями, внезапными судорогами, парезами мышц конечностей (с противоположной от опухоли стороны) и нижней половине лица. При поражении теменной доли могут возникать болевые парестезии, также пациент не ощущает в пространстве положения руки, наблюдается апраксия и атаксия – невозможность совершать согласованные движения конечностями; возникают судороги, нарушения движений, двусторонняя апраксия. Симптоматика поражений височной доли характеризуется возникновением галлюцинаций (зрительных, вкусовых, обонятельных, слуховых). Когда глиома затрагивает зрительный тракт, происходит частичная слепота, выпадают поля зрения со стороны расположения опухоли [154, 248, 377, 430].

У части больных присутствовало сочетание обеих групп симптомов и общемозговые нарушения: головная боль, тошнота, изменения поведения за

счет повышения внутричерепного давления вследствие компрессии ликворопроводящих путей. Кроме того, в процессе консультации нейрохирург определял специфику и особенности возникновения заболевания.

В дальнейшем диагноз устанавливался на основании полученных клинико-anamnestических данных и результатов МРТ головного мозга с контрастным усилением, у пациентов, которым было проведено хирургическое лечение, диагноз формировался с учетом гистологической и, при наличии, молекулярно-генетической картины.

После получения соответствующих результатов нейрохирург решал вопрос с определением показаний и объема нейрохирургического лечения, а также при наличии гидроцефалии - определение показаний к выполнению вентрикулоперитонеального шунтирования.

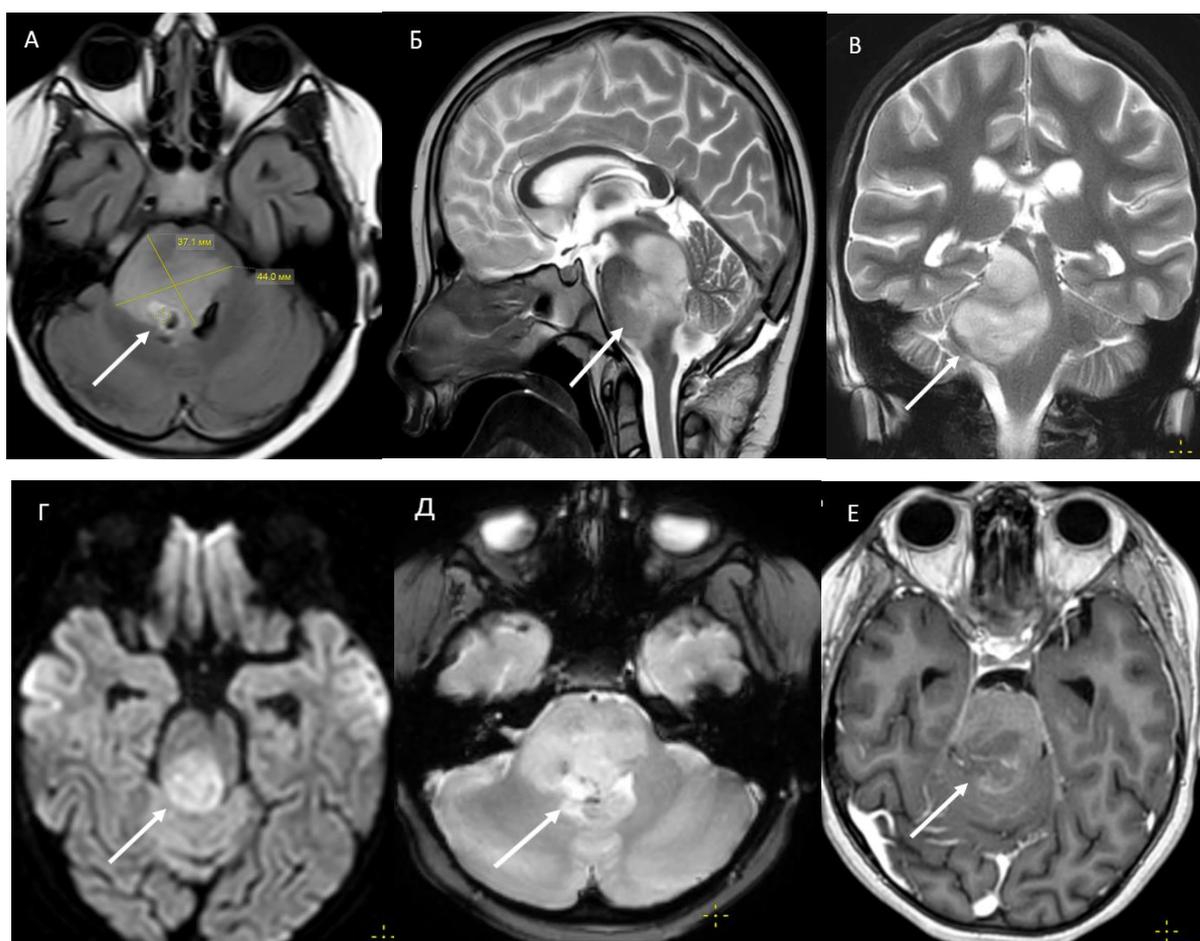
#### **2.2.2. Инструментальные методы обследования**

Магнитно-резонансная томография (МРТ) головного мозга проводилась на томографах «Siemens Aera» 1,5Т и «Canon Vantages» 1,5Т с использованием головных катушек (HEAD), в положении пациента на спине, головой вперед. Перед исследованием пациентов детского возраста, в отдельных случаях, для уменьшения двигательных артефактов изображения, использовались разрешенные для детского возраста препараты для седации. При этом обязательным условием во время всей процедуры было нахождение в кабинете МРТ рядом с пациентом его родственника, что так же оказывало успокаивающее действие. Перед проведением МР-исследования с родственниками проводился инструктаж по технике безопасности. Так же, для уменьшения беспокоящих негативных воздействий на пациента, перед исследованием в отделении стационара устанавливался внутривенный катетер в подключичную или локтевую вену для упрощения процедуры внутривенного контрастного усиления.

Проведение МРТ-исследований с использованием внутривенного наркоза в клинике ФГБУ «РНЦРР» не осуществлялось.

Протокол исследования включал аксиальные проекции импульсных последовательностей T2ВИ, FLAIR, T1ВИ, DWI, T2\*\_hemo. Так же выполнялась сагиттальная проекция T2ВИ и коронарная проекция в режиме T2ВИ или FLAIR со стандартными параметрами TR и TE. Толщина среза во всех доконтрастных последовательностях составляла 3мм с интервалом реконструкции (gap) 1 мм. При наличии больших размеров образований (более 30 мм), для сокращения времени исследования, межсрезовый интервал мог быть увеличен до 2-3 мм.

Затем проводилось контрастное усиление в режиме 3DT1-ax с толщиной среза 1 мм и возможностью построения мультипланарных реконструкций в сагиттальной и фронтальной плоскостях (рис.4).



**Рисунок 4.** Магнитно-резонансная томография пациентки И., 5 лет. А) FLAIR, аксиальная проекция - в задних отделах ствола мозга определяется диффузное образование с наличием кистозного компонента, неровными, нечеткими контурами, масс-эффектом, белыми стрелками указана зона

интереса. Б) T2ВИ, сагиттальная проекция - диффузное образование ствола мозга с компрессией 4-го желудочка, без признаков вклинения миндалин мозжечка. В) T2ВИ, фронтальная проекция - диффузное образование правых отделов ствола мозга с левосторонней дислокацией срединных структур. Г) DWI, аксиальная проекция - определяется выраженное ограничение диффузии в опухоли. Д) T2\*\_hemo, аксиальная проекция, в структуре опухоли видны мелкие (темные) участки кровоизлияний. Е) 3DT1, аксиальная проекция – определяется слабоинтенсивное, фрагментарное накопление парамагнетика в опухоли

В качестве контрастного агента использовались внутривенные парамагнитные контрастные препараты солей Гадолиния (Gd) в дозировке 0,2 мл/кг, без использования автоматических инжекторов. Общее время МРТ исследования составляло 30-40 минут. При необходимости выполнения исследования в объеме ЦНС (МРТ головного и спинного мозга), ввиду длительности процедуры, исследование разбивалось на два дня. В первый день проводилось доконтрастная часть исследования - МРТ головы и спинного мозга (T2-SAG, STIR-SAG, T1-SAG, а так же T2-AX опционально), а во второй день проводилось контрастное исследование.

Во всех случаях выраженных аллергических реакций на введение контрастного препарата отмечено не было. Приблизительно в 15% случаев наблюдались легкие аллергические реакции в виде головокружения и тошноты, проходившие в течение 15-30 минут после исследования.

По результатам МРТ нам удалось выделить две основные формы роста опухолей: солидные (без признаков кровоизлияний, деструкции и кистообразования) и кистозно-солидные (с наличием зон кровоизлияния, распада и/или кист). Морфологическое подтверждение структуры опухоли удалось получить у 128 больных (61,2%): у 59 пациентов 1-ой группы и у 69 пациентов 2-ой и 3-ей группы суммарно.

### **2.3. Предлучевая подготовка больных при диффузных срединных глиомах головного мозга и методики лучевой терапии**

При терапии ДСГ сталкиваешься с целым рядом трудностей, которые препятствуют достижению необходимых результатов, в первую очередь это

анатомические особенности расположения опухоли. С каждым годом появляются инновационные методы лечения ДСГ, но основная проблема их применения – неэффективные методы доставки лекарств через ГЭБ. В связи с этим ЛТ на сегодняшний день является высокоэффективным методом противоопухолевого лечения, которая проводится с использованием различных генераторов излучения: гамма-аппаратов типа «РОКУС» и линейных ускорителей с энергией тормозного пучка 6 -18 МЭВ (рис.5).



**Рисунок 5.** Линейный ускоритель TrueBeam, v 1.6

Целью данного метода является уничтожение клеток, из которых состоит патологический очаг/опухоль с применением высоких доз излучения с меньшим повреждением нормальных тканей и критических структур, реализация которого возможна только с помощью применения высокотехнологического радиотерапевтического оборудования. В современной онкологии совершенствование лучевых методов лечения можно определить двумя основными направлениями – уменьшение объемов облучения за счет максимального исключения из зоны облучения

нормальных тканей и увеличение доз и/или мощности дозы, приводящих к повреждению опухоли.

Однако ЛТ ДСГ всегда сталкивалась с проблемой между необходимостью подведения высоких суммарных очаговых доз к опухоли и риском развития тяжелых лучевых повреждений, таких как, например, лучевой некроз головного мозга. Даже несмотря на совершенствование технических средств ЛТ и внедрение в практику современных методик предлучевой подготовки и фиксирующих приспособлений, существенных изменений в непосредственных и отдаленных результатах лечения ДСГ отмечено не было.

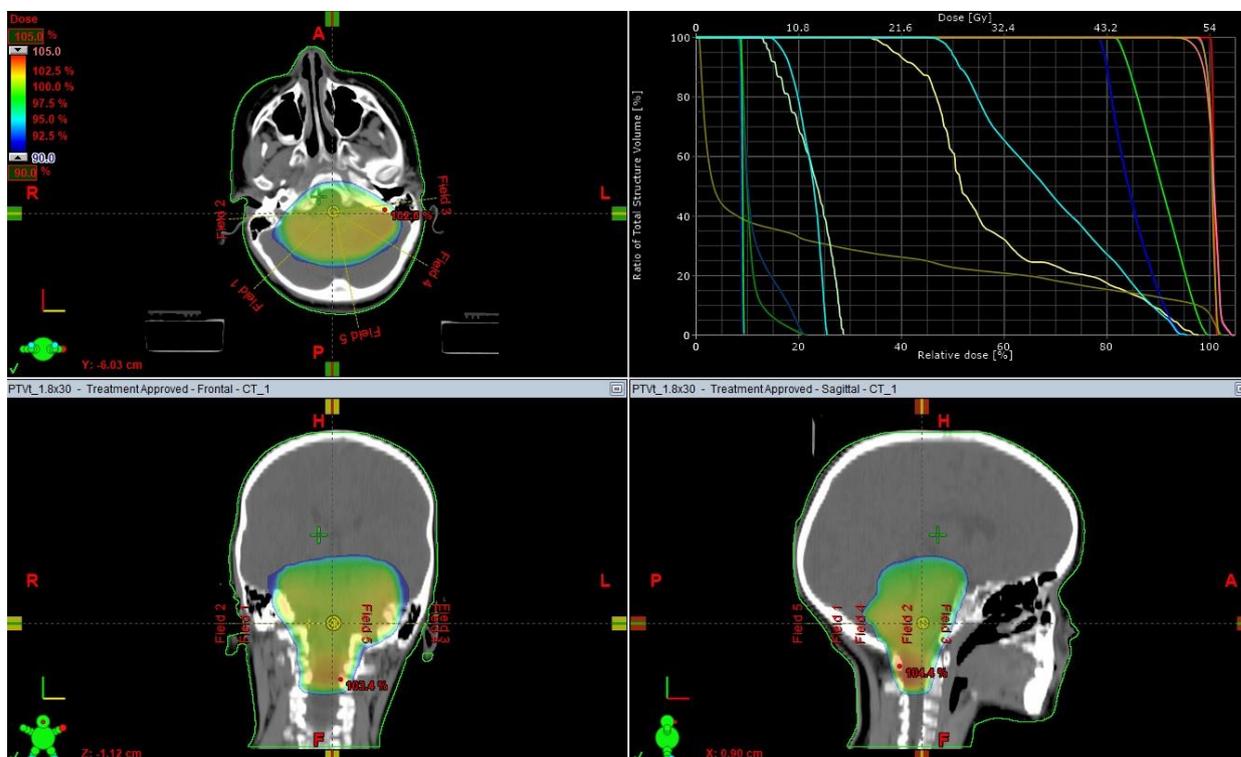
В эру линейных ускорителей процесс предлучевой подготовки был модернизирован. Были включены следующие этапы: изготовление индивидуального фиксирующего устройства, представляющего собой термопластическую маску, имеющую приспособления и механизмы крепления к столу компьютерного томографа и радиотерапевтической установки. Вместо КТ в одной плоскости на уровне середины очага стала выполняться спиральная КТ-топометрия в условиях аналогичных процессу облучения, с маской, фиксируемой к деке стола томографа (рис.6).



**Рисунок 6.** Изготовленное индивидуальное фиксирующее устройство- маска для проведения курса РТ

Полученное спиральное КТ- изображение записывается на диск или по внутрибольничной сети передается медицинским физикам и совмещается с МРТ-изображением. На полученном сочетанном изображении на каждом скане (всего от 5 до 30 срезов) врачом-радиотерапевтом выполняется оконтуривание зоны видимой опухоли (GTV), зоны предполагаемого субклинического распространения процесса (CTV) и планируемого объема облучения (PTV). Полученная картина передается медицинским физикам для составления плана лучевой терапии и анализа лучевой нагрузки на критические органы и ткани по гистограммам. В настоящее время для разработки плана лучевой терапии и оценки последствий разработан ряд пакетов программного обеспечения, позволяющих проводить все

необходимые дозиметрические расчеты, в нашем исследовании была использована система планирования лучевой терапии «Eclipse v.10.0.42» Varian Medical Systems (рис.7).



**Рисунок 7.** Распределение объемов облучения и гистограмма доз - объем для критических структур при проведении 3D конформной ЛТ при ДСГ

В процессе проведения КТ-топометрии пациенту присваивается индивидуальный ID (идентификационный номер), который является уникальным номером в планирующей системе и в плане расписания лечения пациентов на медицинском ускорителе электронов или гамма-терапевтической установке.

Лучевая терапия в нашем исследовании при первичном лечении в большинстве случаев проводилась с использованием традиционного варианта фракционирования дозы по 1,8-2 Гр с подведением суммарной дозы до 54-60 Гр. В некоторых случаях, при наличии выраженного перифокального отека и симптомах внутричерепной гипертензии, лечение начиналось в режиме гиперфракционирования разовыми дозами 1,0 Гр 2 раза в день с интервалом между фракциями 4-6 часов, с постепенным переходом

на обычный режим по мере стабилизации состояния, но с коррекцией суммарной дозы за период гиперфракционирования в сторону ее повышения эквивалентных СОД.

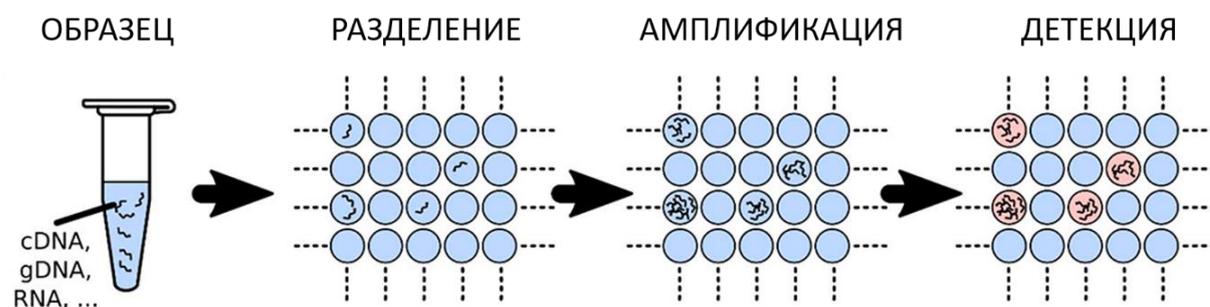
У пациентов с ГВСЗ в качестве химиопрепаратов параллельно с ЛТ использовался темозоломид, 75мг на кв.м., per os, ежедневно. У больных с ДСГ курс ЛТ проводился с радиомодификацией вальпроевой кислотой, 15мг/кг, per os, ежедневно.

Схема сопроводительной терапии подбиралась индивидуально, в зависимости от состояния больного и степени выраженности неврологических нарушений. Медикаментозная поддержка включала в себя назначение дексаметазона в минимально необходимых (определяемых по тяжести симптомов) дозировках, диуретиков (обычно диакарба, в тяжелых случаях фуросемида) и антиэметиков. Способы введения кортикостероидов и диуретиков зависели от состояния пациента: при затруднениях с приемом препаратов внутрь (у маленьких детей, при выраженной тошноте) использовался парэнтеральный путь, в остальных случаях энтеральный. При нарастании неврологического дефицита противоотечная терапия корректировалась назначением маннитола. В целях профилактики инфекционных и грибковых осложнений у больных, получавших кортикостероидные гормоны, превентивно назначались противогрибковые и противомикробные препараты, проводилась обработка слизистых. После окончания лучевого или химиолучевого лечения по клиническим данным оценивался непосредственный эффект, и больные выписывались под наблюдение региональных онкологов, педиатров и неврологов. Контрольные МРТ-исследования назначались через 1-1,5 месяца. Больным с ГВСЗ онкологом было рекомендовано проведение консолидирующей химиотерапии темозоломидом в виде 5-дневных циклов в дозе 150-200 мг на кв.м. с перерывом между циклами 28 дней.

## **2.4. Молекулярно-генетические методы исследования**

### **2.4.1. Особенности методики цифровой капельной ПЦР**

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) — это метод амплификации ДНК, позволяющий синтезировать миллионы копий определенного фрагмента из небольшого объема материала [62]. На сегодняшний день цифровая капельная цкПЦР считается одним из самых точных методов количественного анализа нуклеиновых кислот. Идея цкПЦР появилась в конце 90-х, а первая работающая система была представлена компанией Bio-Rad в 2011 году. цкПЦР позволяет точно определять абсолютное количество целевых нуклеиновых кислот в образце. Сначала образец разводят и делят на множество независимых реакций, чтобы каждая ячейка содержала либо одну ДНК-мишень, либо не содержала её вовсе (рис. 8). Затем проводят ПЦР с флуоресцентными красителями, считывая флуоресцентный сигнал. Доля положительных ячеек используется для количественного определения концентрации целевой последовательности [136, 436]. Это разделение образцов эффективно концентрирует ДНК-мишени, снижая конкуренцию и позволяя обнаруживать редкие мутации. Также цкПЦР обладает высокой толерантностью к ингибиторам, так как их концентрация снижается. Ключевое отличие цкПЦР от количественной ПЦР заключается в способе измерения. В количественной ПЦР отслеживается накопление продукта на протяжении амплификации, тогда как в цкПЦР анализируются сигналы по окончании реакции, и количество положительных ячеек используется для обратного расчета концентрации ДНК-мишени. цкПЦР преобразует аналоговые сигналы в двоичные, не требуя калибровочных кривых, что уменьшает искажения результатов [403]. Количественная оценка цкПЦР основана на биномиальной статистике, что определяет её точность и показатели производительности.



**Рисунок 8.** Принципы цифровой ПЦР. Образец разведен и наносится во множество независимых ячеек (или капель). Каждая ячейка действует как отдельный микрореактор ПЦР, и ячейки, содержащие амплифицированные ДНК-мишени, обнаруживаются по флуоресценции. Распределение ДНК-мишеней в ячейках можно аппроксимировать распределением Пуассона. Отношение положительных сигналов (наличие флуоресценции) к общему количеству позволяет определить концентрацию мишени в образце

Чувствительность цкПЦР позволяет обнаруживать одну молекулу ДНК в одной ячейке, что делает минимально детектируемую концентрацию зависимой от общего объема реакции и количества ячеек, объем которых составляет пиколитры–нанолитры. Предел чувствительности цкПЦР определяется количеством ячеек, тогда как объем реакции можно легко увеличить для повышения чувствительности.

Преимущества цифровой ПЦР перед ПЦР в «реальном времени»:

- независимость от значения  $C_t$ , что снижает влияние различий в эффективности ПЦР на количественные результаты;
- возможность обнаруживать единичные молекулы при низких концентрациях;
- получение абсолютных значений без стандартной кривой;
- выявление редких вариантов мишени в сложных образцах, где кПЦР может быть менее эффективной.

Однако цкПЦР имеет ограничения:

- точность ограничена неопределенностью измерений, особенно при низких концентрациях, что можно уменьшить с помощью технических повторов;
- статистическая неопределенность, которую можно снизить увеличением числа разбиений [339];

- важно использовать оптимальное количество ячеек одинакового объема для анализа [205].

Учитывая все особенности цкПЦР, мы выбрали этот метод для нашего исследования, так как он обеспечивает высокую эффективность и чувствительность в обнаружении мутаций у пациентов с ДСГ.

#### **2.4.2. Получение материала для исследования**

Материал в виде парафиновых блоков с постоперационным опухолевым материалом был проанализирован методом NGS на догоспитальном этапе.

Ликвор, полученный в результате проведения люмбальной пункции, в стерильной пробирке и кровь, взятая из периферической вены в вакуумные пробирки с ЭДТА, немедленно доставлялись в молекулярно-генетическую лабораторию. Все пробы регистрировались с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 2019, формировалась электронная база данных.

#### **2.4.3. Выделение циркулирующей ДНК из плазмы крови**

##### Подготовка плазмы

Подготовка качественной плазмы проводилась сразу после получения образца крови и включала в себя следующие этапы:

1. Центрифугирование образца крови при комнатной температуре при 600 x g, 20 минут. Мягкое центрифугирование необходимо для предотвращения повреждения клеток крови.
2. Осторожный отбор плазму в чистую пробирку. При этом избегали захватывания клеток, собравшихся на разделе фаз.
3. Центрифугирование собранной плазмы при комнатной температуре при 6000 x g, 20 минут. Повторное центрифугирование позволяло удалить оставшиеся в плазме клетки.
4. Отбор плазмы в чистую пробирку. Дальнейшее хранение при температуре -70° С.

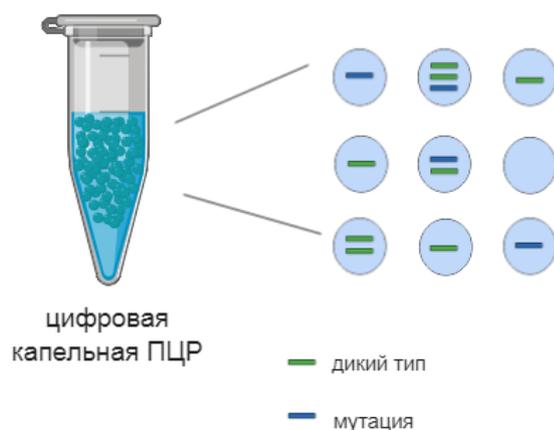
5. Выделение цНК из 2 мл плазмы. Использовали набор для выделения циркулирующих нуклеиновых кислот (ДНК/РНК) на магнитных частицах SileksMagNA-Direct (Sileks, Россия). Процедуру выделения проводили согласно протоколу производителя. Хранили выделенную ДНК в течение не более 30 дней при  $-20^{\circ}\text{C}$ .

#### Подготовка спинномозговой жидкости

1. После доставки в стерильной пробирке в лабораторию образец ликвора центрифугировали при 260 g в течение 5 минут.
2. Далее отбирали супернатант и проводили выделение циркулирующей ДНК с помощью набора для выделения циркулирующих нуклеиновых кислот (ДНК/РНК) на магнитных частицах SileksMagNA-Direct (Sileks, Россия) согласно инструкции производителя.
3. Выделенную ДНК хранили не более 1 месяца при  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Определение мутации V600E в гене BRAF, мутации R132H в гене IDH1, мутации R140H в гене IDH2 и мутации K27M в гене H3F3A методом цифровой капельной ПЦР (Droplet Digital PCR, цкПЦР)

Для определения мутаций V600E в гене BRAF, мутации R132H в гене IDH1, мутации R140H в гене IDH2 и мутации K27M в гене H3F3A методом цкПЦР использовалась система QX100 Droplet Digital PCR для цифровой капельной ПЦР (Bio-Rad Laboratories, США). ДНК-зонды, использовавшиеся для детекции, были помечены FAM и HEX. В картридж для генератора капель добавляли 20 мкл реакционной смеси с выделенной ДНК и 70 мкл масла, после чего помещали в генератор капель QX100 (Bio-Rad Laboratories, США), формирующий в полученной водно-масляной эмульсии до 20000 капель объемом 1 нл. При распределении генетического материала в капли попадали ДНК с мутацией, ДНК «дикого типа» и их сочетание (рис.9).



**Рисунок 9.** Цифровая капельная ПЦР, процесс распределения целевой ДНК по каплям

Из генератора капле образцы переносили в стрипы, запаивали фольгой, помещали в термоциклер Veriti (Applied Biosystems, Сингапур) и амплифицировали при следующих параметрах:

95°C – 10 мин

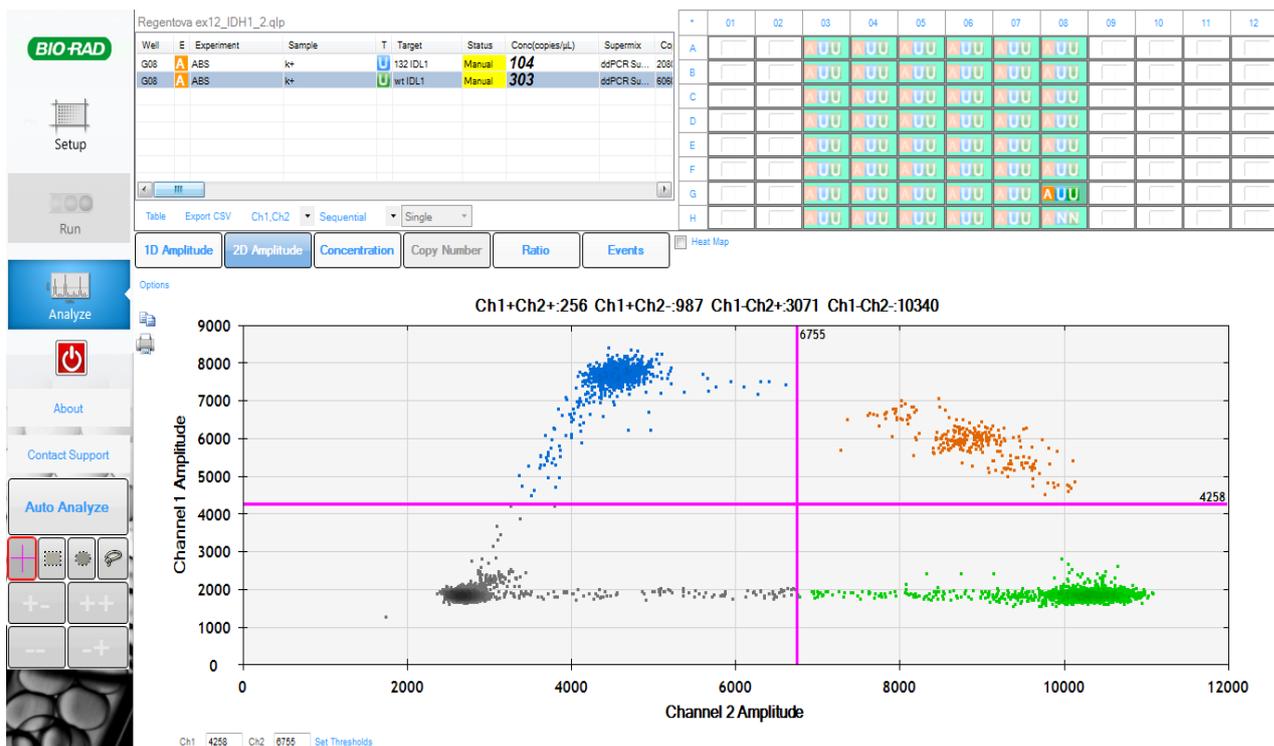
94°C – 30 сек - Ramp 94°C 2°C/c - 40 с

55°C – 1 мин - Ramp 94°C 2°C/c - 40 с

98°C – 10 мин

4°C

После амплификации пробирки помещали в прибор QX100 droplet reader (Bio-Rad Laboratories, США), где происходило считывание сигнала от флюоресцентных меток.



**Рисунок 10.** Иллюстрация результата цкПЦР исследования мутаций гена IDH1 R132H. Точки, окрашенные синим цветом- капли, содержащие мутантные молекулы, точки зеленого цвета- капли с молекулами ДНК «дикого типа», оранжевые – содержат оба варианта ДНК

Далее данные анализировались при помощи программного обеспечения QuantaSoft (Bio-Rad Laboratories, США) и определялась концентрация копий мишени в мкл образца. Средние значения данных переносились в таблицу Excel для дальнейшей статистической обработки (рис. 10).

## 2.5. Статистические методы обработки материала

База клинических случаев формировалась с использованием электронных баз таблиц Microsoft Excel. Статистическая обработка проводилась с применением программного обеспечения SPSS для Windows, версия 26.0 (SPSS, Чикаго, Иллинойс, США) и Statistica, версия 13.

Критерий Шапиро-Уилка применялся для определения нормальности распределения количественных данных. Все имеющиеся количественные данные не подчинялись нормальному закону распределения и применялись непараметрические статистические методы и описывались с применением медианы, верхнего и нижнего квартиля (Me [Q25%; Q75%]).

U-критерий Манна-Уитни использовался при ненормальном распределении количественных данных. Критерий Фридмана с поправкой Бонферрони применялся при сравнении трех количественных связанных групп с ненормальным распределением данных. Результаты сравнения количественных данных считались статистически значимыми при  $p < 0.05$ .

Проведен бинарный логистический регрессионный анализ на основании нескольких переменных-предикторов, приводящих к возникновению продолженного роста, прогрессирования, стабилизации процесса и смертельному исходу. При значении  $p < 0.05$ , считалось, что показатель приводит к изучаемому исходу.

Общая и безрецидивная выживаемость рассчитывалась по методу Каплана – Мейера. Продолжительность наблюдения определялась от даты постановки диагноза до даты прогрессирования или смерти больного. Кривые выживаемости между группами сравнивались с использованием Log-рангового теста. Результаты считались статистически значимыми при  $p < 0.05$ .

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ДИФФУЗНЫХ СРЕДИННЫХ ГЛИОМ ГОЛОВНОГО МОЗГА У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ

#### 3.1. Анализ мутационного статуса ДНК опухоли в периферической крови и ликворе у пациентов с диффузными срединными глиомами в сравнении с аналогичными данными в ткани опухоли у больных с верифицированными опухолями головного мозга

В 1-ую группу из 96 больных были включены пациенты детского возраста (52,1%, n=50) и взрослые пациенты 47,9% (n=46). В зависимости от локализации опухолевого процесса, наибольшее число случаев (27,1%) было отнесено к С71.9 (неуточненная локализация головного мозга), 17,7% - поражение ствола мозга, 15,6% - поражение лобной доли (табл.6). Гистологическая степень злокачественности (Grade, G) 3-4 была определена в 89,6% случаев, только 10,4% пациентов группы 1 имели G 1-2 (табл.6).

**Таблица 6.** Общие характеристики 96 пациентов с ГВСЗ, из которых 31 пациент с ДСГ (1-ая группа)

Характеристика		Показатель
Пол	Мужской	47,9% (n=46)
	Женский	52,1% (n=50)
Возраст, Me [Q25%;Q75%] лет		17.5 [10.8; 53.8]
Возраст	До 18 лет	52,1% (n=50)
	19 лет и более	47,9% (n=46)
Объем опухоли по данным МРТ, Me [Q25%;Q75%] см <sup>3</sup>		44.0 [26.0; 78.3]
Локализация	C71.0 (большой мозг, кроме долей и желудочков)	1,04% (n=1)
	C71.1 (лобная доля)	15,6% (n=15)
	C71.2 (височная доля)	9,37% (n=9)
	C71.3 (теменная доля)	3,13 (n=3)
	C71.4 (затылочная доля)	1,04% (n=1)
	C71.5 (желудочек мозга)	1,04% (n=1)
	C71.6 (мозжечок)	6,25% (n=6)
	C71.7 (ствол мозга)	17,7% (n=17)
	C71.8 (поражение головного мозга более одной локализации)	14,6% (n=14)
	C71.9 (неуточненная локализация головного мозга)	27,1% (n=26)
	C72 (спинной мозг)	2,08 (n=2)
	D33.1 (доброкачественное образование ЦНС)	1,04% (n=1)
Гистология	Gr 1-2	10,4% (n=10)
	Gr 3-4	89,6% (n=86)
Выявленная мутация в гистологическом материале	H3F3 (K27M)	16% (n=15)
	BRAF (V600E)	6,3 % (n=6)
	IDH1 (R132H)	12,5% (n=12)
	IDH2(R140Q)	0

Всем пациентам 1-ой группы на первом этапе проведено хирургическое лечение, которое позволило в дальнейшем провести молекулярно-генетическое исследование материала опухоли с целью определения мутационного статуса генов BRAF (мутация V600E), H3F3A (мутация K27M), IDH1(мутация R132H) и IDH2 (мутация R140Q). В 16% случаев в исследуемых гистологических образцах у пациентов первой группы была обнаружена мутация *K27M* в гене *H3F3A*.

В качестве материала для молекулярно-генетического исследования могут использоваться самые различные биологические образцы, но наиболее часто анализ выполняется непосредственно на фрагментах опухолевой ткани, полученных в ходе операции или биопсии. Стоит учитывать тот факт, что на сохранность нуклеиновых кислот в биологическом образце могут оказывать влияние целый ряд факторов. Так, к примеру, процессы аутолиза начинаются непосредственно с момента перевязки питающих артерий в ходе операции, таким образом корректное проведение молекулярно-генетического анализа образцов опухоли, часто бывает затруднено, а интерпретация результатов существенно усложняется. В связи с вышеизложенными проблемами, в настоящее время мы наблюдаем рост числа исследований, посвященных определению ДНК опухоли (цодНК) в плазме периферической крови и ликворе, и усовершенствованию технологий, позволяющих проводить их изучение [10]. Однако основными лимитирующими факторами в исследовании цодНК являются, в первую очередь, отсутствие высокочувствительных методов анализа, часто малые выборки больных, ограниченный объем ликвора в виду младшего возраста больных детей, включенных в исследование.

В связи с тем, что биологические ткани являются сложными трёхмерными структурами и состоят из разных типов клеток, проблема клеточной гетерогенности являлась основным барьером на пути молекулярного анализа ткани. Поэтому в данной научной работе мы решили изучить и оценить мутационный статус ДНК опухоли в плазме

периферической крови и ликворе у пациентов с ДСГ в зависимости от аналогичных данных в ткани опухоли у больных с верифицированными опухолями головного мозга, чтобы понять, насколько целесообразно проводить биопсию опухолевой ткани с последующим ее изучением у этой когорты пациентов. Для достижения данной цели нами в составе пациентов 1-ой группы была сформирована выборка из 59 пациентов с ГВСЗ – 1-ая подгруппа, у которых имелась гистологическая верификация ткани опухоли и проведено молекулярно-генетическое исследование ликвора и трижды, на фоне курса РТ, исследование крови методом цкПЦР.

Клинико-anamнестические характеристики всех пациентов, включенных в данную выборку ранее были представлены в таблице 6. Необходимо отметить, что средний возраст пациентов составил 17.5 [10.8; 53.8] лет, что приближено к мировым эпидемиологическим данным для описанной категории больных. Также, согласно литературным источникам, больший процент ДСГ приходится на детей, но и среди взрослых данная патология также встречается [154, 430]. В процессе нашего исследования также отмечается превалирование пациентов в возрасте до 18 лет – 32 пациента (табл. 7).

В зависимости от локализации опухолевого процесса, наибольшее число случаев (n=29) было отнесено к С71.8 (поражение головного мозга более одной локализации), поражение ствола мозга – n=8, поражение лобной доли – n=10. Гистологическая степень злокачественности (Grade, Gr) 3-4 была определена для всех 59 пациентов.

Всем пациентам данной подгруппы на первом этапе лечения была проведена хирургическая операция, которая позволила в дальнейшем провести молекулярно-генетическое исследование материала опухоли с целью определения мутационного статуса генов BRAF (мутация V600E), H3F3A (мутация K27M), IDH1(R132H) и IDH2 (R140Q). После получения данных в исследуемых гистологических образцах наибольшая частота была

отмечена для мутации *R132H* гена *IDH1* (18,64%), при этом мутации *R140Q* в гене *IDH2* обнаружены не были (табл.7).

**Таблица 7.** Общая характеристика 59 пациентов с ГВСЗ, у которых имелась гистологическая верификация ткани опухоли и проведено молекулярно-генетическое исследование ликвора и трижды, на фоне курса РТ, исследование крови (1-ая подгруппа)

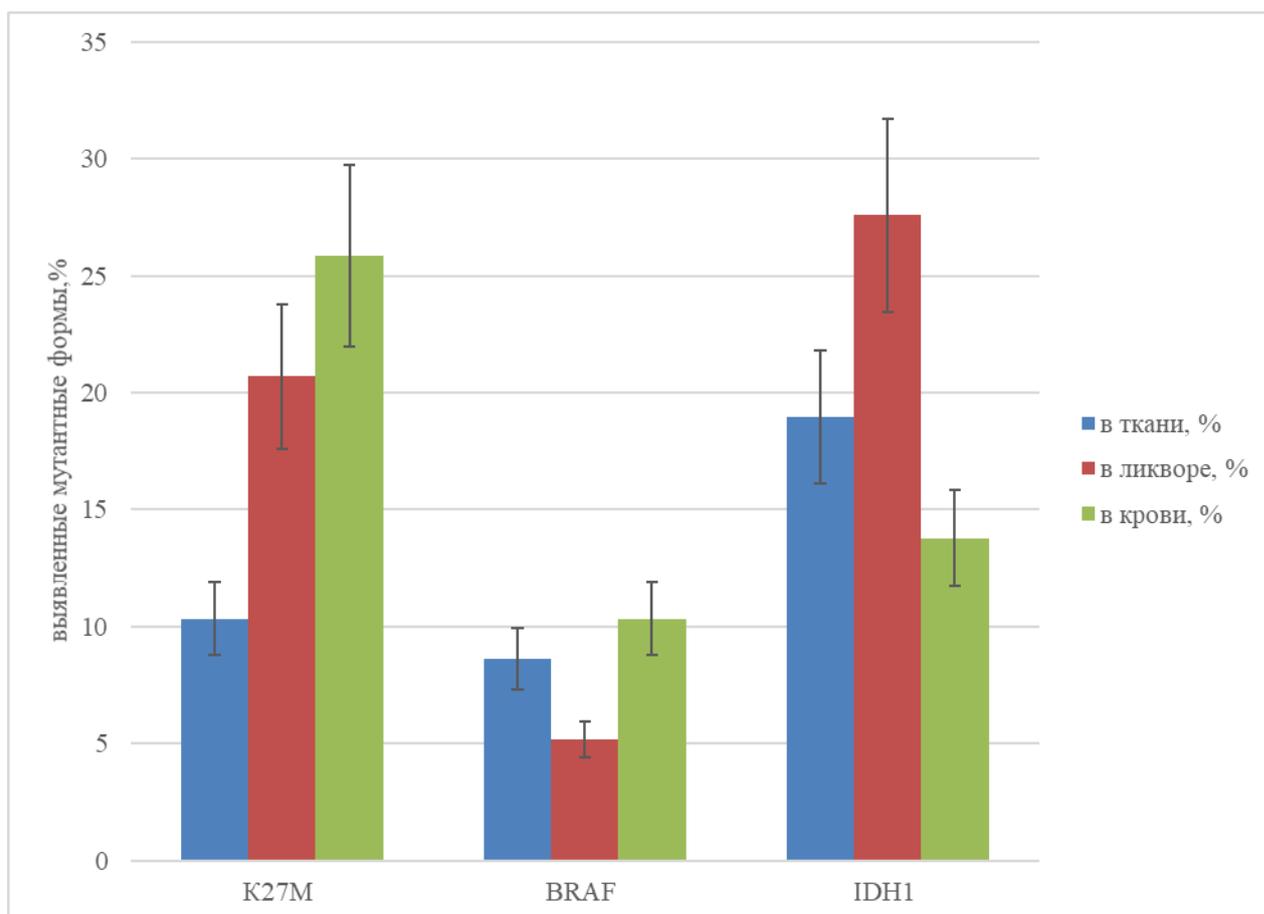
Характеристика		Показатель
Пол	Мужской	44,07% (n=26)
	Женский	37,08 (n=33)
Возраст, Ме [Q25%;Q75%] лет		17.5 [10.8; 53.8]
Возраст	До 18 лет	54,23% (n=32)
	19 лет и более	45,76% (n=27)
Объем опухоли по данным МРТ, Ме [Q25%;Q75%] см <sup>3</sup>		45.3 [17.4; 83.6]
Локализация	C71.0 (большой мозг, кроме долей и желудочков)	1,69% (n=1)
	C71.1 (лобная доля)	16,95% (n=10)
	C71.2 (височная доля)	10,17% (n=6)
	C71.3 (теменная доля)	3,39% (n=2)
	C71.6 (мозжечок)	3,39% (n=2)
	C71.7 (ствол мозга)	13,56% (n=8)
	C71.8 (поражение головного мозга более одной локализации)	49,15% (n=29)
	C72.0 (спинной мозг)	1,69% (n=1)
Локализация	Диффузная срединная глиома	27,45% (n=28)
	Другие локализации	52,54% (n=31)
Гистология	Gr 3-4	100% (n=59)
Мутация гена в гистологическом материале	K27M	10,17% (n=6)
	BRAF	8,47% (n=5)
	IDH 1	18,64% (n=11)
	IDH 2	0

**Таблица 8.** Распределение выявленных случаев мутантных форм исследуемых генов в разном биологическом материале среди пациентов 1-ой подгруппы с ГВСЗ, n=59

	Количество случаев выявленной мутантной формы, %	Медиана возраста пациентов с выявленной мутантной формой, лет	Среднее значение объема опухоли, мм3	Количество случаев при локализации опухоли в диффузных срединных глиомах C71.7 и C71.8 (%)	Количество случаев выявленных мутантных форм в подгруппе диффузных срединных глиом C71.7 и C71.8 (%)
Обнаружено в гистологическом (биопсийном) материале					
H3F3A (K27M)	10,17 (n=6)	11,5±4,17	63,05±53,08	50 (n=3)	9,68
BRAF (V600E)	8,47 (n=5)	14±2,89	35,32±52,37	20 (n=1)	3,23
IDH1 (R132H)	18,64 (n=11)	37±16,21	72,15±69,89	54,5 (n=6)	19,35
Обнаружено в материале ликвора					
H3F3A (K27M)	20,69 (n=12)	10,0±19,04	65,94±49,11	50 (n=6)	19,35
BRAF (V600E)	5,17 (n=3)	60,0±24,57	31,62±12,93	66,7 (n=2)	6,45
IDH1 (R132H)	27,59 (n=16)	15,0±23,38	61,98±58,44	50,0 (n=8)	25,81
Обнаружено в плазме периферической крови					
H3F3A (K27M)	25,86 (n=15)	15,0±23,56	50,02±43,48	26,7 (n=4)	12,90
BRAF (V600E)	10,34 (n=12)	15,5±23,29	19,65±8,43	50,0 (n=3)	9,68
IDH1 (R132H)	13,79 (n=16)	14,0±21,16	92,62±62,85	50,0 (n=4)	12,90

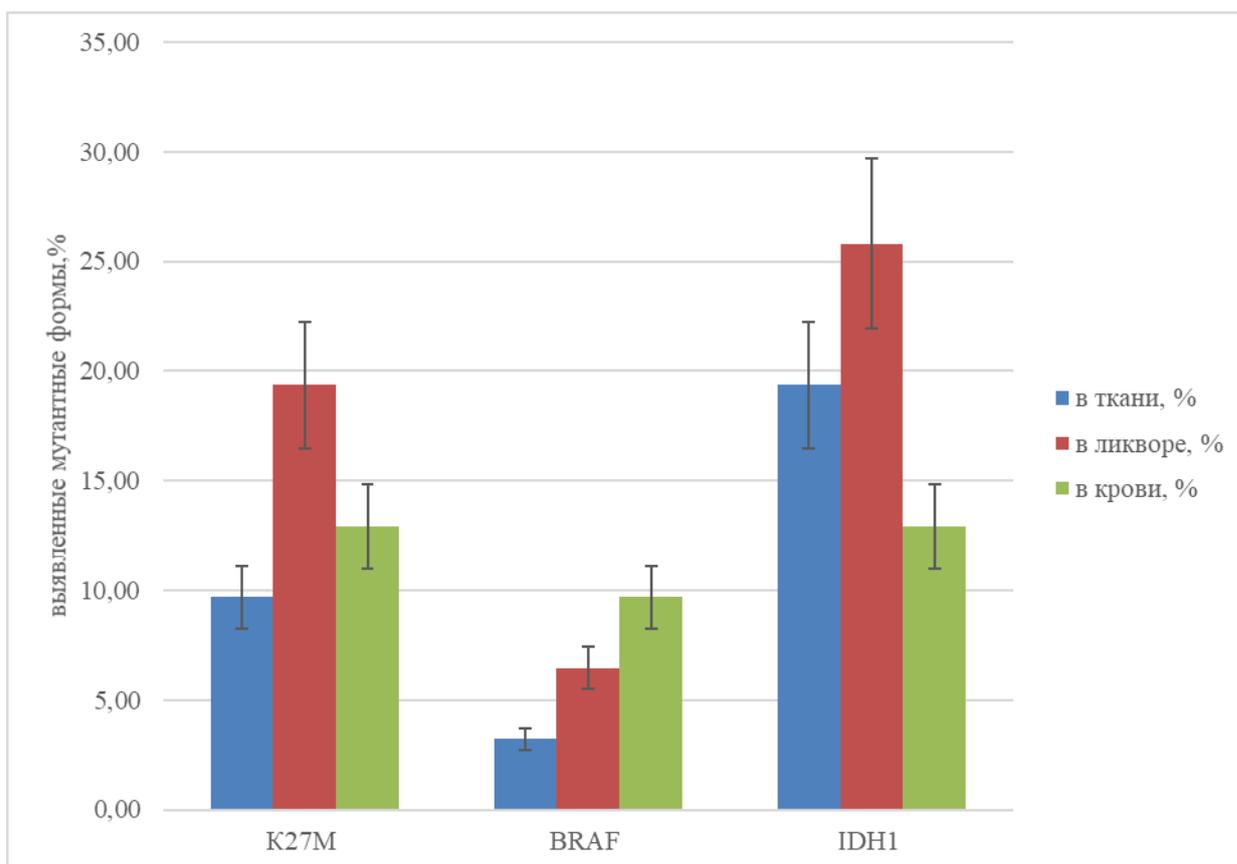
В таблице 8 представлена частота выявляемости мутантных форм исследуемых генов в зависимости от исследуемого материала.

Достоверных отличий по выявляемости мутантных форм в разных биологических тканях получено не было, однако для мутации *K27M* в гене *H3F3A* определена тенденция лучшего выявления, более высокой детекции в образцах плазмы периферической крови (рис. 11). В то же время, *IDH1* (*R132H*) с более высокой частотой определялся в материале ликвора, причем, опухоли при выявленной мутации *R132H* в гене *IDH1* характеризовались большим объемом. В таблице 8 также приведены частоты обнаружения мутантных форм в подгруппе пациентов с опухолями срединных структур (С71.7 и частично С71.8).



**Рисунок 11.** Частота обнаруженных мутантных форм сцДНК генов *H3F3A* (*K27M*), *BRAF* (*V600E*) и *IDH1* (*R132H*) в образцах тканей, ликвора и плазмы крови пациентов 1-ой подгруппы с ГВСЗ, n=59

Показано, что среди положительных образцов, т.е. среди образцов в которых определились мутантные формы, процент пациентов с опухолями, расположенными срединно, составляет более половины случаев, что может свидетельствовать о значимости данных генов именно для пациентов с диффузными срединными глиомами (рис.12).



**Рисунок 12.** Частота обнаруженных мутантных форм сцДНК генов *H3F3A* (*K27M*), *BRAF* (*V600E*) и *IDH1* (*R132H*) в образцах тканей, ликвора и плазмы крови пациентов 1-ой подгруппы при диффузных срединных глиомах, n=28

Необходимо отметить, что наибольшую информативную значимость в определении мутантных форм *H3F3A* (*K27M*) и *IDH1* (*R132H*) имеет материал ликвора, в то время как *BRAF* (*V600E*) с большей частотой определяется в периферической крови (рис. 11,12 и табл. 9), что может иметь решающее значение при выборе материала для анализа при верификации молекулярного типа опухоли.

**Таблица 9.** Распределение выявленных случаев мутантных форм исследуемых генов в разном биологическом материале среди пациентов 1-ой подгруппы при диффузных срединных глиомах, n=28

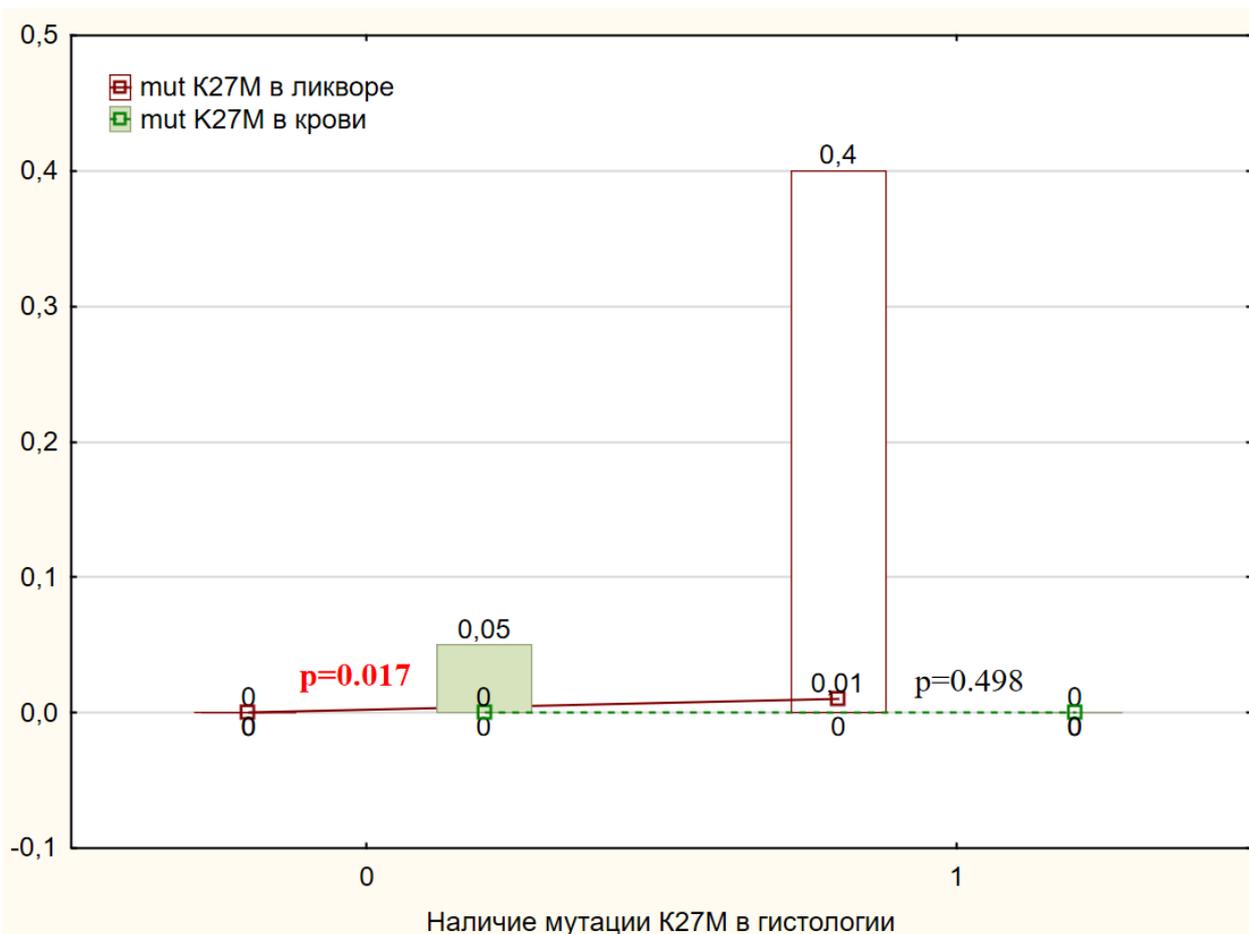
	в ткани, %	в ликворе, %	в крови, %
<i>K27M</i>	9,68	19,35	12,90
<i>BRAF</i>	3,23	6,45	9,68
<i>IDH1</i>	19,35	25,81	12,90

В 20 случаях (34,48%) было диагностировано сочетание мутантных форм у пациентов 1-ой подгруппы, в таблице 10 представлены обнаруженные сочетания и их частота обнаружения. Мутация *K27M* в генах *H3F3A* и *HIST1H3B*, которые кодируют варианты гистона H3 H3.3 и H3.1, характерна для большинства диффузных глиом, возникающих в структурах средней линии, включая таламус, ствол головного мозга и спинной мозг, как у детей, так и у взрослых.

**Таблица 10.** Обнаруженные сочетания мутаций среди пациентов 1-ой подгруппы с ГВСЗ, n=59

1. <i>H3F3A (K27M) /IDH1 (R132H)</i>	10,34% (n=6)
2. <i>H3F3A (K27M) / IDH 2 (R140Q)</i>	12,07% (n=7)
3. <i>H3F3A (K27M) /BRAF (V600E)</i>	1,72% (n=1)
4. <i>BRAF (V600E)/IDH1 (R132H)</i>	1,72%(n=1)
5. <i>IDH1 (R132H)/ IDH 2 (R140Q)</i>	1,72% (n=1)
6. <i>H3F3A (K27M) /IDH1 (R132H)/ IDH 2 (R140Q)</i>	5,17% (n=3)
7. <i>H3F3A (K27M) /BRAF (V600E)/ IDH 2 (R140Q)</i>	1,72% (n=1)

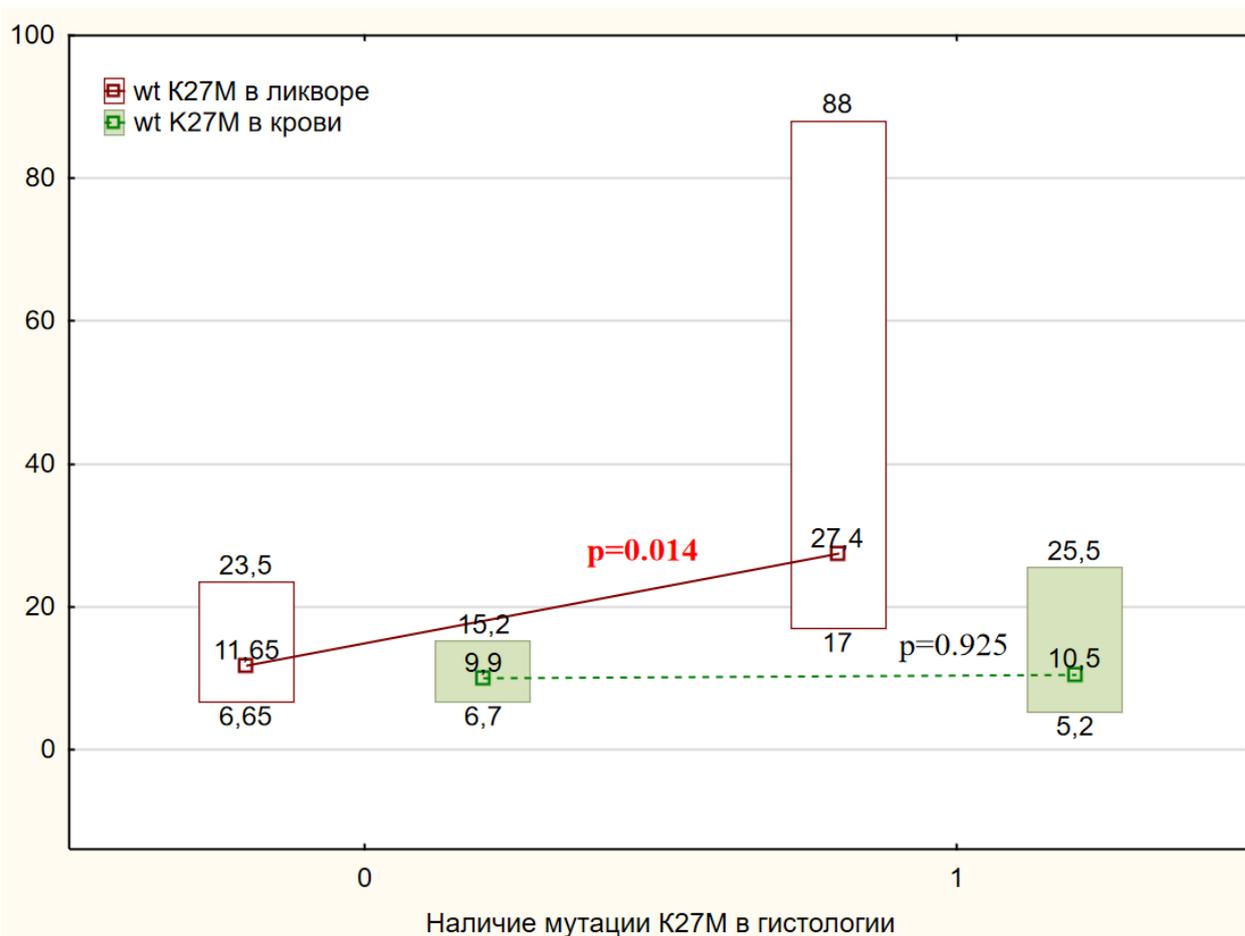
Данная мутация определяет плохой прогноз при ДСГ. В ходе нашей работы при сравнении (рис. 13) показателей относительной концентрации мутантной ДНК гена *H3F3A (K27M)* в плазме периферической крови/ликворе с подтвержденной мутацией *K27M* в гистологическом материале мы отметили статистически значимое увеличение показателей концентрации *H3F3A (K27M)* в ликворе ( $p=0.017$ ), тогда как в крови данный показатель не отличался ( $p=0.498$ ).



**Рисунок 13.** Отличия медиан показателей концентрации мутантной ДНК гена *H3F3A* (*K27M*) в образцах ликвора и плазмы периферической крови от образцов тканей опухолей в 1-ой подгруппе с ГВСЗ, n=59

**Примечание:** данные результаты представлены в виде Me [Q25%;Q75%]. mutK27M - мутантная ДНК гена *H3F3A* (*K27M*)

Анализ показателей относительной концентрации ДНК «дикого типа» гена *H3F3A* (*K27M*) продемонстрировал наличие статистически значимого увеличения показателя (рис. 14) в ликворе у пациентов в зависимости от наличия или отсутствия верифицированной мутации в гистологическом материале ( $p=0.014$ ). В свою очередь, показатели относительной концентрации ДНК «дикого типа» гена *H3F3A* (*K27M*) в крови у пациентов с/без мутаций в гистологическом материале не имели статистически значимых отличий ( $p=0.925$ ) (рис. 14).



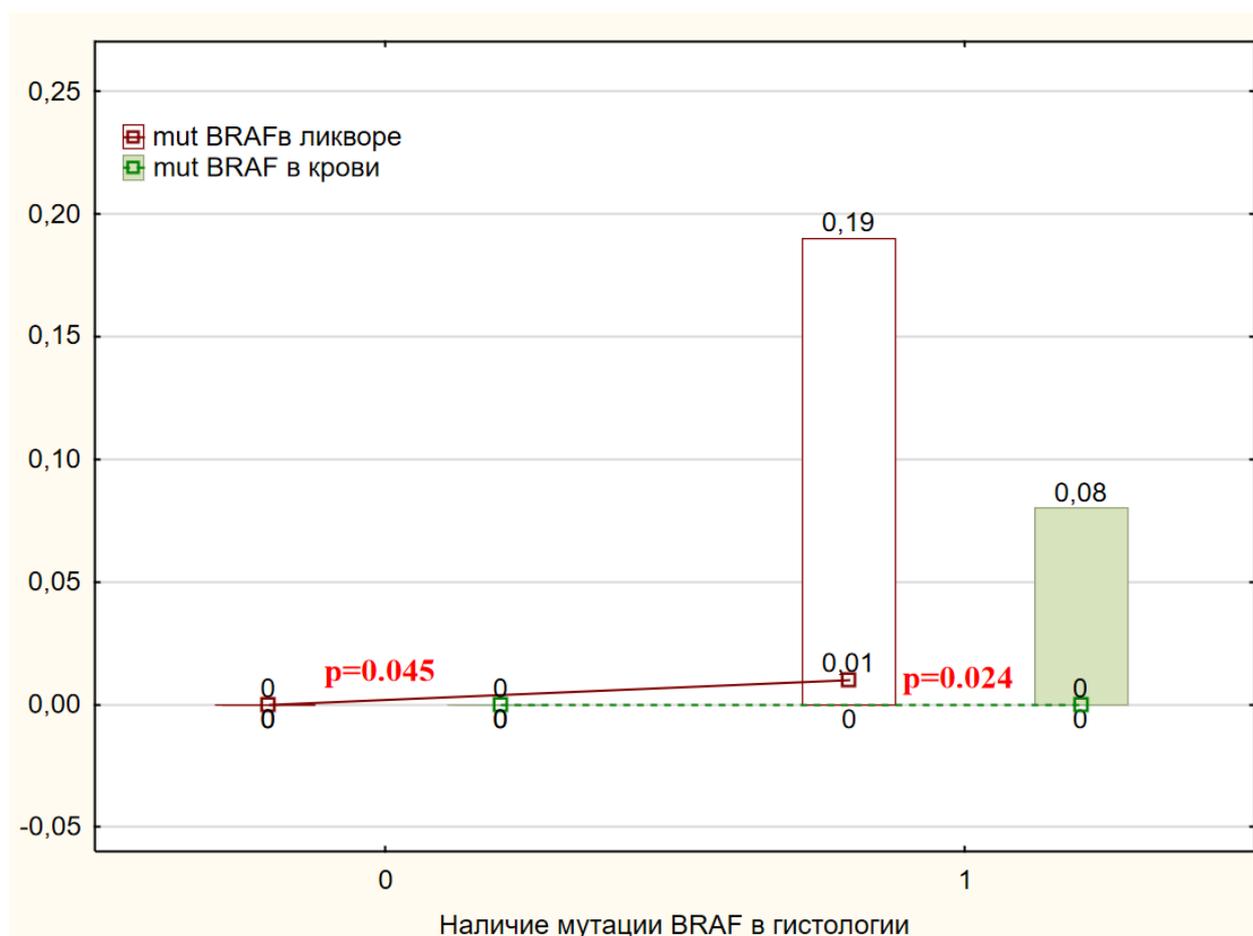
**Рисунок 14.** Выявляемость ДНК «дикого типа» гена *H3F3A* (*K27M*) в ликворе и плазме периферической крови в сравнении с материалом опухолевой ткани в 1-ой подгруппе с ГВСЗ, n=59

Примечание: данные результаты представлены в виде Me [Q25%;Q75%].  
wtK27M - ДНК «дикого типа» гена *H3F3A* (*K27M*)

Можно предположить, что ввиду срединного расположения опухоли и непосредственной близости ликворопроводящих путей, в ликвор поступает большее количество свободно циркулирующих ДНК гена *H3F3A*, которое позволяет достоверно оценить его мутационный статус. В связи с чем, определение данного показателя в ликворе может являться даже более информативным, чем в материале опухолевой ткани. Причем, высокий уровень относительной концентрации ДНК «дикого типа» гена *H3F3A* (*K27M*) также может иметь диагностическое значение.

Мутация *V600E* в гене *BRAF* также является одной из самых распространенных у пациентов с опухолями ЦНС [34, 387]. При сравнении относительной концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК гена

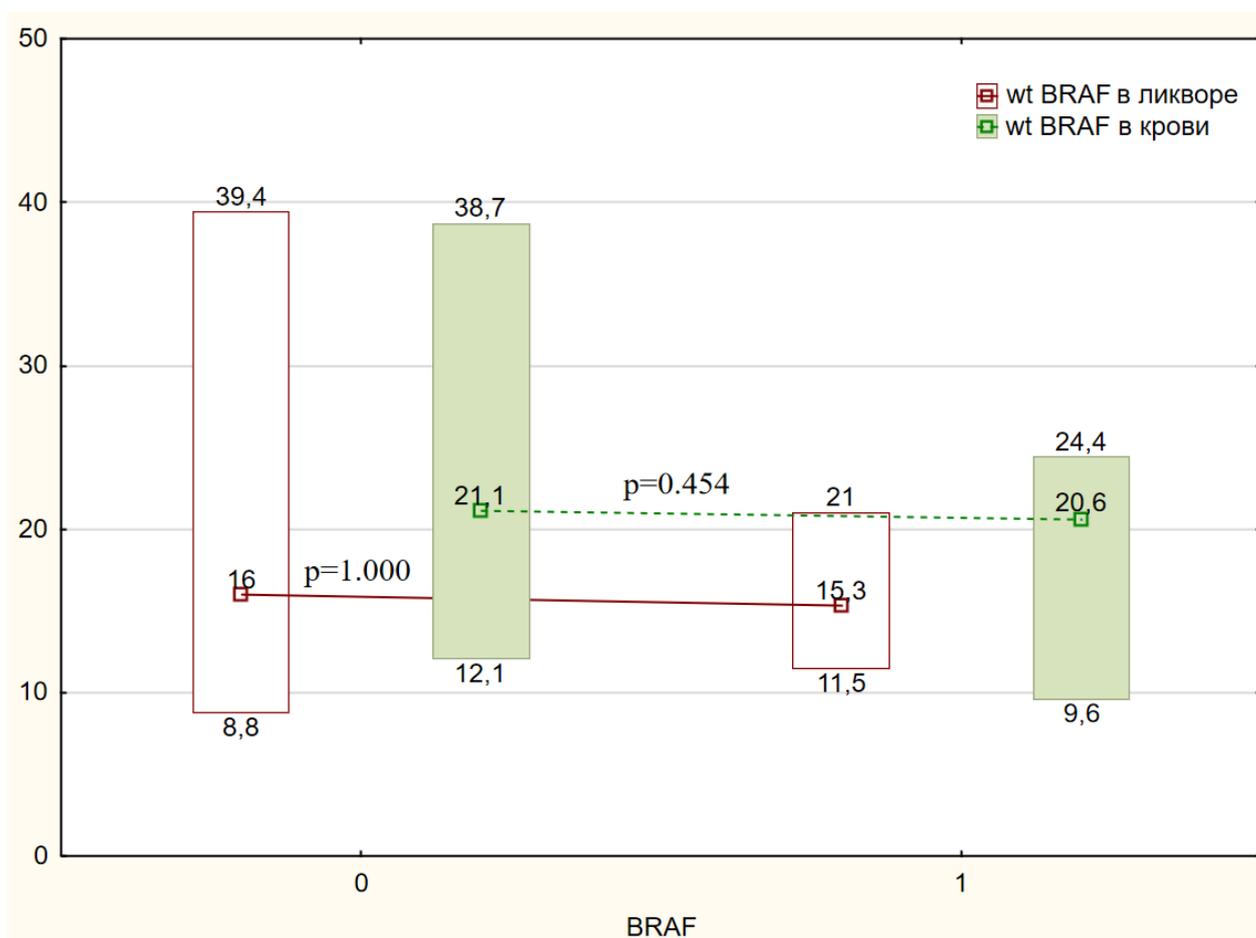
*BRAF* (*V600E*) в крови и ликворе отмечено его статистически значимое увеличение относительной концентрации у пациентов с наличием этой мутации в гистологическом материале как в ликворе ( $p=0.045$ ), так и в крови ( $p=0.024$ ) (рис. 15). Следовательно, метод цкПЦР позволяет с высокой достоверностью в образцах крови и ликвора определить наличие мутантной ДНК гена *BRAF* (*V600E*). Проведенное хирургическое вмешательство у этих больных, скорее всего способствует разрушению ГЭБ, что и определяет высокие концентрации цоДНК в средах ЦНС. Наличие патологического кровоснабжения в опухоли у активно растущего детского организм, так же влияет на уровень концентрации цоДНК.



**Рисунок 15.** Отличия медиан относительной концентрации мутантной ДНК гена *BRAF* (*V600E*) в образцах ликвора и плазмы периферической крови от образцов тканей опухолей в 1-ой подгруппе пациентов с ГВСЗ,  $n=59$

**Примечание:** данные результаты представлены в виде Me [Q25%;Q75%].  
mutBRAF - мутантная ДНК гена *BRAF* (*V600E*)

При этом анализ концентрации свободно циркулирующей ДНК «дикого типа» данного гена в ликворе ( $p=1.00$ ) и в крови ( $p=0.454$ ) не зарегистрировал статистически значимых отличий (рис.16) между пациентами с/без выявленной мутации *V600E* в гене *BRAF* в гистологическом материале.

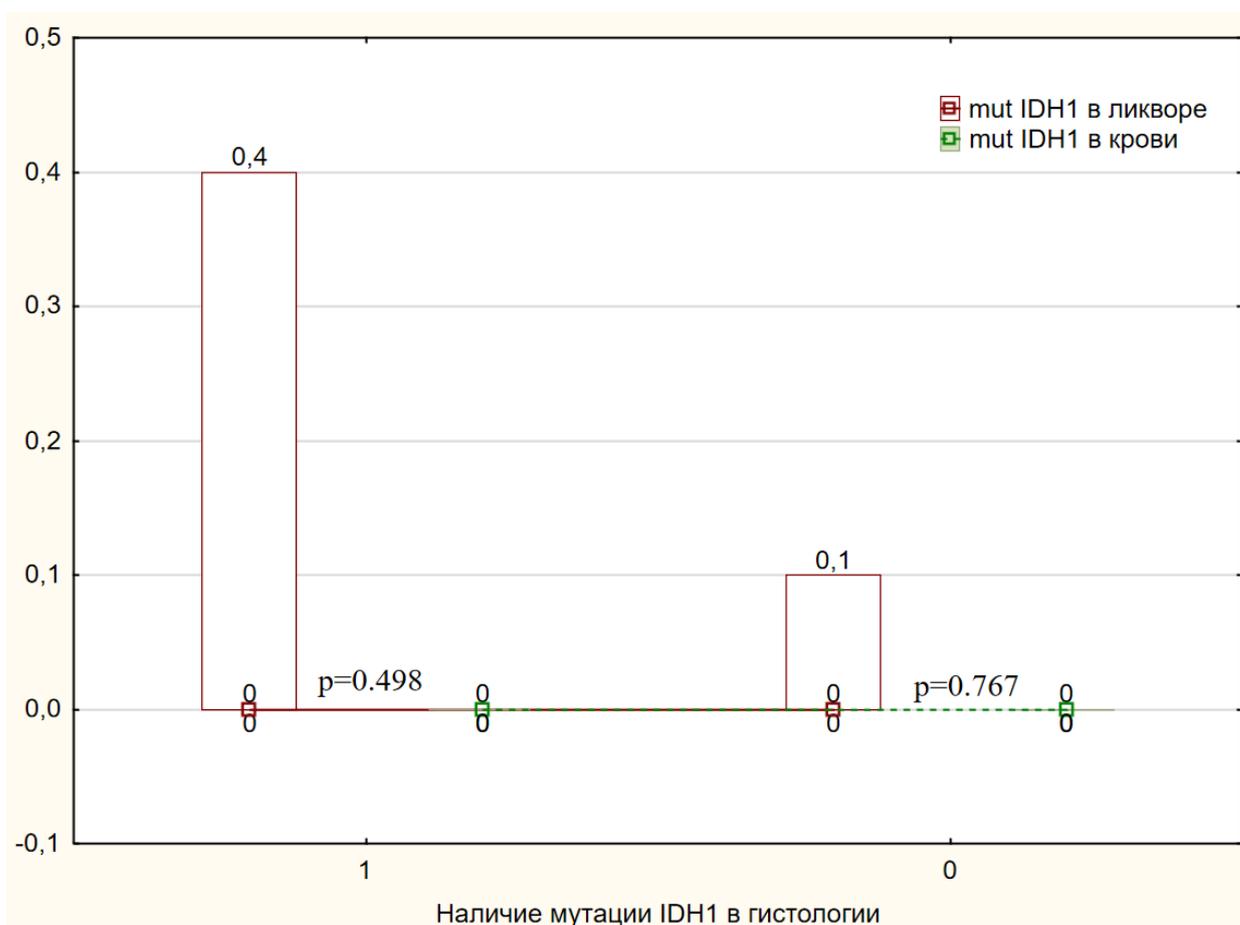


**Рисунок 16.** Выявляемость ДНК «дикого типа» гена *BRAF* (*V600E*) в материале ликвора и плазмы периферической крови в сравнении с мутационным статусом материала опухолевой ткани в 1-ой подгруппе с ГВСЗ,  $n=59$

**Примечание:** данные результаты представлены в виде Me [Q25%;Q75%].  
wtBRAF - ДНК «дикого типа» гена *BRAF* (*V600E*)

Определение мутационного статуса гена *IDH1* важно для окончательной верификации гистологических вариантов глиом у взрослых пациентов [217, 254]. Статистический анализ относительной концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *IDH1* (*R132H*) в ликворе ( $p=0.498$ ) и в крови ( $p=0.767$ ), не продемонстрировал значимых отличий

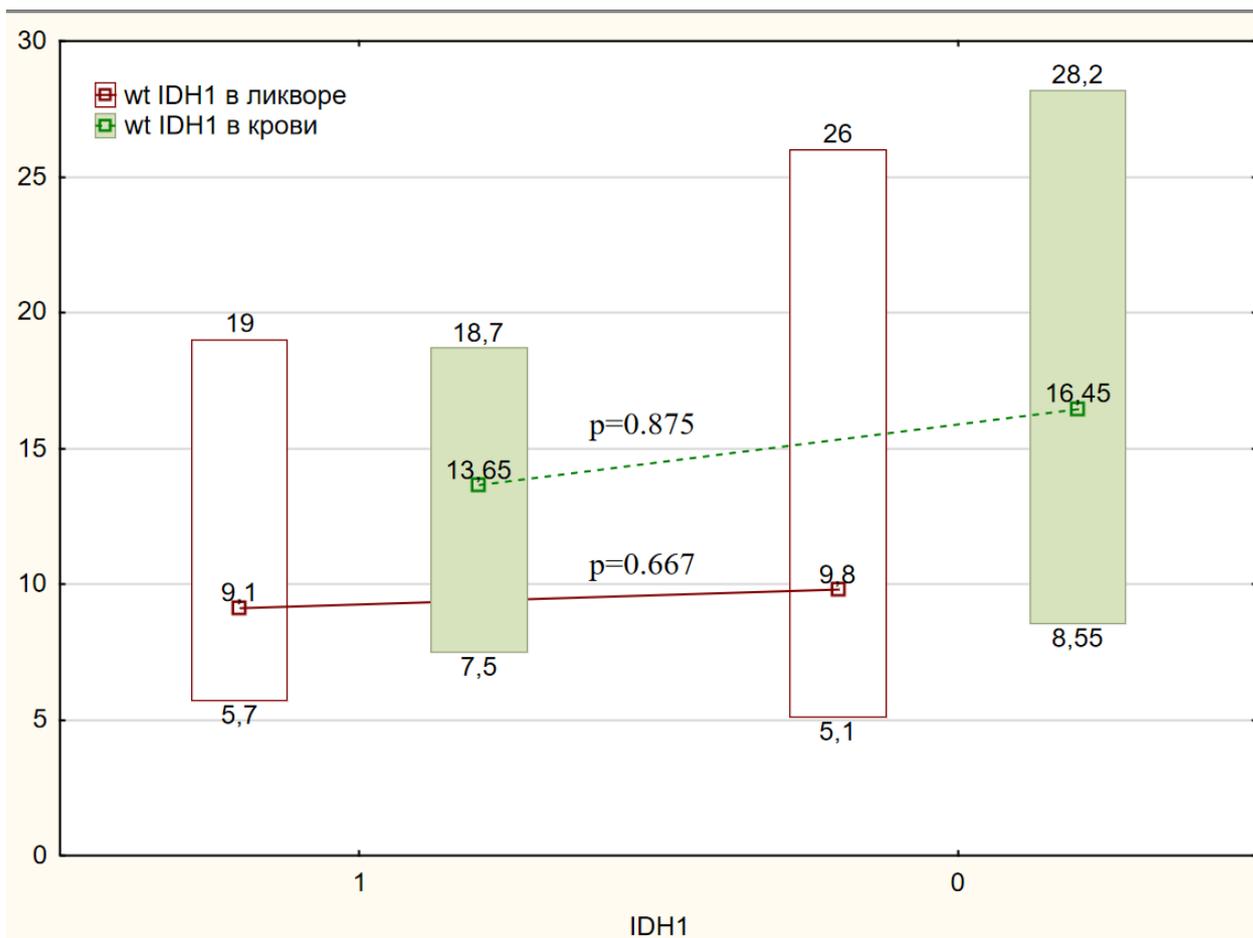
между пациентами с/без выявленной мутации *R132H* гена *IDH1* в гистологическом материале (рис. 17).



**Рисунок 17.** Отличия медиан относительной концентрации мутантной ДНК гена *IDH1* (*R132H*) в образцах ликвора и плазмы периферической крови от образцов тканей опухолей в 1-ой подгруппе с ГВСЗ, n=59

**Примечание:** данные результаты представлены в виде Me [Q25%;Q75%].  
mutIDH1 - мутантная ДНК гена *IDH1* (*R132H*)

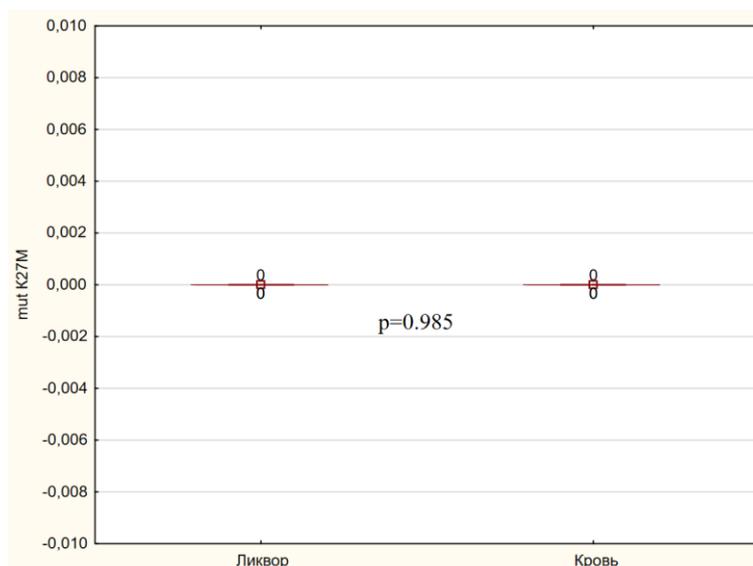
Схожие результаты были получены касательно концентрации свободно циркулирующей ДНК «дикого типа» гена *IDH1* (*R132H*) в ликворе (p=0.667) и в крови (p=0.875), где также не было получено статистически значимых отличий между пациентами с/без выявленной мутации *R132H* гена *IDH1* в гистологическом материале (рис. 18).



**Рисунок 18.** Выявляемость ДНК «дикого типа» гена *IDH1* (*R132H*) в материале ликвора и плазме периферической крови в сравнении с мутационным статусом материала опухолевой ткани в 1-ой подгруппе с ГВСЗ, n=59

**Примечание:** данные результаты представлены в виде Me [Q25%;Q75%].  
wtIDH1 - ДНК «дикого типа» гена *IDH1* (*R132H*)

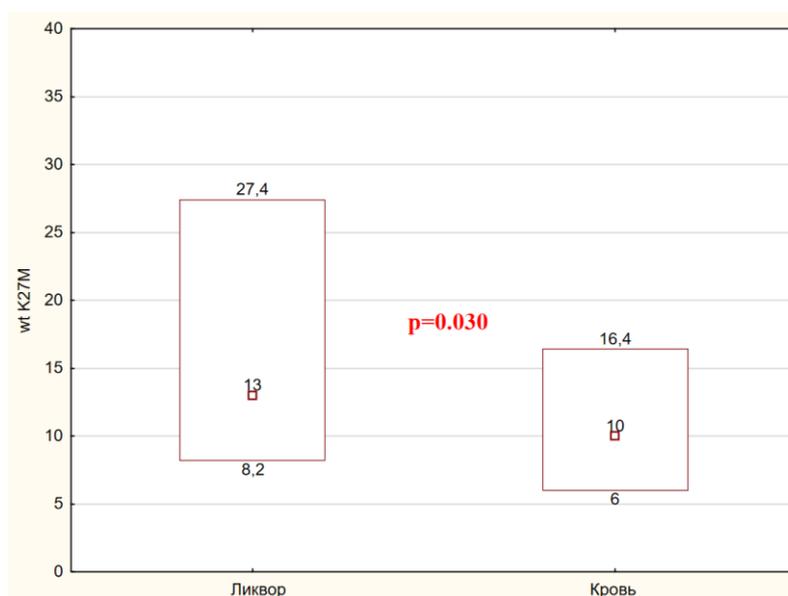
В дальнейшем мы оценивали и сравнивали показатели относительной концентрации ДНК описанных генов в ликворе и плазме периферической крови (рис. 19). Так при сравнении *H3F3A* (*K27M*) в ликворе и крови не было выявлено статистически значимых отличий ( $p=0.985$ ). Вероятно, такая тенденция в отношении мутантного и дикого типов генов *H3F3A* в ликворе и крови обусловлены высокой концентрацией в обеих средах.



**Рисунок 19.** Сравнение свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *H3F3A* (*K27M*) в ликворе и крови в 1-ой подгруппе с ГВСЗ, n=59

**Примечание:** данные результаты представлены в виде Me [Q25%;Q75%].  
mutK27M – мутантная ДНК гена *H3F3A* (*K27M*)

В свою очередь, сравнительный анализ показателей относительной концентрации свободно циркулирующей ДНК «дикого типа» гена *H3F3A* (*K27M*), выявил статистически значимое его увеличение в ликворе по сравнению с кровью ( $p=0.030$ ) (рис.20).

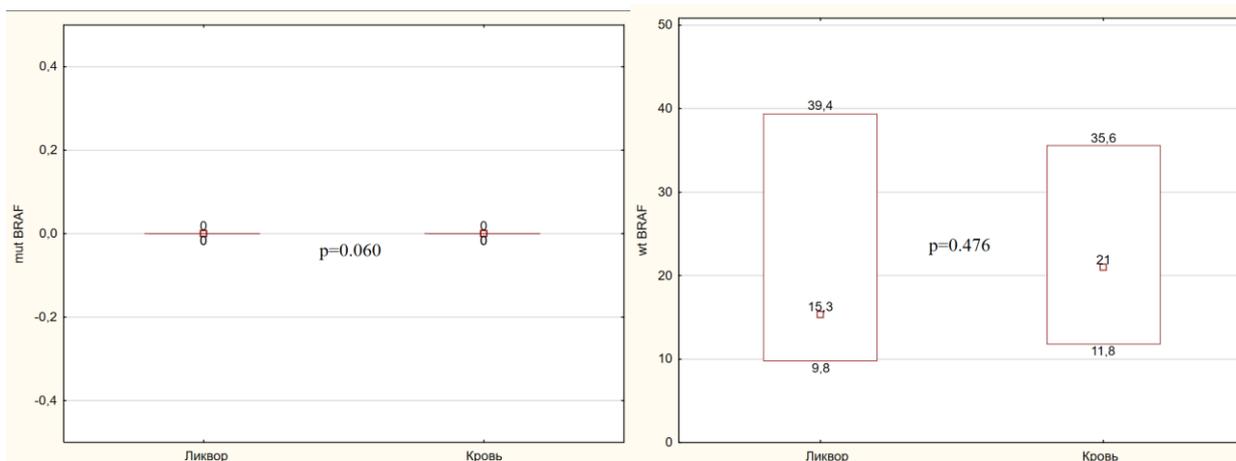


**Рисунок 20.** Сравнительный анализ свободно циркулирующей ДНК «дикого типа» гена *H3F3A* (*K27M*) в крови и ликворе в 1-ой подгруппе с ГВСЗ, n=59

**Примечание:** данные результаты представлены в виде Me [Q25%;Q75%].  
wtK27M – ДНК «дикого типа» гена *H3F3A* (*K27M*)

При изучении данных (рис.21), касающихся мутантной ДНК гена *BRAF* (*V600E*), между ликвором и кровью не было выявлена статистически

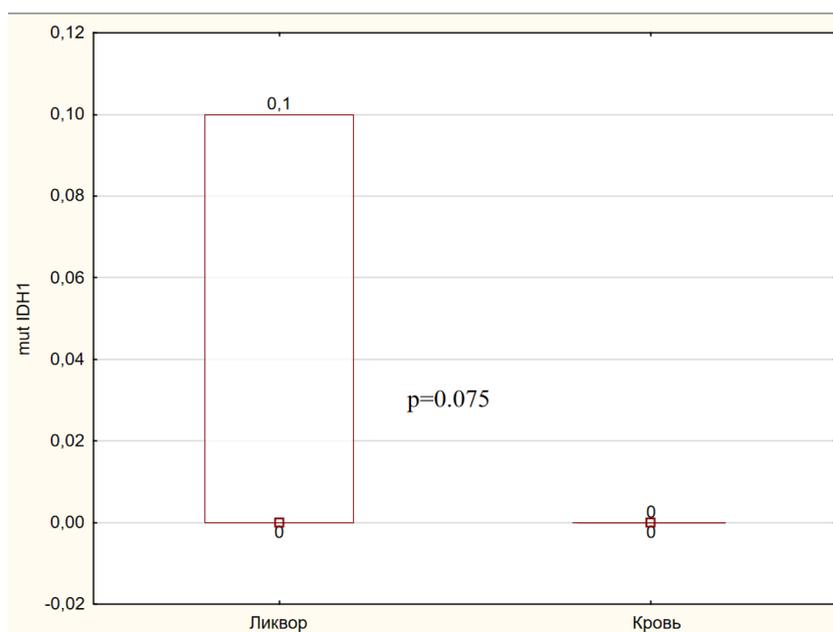
значимой разницы медиан относительной концентрации мутантной ДНК гена *BRAF* (*V600E*) ( $p=0.060$ ) и ДНК «дикого типа» гена *BRAF* (*V600E*) ( $p=0.476$ ).



**Рисунок 21.** Сравнительный анализ свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *BRAF* (*V600E*) и ДНК «дикого типа» гена *BRAF* (*V600E*) в крови и ликворе в 1-ой подгруппе с ГВСЗ,  $n=59$

**Примечание:** данные результаты представлены в виде Me [Q25%;Q75%].  
 mutBRAF - мутантная ДНК гена *BRAF* (*V600E*)  
 wtBRAF - ДНК «дикого типа» гена *BRAF* (*V600E*)

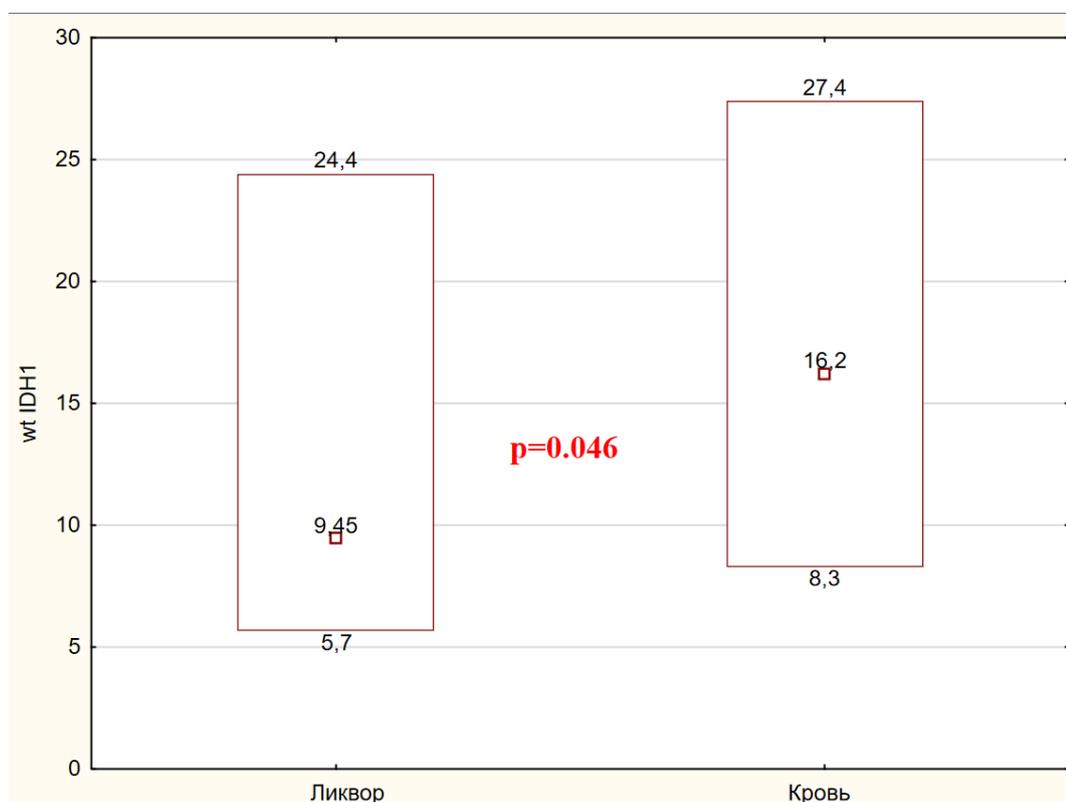
Анализ медиан показателей относительной концентрации мутантной ДНК гена *IDH1* (*R132H*) не показал статистически значимых различий между ликвором и кровь (рис.22), но значения метода сравнения по Манну-Уитни стремятся к значимости ( $p=0.075$ ).



**Рисунок 22.** Сравнительный анализ свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *IDH1* (*R132H*) в крови и ликворе в 1-ой подгруппе с ГВСЗ,  $n=59$

**Примечание:** данные результаты представлены в виде Me [Q25%;Q75%].  
 mutIDH1 – мутантная ДНК гена *IDH1* (*R132H*)

В свою очередь, показатели относительной концентрации свободно циркулирующей ДНК «дикого типа» гена *IDH1(R132H)* в крови (рис.23) имели статистически более высокие значения (16.2 [8.3; 27.4]), чем в ликворе (9.45 [5.7; 24.4],  $p=0.046$ ).



**Рисунок 23.** Сравнительный анализ свободно циркулирующей ДНК «дикого типа» гена *IDH1(R132H)* в крови и ликворе в 1-ой подгруппе с ГВСЗ,  $n=59$   
**Примечание:** данные результаты представлены в виде Me [Q25%;Q75%].  
wtIDH1 –ДНК «дикого типа» гена *IDH1 (R132H)*

Таким образом, наше исследование показало, что результаты молекулярно-генетического исследования соматических мутаций в ткани опухоли могут сильно отличаться от данных мутационного статуса в периферической крови и ликворе. Это в первую очередь объясняется различными типами опухолевой ткани, ее морфологической картиной и локализацией, что также подтверждается проведенными ранее исследованиями [20, 28]. Мутации, описанные в данных исследованиях, имеют решающее патогенетическое значение в возникновении опухоли и появлении ее основных агрессивных свойств [259], такие мутации получили

название «драйверных». Дальнейшее изучение мутационного спектра опухолей головного мозга различной локализации у пациентов разной возрастной категории привело к попыткам классификации злокачественных опухолей головного мозга, включающей наравне с морфологической характеристикой, наличие или отсутствие драйверных мутаций. Основными драйверными мутациями, на настоящий момент, предложено считать мутации генов *NF3A*, *BRAF* и *IDH1/2* [8, 361]. Мутации могут замещаться хромосомными перестройками, приводящими к тем же функциональным изменениям гена.

В нашей работе мы исследовали наличие или отсутствие этих мутаций на основании изучения плазмы периферической крови и ликвора у пациентов с ДСГ (в качестве контроля использовали ГВСЗ других локализаций, реже ГНСЗ с положительным мутационным статусом ткани). Такой выбор метода и объекта исследования был связан с тем, что для пациентов с ДСГ методически сложно получить образцы ткани опухоли для гистологического и молекулярно-генетического исследования для формулировки адекватного диагноза.

На основании данных проведенного исследования, показано, что определение мутационного статуса в периферической крови и ликворе является более информативным и безопасным для пациентов данной когорты. А результаты проведенного исследования могут являться основой для разработки методических рекомендаций определения мутационного статуса опухоли на основе анализа цодНК в крови и ликворе.

Необходимо отметить, что метод цкПЦР обладает рядом преимуществ перед секвенированием по специфичности и чувствительности, а плазма крови и ликвор является субстратом исследования, который интегрирует в себе информацию обо всей опухолевой ткани пациента. Последний момент очень важен, так как уже очевидно, основное препятствие для получения адекватной информации о молекулярной картине злокачественной опухоли – это ее гетерогенность. Поэтому исследование одного ее участка ткани может

не давать полноценной информации, в частности, о спектре имеющихся мутаций в опухолевой ткани. Именно с этим фактом связано стремление большинства врачей и ученых осуществлять анализ молекулярной картины плазмы периферической крови и ликвора (исследование циркулирующей опухолевой ДНК) наряду с исследованием первичной опухолевой ткани, которое в группе пациентов с ДСГ далеко не всегда осуществимо; также выдвигается концепция комплексного молекулярно-генетического исследования тканей, ликвора и плазмы периферической крови у больных с опухолями ЦНС [19, 34, 53, 387]. Комплексное молекулярно-генетическое исследование плазмы крови и ликвора у больных с ДСГ позволило бы преодолеть ряд методических и фундаментальных проблем и получить необходимую информацию для индивидуализации противоопухолевой терапии и своевременного противорецидивного лечения в условиях отсутствия возможности получить биопсийный материал (либо нецелесообразности биопсии) для молекулярно-генетического исследования.

При анализе полученных нами результатов обращает внимание тот факт, что исследование соматических мутаций в плазме периферической крови методом цкПЦР также адекватно отражает мутационный спектр опухолевой ткани, как и ликвор. Кроме того, этот метод незаменим в случаях, когда получение материала опухолевой ткани и/или или ликвора невозможно при динамическом наблюдении или связано с большими рисками для пациента (как это часто имеет место при ДСГ мозга у детей).

### **3.2. Исследование молекулярно-генетического профиля цоДНК у пациентов с диффузными срединными глиомами головного мозга методом NGS (Next Generation Sequencing - секвенирование нового поколения) в ликворе**

В 2016 году ВОЗ приняла классификацию опухолей центральной нервной системы (ВОЗ 4) основанную на молекулярно-генетических особенностях опухолей, тем самым доказав значимость молекулярной диагностики в прогнозировании и лечении глиом. В настоящее время не

вызывает сомнений, что в зависимости от молекулярного типа опухоли могут существенно различаться прогноз заболевания и схемы терапии [256]. Мутационный статус опухолевых клеток определяет подбор таргетных препаратов. Поэтому разработка универсальных схем диагностики, включающих молекулярные методы и направленных на персонализацию тактики лечения, является приоритетной задачей в нейронкологии.

Согласно результатам нашего исследования стандартные методы диагностики, основанные на гистологическом исследовании, а также определение молекулярных изменений по материалу тканей опухолей для пациентов, страдающих ДСГ, зачастую являются невыполнимыми и недостаточно информативными [314]. Получение биологического материала опухоли часто сопряжено с высоким риском для пациента, а точная гистологическая и молекулярная классификация образцов тканей может быть затруднена из-за недостаточного или нерепрезентативного количества материала образцов тканей, что подтверждается результатами анализа 1-ой подгруппы (n=59).

Решение задач по подбору и получению информативного биологического материала, повышение качества, чувствительности молекулярно-биологических методов, позволят определять молекулярные характеристики ГВСЗ и, в частности ДСГ. Результаты полной (адекватной) оценки мутационного статуса позволят лучше понять особенности опухолевого процесса, контролировать течение заболевания и делать реалистичные прогнозы, а также собирать репрезентативные данные для исследователей, которые ищут возможные методы лечения.

В данном разделе главы мы представили результаты исследования, в ходе которого была проанализирована эффективность технологии секвенирования нового поколения (NGS) по материалу цоДНК в ликворе. Несмотря на то, что NGS является наиболее чувствительным и специфичным методом выявления мутаций, для пациентов с ДСГ, существует множество препятствий, для широкого внедрения исследования методом NGS

биологических жидкостей в клиническую практику для диагностики и мониторинга рецидивов ДСГ. В то же время, потребность в доступной молекулярной диагностике может быть удовлетворена путём применения диагностической системы на основе экономически более эффективной и менее трудоемкой технологии, такой как количественная ПЦР и цкПЦР.

Поэтому в данном разделе главы мы поставили задачу изучить сопоставимость результатов NGS и цкПЦР при исследовании цоДНК в ликворе для дальнейшего понимания эффективности данных методов молекулярно-генетического анализа глиом. Для решения этой задачи нами среди материала ликвора пациентов 1-ой группы (96 пациентов с ГВСЗ, в т.ч. 31 пациент с ДСГ) рандомно было отобрано 26 образцов выделенной ДНК, по которым был проведен анализ методом NGS. В анализируемую генетическую панель вошли два из исследуемых гена - *H3F3 (K27M)* и *BRAF (V600E)*.

На преаналитическом этапе два образца выбыли из исследования вследствие недостаточности материала для исследования методом NGS. На первом этапе исследование было проведено по стандартной методике и были выявлены следующие частоты встречаемости исследуемых генетических вариантов: *H3F3 (K27M)* – частота обнаружения 16,67%, *BRAF (V600E)* – 12,50%. Результаты по обнаружению *BRAF (V600E)* согласовывались с ранее полученными методом цкПЦР по частоте встречаемости данной мутантной формы среди исследуемой популяции пациентов, однако результаты для *H3F3 (K27M)* нас не удовлетворили, т.к. существенно отличались от полученных ранее методом цкПЦР значений. Вследствие чего было принято решение о необходимости валидации метода оценки результатов секвенирования, был снижен пороговый уровень определения значимых мутаций с целью выявления более редких мутационных событий. Проведено повторное вычисление/считывание результатов. Полученные результаты представлены в таблице 11.

**Таблица 11.** Мутации, выявленные у подгруппы пациентов, которым был проведен анализ ликвора методом NGS

Образец (Идент.№)	Ген	Мутантная форма	Consequence (функциональная значимость мутации)
22S1	TP53	chr17:7577548C>T	missense_variant
	<b>H3F3</b>	chr1:226252135A>T	missense_variant
23S2	TP53	chr17:7578406C>T	missense_variant
	<b>H3F3</b>	chr1:226252135A>T	missense_variant
3S3	CYP2D6	chr22:42524219G>A	missense_variant
25S4	FGFR1	chr8:38272308T>C	missense_variant
	H3C2	chr6:26032206T>A	missense_variant
5S5	<b>H3F3</b>	chr1:226252135A>T	missense_variant
27S6	FGFR3	chr4:1807140G>T	missense_variant
	HRAS	chr11:534285C>T	missense_variant
	PTEN	chr10:89692961C>T	stop_gained
	TP53	chr17:7577523G>A	missense_variant
	ALK	chr2:29455262C>A	missense_variant
	TP53	chr17:7578488C>A	missense_variant
	PTEN	chr10:89711900G>T	missense_variant
	ERBB2	chr17:37864628G>A	missense_variant
28S7	TP53	chr17:7577121G>A	missense_variant
	<b>H3F3</b>	chr1:226252135A>T	missense_variant
	<b>BRAF</b>	chr7:140453136A>T	missense_variant
30S9	KRAS	chr12:25398284C>G	missense_variant
	<b>H3F3</b>	chr1:226252135A>T	missense_variant
10S10	<b>BRAF</b>	chr7:140453136A>T	missense_variant
	<b>H3F3</b>	chr1:226252135A>T	missense_variant
	TP53	chr17:7578474C>CG	frameshift_variant
32S11	TP53	chr17:7578280G>A	missense_variant
	HRAS	chr11:533875G>T	missense_variant
	<b>H3F3</b>	chr1:226252135A>T	missense_variant
33S12	FGFR4	chr5:176517586C>T	missense_variant
	PIK3CA	chr3:178921548G>A	missense_variant
	H3C2	chr6:26032206T>A	missense_variant
	CYP2D6	chr22:42523855G>A	missense_variant
	G6PD	chrx:153764178G>A	missense_variant
34S13	TP53	chr17:7577121G>A	missense_variant
	H3C3	chr6:26045697A>T	missense_variant
	H3C3	chr6:26045721A>T	missense_variant
35S14	<b>H3F3</b>	chr1:226252135A>T	missense_variant
36S15	PDGFRA	chr4:55144148C>G	missense_variant
37S16	ERBB4	chr2:212426743G>A	missense_variant
	PTEN	chr10:89690828G>A	missense_variant
	PIK3CA	chr3:178917478G>A	missense_variant,splice_region_variant
	<b>H3F3</b>	chr1:226252135A>T	missense_variant
	ARAF	chrx:47428292G>A	missense_variant,splice_region_variant
38S17	<b>H3F3</b>	chr1:226252135A>T	missense_variant
39S18	TP53	chr17:7577121G>A	missense_variant
	<b>H3F3</b>	chr1:226252135A>T	missense_variant
19S19	TP53	chr17:7578406C>T	missense_variant
41S20	PTEN	chr10:89692904C>T	stop_gained
	<b>H3F3</b>	chr1:226252135A>T	missense_variant
	TP53	chr17:7578458G>C	missense_variant
42S21	<b>H3F3</b>	chr1:226252135A>T	missense_variant
	RAF1	chr3:12627212C>T	missense_variant
	EGFR	chr7:55219008G>A	missense_variant
	<b>BRAF</b>	chr7:140453136A>T	missense_variant
43S22	ERBB2	chr17:37866641G>T	missense_variant

Если для *BRAF (V600E)*, уровень выявленных мутаций остался на прежнем уровне, то для *H3F3 (K27M)* выявляемость мутантного варианта удалось существенно повысить, что возможно объясняется особенностью опухолей с данной мутацией. Так как с момента открытия молекулярной основы глиомы с мутацией *H3F3 (K27M)* [96, 219], благодаря масштабным международным исследованиям, было показано, что данная опухоль включает в себя биологически и генетически неоднородные компоненты [150]. Несмотря на то, что цоДНК определяются как в ликворе, так и в плазме, точный механизм высвобождения цоДНК в указанные биологические среды до конца не изучен. Обзор опубликованных статей показал, что цоДНК высвобождается из нескольких источников, включая живые клетки, апоптотические и/или некротические опухолевые клетки [150, 172, 301]. В таблице 12 представлена частота выявления мутантных форм *H3F3 (K27M)* и *BRAF (V600E)* методами NGS и цкПЦР у пациентов, которым был проведен анализ ликвора методом NGS, и сравнение с полученными результатами выявления мутаций среди пациентов 1-ой группы.

**Таблица 12.** Сравнение частоты выявления мутантных форм генов *H3F3 (K27M)* и *BRAF (V600E)* в ликворе методами NGS и цкПЦР

	Стандартная методика оценки результатов методом NGS, % (до валидации)	Частота определения мутантных форм методом NGS, %	Частота определения мутантных форм методом цкПЦР в подгруппе «NGS», %	Частота определения мутантных форм методом цкПЦР среди всех пациентов 1-ой группы (n=96), %
<i>BRAF (V600E)</i>	12,5	12,5	10,0	13,54
<i>H3F3 (K27M)</i>	16,7	54,17	40,0	46,87

При анализе литературных данных мы отмечали, что при генотипировании глиомы преимущественно используется ликвор, так как содержание цоДНК достаточно велико и коррелирует с профилем опухоли [293]. Это позволяет отслеживать молекулярное прогрессирование глиомы при рецидивах без необходимости получения образцов опухолевой ткани. Выявление мутации в гене *H3F3A (K27M)*, которая характерна для детских

глиом, возможно в ликворе с помощью метода цкПЦР с чувствительностью 87% [328]. При этом, по некоторым литературным данным, чувствительность метода при обнаружении цоДНК в плазме крови значительно ниже [223], так в одном из исследований было показано, что у пациентов с глиомой цоДНК в плазме крови обнаруживается только в 20–50% случаев [162]. Однако, в 2018 году Panditharatna E. и соавт. провели исследование среди детей и установили практически одинаковую чувствительность в выявлении мутаций в гене *H3F3A (K27M)* в образцах плазмы крови (90%) и ликворе (87%) [328], аналогичные результаты по выявляемости мутантных форм в ликворе и периферической крови были получены и в нашей работе. Так благодаря ранее проведенному анализу мутационного статуса ДНК опухоли в периферической крови и ликворе у пациентов с ДСГ в зависимости от аналогичных данных в ткани опухоли у больных с верифицированными опухолями головного мозга была доказана эффективность цкПЦР.

цкПЦР — это один из самых чувствительных методов обнаружения и количественного определения цоДНК по сравнению с секвенированием по Сэнгеру, количественной ПЦР и NGS [131]. Мы показали, что с помощью цкПЦР можно количественно оценить цоДНК как в плазме крови, так и в ликворе, что позволит использовать его как быстрый и более чувствительный метод для изучения мутаций в исследуемых образцах. Полученные результаты позволяют существенно повысить эффективность диагностики ДСГ, причем для получения биологического материала используются мало инвазивные методы.

При сравнении частоты выявления мутантных форм генов *H3F3 (K27M)* и *BRAF (V600E)* в ликворе методами NGS и цкПЦР было показано, что методы NGS и цкПЦР позволяют получить близкие (сопоставимые) результаты. Однако результаты определения цоДНК методом NGS нуждаются в дополнительной валидации после оценки результатов для повышения чувствительности метода. Правильный подбор значений порогового уровня выявления мутантных форм методом NGS позволит

получить высокую эффективность метода (сравнимую и, возможно даже превосходящую цкПЦР).

Безусловно, при существующих сложностях хирургического лечения и получения биопсийного материала при ДСГ открытия в области геномного, эпигеномного и протеомного профилирования предоставляют новые возможности для ускорения разработки новых терапевтических методов лечения пациентов, страдающих ДСГ. В эпоху расцвета молекулярно-генетических исследований жидкостная биопсия становится тем самым эффективным инструментом для диагностики и мониторинга эффективности проводимой терапии.

### **3.3. Сравнительная оценка мутационного статуса в ликворе и крови N3F3A (K27M), BRAF (V600E), IDH1 (R132H), IDH2 (R140Q) на этапе до начала химиолучевого лечения**

Для оценки наличия соматических мутаций в ликворе и крови была сформирована выборка из 96 пациентов (2-ая исследовательская группа) с установленным диагнозом ГВСЗ, данные о распределении по полу, возрасту, объему опухоли и локализации опухолевого процесса пациентов 2-ой группы приведены в таблице 13. С наибольшей частотой - 48,96%, было диагностировано опухолевое поражение ствола головного мозга. В данную группу было включено 68 (70,83%) пациентов детского возраста и 28 (29,17%) пациентов старше 18 лет, средний возраст пациентов – 11,0 [7.0; 30.3] лет.

Всем пациентам 2-ой группы перед проведением лучевого или химиолучевого лечения были проведены процедуры взятия материала ликвора и периферической крови для последующей количественной оценки свободно циркулирующей ДНК мутантного и «дикого типа» в образцах биологического материала методом цкПЦР.

**Таблица 13.** Общие характеристики 96 пациентов с ГВСЗ, из которых 57 пациентов с ДСГ

Характеристика		Показатель
Пол	Мужской	46,88% (n=45)
	Женский	53,13% (n=51)
Возраст, Ме [Q25%;Q75%] лет		11.0 [7.0; 30.3]
Возраст	До 18 лет	70,83% (n=68)
	19 лет и более	29,17% (n=28)
Объем опухоли по данным МРТ, Ме [Q25%;Q75%] см <sup>3</sup>		36.0 [17.8; 61.0]
Локализация	C71.0 (большой мозг, кроме долей и желудочков)	4,17% (n=4)
	C71.1 (лобная доля)	10,42% (n=10)
	C71.2 (височная доля)	6,25% (n=6)
	C71.3 (теменная доля)	3,125% (n=3)
	C71.6 (мозжечок)	2,08% (n=2)
	C71.7 (ствол мозга)	48,96% (n=47)
	C71.8 (поражение головного мозга более одной локализации)	22,92% (n=22)
	C71.9 (неуточненная локализация головного мозга)	1,04% (n=1)
	C72 (спинной мозг)	1,04% (n=1)
Локализация	Диффузная срединная глиома	59,37% (n=57)
	Другие локализации	40,62% (n=39)

Проведенный анализ частоты выявления мутантных форм цДНК в ликворе и крови показал, что во 2-ой группе в 78 (81,2%) случаях были обнаружены мутантные формы исследуемых генов в материале ликвора, в периферической крови мутантные формы были выявлены в 73 (76,0%) случаях. Основные показатели частоты выявляемости мутантных цДНК представлены в таблице 14. В целом, для пациентов 2-ой группы процент обнаруженных мутантных форм цДНК был выше, чем для пациентов 1-ой подгруппы, что может объясняться гетерогенностью ДСГ, диффузным характером роста опухоли в непосредственной близости к ликворопроводящим путям. Существенно ниже во 2-ой группе была выявляемость *BRAF (V600E)* в материале ликвора, в то же время в материале периферической крови данная мутация определялась в 12,5%, что выше, чем

в 1-ой подгруппе (10,42%). Это объясняется традиционной низкой встречаемостью поражения срединных структур глиомами низкой степени злокачественности. Было отмечено, что обнаружение *BRAF* (*V600E*) сочетается с относительно небольшим объемом опухолевого очага и коррелирует с хорошим прогнозом заболевания.

**Таблица 14.** Анализ выявляемости мутантных форм сцДНК в материале ликвора и крови пациентов 2-ой группы (96 пациентов с ГВСЗ, из которых 57 пациентов с ДСГ)

	Кол-во пациентов с выявленной мутантной формой	% в группе 2	Медиана возраста пациентов с выявленной мутантной формой	Среднее значение объема опухоли ( $\pm$ ст. отклонение)	% стабилизации опухолевого процесса у пациентов с выявленной мутантной формой
H3F3 (K27M) (ликвор)	34	35,42	8	45 $\pm$ 36,45	44,12
H3F3 (K27M) (кровь)	30	31,25	10	43 $\pm$ 34,43	36,67
BRAF (V600E) (ликвор)	3	3,125	60	32 $\pm$ 16	66,67
BRAF (V600E) (кровь)	12	12,5	10	28 $\pm$ 17,17	61,54
IDH2 (R140Q) (ликвор)	16	16,67	11	62 $\pm$ 38,17	37,5
IDH2 (R140Q) (кровь)	18	18,75	12	65 $\pm$ 50,69	44,44
IDH1 (R132H) (ликвор)	25	26,04	9	52 $\pm$ 50,77	50,00
IDH1 (R132H) (кровь)	12	12,50	9,5	78 $\pm$ 57,93	53,85

У пациентов 2-ой группы с наибольшей частотой выявлялась мутантная форма гена *H3F3A* (*K27M*): 35,42% в ликворе и 31,25% в крови, что также отмечалось при анализе 1-ой подгруппы пациентов (в группе №1). Причем, обнаружение данной мутации коррелировало с плохим прогнозом заболевания. Высокие результаты выявляемости были получены также для *IDH2* (*R140Q*) – 16,67% в ликворе и 18,75% в крови, в случаях обнаружения данной мутации также отмечался большой объем опухолевого очага.

Проведенный анализ распределения мутантных форм исследуемых генов между образцами ликвора и крови (табл.15) показал, что для *BRAF* (*V600E*) и *IDH2* (*R140Q*) более высокая частота выявляемости была характерна для материала периферической крови, в то время как для выявляемости *H3F3A* (*K27M*) и *IDH1* (*R132H*) наиболее информативным являлся материал ликвора. Также показано, что не всегда наблюдалось одновременное выявление мутантных форм в ликворе и крови, особенно были выражены отличия в выявляемости мутантных форм генов *BRAF* (*V600E*) и *IDH1* (*R132H*).

**Таблица 15.** Сравнение частоты выявляемости исследуемых мутантных форм в материале крови и ликвора пациентов 2-ой группы (96 пациентов с ГВСЗ, из которых 57 пациентов с ДСГ)

N=96	Выявлена мутантная цоДНК только в ликворе, %	Выявлена мутантная цоДНК только в крови, %	Кровь и ликвор во всей группе (n= 96), %
<i>H3F3</i> ( <i>K27M</i> )	43,59 (n=34)	41,66 (n=30)	17,71 (n=17)
<i>BRAF</i> ( <i>V600E</i> )	3,85 (n=3)	16,67 (n=12)	2,08 (n=2)
<i>IDH2</i> ( <i>R140Q</i> )	20,51 (n=16)	25,00 (n=18)	8,33 (n=8)
<i>IDH1</i> ( <i>R132H</i> )	32,05 (n=25)	16,67 (n=12)	8,33 (n=8)

Таким образом, доказано, что для получения наиболее достоверной информации о мутационном статусе онкологического процесса, необходимо исследование как материала ликвора, так и материала крови.

Полученные в исследовании результаты по частоте выявляемости мутации *K27M* в гене *H3F3A* соответствуют общемировым тенденциям, где отмечается его превалирование как у детей, так и у взрослых [286, 388]. При этом, если для детей, страдающих ДСГ наличие *H3K27M* – крайне неблагоприятный прогностический фактор, то для супратенториальных глиом у взрослых с мутацией *K27M* и диким типом гена *H3F3A* показатели выживаемости достоверно не отличаются [286]. В большинстве своем ГВСЗ с мутацией *H3K27M* обладают более агрессивным клиническим течением в сравнении с ГВСЗ другой генетической природы.

Также было установлено, что в ликворе у 13 пациентов 2-ой группы (13,5% случаев) присутствуют различные сочетания мутаций в исследуемых генах (табл.16).

**Таблица 16.** Выявленные сочетания мутаций в исследуемых генах в материале ликвора пациентов 2-ой группы (96 пациентов с ГВСЗ, из которых 57 пациентов с ДСГ)

Идентиф.№ пациента	Кол-во выявленных мутаций у пациента	Сочетание выявленных мутаций
20	2	<i>BRAF (V600E)/IDH1 (R132H)</i>
27	2	<i>IDH1 (R132H)/H3F3 (K27M)*</i>
43	2	<i>BRAF (V600E)/IDH2 (R140Q)</i>
45	2	<i>BRAF (V600E)/IDH1 (R132H)</i>
46	2	<i>BRAF (V600E)/IDH2 (R140Q)</i>
48	2	<i>IDH1 (R132H)/H3F3 (K27M)*</i>
52	2	<i>IDH2 (R140Q)/H3F3 (K27M)*</i>
57	2	<i>IDH2 (R140Q)/H3F3 (K27M)*</i>
65	2	<i>IDH1 (R132H)/H3F3 (K27M)*</i>
71	2	<i>BRAF (V600E)/IDH1 (R132H)</i>
78	2	<i>BRAF (V600E)/H3F3 (K27M)*</i>
80	2	<i>IDH1 (R132H)/H3F3 (K27M)*</i>
92	3	<i>IDH1 (R132H)/IDH2 (R140Q)/H3F3 (K27M)*</i>

В 12 случаях – различные варианты двойных мутаций и в 1 случае – тройное сочетание мутаций *IDH1(R132H)/IDH2(R140Q)/H3F3A(K27M)*.

Интересно отметить, что наиболее частой мутацией при сочетанных формах являлась *H3F3A (K27M)*, которая была обнаружена в 8 случаях множественных мутаций, что составило 66,70% для данной подгруппы. Наиболее частым сочетанием явилось *IDH1 (R132H)/H3F3A (K27M)*, выявленное в 5 случаях (41,67%) подгруппы множественных мутаций. Клиническая и прогностическая значимость выявленных сочетанных мутаций требует дополнительного изучения.

В образцах плазмы периферической крови также были обнаружены случаи сочетания различных мутаций в исследуемых генах, в таблице 17 представлены выявленные сочетания и частота их встречаемости во 2-ой группе.

**Таблица 17.** Выявленные сочетания мутаций в исследуемых генах в материале плазме периферической крови пациентов 2-ой группы (96 пациентов с ГВСЗ, из которых 57 пациентов с ДСГ)

Сочетание выявленных мутаций	Количество случаев	% случаев
1. <i>H3F3 (K27M)/IDH2 (R140Q)</i>	7	7,29
2. <i>BRAF (V600E)/H3F3 (K27M)</i>	2	2,08
3. <i>IDH2 (R140Q)/IDH1 (R132H)</i>	4	4,17
4. <i>BRAF (V600E)/IDH1 (R132H)</i>	2	2,08
5. <i>BRAF (V600E)/H3F3 (K27M)/IDH2 (R140Q)</i>	5	5,21
Всего случаев	20	20,83

При сравнении результатов частоты выявления мутантных форм в исследуемых генах методом цкПЦР, было показано, что в отличие от полученных результатов по частоте выявляемости сочетанных мутаций в ликворе, наиболее частым сочетанием выявленных в крови мутаций явилось *IDH2 (R132H)/H3F3A (K27M)*, выявленное в 7 случаях (35%) подгруппы множественных мутаций.

Также, в материале крови снижается частота выявления в сочетанных формах мутаций *BRAF (V600E)*, но увеличивается частота выявления *IDH2 (R140Q)*.

Возникает вопрос, почему с меньшей частотой в кровь попадает *BRAF (V600E)*, но увеличивается количество *IDH2 (R140Q)*? Возможно, это объясняется различной морфологической формой опухолей, образцы, положительные по *BRAF (V600E)* – это так называемые «благоприятные» опухоли, в 87% случаев – это астроцитомы (плеоморфная ксантоастроцитома, пилоидная астроцитома) и только в 13% - ДСГ. Опухоли, имеющие *IDH2 (R140Q)* - положительный статус — это в 33,3% - глиобластомы и в 66,7% - ДСГ.

В ходе исследования было предположено, что существует взаимосвязь между мутационным статусом, частотой выявляемости мутантных форм цоДНК и локализацией опухолевого процесса. С целью подтверждения данного предположения было проведено сравнение частоты выявленных мутаций по локализации процесса (табл. 18).

**Таблица 18.** Частота встречаемости мутантных форм цоДНК *BRAF (V600E)* обнаруженных в ликворе и крови пациентов 2-ой группы в зависимости от локализации опухолевого процесса (96 пациентов с ГВСЗ, из которых 57 пациентов с ДСГ)

	Выявлено во 2-ой группе случаев	% среди выявленных случаев во 2-ой группе (n=96)	% среди выявленных случаев мутаций в средах (n=3/12)	% от опухолей данной локализации во 2-ой группе
<b>BRAF (V600E) ликвор</b>				
C71.1 (лобная доля)	1,00	1,04	33,33	10,00
C71.7 (ствол мозга)	1,00	1,04	33,33	2,13
C71.8 (поражение головного мозга более одной локализации)	1,00	1,04	33,33	4,55
Всего	3	3,13	100	
<b>BRAF (V600E) кровь</b>				
C71.1 (лобная доля)	1,00	1,04	8,33	10,00
C71.2 (височная доля)	1,00	1,04	8,33	16,67
C71.3 (теменная доля)	1,00	1,04	8,33	33,33
C71.7 (ствол мозга)	7,00	7,29	58,34	19,15
C71.8 (поражение головного мозга более одной локализации)	2,00	22,22	16,67	9,09
Всего	12	32,63	100	

В случае поражения лобной доли (C.71.1) и ствола мозга (C.71.7), мутантные формы были обнаружены и в крови, и в ликворе (табл.18). У данных пациентов также были обнаружены сочетания мутантных форм *BRAF (V600E)* с *H3F3A (K27M)* и *IDH2 (R140Q)*. Вероятнее всего для глиом срединных структур и лобных долей в виду наличия смежно расположенных ликворопроводящих путей характерна высокая концентрация цоДНК в ликворе, а хирургическое вмешательство даже в объеме СТБ у ДСГ, формирует посттравматическое кровоснабжение и усиливает микроинвазию цоДНК в кроветворное русло. Хочется обратить внимание, что в большинстве своем положение пациента при выполнении нейрохирургических вмешательств исследуемой группы больных, выполняется в положении «лицом вниз», что может приводить к миграции сред с цоДНК из постоперационной зоны к лобным долям.

**Таблица 19.** Частота выявляемости мутантных форм цоДНК *H3F3A (K27M)* обнаруженных в ликворе и крови пациентов 2-ой группы в зависимости от локализации опухолевого процесса (96 пациентов с ГВСЗ, из которых 57 пациентов с ДСГ)

	выявлено в группе 2 случаев	% среди выявленных случаев в группе 2 (n=96)	% среди выявленных случаев мутаций в средах (n=34/30)	% от опухолей данной локализации в группе 2
<b>H3F3 (K27M) ликвор</b>				
C71.0 (большой мозг, кроме долей и желудочков)	2	2,08	5,89	50,00
C71.1 (лобная доля)	4	4,17	11,76	40,00
C71.7 (ствол мозга)	25	26,04	73,53	53,19
C71.8 (поражение головного мозга более одной локализации)	3	3,12	8,82	13,64
Всего	34	35,51	100	
<b>H3F3 (K27M) кровь</b>				
C71.0 (большой мозг, кроме долей и желудочков)	3	3,12	10,00	75,00
C71.1 (лобная доля)	7	7,29	23,33	60,00
C71.2 (височная доля)	1	1,04	3,33	16,67
C71.3 (теменная доля)	1	1,04	3,33	33,33
C71.7 (ствол мозга)	16	16,67	53,34	34,04
C71.8 (поражение головного мозга более одной локализации)	2	2,08	6,67	9,09
Всего	30	31,24	100	

Мутантная форма *H3F3A (K27M)* с высокой частотой обнаруживалась при локализации опухоли в области больших полушарий, лобных долей и ствола мозга, причем и в материале ликвора и крови (табл. 19). В случае локализации опухоли в теменных долях, наиболее информативным, согласно нашим результатам, оказался материал периферической крови. При одновременном обнаружении *H3F3A (K27M)* в материале ликвора и крови в 60% данная мутация сочеталась с наличием других мутантных форм: в 27% случаев идентифицировалась также мутация *IDH1 (R132H)*, в 20% - *BRAF (V600E)*, в 6,67% - *IDH2 (R140Q)* и в 6,67% было выявлено тройное сочетание *H3F3 (K27M)* с *IDH1 (R132H)* и *IDH2 (R140Q)*.

Также, как и в случае *BRAF (V600E)*, при анализе обнаружения *H3F3A (K27M)* в исследуемых биологических жидкостях были показаны различия по информативности биоматериала. Проведенный анализ частоты выявляемости мутаций гена *H3F3A (K27M)* показал, что в случае обнаружения мутации *K27M* только в материале ликвора, опухоль локализуется в лобных долях (С71.1), стволе ГМ (С71.7) или имеет место обширное поражение, более одной локализации (С71.8). При обнаружении *H3F3A (K27M)* и в крови, и в материале ликвора в спектр локализаций, кроме С71.1, С71.7 и С71.8 попадает еще С71.0 – большой мозг, при этом в нашем исследовании в ликвор не попадали мутантные формы *H3F3A (K27M)* при локализациях С71.2 (височные доли) и С71.3 (теменные доли), хотя эти мутантные формы были обнаружены в крови пациентов (табл.20). Возможно, это объясняется тем, что при локализации опухоли в височных и теменных долях более выражено ограничение сообщения патологического процесса с ликворопроводящими путями. В большинстве случаев при опухолях данных локализаций хирургическое вмешательство выполнимо почти в радикальном объеме, что формирует в постоперационной зоне посттравматическое кровоснабжение, что способствует выходу цоДНК в кровеносное русло.

**Таблица 20.** Выявляемость *H3F3A (K27M)* в исследуемых средах при опухолях различной локализации во 2-ой группе (96 пациентов с ГВСЗ, из которых 57 пациентов с ДСГ)

	mut(K27M только кровь)		mut(K27M только в ликворе)		mut(K27M и в ликворе и в крови)		Всего пациентов с выявленными H3F3 (K27M)	Общий % выявленных случаев от опухолей данной локализации
	Кол-во случаев в	%	Кол-во случаев в	%	Кол-во случаев в	%		
С71.0	1,00	25,00	-	-	2,00	50,00	3,00	75,00
С71.1	3,00	30,00	1,00	10,00	3,00	30,00	7,00	70,00
С71.2	1,00	16,67	-	-	-	-	1,00	16,67
С71.3	1,00	33,33	-	-	-	-	1,00	33,33
С71.7	5,00	10,64	13,00	27,66	11,00	23,40	29,00	61,70
С71.8	1,00	4,55	2,00	9,09	1,00	4,55	4,00	18,18

Проведенный последующий анализ возможной взаимосвязи частоты выявляемости мутантной формы *H3F3A (K27M)* в исследуемых биологических образцах с возрастом пациентов, размером опухоли и течением заболевания, позволил установить, что *H3F3A (K27M)* выявлялась только в ликворе у пациентов детского возраста, также отмечено более благоприятное течение заболевания (табл.21). Обратная ситуация наблюдается при обнаружении *H3F3A (K27M)* только в крови, в большей части это были пациенты взрослого возраста, у них имелся достоверно более низкий процент стабилизации опухолевого процесса после проведенного лечения. Возможно, это было обусловлено предшествующим хирургическим лечением, и, соответственно, большими рисками возникновения кровоизлияния в постоперационной зоне, наличием сопутствующей патологии, в том числе сопровождающейся нарушенной проницаемостью стенок сосудистого русла. Промежуточное положение занимает группа с выявленной мутантной формой цодНК *H3F3A (K27M)* и в крови, и в ликворе.

**Таблица 21.** Взаимосвязь частоты выявляемости мутантной формы *H3F3A (K27M)* в ликворе и крови с возрастом пациента, размером опухоли и течением заболевания во 2-ой группе (96 пациентов с ГВСЗ, из которых 57 пациентов с ДСГ)

	Возраст, среднее (±ст.отклонение)	средний объем опухоли, мм <sup>3</sup> (±ст.отклонение)	кол-во случаев стабилизации (%)
mut(K27M) только в ликворе	8,31±3,75	49,63±38,98	8 (50,00%)
mut(K27M) только в крови	24,83±23,95	46,39±35,55	4 (33,33%)
mut(K27M) и в ликворе и в крови	14,94±17,35	40,78±34,53	7 (41,18%)

**Примечание:** mut – мутантная форма ДНК

При изучении закономерности выявления цодНК гена *IDH1* с мутацией *R132H* (табл.22), были выявлены похожие закономерности, когда больший процент случаев был характерен для пациентов, у которых патологический процесс анатомически локализовался в стволе мозга или лобных долях. В

ликворе и крови у больных с опухолями ствола удельный вес выявляемости мутации R132H в гене *IDH1* в структуре выявленных мутаций для данной локализации опухоли составил 31,11% для ликвора и 15,56% для крови, соответственно, у пациентов с глиомами лобных долей - 40,00% и 20,00%, соответственно.

**Таблица 22.** Мутантные формы цодНК *IDH1* (R132H) обнаруженные в ликворе и крови пациентов 2-ой группы (96 пациентов с ГВСЗ, из которых 57 пациентов с ДСГ)

	выявлено в группе	% среди выявленных случаев в группе 2 (n=96)	% среди выявленных случаев мутаций в средах (n=25/12)	% от опухолей данной локализации в группе 2
<b>IDH1 (R132H) ликвор</b>				
C71.0(большой мозг, кроме долей и желудочков)	1	1,04	4,00	33,33
C71.1 (лобная доля)	4	4,17	16,00	40,00
C71.2 (височная доля)	1	1,04	4,00	16,67
C71.3 (теменная доля)	1	1,04	4,00	50,00
C71.7 (ствол мозга)	14	14,58	56,00	31,11
C71.8 (поражение головного мозга более одной локализации)	3	3,13	12,00	25,00
C72.0 (спинной мозг)	1	1,04	4,00	100,00
Всего	25	26,04	100	
<b>IDH1 (R132H) кровь</b>				
C71.1 (лобная доля)	2	2,08	16,67	20,00
C71.2 (височная доля)	1	1,04	8,33	16,67
C71.7 (ствол мозга)	7	7,29	58,34	15,56
C71.8 (поражение головного мозга более одной локализации)	1	1,04	8,33	8,33
C71.9 (неуточненная локализация головного мозга)	1	1,04	8,33	5,88
Всего	12	12,49	100	

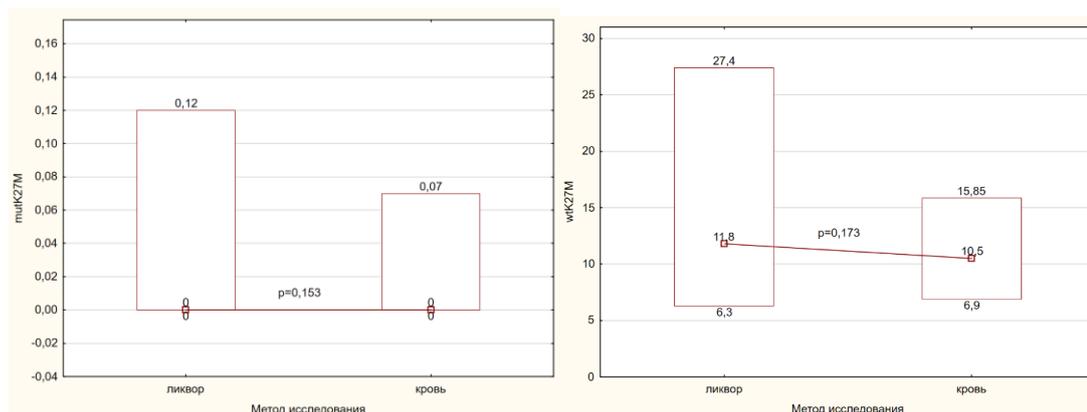
Наибольший процент выявляемости мутации *R140Q* в гене *IDH2* в составе выявленных мутаций был при локализации опухоли в области ствола мозга, в ликворе - 56,25% и в крови - 44,44%, второе место по частоте выявляемости мутации *R140Q* было характерно для патологических процессов,

располагающихся в более чем одной локализации (табл.23). Наиболее информативным оказался материал ликвора.

**Таблица 23.** Мутантные формы цоДНК *IDH2 (R140Q)* обнаруженные в ликворе и крови пациентов 2-ой группы (96 пациентов с ГВСЗ, из которых 57 пациентов с ДСГ)

	выявлено в группе	% среди выявленных случаев в группе 2 (n=96)	% среди выявленных случаев мутаций в средах (n=16/18)	% от опухолей данной локализации в группе 2
<b>IDH2 (R140Q) ликвор</b>				
C71.0 (большой мозг, кроме долей и желудочков)	2	2,08	12,50	66,67
C71.6 (мозжечок)	1	1,04	6,25	50,00
C71.7 (ствол мозга)	9	9,38	56,25	20,00
C71.8 (поражение головного мозга более одной локализации)	4	4,17	25,00	33,33
Всего	16	16,67	100	
<b>IDH2 (R140Q) кровь</b>				
C71.0 (большой мозг, кроме долей и желудочков)	2	2,08	11,11	66,67
C71.1 (лобная доля)	2	2,08	11,11	20,00
C71.2 (височная доля)	1	1,04	5,56	16,67
C71.6 (мозжечок)	1	1,04	5,56	50,00
C71.7 (ствол мозга)	8	8,33	44,44	17,78
C71.8 (поражение головного мозга более одной локализации)	4	4,17	22,22	33,33
Всего	18	18,74	100	

В дальнейшем мы провели сравнение показателей относительной концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *H3F3A (K27M)* и ДНК «дикого типа» гена *H3F3A (K27M)* в ликворе и крови (рис. 24). В ходе анализа полученных результатов не было продемонстрировано статистически значимых отличий медиан ( $p=0.153$  и  $p=0.173$ ) относительной концентрации обеих форм гена *H3F3A* в материале ликвора и крови, что доказывает равную прогностическую информативность ликвора и периферической крови при оценке свободно циркулирующей ДНК для мутантной формы гена *H3F3A (K27M)* и «дикого типа» гена *H3F3A (K27M)*.



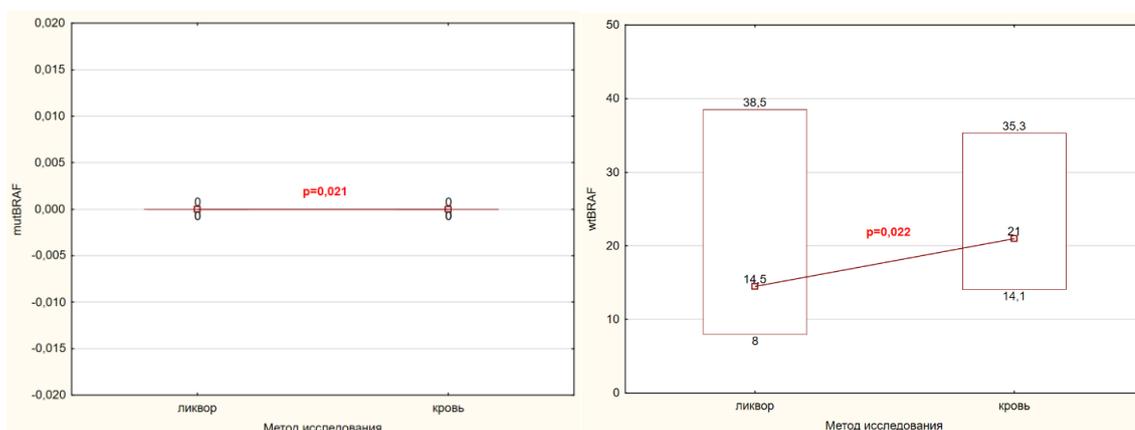
**Рисунок 24.** Сравнение свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *H3F3A(K27M)* и ДНК «дикого типа» гена *H3F3A(K27M)* в ликворе и крови у пациентов 2-ой группы (96 пациентов с ГВСЗ, из которых 57 пациентов с ДСГ)

**Примечание:** данные результаты представлены в виде Me [Q25%;Q75%].

mutK27M - мутантная ДНК гена *H3F3A(K27M)*

wtK27M - ДНК «дикого типа» гена *H3F3A(K27M)*

Между ликвором и кровью были выявлены статистически значимые различия медиан относительной концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *BRAF(V600E)* ( $p=0.021$ ) и ДНК «дикого типа» гена *BRAF(V600E)* ( $p=0.022$ ) (рис.25).



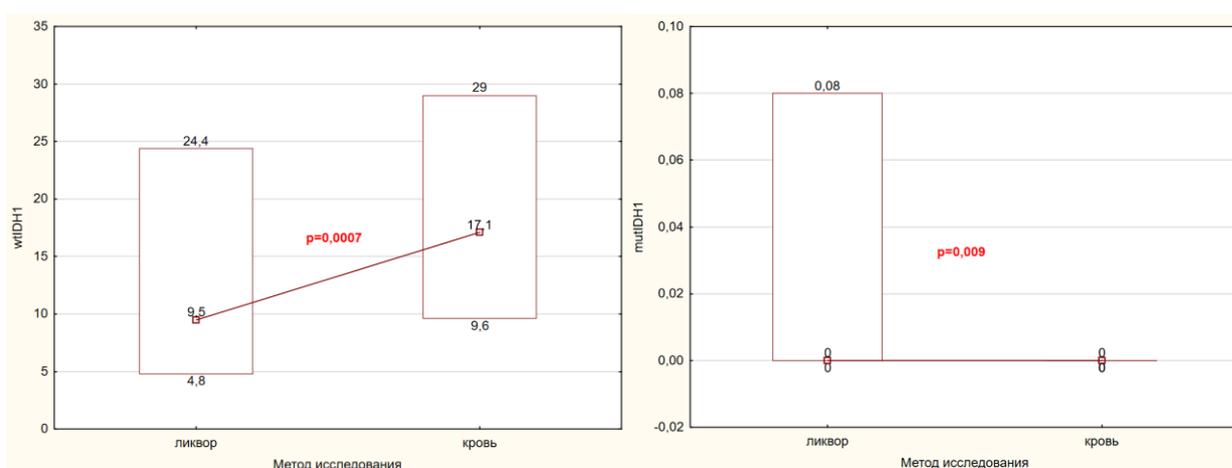
**Рисунок 25.** Сравнение свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *BRAF(V600E)* и ДНК «дикого типа» гена *BRAF(V600E)* в крови и ликворе у пациентов 2-ой группы (96 пациентов с ГВСЗ, из которых 57 пациентов с ДСГ)

**Примечание:** данные результаты представлены в виде Me [Q25%;Q75%].

mutBRAF- мутантная ДНК гена *BRAF(V600E)*

wtBRAF - ДНК «дикого типа» гена *BRAF(V600E)*

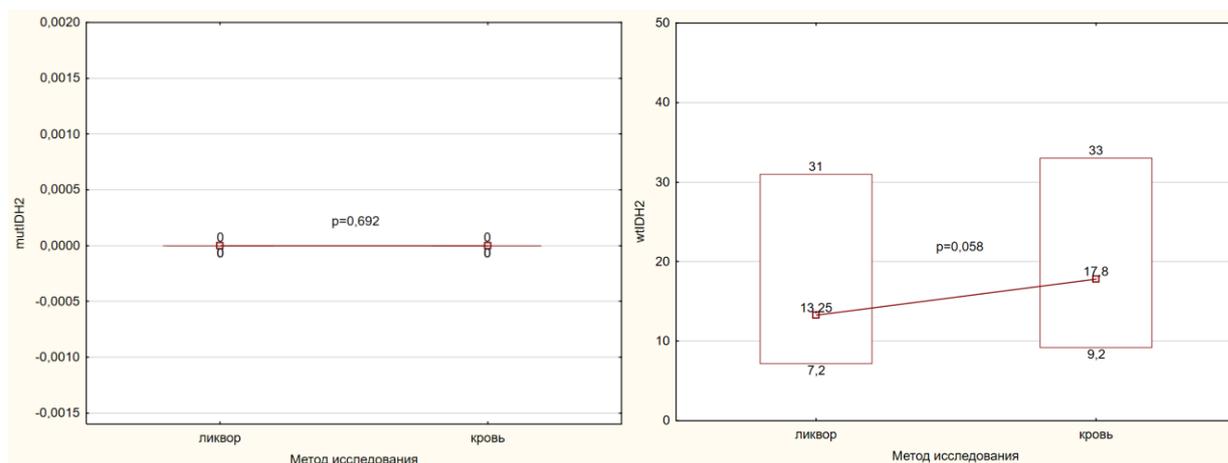
Анализ медиан показателей относительной концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *IDH1(R132H)* и «дикого типа» *IDH1(R132H)* продемонстрировал статистически значимое различие между ликвором и кровью. Медиана относительной концентрации определяемого «дикого типа» гена *IDH1(R132H)* достоверно выше в материале крови ( $p=0,0007$ ), в то время как медиана относительной концентрации мутантного ДНК гена *IDH1(R132H)* (*R132H*) статистически достоверно выше в ликворе ( $p=0,009$ ) (рис.26).



**Рисунок 26.** Сравнительный анализ свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *IDH1(R132H)* и ДНК «дикого типа» гена *IDH1(R132H)* в крови и ликворе у пациентов 2-ой группы (96 пациентов с ГВСЗ, из которых 57 пациентов с ДСГ)

**Примечание:** данные результаты представлены в виде Me [Q25%;Q75%].  
mutIDH1- мутантная ДНК гена *IDH1(R132H)*  
wtIDH1 - ДНК «дикого типа» гена *IDH1(R132H)*

Анализ медиан показателей относительной концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *IDH2(R140Q)* не продемонстрировал статистически значимых различий между ликвором и кровью ( $p=0.692$ ) (рис.27).



**Рисунок 27.** Сравнительный анализ свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *IDH2* (*R140Q*) и ДНК «дикого типа» гена *IDH2* (*R140Q*) в крови и ликворе у пациентов 2-ой группы (96 пациентов с ГВСЗ, из которых 57 пациентов с ДСГ)

**Примечание:** данные результаты представлены в виде Me [Q25%;Q75%].

mutIDH2- мутантная ДНК гена *IDH2* (*R140Q*)

wtIDH2 - ДНК «дикого типа» гена *IDH2* (*R140Q*)

В свою очередь, показатели относительной концентрации свободно циркулирующего ДНК «дикого типа» гена *IDH2* (*R140Q*) в крови не имели статистически значимого различия, но приближено к нему ( $p=0.058$ ). Так, кровь имеет более высокие значения свободно циркулирующего ДНК (17.8 [9.2; 33.0]), чем в ликворе (13.25 [7.2; 31.0]).

Таким образом, доказана высокая эффективность определения свободно циркулирующей ДНК как мутантного типа, так и ««дикого типа»» генов в периферической крови и в ликворе. Необходимо понимать, что относительная концентрация полученной цоДНК может отличаться по величине показателя ввиду разницы объема доступного материала. Так, разница объема доступного для исследования ликвора существенна, если ликвор берется интраоперационно или из помпы желудочково-перитонеальных шунтов, риски различного рода осложнений минимальны, чего нельзя сказать при заборе материала с помощью люмбальной пункции особенно у маленьких детей или при формирующейся гидроцефалии [156]. При этом взятие образца периферической венозной крови значительно проще выполнять в случаях, когда жидкостная биопсия используется для мониторинга течения заболевания, что делает ее более удобной

альтернативой для получения геномной информации об опухоли [156]. Поэтому в нашем исследовании для оценки в динамике эффективности терапии и мониторинга течения заболевания мы проводили именно взятие периферической крови в трех контрольных точках. Тем не менее, при изучении мутационного статуса и относительной концентрации цоДНК в крови также существует ряд проблем, которые необходимо учитывать [426].

Недостаточная проницаемость ГЭБ может быть препятствием для высвобождения цоДНК в кровь, хотя в нескольких исследованиях на животных и людях показано, что экзосомы, микровезикулы и апоптотические везикулы могут проникать через интактный ГЭБ [297]. Однако фрагменты цоДНК короче циркулирующей неопухолевой ДНК, и специфические изменения вполне могут отсутствовать в циркулирующем фрагменте цоДНК, хотя чувствительность процедуры можно было бы повысить с помощью селективного секвенирования и улучшенной идентификации цоДНК [299, 384, 412]. Несмотря на все эти недостатки, некоторые исследования выявили соматические изменения при NGS, и недавно было показано, что профилирование метилирования всего генома с помощью новых методов дает надежные результаты даже при небольших количествах ДНК из цоДНК крови [384] или экзосом [265, 307].

Безусловно, результаты нашего исследования дают основания полагать, что в настоящее время периферическую кровь необходимо рассматривать как один из ценных источников для оценки цоДНК.

### **Бинарный логистический регрессионный анализ переменных-предикторов, связанных с вероятностью летального исхода, прогрессирования, стабилизации заболевания, продолженного роста**

Для определения зависимости параметров, связанных с вероятностью возникновения летального исхода, для группы из 96 пациентов, которым выполнялось взятие образцов ликвора и крови до начала лечения, был проведен бинарный логистический регрессионный анализ показателей относительной концентрации цоДНК, при котором выявлены переменные-

предикторы, которые имеют прямую связь с вероятностью возникновения летального исхода.

Многопараметрический анализ показал, что показатели относительной концентрации ДНК «дикого типа» гена *H3F3A (K27M)* в ликворе ( $p = 0.042$ ), ДНК «дикого типа» гена *H3F3A (K27M)* в крови ( $p = 0.50$ ), мутантная ДНК гена *BRAF(V600E)* в ликворе ( $p = 0.30$ ), ДНК «дикого типа» гена *BRAF(V600E)* в ликворе ( $p = 0.47$ ), ДНК «дикого типа» гена *BRAF(V600E)* в крови ( $p = 0.42$ ) имеют прямую связь с вероятностью возникновения летального исхода (табл.24).

**Таблица 24.** Результаты бинарного логистического регрессионного анализа переменных-предикторов, имеющих связь с вероятностью возникновения летального исхода у пациентов 2-ой группы (96 пациентов с ГВСЗ, из которых 57 пациентов с ДСГ)

Показатели	Коэффициент регрессии ( $B_i$ )	Отношение шансов	95% Доверительный интервал		p
			Нижняя граница	Верхняя граница	
Значение модели	1.501	4.487			0.000
<b>wt H3F3A ликвор</b>	<b>0.046</b>	<b>0.955</b>	<b>0.913</b>	<b>0.998</b>	<b>0.042*</b>
<b>wt H3F3A кровь</b>	<b>0.230</b>	<b>1.259</b>	<b>1.002</b>	<b>1.598</b>	<b>0.050*</b>
<b>mutBRAF(V600E) ликвор</b>	<b>0.168</b>	<b>1.845</b>	<b>1.727</b>	<b>1.984</b>	<b>0.030*</b>
<b>wtBRAF ликвор</b>	<b>0.050</b>	<b>1.051</b>	<b>1.001</b>	<b>1.105</b>	<b>0.047*</b>
<b>wtBRAF кровь</b>	<b>0.060</b>	<b>1.942</b>	<b>1.889</b>	<b>1.998</b>	<b>0.042*</b>
mutBRAF(V600E) кровь	31.940	7434699717 9077.880	0.000	28543441112517097 000000000000.000	0.208
H3F3A (K27M) ликвор	-0.032	0.968	0.764	1.227	0.788
H3F3A (K27M) кровь	19.142	205786965.1 57	0.000	20568222220507500 000000.000	0.244
mutIDH2(R140Q) ликвор	22.849	8380171380. 216	0.000	17560423326030234 000000000000.000	0.314
wtIDH2 ликвор	-0.006	0.994	0.914	1.081	0.890
mutIDH2(R140Q) кровь	8.271	3909.841	0.000	12196742735434860 0000000000.000	0.754
wtIDH2 кровь	-0.017	0.983	0.931	1.038	0.542
mutIDH1(R132H) ликвор	1.761	5.816	0.016	2126.313	0.559
wtIDH1 ликвор	-0.031	0.969	0.910	1.033	0.338
mutIDH1(R132H) кровь	231.862	4.970E+100	0.000	.	0.997
wtIDH1 кровь	-0.001	0.999	0.958	1.042	0.976

**Примечание:** \* – статистически значимое различие между группами

Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, модель учитывает 16,7% факторов, определяющих вероятность развития

летального исхода. При этом модель является статистически значимой ( $p = 0.025$ ).

**Наблюдаемая зависимость описывается уравнением:**

$$p = 1 / (1 + e^{-z}) * 100\%$$

$$z = 1.501 + 0.046 * X_{wtH3F3A_{л}} + 0.230 * X_{wtH3F3A_{к}} + 0.168 * X_{mutBRAF_{л}} + 0.05 * X_{wtBRAF_{л}} + 0.06 * X_{wtBRAF_{к}}$$

где:  $p$  – вероятность возникновения летального исхода (%).

$X_{wt H3F3A_{л}}$  – цоДНК «дикого типа» гена *H3F3A (K27M)* в ликворе до начала лечения.

$X_{wt H3F3A_{к}}$  – цоДНК «дикого типа» гена *H3F3A (K27M)* в первом заборе крови до проведения лечения

$X_{mutBRAF_{л}}$  – цоДНК гена *BRAF(V600E)* в ликворе до начала лечения

$X_{wtBRAF_{л}}$  – цоДНК «дикого типа» гена *BRAF(V600E)* в ликворе до начала лечения

$X_{wtBRAF_{к}}$  – цоДНК «дикого типа» гена *BRAF(V600E)* в первом заборе крови до проведения лечения

В связи с тем, что мутация *K27M* встречается преимущественно в глиомах срединных структур, таких как таламус, ствол головного мозга и продолговатый мозг [235, 298], это представляет для нас особую значимость, поскольку опухоли срединных структур головного мозга чаще встречаются у детей и имеют неблагоприятный прогноз, ОВ обычно составляет менее одного года из-за инфильтративной природы опухолей и трудностей с достижением полной хирургической резекции [123, 397, 422]. Даже несмотря на агрессивные терапевтические подходы и достижения в химиолучевой терапии и схемах таргетной терапии, за последние годы не произошло улучшения выживаемости пациентов с мутацией *K27M* гена *H3F3A* [381]. Анализ наших результатов также выявил тот факт, что и при высокой концентрации цоДНК «дикого типа» до начала лечения для гена *H3F3A K27M* увеличиваются шансы летального исхода: ДНК «дикого типа» гена

*H3F3A (K27M)* в ликворе в 0.955 раза (95% ДИ: 0.913-0.998), ДНК «дикого типа» гена *H3F3A (K27M)* в крови в 1.259 раза (95% ДИ: 1.002-1.598). Необходимо отметить, что ранее не проводились исследования, посвященные изучению особенностей выявляемости цодНК «дикого типа» генов *H3F3A (K27M)* и *BRAF (V600E)* в ликворе и периферической крови у пациентов, страдающих ДСГ, так как в большинстве случаев описывались только их мутантные формы.

Мутации в гене *BRAF* тоже широко описаны как в первичных опухолях ЦНС у детей, так и у взрослых, где частота мутаций в гене *BRAF* варьируется в зависимости от гистологического типа опухоли: от 1-2% и 2-5% при глиобластоме и астроцитоме до 81-95% при астроцитомах низкой степени злокачественности у детей, плеоморфной ксантоастроцитоме, папиллярной краниофарингиоме, эпителиоидной глиобластоме и ганглиоглиоме [76]. Наши данные показывают значимость определения циркулирующей мутантной ДНК гена *BRAF (V600E)* и циркулирующей ДНК «дикого типа» *BRAF (V600E)* как в ликворе, так и в периферической крови, где при высокой концентрации циркулирующей ДНК «дикого типа» до начала лечения для гена *BRAF* увеличиваются шансы летального исхода: ДНК «дикого типа» *BRAF (V600E)* в ликворе в 1.051 раза (95% ДИ: 1.001-1.105), ДНК «дикого типа» *BRAF (V600E)* в крови в 1.942 раза (95% ДИ: 1.889-1.998); в 1.845 раза увеличивается шанс летального исхода при увеличении свободно циркулирующей мутантной ДНК *BRAF(V600E)* в ликворе до начала лечения (95% ДИ: 1.727-1.984).

Несмотря на относительно низкую частоту выявляемости мутаций *BRAF (V600E)* при ГВСЗ, появляется все больше доказательств того, что таргетная терапия у пациентов с мутациями *BRAF* представляет собой перспективный вариант лечения при ГВСЗ с мутацией *BRAF*. Так уже сообщалось о нескольких случаях впечатляющего ответа на ингибиторы *BRAF* вемурафениб и дабрафениб при глиомах высокой степени злокачественности [74, 98, 108, 216, 225, 226, 241, 349, 380, 434].

За последние несколько лет наши знания о роли мутантной ДНК и ДНК «дикого типа» генов H3F3A и BRAF в развитии глиом расширились. Однако прогностическое значение выявления этих мутации среди пациентов с ДСГ было изучено в небольшом количестве исследований. При этом мы практически не имеем представления о прогностической роли частоты выявляемости и величине относительной концентрации ДНК «дикого типа» генов H3F3A и BRAF. Поэтому необходимы дальнейшие всесторонние систематические обзоры, мета-анализы и исследования для изучения их прогностической ценности.

Следующим шагом в исследовании было определение факторов, имеющих связь с вероятностью прогрессирования для группы из 96 пациентов, которым выполнялся забор ликвора и крови до начала лечения. С этой целью был также проведен бинарный логистический регрессионный анализ показателей, но переменные-предикторы, имеющие прямую связь с вероятностью прогрессирования заболевания, не выявлены (табл.25).

**Таблица 25.** Результаты бинарного логистического регрессионного анализа переменных-предикторов, имеющих связь с вероятностью прогрессирования заболевания у пациентов 2-ой группы (96 пациентов с ГВСЗ, из которых 57 пациентов с ДСГ)

Показатели	Коэффициент регрессии (B <sub>i</sub> )	Отношение шансов	95% Доверительный интервал		p
			Нижняя граница	Верхняя граница	
Значение модели	0.034	1.035			0.941
wt H3F3Aликвор	0.034	0.981	0.989	1.082	0.139
wt H3F3Aкровь	-0.019	1.097	0.918	1.049	0.572
mutBRAF ликвор	0.092	0.981	0.967	1.244	0.150
wtBRAF ликвор	-0.019	0.003	0.956	1.006	0.137
mutBRAF кровь	-5.785	1.016	0.000	346.228	0.330
wtBRAF кровь	0.016	1.044	0.984	1.050	0.331
mut H3F3Aликвор	0.043	0.178	0.950	1.148	0.369
mut H3F3A кровь	-1.728	45.965	0.001	34.666	0.521
mutIDH2 ликвор	3.828	0.984	0.000	6843732.167	0.529
wtIDH2 ликвор	-0.017	0.029	0.944	1.024	0.425
mutIDH2 кровь	-3.553	0.989	0.000	7573.074	0.577
wtIDH2 кровь	-0.011	0.713	0.958	1.020	0.478
mutIDH1 ликвор	-0.339	1.009	0.209	2.434	0.589
wtIDH1 ликвор	0.009	0.066	0.979	1.041	0.556
mutIDH1 кровь1	-2.720	1.005	0.000	139.778	0.486
wtIDH1 кровь1	0.005	1.035	0.972	1.039	0.763

При определении факторов, имеющих связь со стабилизацией опухолевого процесса, переменные-предикторы, связанные со стабилизацией опухолевого процесса, не установлены (табл.26).

**Таблица 26.** Результаты бинарного логистического регрессионного анализа переменных-предикторов, связанных со стабилизацией опухолевого процесса у пациентов 2-ой группы (96 пациентов с ГВСЗ, из которых 57 пациентов с ДСГ)

Показатели	Коэффициент регрессии ( $B_i$ )	Отношение шансов	95% Доверительный интервал		p
			Нижняя граница	Верхняя граница	
Значение модели	-0.034	0.967			0.941
wt H3F3A ликвор	-0.034	0.967	0.924	1.011	0.139
wt H3F3A кровь	0.019	1.019	0.954	1.090	0.572
mutBRAF_ликвор	-0.092	0.912	0.804	1.034	0.150
wtBRAF_ликвор	0.019	1.020	0.994	1.046	0.137
mutBRAF_кровь	5.785	325.485	0.003	36679483.952	0.330
wtBRAF_кровь	-0.016	0.984	0.953	1.016	0.331
mut H3F3A ликвор	-0.043	0.958	0.871	1.053	0.369
mut H3F3A_кровь	1.728	5.632	0.029	1099.569	0.521
mutIDH2_ликвор	-3.828	0.022	0.000	3239.144	0.529
wtIDH2_ликвор	0.017	1.017	0.976	1.059	0.425
mutIDH2_кровь	3.553	34.920	0.000	9234464.719	0.577
wtIDH2_кровь	0.011	1.011	0.980	1.044	0.478
mutIDH1_ликвор	0.339	1.403	0.411	4.793	0.589
wtIDH1_ликвор	-0.009	0.991	0.961	1.022	0.556
mutIDH1_кровь1	2.720	15.185	0.007	32229.616	0.486
wtIDH1_кровь1	-0.005	0.995	0.962	1.029	0.763

**Примечание:** \* – статистически значимое различие между группами

Для определения факторов, возможно связанных с вероятностью прогрессирования (продолженного роста опухоли), в группе из 96 пациентов, которым выполнялся забор ликвора и крови до начала лечения, был проведен бинарный логистический регрессионный анализ показателей, при котором не выявлены переменные-предикторы, которые имеют прямую связь с прогрессированием (продолженным ростом опухоли) (табл. 27).

**Таблица 27.** Результаты бинарного логистического регрессионного анализа переменных-предикторов, возможно связанных с вероятностью прогрессирования (продолженного роста опухоли) у пациентов 2-ой группы (96 пациентов с ГВСЗ, из которых 57 пациентов с ДСГ)

Показатели	Коэффициент регрессии (B <sub>i</sub> )	Отношение шансов	95% Доверительный интервал		p
			Нижняя граница	Верхняя граница	
Значение модели	-0.428	0.652			0.374
wt H3F3A ликвор	0.042	1.043	0.994	1.095	0.087
wt H3F3A кровь	0.005	1.005	0.938	1.076	0.887
mutBRAF_ликвор	0.099	1.105	0.973	1.254	0.124
wtBRAF_ликвор	-0.022	0.978	0.953	1.003	0.082
mutBRAF_кровь	-6.823	0.001	0.000	126.682	0.252
wtBRAF_кровь	0.013	1.013	0.981	1.047	0.430
mut H3F3A ликвор	0.024	1.024	0.927	1.131	0.641
mut H3F3A кровь	-2.590	0.075	0.000	31.911	0.402
mutIDH2_ликвор	-4.354	0.013	0.000	11244.864	0.533
wtIDH2_ликвор	-0.010	0.990	0.950	1.032	0.636
mutIDH2_кровь	4.689	108.757	0.000	238524164.779	0.529
wtIDH2_кровь	-0.014	0.987	0.956	1.018	0.400
mutIDH1_ликвор	-1.144	0.319	0.008	13.308	0.548
wtIDH1_ликвор	0.012	1.013	0.981	1.045	0.437
mutIDH1_кровь1	-6.747	0.001	0.000	20688.840	0.428
wtIDH1_кровь1	0.004	1.004	0.971	1.038	0.814

**Примечание:** \* – статистически значимое различие между группами

Таким образом, можно предположить, что концентрация циркулирующей ДНК генов *H3F3A*, *BRAF* и *IDH1/2* перед началом курса ЛТ не имеют прогностической значимости для оценки риска рецидива (но высоко значимы для прогноза летального исхода).

### Оценка цоДНК в ликворе и крови у пациентов с ДСГ

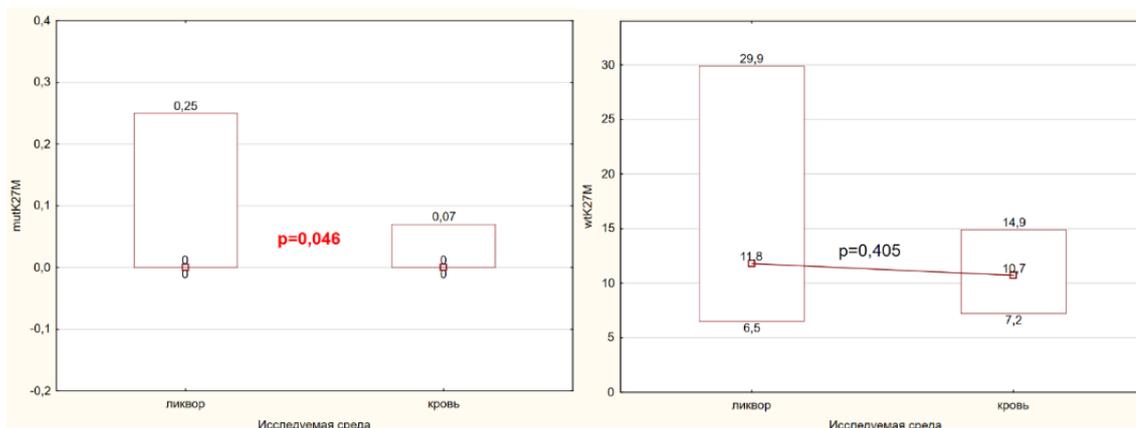
Для оценки наличия и относительной концентрации свободно циркулирующей ДНК в ликворе и крови, была сформирована выборка из 57 пациентов с ДСГ в составе пациентов 2-ой группы (n=96) (табл.28).

**Таблица 28.** Общие характеристики 2-ой подгруппы пациентов с ДСГ, n=57

Характеристика		Показатель
Пол	Мужской	50.9% (n=29)
	Женский	49.1% (n=28)
Возраст, Me [Q25%;Q75%]	лет	8.0 [6.0; 11.0]
Возраст	До 18 лет	75.4% (n=43)
	19 лет и более	14.6% (n=14)
Объем опухоли по данным МРТ, Me [Q25%;Q75%] см <sup>3</sup>		35.0 [17.0; 50.0]
Локализация	Диффузная опухоль ствола	78.9% (n=45)
	Диффузная опухоль таламуса	11.1% (n=12)
Хирургическое лечение		35.1% (n=20)
Гистология	Gr 3-4	35.1% (n=20)

В зависимости от локализации опухолевого процесса, наибольшее число случаев (78.9%) было отнесено к поражению ствола головного мозга (табл.28). Гистологическая степень злокачественности (Grade, G) 3-4 была определена в 35.1% случаев (табл.28).

При проведении молекулярно-генетического анализа с последующим сравнением концентраций мутантной цоДНК гена - *H3F3A (K27M)*, было выявлено статистически значимое ( $p=0.046$ ) превалирование показателей в ликворе (0 [0; 0.25]) по отношению к крови (0 [0; 0.07]) (рис.28).



**Рисунок 28.** Сравнение концентраций свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *H3F3A (K27M)* и ДНК «дикого типа» гена *H3F3A (K27M)* в ликворе и крови у пациентов 2-ой подгруппы с ДСГ,  $n=57$

**Примечание:** данные результаты представлены в виде Me [Q25%;Q75%].

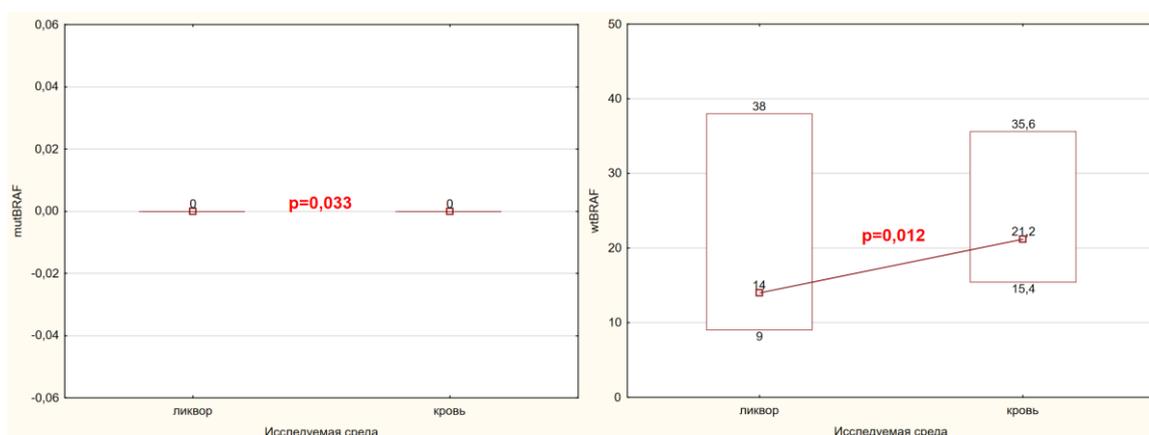
mutK27M - мутантная ДНК гена *H3F3A(K27M)*

wtK27M - ДНК «дикого типа» гена *H3F3A(K27M)*

Сравнение показателей относительной концентрации цоДНК «дикого типа» гена *H3F3A (K27M)* в ликворе (11.8 [6.5; 29.9]) и крови (10.7 [7.2; 14.9]) не показало статистически значимых отличий ( $p=0.405$ ) (рис.28).

Между ликвором (*mutBRAF* – 0 [0; 0], *wtBRAF* – 14.0 [9.0; 38.0]) и кровью (*mutBRAF* – 0 [0; 0], *wtBRAF* – 21.2 [15.4; 35.6]) были выявлены статистически значимые различия медиан показателей относительной концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *BRAF(V600E)* ( $p=0.033$ ) и ДНК «дикого типа» гена *BRAF (V600E)* ( $p=0.012$ ) (рис. 29). У данных показателей, наибольшее значение величин цоДНК преимущественно были в крови. У пациентов с ДСГ наличие мутаций в гене *BRAF* является редкостью и зачастую сопряжено с параллельным

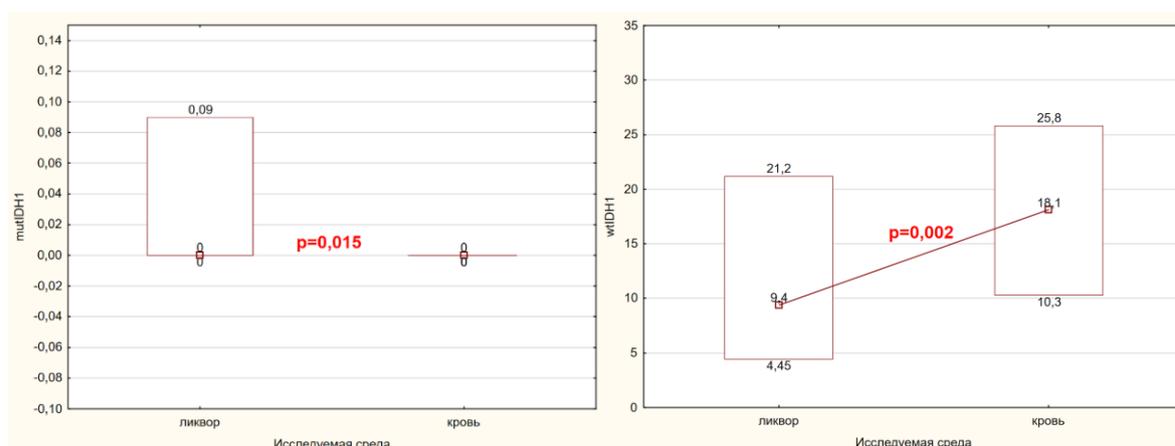
обнаружением мутации *H3F3A(K27M)*. Особенности анатомии срединных структур мозга и микроинвазия при диффузном росте опухоли, возможно, определяют статистически значимые различия медиан.



**Рисунок 29.** Сравнение концентраций свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *BRAF (V600E)* и ДНК «дикого типа» гена *BRAF (V600E)* в крови и ликворе у пациентов 2-ой подгруппы с ДСГ, n=57

**Примечание:** данные результаты представлены в виде Me [Q25%;Q75%].  
mutBRAf - мутантная ДНК гена *BRAF (V600E)*  
wtBRAf - ДНК «дикого типа» гена *BRAF (V600E)*

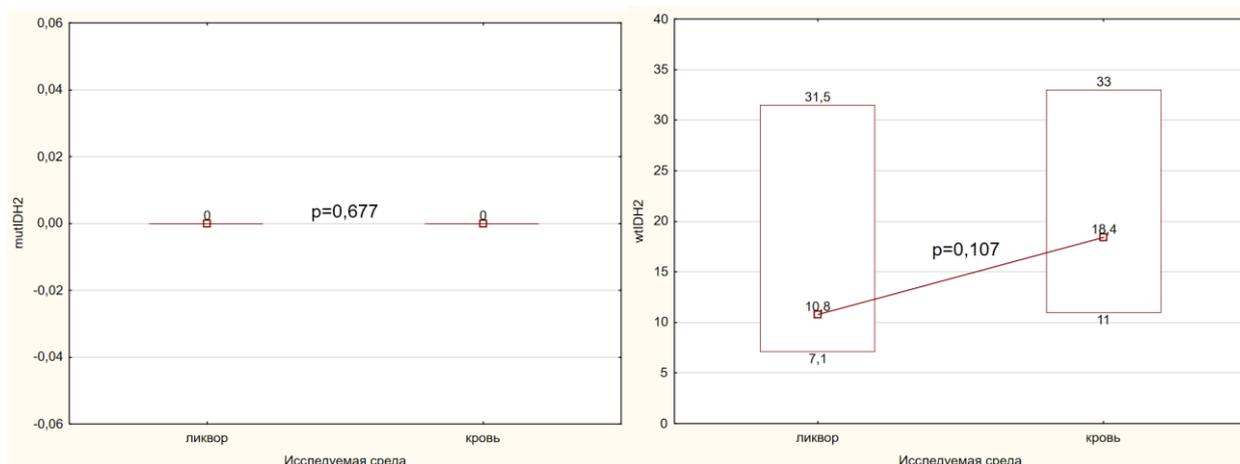
Анализ медиан показателей относительной концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *IDH1(R132H)* ( $p=0.015$ ) и ДНК «дикого типа» *IDH1(R132H)* ( $p=0.002$ ) продемонстрировал статистически значимое различие между ликвором (*mutIDH1* – 0 [0; 0.09], *wtIDH1* – 9.4 [4.45; 21.2]) и кровью (*mutIDH1* – 0 [0; 0], *wtIDH1* – 18.1 [10.3; 25.8]) (рис.30).



**Рисунок 30.** Сравнительный анализ концентраций мутантной цоДНК гена *IDH1(R132H)* и ДНК «дикого типа» гена *IDH1(R132H)* в крови и ликворе у пациентов 2-ой подгруппы с ДСГ, n=57

**Примечание:** данные результаты представлены в виде Me [Q25%;Q75%].  
mutIDH1 - мутантная ДНК гена *IDH1(R132H)*  
wtIDH1 - ДНК «дикого типа» гена *IDH1(R132H)*

Наибольшие значения медиан показателей относительной концентрации цоДНК гена *IDH1(R132H)* преимущественно были в ликворе, а в крови - цоДНК дикого типа гена *IDH1(R132H)* (рис.30).



**Рисунок 31.** Сравнительный анализ показателей относительной концентрации мутантной цоДНК гена *IDH2(R140Q)* и ДНК «дикого типа» гена *IDH2(R140Q)* в крови и ликворе у пациентов 2-ой подгруппы с ДСГ, n=57

**Примечание:** данные результаты представлены в виде Me [Q25%;Q75%].

mutIDH2 - мутантная ДНК гена *IDH2(R140Q)*

wtIDH2 - ДНК «дикого типа» гена *IDH2(R140Q)*

Показатели концентрации мутантной цоДНК гена *IDH2(R140Q)* (p=0.677) и ДНК «дикого типа» гена *IDH2(R140Q)* (p=0.107) в ликворе (mutIDH2 – 0 [0; 0], wtIDH2 – 10.8 [7.1; 31.5]) и крови (mutIDH2 – 0 [0; 0], wtIDH2 – 18.4 [11.0; 33.0]) не имели статистически значимого различия (рис.31).

### Бинарный логистический регрессионный анализ переменных-предикторов, связанных с вероятностью летального исхода и прогрессирования заболевания

Для определения факторов, возможно имеющих связь с вероятностью возникновения летального исхода, для подгруппы из 57 пациентов с ДСГ, которым выполнялся забор ликвора и крови до начала лечения, был проведен бинарный логистический регрессионный анализ показателей молекулярно-генетического исследования образцов. Однако, в отличие от результатов,

полученных для всей 2-ой группы, переменные-предикторы, имеющие связь с вероятностью возникновения летального исхода заболевания, выявлены не были (табл.29).

**Таблица 29.** Результаты бинарного логистического регрессионного анализа переменных-предикторов, возможно связанных с вероятностью возникновения летального исхода у пациентов 2-ой подгруппы с ДСГ, n=57

Показатели	Коэффициент регрессии (B <sub>i</sub> )	Отношение шансов	95% Доверительный интервал		p
			Нижняя граница	Верхняя граница	
Константа	-2.231	0.107			0.201
mutBRAF_ликвор	181.821	9.206E+78	0.000	0.000	0.975
wtBRAF_ликвор	-0.002	0.998	0.931	1.069	0.952
mutBRAF_кровь №1	-866.842	0.000	0.000	0.000	0.930
wtBRAF_кровь №1	0.185	1.203	0.990	1.463	0.063
mut H3F3A_ликвор	0.989	2.688	0.035	207.840	0.656
wt H3F3A_ликвор	0.064	1.066	0.896	1.269	0.471
mut H3F3A_кровь №1	-37.009	0.000	0.000	103.181	0.082
wt H3F3A_кровь №1	-0.582	0.559	0.310	1.007	0.053
mutIDH2_ликвор	-26.622	0.000	0.000	4.754E+217	0.921
wtIDH2_ликвор	0.092	1.096	0.890	1.351	0.389
mutIDH2_кровь №1	-397.338	0.000	0.000	0.000	0.980
wtIDH2_кровь №1	0.130	1.139	0.921	1.407	0.229
mutIDH1_ликвор	-50.712	0.000	0.000	119488549323.122	0.192
wtIDH1_ликвор	-0.050	0.951	0.853	1.060	0.365
mutIDH1_кровь №1	-401.520	0.000	0.000	0.000	0.986
wtIDH1_кровь №1	0.003	1.003	0.857	1.173	0.973

Проведен бинарный логистический регрессионный анализ молекулярно-генетических показателей, в отношении взаимосвязи показателей концентрации мутантных форм цоДНК и «дикого типа» с вероятностью прогрессирования заболевания. Результаты проведенного анализа не выявили переменных-предикторов, возможно связанных с вероятностью прогрессирования заболевания (табл.30).

**Таблица 30.** Результаты бинарного логистического регрессионного анализа переменных-предикторов, возможно связанных с вероятностью прогрессирования заболевания у пациентов 2-ой подгруппы с ДСГ, n=57

Показатели	Коэффициент регрессии (B <sub>i</sub> )	Отношение шансов	95% Доверительный интервал		p
			Нижняя граница	Верхняя граница	
Константа	1.076	2.934			1.076
mutBRAF_ликвор	0.346	1.414	0.658	3.039	0.375
wtBRAF_ликвор	-0.101	0.904	0.801	1.020	0.101
mutBRAF_кровь №1	-7.045	0.001	0.000	4897748.930	0.539
wtBRAF_кровь №1	0.013	1.013	0.960	1.069	0.632
mutH3F3A_ликвор	0.048	1.049	0.894	1.232	0.556
wtH3F3A_ликвор	0.112	1.119	0.970	1.290	0.123
mutH3F3A_кровь №1	-6.052	0.002	0.000	10.278	0.157
wtH3F3A_кровь №1	-0.023	0.978	0.840	1.137	0.768
mutIDH2_ликвор	6.740	845.746	0.000	233240003932.348	0.583
wtIDH2_ликвор	-0.051	0.950	0.852	1.059	0.356
mutIDH2_кровь №1	-4.969	0.007	0.000	10001198.854	0.644
wtIDH2_кровь №1	0.088	1.092	0.970	1.228	0.144
mutIDH1_ликвор	-1.617	0.198	0.002	24.086	.0509
wtIDH1_ликвор	0.053	1.055	0.960	1.159	0.267
mutIDH1_кровь №1	-13.087	0.000	0.000	158618059.133	0.422
wtIDH1_кровь №1	-0.067	0.935	0.860	1.016	0.114

Таким образом, концентрация цоДНК, высвобождаемой в кровь и ликвор, зависит от размера опухоли, степени злокачественности опухоли, наличия или отсутствия хирургического лечения накануне и, что важно, от расстояния между опухолью и желудочковой системой (ликворопроводящих путей) [336]. Поэтому цоДНК ДСГ, по-видимому, высвобождается из опухоли непосредственно в ликвор, а не попадает в него опосредованно через плазму [427], что мы наблюдаем у пациентов с ДСГ относительно определения свободно циркулирующей ДНК мутантных генов *H3F3A(K27M)* и *IDH1 (R132H)* и ДНК «дикого типа» генов *H3F3A(K27M)* и *IDH1 (R132H)* в ликворе и крови. Также после проведения бинарного логистического регрессионного анализа были получены данные, на основании которых можно предположить, что концентрация циркулирующей ДНК генов *H3F3*, *BRAF* и *IDH1\2* не имеют прогностической значимости при определении

прогрессирования заболевания и летального исхода (до начала лечения) в группе пациентов с установленным диагнозом ДСГ.

#### **3.4. Изучение в динамике изменения концентрации свободно циркулирующей ДНК генов BRAF (V600E), IDH1 (R132H), IDH2 (R140Q) и H3F3 (K27M) на фоне химиолучевого лечения**

Особенности локализации ДСГ, где большая часть приходится на ствол головного мозга, таламус или спинной мозг, определяют значимость поиска альтернативных методов диагностики и контроля эффективности проводимой терапии. Так как биопсия, безусловно, сопряжена со значительным риском серьезных осложнений, вплоть до летального исхода. Также в большинстве случаев оценка динамики заболевания у пациентов часто ограничивается повторной МРТ. При этом, увеличение площади опухоли на МРТ может быть связано либо с истинным прогрессированием опухоли, либо радиационным отёком или радионекрозом (псевдопрогрессированием) [90].

Важным шагом для решения данной проблемы стало исследование цоДНК в плазме периферической крови, т.к. был показан высокий уровень цоДНК у онкологических больных по сравнению со здоровыми людьми. Кроме того, пациенты с устойчиво высокими уровнями цоДНК после лечения имеют более плохой прогноз, чем те, у кого уровни цоДНК после лечения снижались. Рядом авторов высказано предположение, что количественные характеристики относительной концентрации цоДНК могут отражать состояние опухоли, так Stroun и соавторы предположили, что часть цоДНК плазмы крови происходит из первичной опухоли [40, 396].

В связи с чем, мы с целью определения изменения концентрации свободно циркулирующей ДНК на протяжении всего периода лечения сформировали выборку из 209 пациентов (группа №3), у которых было выполнено взятие периферической крови в три интервала времени: до этапа химиолучевого лечения (образец №1), во время лечения (образец №2), после лечения (образец №3).

**Таблица 31.** Общие характеристики пациентов 3-ей группы (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 пациентов с ДСГ)

Характеристика		Показатель
Пол	Мужской	52.6% (n=110)
	Женский	47.4% (n=99)
Возраст, Ме [Q25%;Q75%] лет		20.82 [7.0;25.0]
Возраст	До 18 лет	74.2% (n=155)
	19 лет и более	25.8% (n=54)
Объем опухоли по данным МРТ, Ме [Q25%;Q75%] см <sup>3</sup>		55.70 [22.96;74.33]
Локализация	S71.0 (большой мозг, кроме долей и желудочков)	0.9% (n=2)
	S71.1 (лобная доля)	8.1% (n=17)
	S71.2 (височная доля)	4.7% (n=10)
	S71.3 (теменная доля)	1.9% (n=4)
	S71.4 (затылочная доля)	0.9% (n=2)
	S71.5 (желудочек мозга)	0.9% (n=2)
	S71.6 (мозжечок)	5,3%(n=11)
	S71.7 (ствол мозга)	52.6% (n=109)
	S71.8 (поражение головного мозга более одной локализации)	10.0% (n=21)
	S71.9 (неуточненная локализация головного мозга)	12.9% (n=27)
	S72 (спинной мозг)	1.4% (n=3)
D33.1 (доброкачественное образование ЦНС)		0.5% (n=1)
Локализация	Диффузная опухоль ствола	52.6% (n=109)
	Диффузная опухоль таламуса	10.0% (n=21)
	Другие локализации	37.4% (n=79)
Хирургическое лечение		61.2% (n=128)

Характеристика данной группы и распределение по локализации опухолевого процесса представлены в таблице 31. В данную группу было включено 155 (74,2%) пациентов детского возраста и 54 (25,8%) пациентов старше 18 лет, средний возраст пациентов – 20.82 [7.0;25.0] лет (табл.31).

**Таблица 32.** Частота встречаемости мутаций исследуемых генов среди пациентов 3-ей группы (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 пациентов с ДСГ)

Ген (мутация)	Кол-во пациентов, у которых выявлена мутация, (n)	% в группе с выявленными мутантными формами %
<i>H3F3A (K27M)</i>	53	27,4
<i>BRAF(V600E)</i>	39	20,1
<i>IDH1(R132H)</i>	47	24,2
<i>IDH2 (R140Q)</i>	55	28,3
всего	194	100,0

Как показано в таблице 32, с наибольшей частотой определялась мутация *R140Q* в гене *IDH2* (28,3%), вторая по частоте встречаемости - мутация *K27M* в гене *H3F3A* (27,4%), в 24,2% случаев была идентифицирована мутация *R132H* в *IDH1*, а мутация *V600E* в *BRAF* выявлена в 20,1% случаев.

В таблицах 33-36 представлены результаты анализа выявляемости исследуемых мутантных форм в крови пациентов 3-ей группы, приведены результаты выявления в трех группах образцов, а также количественное и процентное выявление в подгруппе пациентов с локализацией опухолевого процесса в зоне ствола мозга.

**Таблица 33.** Процентное соотношение выявленной мутации в гене *H3F3A* (*K27M*) в периферической крови у пациентов 3-ей группы (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 пациентов с ДСГ)

	H3F3A (K27M) во всей гр 3		H3F3A (K27M) локализация С71,7 гр.3	
	% случаев в группе 3 (Кол-во случаев)	% случаев относительно количества пациентов с выявленной мутацией	% случаев в группе 3 С71,7 (Кол-во случаев)	% случаев относительно количества пациентов с выявленной мутацией
Кол-во пациентов с выявленной мутантной формой	25,36 (n=53)		21,05 (n=44)	
Обнаружены в 1 образце	24,40 (n=51)		11,96 (n=25)	
Обнаружены во 2 образце	23,44 (n=49)		13,40 (n=28)	
Обнаружены в 3 образце	18,66 (n=39)		10,53 (n=22)	
Мутантные формы присутствуют во всех образцах	10,05 (n=21)	25,30	5,26 (n=11)	25,00
Мутантные формы присутствуют только образце 1	9,57 (n=20)	24,10	3,83 (n=8)	18,18
Мутантные формы присутствуют только в образце 2	8,13 (n=17)	20,48	4,31 (n=9)	20,45
Мутантные формы присутствуют только в образце 3	6,22 (n=13)	15,66	3,35 (n=7)	15,91
Мутантные формы присутствуют в образцах 1 и 2	3,35 (n=7)	8,43	2,39 (n=5)	11,36
Мутантные формы присутствуют в образцах 1 и 3	0,96 (n=2)	2,41	0,48 (n=1)	2,27
Мутантные формы присутствуют в образцах 2 и 3	1,44 (n=3)	3,61	1,44 (n=3)	6,82

**Таблица 34.** Процентное соотношение выявленной мутации в гене *BRAF* (*V600E*) в периферической крови у пациентов 3-ей группы (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 пациентов с ДСГ)

	BRAF (V600E) во всей гр 3		BRAF (V600E) локализация С71,7 гр.3	
	% случаев в группе 3 (Кол-во случаев)	% случаев относительно количества пациентов с выявленной мутацией	% случаев в группе 3 С71,7 (Кол-во случаев)	% случаев относительно количества пациентов с выявленной мутацией
Кол-во пациентов с выявленной мутантной формой	18,66 (n=39)		21,10 (n=23)	
Обнаружены в 1 образце	11,00 (n=23)		10,09 (n=11)	
Обнаружены во 2 образце	7,18 (n=15)		7,34 (n=8)	
Обнаружены в 3 образце	10,53 (n=22)		14,68 (n=16)	
Мутантные формы присутствуют во всех образцах	3,35 (n=7)	17,95	3,67 (n=4)	17,39
Мутантные формы присутствуют только образце 1	6,22 (n=13)	33,33	5,56 (n=6)	26,09
Мутантные формы присутствуют только в образце 2	1,44 (n=3)	7,69	0,92 (n=1)	4,35
Мутантные формы присутствуют только в образце 3	4,78 (n=10)	25,64	7,34 (n=8)	34,78
Мутантные формы присутствуют в образцах 1 и 2	0,48 (n=1)	2,56	0,00	0,00
Мутантные формы присутствуют в образцах 1 и 3	0,48 (n=1)	2,56	0,92 (n=1)	4,35
Мутантные формы присутствуют в образцах 2 и 3	1,91 (n=4)	10,26	2,75 (n=3)	13,04

При анализе полученных данных (табл. 35) нами было установлено следующее: динамика изменения концентрации Мутантной ДНК гена *IDH1* (*R132H*) для ДСГ с локализацией в стволе головного мозга отличается от подобной динамики в общей группе – в 33,33% случаев данная мутация появляется на фоне лечения и в дальнейшем сохраняется (см. табл. 35 строку «Мутантные формы присутствуют в образцах 2 и 3» и строку «Мутантные формы присутствуют только в образце 3»).

При этом, концентрация Мутантной ДНК гена *IDH2* (*R140Q*) – самая стабильная, так как мутация присутствует до лечения и сохраняется в процессе лечения у 54,55% пациентов в группе С71.7 (табл. 36).

**Таблица 35.** Процентное соотношение выявленной мутации в гене *IDH1* (*R132H*) в периферической крови у пациентов 3-ей группы (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 пациентов с ДСГ)

	IDH1 (R132H) во всей гр 3		IDH1 (R132H) локализация С71,7 гр.3	
	% случаев в группе 3 (Кол-во случаев)	% случаев относительно количества пациентов с выявленной мутацией	% случаев в группе 3 С71,7 (Кол-во случаев)	% случаев относительно количества пациентов с выявленной мутацией
Кол-во пациентов с выявленной мутантной формой	22,49 (n=47)		24,77 (n=27)	
Обнаружены в 1 образце	11,00 (n=23)		11,93 (n=13)	
Обнаружены во 2 образце	12,92 (n=27)		14,68 (n=16)	
Обнаружены в 3 образце	14,35 (n=30)		20,18 (n=22)	
Мутантные формы присутствуют во всех образцах	3,83 (n=8)	17,02	3,67 (n=4)	14,81
Мутантные формы присутствуют только образце 1	3,35 (n=7)	14,89	3,67 (n=4)	14,81
Мутантные формы присутствуют только в образце 2	3,35 (n=7)	14,89	1,83 (n=2)	7,41
Мутантные формы присутствуют только в образце 3	3,83 (n=8)	17,02	2,75 (n=3)	11,11
Мутантные формы присутствуют в образцах 1 и 2	1,44 (n=3)	6,38	0,92 (n=1)	3,70
Мутантные формы присутствуют в образцах 1 и 3	2,39 (n=5)	10,64	3,67 (n=4)	14,81
Мутантные формы присутствуют в образцах 2 и 3	4,31 (n=9)	19,15	8,26 (n=9)	33,33

При рассмотрении динамики концентрации мутации *V600E* гена *BRAF* в исследуемой группе (см. табл.34 строку «Мутантные формы присутствуют в образцах 2 и 3» и строку «Мутантные формы присутствуют только в образце»), видно, что для большей группы (48%) данная мутация появляется в динамике, но присутствует также и в группе пациентов (26%), у которых данный молекулярный маркер исчезает в процессе лечения (см. строку «Мутантные формы присутствуют только образце 1»).

Для *N3F3A(K27M)* наблюдалось появление значимой группы с обнаружением *N3F3A(K27M)* в процессе лечения, но с дальнейшим исчезновением маркера в периферической крови (табл.33).

**Таблица 36.** Процентное соотношение выявленной мутации в гене *IDH 2 (R140Q)* в периферической крови у пациентов 3-ей группы (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 пациентов с ДСГ)

	IDH 2 (R140Q) во всей гр 3		IDH 2 (R140Q) локализация С71,7 гр.3	
	% случаев в группе 3 (Кол-во случаев)	% случаев относительно количества пациентов с выявленной мутацией	% случаев в группе 3 С71,7 (Кол-во случаев)	% случаев относительно количества пациентов с выявленной мутацией
Кол-во пациентов с выявленной мутантной формой	26,32 (n=55)		20,18 (n=22)	
Обнаружены в 1 образце	14,83 (n=31)		14,68 (n=16)	
Обнаружены во 2 образце	18,18 (n=38)		16,51 (n=18)	
Обнаружены в 3 образце	18,18 (n=38)		14,68 (n=16)	
Мутантные формы присутствуют во всех образцах	9,09 (n=19)	34,55	11,01 (n=12)	54,55
Мутантные формы присутствуют только образце 1	2,87 (n=6)	10,91	1,83 (n=2)	9,09
Мутантные формы присутствуют только в образце 2	3,35 (n=7)	12,73	2,75 (n=3)	13,64
Мутантные формы присутствуют только в образце 3	4,31 (n=9)	16,36	0,92 (n=1)	4,55
Мутантные формы присутствуют в образцах 1 и 2	1,91 (n=4)	7,27	0,92 (n=1)	4,55
Мутантные формы присутствуют в образцах 1 и 3	0,96 (n=2)	3,64	0,92 (n=1)	4,55
Мутантные формы присутствуют в образцах 2 и 3	3,83 (n=8)	14,55	1,83 (n=2)	9,09

Таким образом, проведенный анализ у пациентов данной группы показал существенное превалирование свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *H3F3A (K27M)* в структуре выявленных мутаций, что также соответствует аналогичным данным в 1-ой и 2-ой группах пациентов. Тем самым, это подтверждает значимость определения мутации *K27M* в гене *H3F3A* [286, 388]. Кроме того, благодаря проведенному исследованию, ликвора, плазмы периферической крови и образца ткани опухоли на предмет наличия данных мутаций, нами была исключена вероятность упущения параметров, связанных с особенностями локализации опухоли, хирургического и химиолучевого лечения.

В дальнейшем мы оценивали выявляемость сочетаний мутаций для исследуемых генов в плазме периферической крови (табл.37), где сочетания

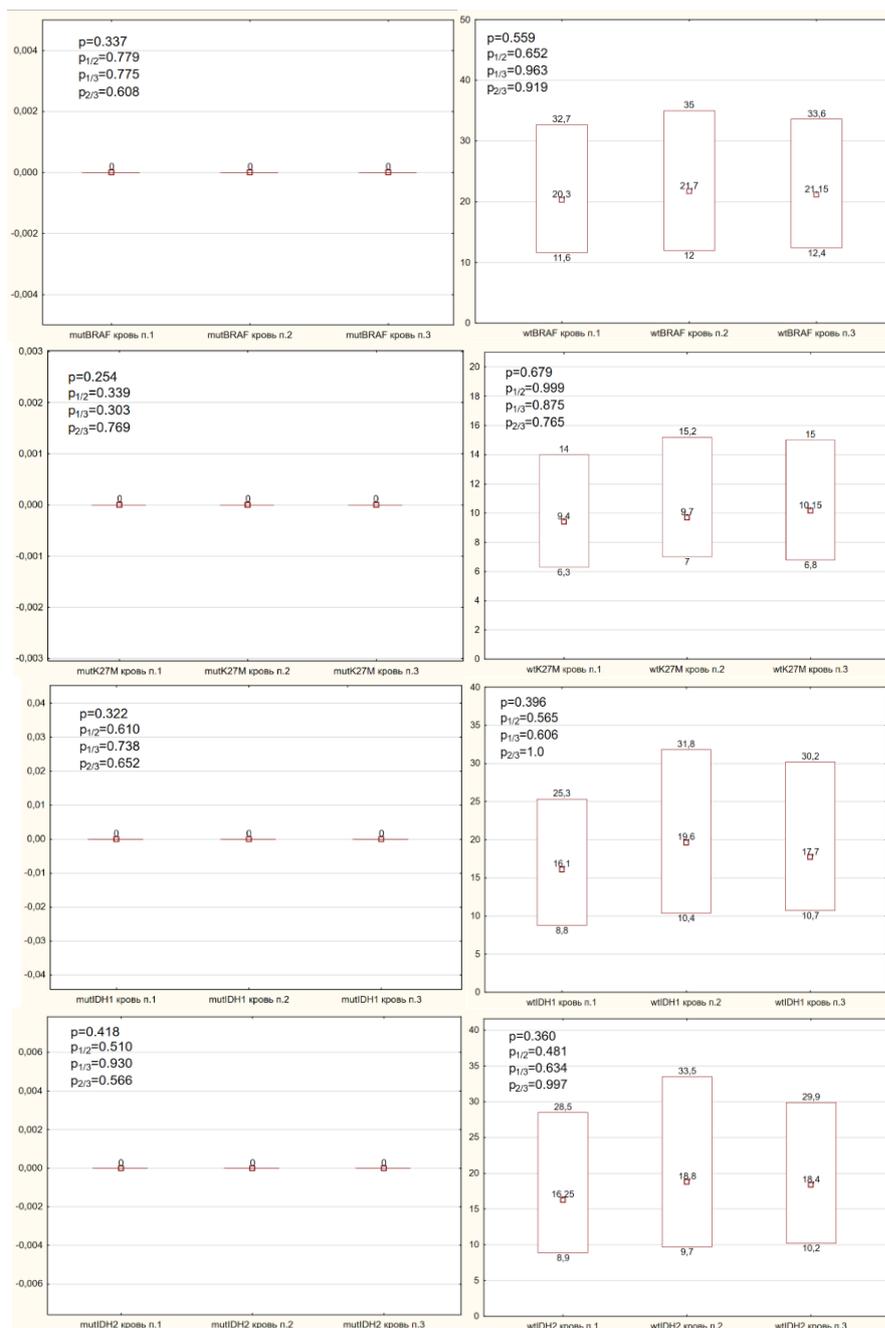
*BRAF/K27M*, *BRAF/IDH2*, *K27M/IDH2* и *IDH2/IDH1* имели больший процент выявляемости в исследуемой группе, тем самым доказывая значимость определения свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *H3F3 (K27M)* в периферической крови в разные периоды лечения.

**Таблица 37.** Выявленные сочетания мутаций в исследуемых генах в периферической крови пациентов 3-ей группы (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 пациентов с ДСГ)

Выявленное сочетание	Кол-во пациентов	% в группе с выявленными мутантными формами
1. <i>BRAF/K27M</i>	9	4,6
2. <i>BRAF/IDH2</i>	6	3,1
3. <i>K27M/IDH2</i>	11	5,7
4. <i>K27M/IDH1</i>	4	2,1
5. <i>IDH2/IDH1</i>	9	4,6
6. <i>BRAF/K27M/IDH1</i>	2	1,0
7. <i>BRAF /K27M/IDH2</i>	3	1,5
8. <i>BRAF/K27M/IDH2</i>	8	4,1
Всего	52	26,7

Безусловно, мутация *K27M* в гене *H3F3A* характерна для большинства ДСГ, возникающих в структурах средней линии, включая таламус, ствол головного мозга и продолговатый мозг, как у детей, так и у взрослых [445]. Поэтому изучение данной мутации в динамике на фоне проводимого лечения представляет особый интерес. Кроме того, в литературных источниках не представлено должного количества информации об особенностях, способах контроля и результатах изменений концентрации мутантной ДНК гена *H3F3A(K27M)* и ДНК «дикого типа» гена *H3F3A(K27M)* на фоне проводимой химиолучевой терапии.

На первом этапе анализа мы провели оценку изменений с течением времени на фоне химиолучевого лечения концентрации мутантных форм и концентрации цодНК «дикого типа» в трех исследуемых образцах во всей 3-ей группе (рис. 32).



**Рисунок 32.** Динамика изменений концентрации свободно циркулирующей ДНК в крови с течением времени на фоне химиолучевой терапии - мутантной ДНК гена *BRAF(V600E)*, ДНК «дикого типа» гена *BRAF(V600E)*, мутантной ДНК гена *H3F3A(K27M)*, ДНК «дикого типа» гена *H3F3A(K27M)*, мутантной ДНК гена *IDH1(R132H)*, ДНК «дикого типа» гена *IDH1(R132H)*, мутантной ДНК гена *IDH2(R140Q)*, ДНК «дикого типа» гена *IDH2(R140Q)* у пациентов 3-ей группы (209 пациентов с ГВЗ, из которых 130 пациентов с ДСГ)  
Примечание: данные результаты представлены в виде Me [Q25%;Q75%].  
mutBRAF - мутантная ДНК гена *BRAF(V600E)*; wtBRAF - ДНК «дикого типа» гена *BRAF(V600E)*; mutK27M - мутантная ДНК гена *H3F3A(K27M)*, wtK27M - ДНК «дикого типа» гена *H3F3A(K27M)*, mutIDH1 - мутантная ДНК гена *IDH1(R132H)*, wtIDH1 - ДНК «дикого типа» гена *IDH1(R132H)*, mutIDH2 - мутантная ДНК гена *IDH2(R140Q)*, wtIDH2 - ДНК «дикого типа» гена *IDH2(R140Q)*.

При анализе показателей относительной концентрации свободно циркулирующей ДНК в крови с течением времени на фоне химиолучевой терапии – мутантной ДНК гена *BRAF(V600E)*, ДНК «дикого типа» гена *BRAF(V600E)*, мутантной ДНК гена *H3F3A(K27M)*, ДНК «дикого типа» гена *H3F3A(K27M)*, мутантной ДНК гена *IDH1(R132H)*, ДНК «дикого типа» гена *IDH1(R132H)*, мутантной ДНК гена *IDH2(R140Q)*, ДНК «дикого типа» гена *IDH2(R140Q)*, статистически значимых изменений не было зафиксировано.

### **Бинарный логистический регрессионный анализ переменных-предикторов, связанных с вероятностью летального исхода и прогрессирования заболевания**

На следующем этапе проведен последовательный анализ результатов молекулярно-генетического исследования трех образцов крови, полученных до этапа химиолучевого лечения (образец №1), в процессе ХЛТ – образец №2 и после завершения ХЛТ – образец №3.

Анализ образцов №1 для группы №3 из 209 пациентов, включал оценку возможности использования показателей относительной концентрации мутантных форм цоДНК и концентрации цоДНК дикого типа исследуемых генов для оценки вероятности возникновения прогрессирования заболевания и риска наступления летального исхода заболевания.

Проведенный бинарный логистический регрессионный анализ показателей относительной концентрации мутантных форм цоДНК и концентрации цоДНК дикого типа исследуемых генов выявил переменную-предиктор, которая может являться прогностическим маркером вероятности возникновения прогрессирования заболевания (табл.38).

Многопараметрический анализ показал, что выявление и концентрация цоДНК *IDH1(R132H)* ( $p=0.039$ ) имеет прямую связь с вероятностью возникновения прогрессирования заболевания.

**Таблица 38.** Результаты бинарного логистического регрессионного анализа переменных-предикторов образцов №1, оценка значимости молекулярных маркеров при прогнозировании прогрессирования заболевания у пациентов 3-ей группы (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 пациентов с ДСГ)

Показатели Образец №1	Коэффициент регрессии (B <sub>i</sub> )	Отношение шансов	95% Доверительный интервал		p
			Нижняя граница	Верхняя граница	
Показатели. вошедшие в прогностическую модель					
Константа	0.582	1.559			0.004
<b>mutIDH1(R132H)№1</b>	<b>12.318</b>	<b>2.001</b>	<b>1.035</b>	<b>2.530</b>	<b>0.039*</b>
Показатели. исключенные из прогностической модели					
mutBRAF(V600E)№1	-1.986	0.137	0.000	117.083	0.564
wtBRAF №1	-0.006	0.994	0.978	1.010	0.460
mut H3F3A (K27M) №1	-0.059	0.942	0.762	1.165	0.584
wt H3F3A №1	0.029	1.029	0.988	1.073	0.171
mutIDH2(R140Q) №1	-0.145	0.865	0.013	59.861	0.947
wtIDH2 №1	-0.005	0.995	0.973	1.018	0.679
wtIDH1 №1	0.010	0.137	0.000	117.083	0.163

**Примечание:** \* – статистически значимое изменение

Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, модель учитывает 5.8% факторов, определяющих вероятность развития прогрессирования. При этом модель является статистически значимой (p - 0.016).

**Наблюдаемая зависимость описывается уравнением:**

$$p = 1 / (1 + e^{-z}) * 100\%$$

$$z = 0.582 + 12.318 * X_{mutIDH1}$$

где: p – вероятность развития прогрессирования заболевания (%)

z –показатель степени в логистической функции

e – число Эйлера, математическая константа (≈2,718)

$X_{mutIDH1}$  – свободно циркулирующая мутантная ДНК гена *IDH1(R132H)* в крови до проведенного лечения

До начала лечения в 2.001 раз увеличивается шанс прогрессирования заболевания при увеличении свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *IDH1(R132H)* (95% ДИ: 1.035-2.530).

Для определения факторов, влияющих на возможность летального исхода, для группы №3 (образец №1), проведен бинарный логистический

регрессионный анализ показателей, при котором выявлена переменная-предиктор, которая имеет прогностическую значимость в качестве маркера-предиктора возможного летального исхода заболевания (табл.39).

Многопараметрический анализ показал, что уровень концентрации свободно циркулирующей ДНК «дикого типа» гена *IDH1(R132H)*, ( $p=0.014$ ) в образцах №1 (до этапа ХЛТ) имеет прямую связь с вероятностью возникновения летального исхода.

**Таблица 39.** Результаты бинарного логистического регрессионного анализа переменных-предикторов образцов №1, имеющих прогностическую ценность при определении вероятности развития летального исхода у пациентов 3-ей группы (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 пациентов с ДСГ)

Показатели	Коэффициент регрессии ( $B_i$ )	Отношение шансов	95% Доверительный интервал		p
			Нижняя граница	Верхняя граница	
Показатели. вошедшие в прогностическую модель					
Константа	1.081	1.339			0.0001
<b>wtIDH1 №1</b>	<b>0.024</b>	<b>1.025</b>	<b>1.005</b>	<b>1.045</b>	<b>0.014*</b>
Показатели. исключенные из прогностической модели					
mutBRAF(V600E) №1	-4.006	0.018	0.000	91.115	0.357
wtBRAF №1	-0.014	0.986	0.967	1.005	0.150
H3F3A (K27M) №1	-0.005	0.995	0.804	1.231	0.962
wt H3F3A №1	-0.004	0.996	0.950	1.044	0.869
mutIDH2(R140Q) №1	-1.508	0.221	0.001	64.257	0.602
wtIDH2 №1	0.004	1.004	0.980	1.030	0.726
mutIDH1(R132H) №1	-8.055	0.000	0.000	34.177	0.173

**Примечание:** \* – статистически значимое изменение

Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, модель учитывает 5.3% факторов, определяющих вероятность развития летального исхода. При этом модель является статистически значимой ( $p = 0.029$ ).

**Наблюдаемая зависимость описывается уравнением:**

$$p = 1 / (1 + e^{-z}) * 100\%$$

$$z = 1.081 + 0.024 * X_{wtIDH1}$$

где: p – вероятность развития летального исхода (%)

$z$  – показатель степени в логистической функции

$e$  – число Эйлера, математическая константа ( $\approx 2,718$ )

$X_{wtIDH1}$  – свободно циркулирующая ДНК «дикого типа» гена *IDH1(R132H)* в крови до проведенного лечения

Увеличиваются шансы летального исхода при увеличении свободно циркулирующей ДНК «дикого типа» гена *IDH1(R132H)* до проведения лечения в 1.025 раза (95% ДИ: 1.005-1.045).

Аналогичным образом была проведена оценка показателей для образцов №2, полученных в процессе ХЛТ.

Для определения факторов, способных оценивать прогноз развития летального исхода, для всех образцов №2 пациентов группы №3, проведен бинарный логистический регрессионный анализ показателей, при котором не выявлены переменные-предикторы, которые могут являться маркерами прогноза летального исхода (табл.40).

**Таблица 40.** Результаты бинарного логистического регрессионного анализа переменных-предикторов образцов №2, имеющих прогностическую ценность при определении вероятности развития летального исхода у пациентов 3-ей группы (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 пациентов с ДСГ)

Показатели	Коэффициент регрессии ( $B_i$ )	Отношение шансов	95% Доверительный интервал		p
			Нижняя граница	Верхняя граница	
Константа	-0.642	0.526			0.074
mutBRAF(V600E)№2	-0.267	0.765	0.231	2.540	0.662
wtBRAF_№2	-0.008	0.992	0.969	1.016	0.528
H3F3A (K27M)№2	1.607	4.987	0.616	40.383	0.132
wt H3F3A _№2	-0.019	0.981	0.931	1.034	0.473
mutIDH2(R140Q)№2	0.298	1.347	0.707	2.569	0.365
wtIDH2_№2	0.001	1.001	0.981	1.021	0.949
mutIDH1(R132H)№2	-3.235	0.039	0.000	7413.280	0.602
wtIDH1_№2	0.003	1.003	0.984	1.022	0.780

Для определения молекулярных маркеров, способных оценить вероятность прогрессирования заболевания, для группы №3 образец №2, проведен бинарный логистический регрессионный анализ показателей, при котором не выявлены переменные-предикторы, которые могут иметь

прогностическую ценность при оценке вероятности прогрессирования заболевания (табл.41).

**Таблица 41.** Результаты бинарного логистического регрессионного анализа переменных-предикторов образцов №2, имеющих прогностическую ценность при определении вероятности развития прогрессирования заболевания у пациентов 3-ей группы (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 пациентов с ДСГ)

Показатели	Коэффициент регрессии ( $B_i$ )	Отношение шансов	95% Доверительный интервал		p
			Нижняя граница	Верхняя граница	
Константа	-0.310	0.734			0.271
mutBRAF(V600E)№2	-0.359	0.698	0.214	2.280	0.552
wtBRAF_№2	-0.008	0.992	0.971	1.014	0.477
H3F3A (K27M)№2	1.203	3.330	0.457	24.242	0.235
wt H3F3A _№2	0.000	1.000	0.954	1.048	0.998
mutIDH2(R140Q)№2	0.206	1.228	0.688	2.194	0.487
wtIDH2_№2	-0.004	0.996	0.977	1.015	0.672
mutIDH1(R132H)№2	-2.930	0.053	0.000	2625.989	0.595
wtIDH1_№2	0.004	1.004	0.987	1.022	0.614

Для образцов №3, полученных после этапа ХЛТ, также оценена возможность использования результатов анализа в качестве прогностических маркеров летального исхода и прогрессирования заболевания.

Для определения факторов, имеющих прогностическую ценность при оценке прогрессирования заболевания, проведен бинарный логистический регрессионный анализ показателей, при котором не выявлены переменные-предикторы, которые могут являться маркерами прогрессирования (табл.42).

**Таблица 42.** Результаты бинарного логистического регрессионного анализа переменных-предикторов образцов №3, имеющих прогностическую ценность при определении вероятности развития прогрессирования заболевания у пациентов 3-ей группы (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 пациентов с ДСГ)

Показатели	Коэффициент регрессии ( $B_i$ )	Отношение шансов	95% Доверительный интервал		p
			Нижняя граница	Верхняя граница	
Константа	-1.230	0.292			0.0001
mutBRAF(V600E)№3	3.957	52.307	0.124	22090.682	0.200
wtBRAF_№3	-0.010	0.990	0.966	1.014	0.406
H3F3A (K27M)_№3	1.732	5.654	0.470	67.981	0.172
wt H3F3A _№3	0.037	1.038	0.993	1.085	0.098
mutIDH2(R140Q)№3	-1.774	0.170	0.001	21.714	0.474
wtIDH2_№3	-0.001	0.999	0.978	1.021	0.945
mutIDH1(R132H)№3	-0.326	0.722	0.136	3.832	0.702
wtIDH1_№3	0.003	1.003	0.977	1.031	0.806

Для определения факторов, имеющих прогностическую ценность в оценке возможности летального исхода, для группы №3, образцы №3, выполнен бинарный логистический регрессионный анализ показателей, при котором выявлена переменная-предиктор, которая может быть использована при оценке прогноза летального исхода (табл.43).

Многопараметрический анализ показал, что количественное определение концентрации мутантной ДНК гена *N3F3A(K27M)* ( $p=0.019$ ) после этапа ХЛТ, имеет прямую связь с вероятностью возникновения летального исхода.

**Таблица 43.** Результаты бинарного логистического регрессионного анализа переменных-предикторов образцов №3, имеющих прогностическую ценность при определении вероятности развития летального исхода у пациентов 3-ей группы (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 пациентов с ДСГ)

Показатели	Коэффициент регрессии ( $B_i$ )	Отношение шансов	95% Доверительный интервал		p
			Нижняя граница	Верхняя граница	
Показатели, вошедшие в прогностическую модель					
Константа	0.604	1.546			0.000
<b>mutN3F3A(K27M)№3</b>	<b>4.806</b>	<b>12.182</b>	<b>2.196</b>	<b>6797.138</b>	<b>0.019*</b>
Показатели, исключенные из прогностической модели					
mutBRAF(V600E)№3	2.967	19.427	0.051	7351.161	0.327
wtBRAF №3	-0.008	0.992	0.969	1.015	0.494
wtN3F3A №3	0.038	1.039	0.991	1.089	0.114
mutIDH2(R140Q) №3	-2.972	0.051	0.000	16.726	0.314
wtIDH2 №3	-0.009	0.991	0.969	1.013	0.413
mutIDH1(R132H)№3	-0.913	0.401	0.000	2006.707	0.834
wtIDH1 №3	0.008	1.008	0.982	1.035	0.544

**Примечание:** \* – статистически значимое изменение

Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, модель учитывает 6.3% факторов, определяющих вероятность развития летального исхода. При этом модель является статистически значимой ( $p = 0.003$ ).

**Наблюдаемая зависимость описывается уравнением:**

$$p = 1 / (1 + e^{-z}) * 100\%$$

$$z = 0.604 + 4.806 * X_{mutK27M}$$

где: p – вероятность развития летального исхода (%)

$z$  – показатель степени в логистической функции

$e$  – число Эйлера, математическая константа ( $\approx 2,718$ )

$X_{mutK27M}$  – концентрация свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *H3F3A(K27M)* в крови после проведенного лечения.

После проведенного лечения в 12.182 раза увеличивается шанс летального исхода при увеличении концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *H3F3A(K27M)* (95% ДИ: 2.196-6797.138).

Таким образом, было установлено, что выявление и количественное определение мутантной ДНК гена *DH1(R132H)* и дикой типа гена *DH1(R132H)* до этапа ХЛТ имеет прогностическое значение при оценке риска прогрессирования и летального исхода у пациентов с ГВСЗ. Результаты количественной оценки концентрации мутантных форм цоДНК гена *H3F3A(K27M)* ( $p=0.019$ ) после этапа ХЛТ, могут являться маркером вероятности возникновения летального исхода.

#### **Оценка динамики изменения относительной концентрации свободно циркулирующей ДНК в крови у пациентов с ДСГ на фоне терапии**

С целью определения изменения концентрации свободно циркулирующей ДНК в крови на протяжении всего периода лечения у пациентов с ДСГ, была сформирована выборка из 130 пациентов с ДСГ, у которых была выполнена процедура взятия крови: до этапа ХЛТ (образец №1), во время лечения (образец №2), после лечения (образец №3).

**Таблица 44.** Общие характеристики пациентов 3-ей подгруппы с ДСГ,  $n=130$

Характеристика		Показатель
Пол	Мужской	54.6% (n=71)
	Женский	45.4% (n=59)
Возраст, Ме [Q25%;Q75%] лет		9.0 [6.0;11.0]
Возраст	До 18 лет	93.8% (n=122)
	19 лет и более	6.2% (n=8)
Локализация	Ствол головного мозга	83.8% (n=109)
	Таламус	16.2% (n=21)
Объем опухоли по данным МРТ, Ме [Q25%;Q75%] см <sup>3</sup>		37.5 [21.0;59.0]
Хирургическое лечение		39.2 (n=51)
Гистология	Gr 3-4	39.2% (n=51)

Характеристика данной группы и распределение по локализации опухолевого процесса представлены в таблице 44. С наибольшей частотой – 109 (83.8%), было диагностировано опухолевое поражение ствола головного мозга, при этом на поражение таламуса пришлось 21 случая (16.2%). В данную группу было включено 122 (93.8%) пациентов детского возраста и 8 (6.2%) пациентов старше 18 лет, средний возраст пациентов – 9.0 [6.0;11.0] лет. Тем самым полученные нами данные, как и предыдущие результаты по 1-ой и 2-ой группе соотносятся с мировыми эпидемиологическими показателями для больных, страдающих ДСГ. Гистологическая степень злокачественности (Grade, G) 3-4 была определена в 52 (39.2%) случаях (табл.44).

**Таблица 45.** Частота выявляемости мутантных форм цоДНК в крови у пациентов 3-ей подгруппы с ДСГ, %, n=130

Ген (мутация)	Кол-во пациентов, у которых выявлена мутация, (n)	% пациентов с выявленными мутантными формами в группе (n=130)
<i>H3F3A(K27M)</i>	32	24,61
<i>BRAF(V600E)</i>	12	9,23
<i>IDH1(R132H)</i>	16	12,31
<i>IDH2(R140Q)</i>	15	11,54
Всего	75	57,69

При оценке частоты выявляемости мутантных форм цоДНК в крови у больных с ДСГ (табл. 45), установлено, что наибольшая частота приходилась на мутацию *K27M* в гене *H3F3A* (24,61%), на мутацию *IDH1(R132H)* приходилось 12,31%, третьей по частоте выявляемости - мутация *R140Q* в гене *IDH2* (11.54%). При этом наибольший процент в выявленных сочетанных мутациях в исследуемых генах в периферической крови составила мутация *K27M* (табл.46).

**Таблица 46.** Выявленные сочетания мутаций в исследуемых генах в периферической крови пациентов 3-ей подгруппы с ДСГ, %, n=130

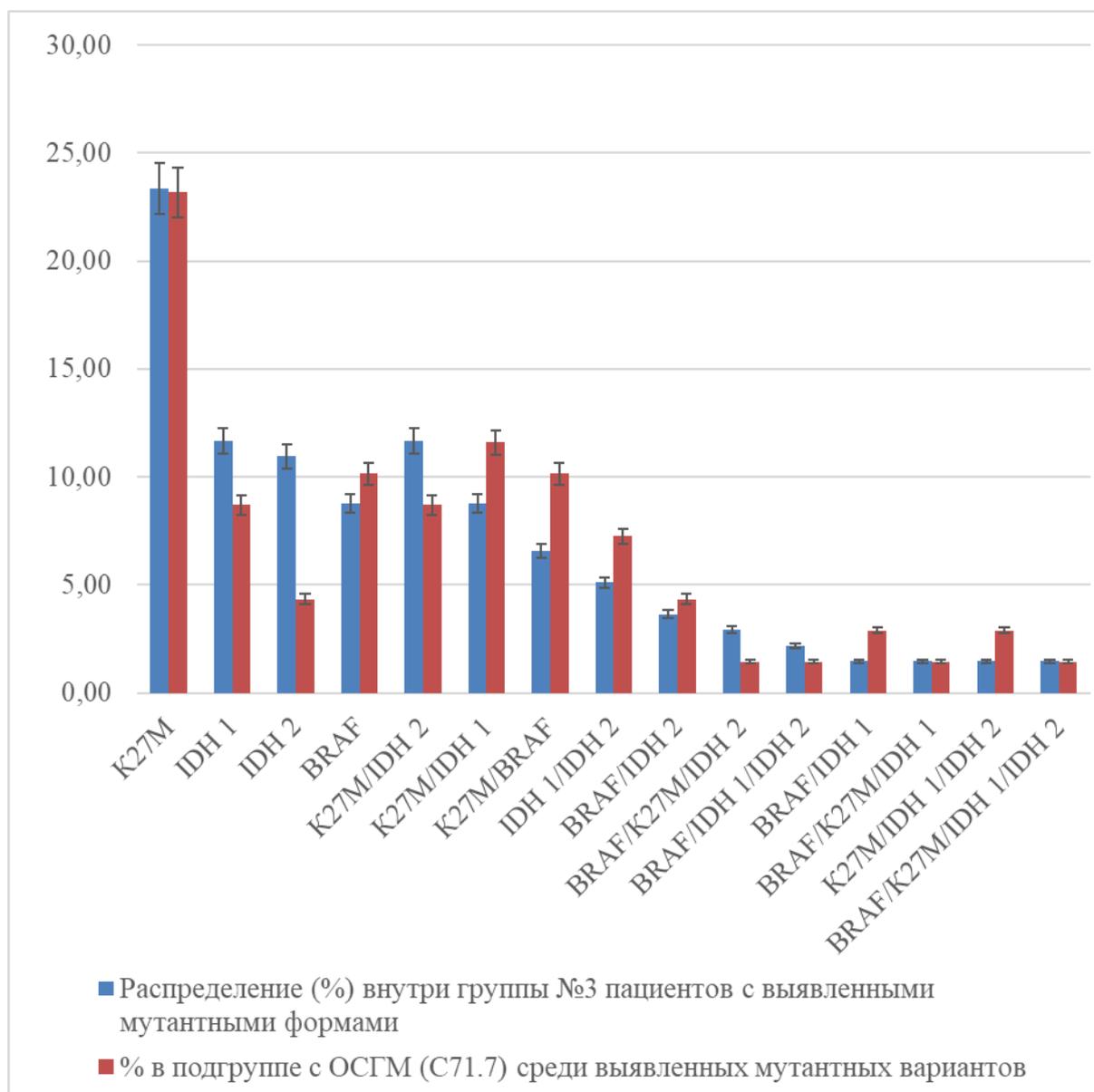
Выявленное сочетание	Кол-во пациентов	% пациентов с выявленными сочетаниями мутантных форм в группе ДСГ (n=130)
1. <i>BRAF(V600E)/H3F3A(K27M)</i>	5	3,84
2. <i>BRAF(V600E)/IDH2(R140Q)</i>	3	2,30
3. <i>H3F3A(K27M)/IDH2(R140Q)</i>	5	3,84
4. <i>H3F3A(K27M)/IDH1(R132H)</i>	3	2,30
5. <i>BRAF(V600E)/H3F3A(K27M)/IDH2(R140Q)</i>	1	0,77
Всего	17	13,05

В С71.7 в меньшем проценте случаев (29,35%) присутствуют "чистые" мутации и чаще их сочетание. Самое частое для С71.7 сочетание - *H3F3A(K27M)/IDH1(R132H)*, а для общей группы ДСГ - *H3F3A(K27M)/IDH2(R140Q)*.

**Таблица 47.** Выявленные мутации и сочетания мутаций в исследуемых генах в периферической крови пациентов 3-ей подгруппы с ДСГ, %, n=130

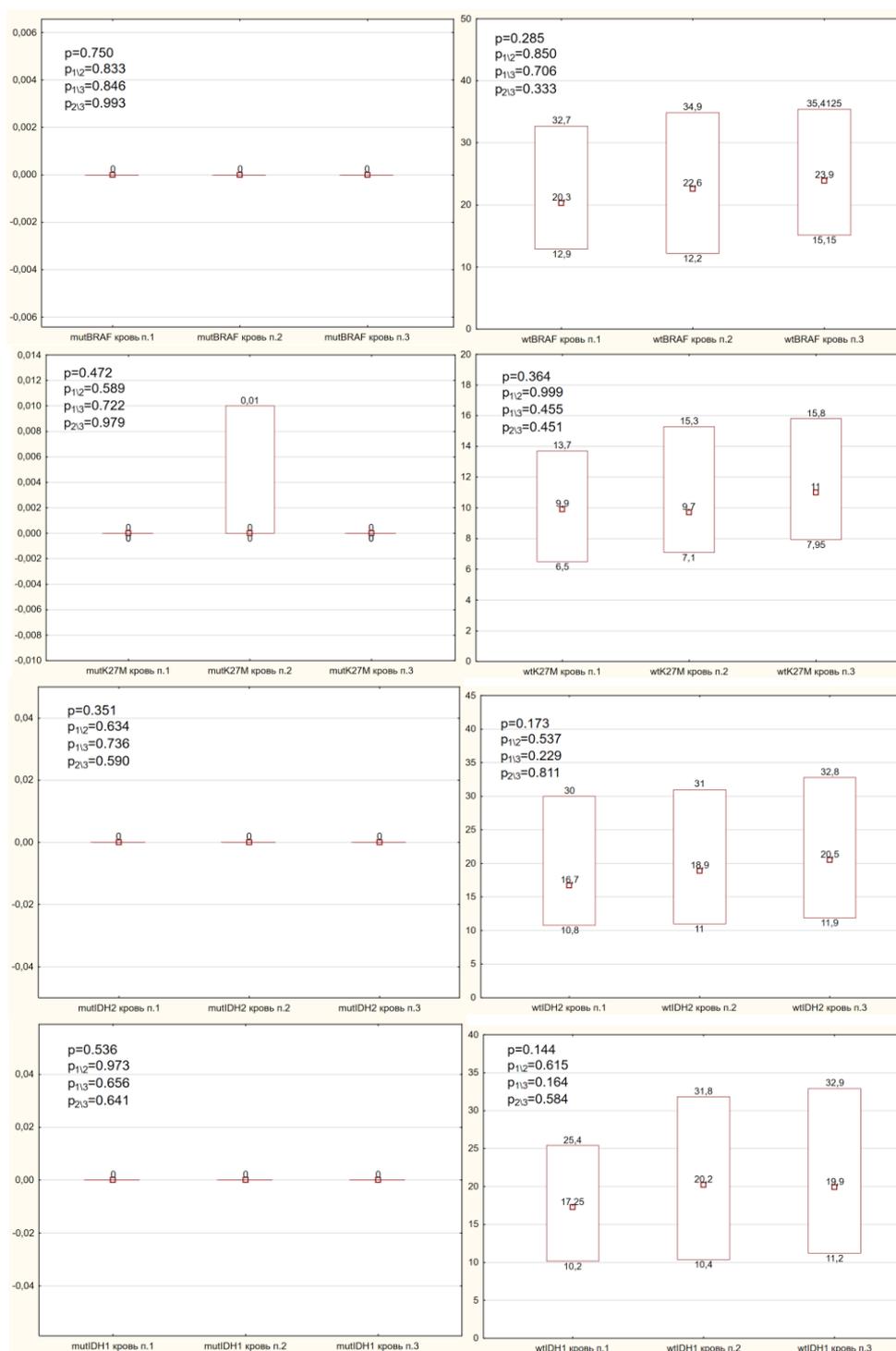
Мутация (сочетание)	% пациентов в подгруппе ДСГ(С71.7)	% в подгруппе с ДСГ (С71.7) среди выявленных мутантных вариантов
1. <i>H3F3A(K27M)</i>	14,68 (n=16)	23,19
2. <i>IDH1(R132H)</i>	5,50 (n=6)	8,70
3. <i>IDH2(R140Q)</i>	2,75 (n= 3)	4,35
4. <i>BRAF(V600E)</i>	6,42 (n=7 )	10,14
5. <i>H3F3A(K27M)/IDH2(R140Q)</i>	5,50 (n= 6)	8,70
6. <i>H3F3A(K27M)/IDH1(R132H)</i>	7,34 (n= 8)	11,59
7. <i>H3F3A(K27M)/BRAF(V600E)</i>	6,42 (n= 7)	10,14
8. <i>IDH1(R132H)/IDH2(R140Q)</i>	4,59 (n= 5)	7,25
9. <i>BRAF(V600E)/IDH2(R140Q)</i>	2,75 (n= 3)	4,35
10. <i>BRAF(V600E)/H3F3A(K27M)/IDH 2</i>	0,92 (n= 1)	1,45
11. <i>BRAF(V600E)/IDH1(R132H)/IDH2(R140Q)</i>	0,92 (n= 1)	1,45
12. <i>BRAF(V600E)/IDH1(R132H)</i>	1,83 (n= 2)	2,90
13. <i>BRAF(V600E)/H3F3A(K27M)/IDH1(R132H)</i>	0,92 (n= 1)	1,45
14. <i>H3F3A(K27M)/IDH1(R132H)/IDH2(R140Q)</i>	1,83 (n=2 )	2,90
15. <i>BRAF(V600E)/H3F3A(K27M)/IDH1(R132H)/IDH2(R140Q)</i>	0,92 (n= 1)	1,45
Всего пациентов с выявленными мутациями	63,30 (n=69)	

Чаще выявляются сочетания *BRAF(V600E)/H3F3A(K27M)* и *IDH1(R132H)/IDH2(R140Q)* (табл.47 и рис.33).



**Рисунок 33.** Сравнение частоты выявляемости мутантных форм и их сочетаний в 3-ей группе пациентов (n=209) и среди пациентов 3-ей подгруппы (n=130)

Как и для пациентов всей 3-ей группы, для пациентов 3-ей подгруппы с ДСГ была проведена оценка изменений концентрации мутантных форм и концентрации цодНК «дикого типа» в трех исследуемых образцах (рис. 34).



**Рисунок 34.** Динамика изменений концентрации свободно циркулирующей ДНК в крови с течением времени - мутантной ДНК гена *BRAF(V600E)*, ДНК «дикого типа» гена *BRAF(V600E)*, мутантной ДНК гена *H3F3A(K27M)*, ДНК «дикого типа» гена *H3F3A(K27M)*, мутантной ДНК гена *IDH1(R132H)*, ДНК «дикого типа» гена *IDH1(R132H)*, мутантной ДНК гена *IDH2(R140Q)*, ДНК «дикого типа» гена *IDH2(R140Q)* у пациентов 3-ей подгруппы, n=130

Примечание: данные результаты представлены в виде Me [Q25%;Q75%].

mutBRAF - мутантная ДНК гена *BRAF(V600E)*; wtBRAF - ДНК «дикого типа» гена *BRAF(V600E)*; mutK27M - мутантная ДНК гена *H3F3A(K27M)*, wtK27M - ДНК «дикого типа» гена *H3F3A(K27M)*, mutIDH1 - мутантная ДНК гена *IDH1(R132H)*, wtIDH1 - ДНК «дикого типа» гена *IDH1(R132H)*, mutIDH2 - мутантная ДНК гена *IDH2(R140Q)*, wtIDH2 - ДНК «дикого типа» гена *IDH2(R140Q)*.

Проведен анализ показателей концентрации свободно циркулирующей ДНК в крови с течением времени у пациентов с ДСГ (130 пациентов), где концентрация мутантной ДНК гена *BRAF(V600E)*, ДНК «дикого типа» гена *BRAF(V600E)*, мутантной ДНК гена *H3F3A(K27M)*, ДНК «дикого типа» гена *H3F3A(K27M)*, мутантной ДНК гена *IDH1(R132H)*, ДНК «дикого типа» гена *IDH1(R132H)*, мутантной ДНК гена *IDH2(R140Q)*, ДНК «дикого типа» гена *IDH2(R140Q)* статистически значимо не изменялись на фоне проведенного лечения (рисунок 34).

### **Бинарный логистический регрессионный анализ переменных-предикторов, связанных с вероятностью летального исхода и прогрессирования заболевания**

Для определения прогностических факторов, связанных с вероятностью развития прогрессирования для группы из 130 пациентов с ДСГ, был проведен бинарный логистический регрессионный анализ показателей концентрации цоДНК в образцах №1 (периферическая кровь до начала этапа лечения), при котором выявлена переменная-предиктор, которая может являться маркером риска прогрессирования заболевания (табл. 48).

Многопараметрический анализ показал, что относительная концентрация мутантной ДНК гена *IDH1(R132H)* ( $p=0.006$ ) имеет прямую связь с вероятностью возникновения прогрессирования заболевания.

**Таблица 48.** Результаты бинарного логистического регрессионного анализа переменных-предикторов в образцах №1 пациентов с ДСГ, оценка возможной связи молекулярных маркеров с вероятностью прогрессирования заболевания у пациентов 3-ей подгруппы с ДСГ,  $n=130$

Показатели	Коэффициент регрессии ( $B_i$ )	Отношение шансов	95% Доверительный интервал		p
			Нижняя граница	Верхняя граница	
Показатели, вошедшие в прогностическую модель					
<b>mutIDH1(R132H)№1</b>	<b>25.823</b>	<b>2.001</b>	<b>1.065</b>	<b>7.001</b>	<b>0.006*</b>
Показатели, исключенные из прогностической модели					
Константа	-0.506	0.603			0.119
mutBRAF(V600E)№1	-3.190	0.041	0.000	1185.161	0.543
wtBRAF_№1	0.001	1.001	0.971	1.032	0.939
mutH3F3A(K27M)№1	0.549	1.731	0.034	87.558	0.784
wtH3F3A_№1	0.046	1.047	0.973	1.127	0.221
mutIDH2(R140Q)№1	2.656	14.241	0.061	3352.209	0.340
wtIDH2_№1	0.030	1.030	1.005	1.056	0.020
wtIDH1_№1	0.004	1.004	0.960	1.049	0.865

**Примечание:** \* – статистически значимое изменение

Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, модель учитывает 17.9% факторов, определяющих вероятность развития прогрессирования. При этом модель является статистически значимой ( $p = 0.0001$ ).

**Наблюдаемая зависимость описывается уравнением:**

$$p = 1 / (1 + e^{-z}) * 100\%$$

$$z = 25.823 * X_{mutIDH1}$$

где:  $p$  – вероятность развития прогрессирования (%)

$z$  – показатель степени в логистической функции

$e$  – число Эйлера, математическая константа ( $\approx 2,718$ )

$X_{mutIDH1}$  – свободно циркулирующая мутантная ДНК гена *IDH1(R132H)* в крови до проведенного лечения

До начала лечения в 2.001 раза увеличивается вероятность прогрессирования заболевания при увеличении концентрации свободно циркулирующего мутантной ДНК гена *IDH1(R132H)* (95% ДИ: 1.065-7.001).

Для определения прогностических факторов, позволяющих оценить вероятность летального исхода, для группы из 130 пациентов с ДСГ, по результатам молекулярно-генетического анализа образцов №1, полученных до этапа ХЛТ, был проведен бинарный логистический регрессионный анализ показателей, при котором выявлены переменные-предикторы, которые могут являться маркерами вероятности летального исхода (табл.49).

Многопараметрический анализ показал, что концентрации ДНК «дикого типа» генов *H3F3A(K27M)* ( $p = 0.044$ ), *IDH1(R132H)* ( $p=0.013$ ) имеют прямую связь с вероятностью летального исхода.

**Таблица 49.** Результаты бинарного логистического регрессионного анализа переменных-предикторов образцов №1 подгруппы ДСГ, связанных с вероятностью развития летального исхода у пациентов 3-ей подгруппы с ДСГ, n=130

Показатели	Коэффициент регрессии (B <sub>i</sub> )	Отношение шансов	95% Доверительный интервал		p
			Нижняя граница	Верхняя граница	
Показатели. вошедшие в прогностическую модель					
Константа	1.088	1.337			0.000
<b>wtH3F3A_№1</b>	<b>0.013</b>	<b>1.114</b>	<b>1.057</b>	<b>2.073</b>	<b>0.044*</b>
<b>wtIDH1_№1</b>	<b>0.027</b>	<b>1.028</b>	<b>1.006</b>	<b>1.050</b>	<b>0.013*</b>
Показатели. исключенные из прогностической модели					
mutBRAF(V600E)№1	-1.614	0.199	0.000	10606.237	0.771
wtBRAF_№1	-0.021	0.979	0.946	1.013	0.220
mutH3F3A(K27M)№1	-0.481	0.618	0.007	50.990	0.831
mutIDH1(R132H)№1	-18.203	1.001	0.000	1.516	0.142
mutIDH2(R140Q)№1	0.136	1.146	0.002	548.869	0.965
wtIDH2_№1	0.011	1.011	0.961	1.063	0.671

**Примечание:** \* – статистически значимое изменение

Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, модель учитывает 26.6% факторов, определяющих вероятность развития летального исхода. При этом модель является статистически значимой (p - 0.002).

**Наблюдаемая зависимость описывается уравнением:**

$$p = 1 / (1 + e^{-z}) * 100\%$$

$$z = 1.088 + 0.013 * X_{wtK27M} + 0.027 * X_{wtIDH1}$$

где: p – вероятность развития летального исхода (%)

z – показатель степени в логистической функции

e – число Эйлера, математическая константа ( $\approx 2,718$ )

$X_{wtK27M}$  – свободно циркулирующая ДНК «дикого типа» гена *H3F3A(K27M)* в крови до проведенного лечения

$X_{wtIDH1}$  – свободно циркулирующая ДНК «дикого типа» гена *IDH1(R132H)* в крови до проведенного лечения

Увеличивается вероятность летального исхода при увеличении концентрации свободно циркулирующей ДНК «дикого типа» гена *IDH1(R132H)* в 1.028 раз (95% ДИ: 1.006-1.050). В 0.013 раза увеличивается вероятность летального исхода при увеличении концентрации свободно циркулирующей ДНК «дикого типа» гена *H3F3A(K27M)* (95% ДИ: 1.057-2.073) до начала лечения.

Для определения факторов, являющихся прогностическими маркерами вероятности летального исхода, для группы из 130 пациентов с ДСГ, проведен анализ результатов молекулярно-генетического исследования образцов №2, полученных во время проведения лечения. Бинарный логистический регрессионный анализ показателей не выявил переменные-предикторы, которые могут быть использованы в качестве прогностических маркеров летального исхода (табл. 50).

**Таблица 50.** Результаты бинарного логистического регрессионного анализа переменных-предикторов образцов №2 подгруппы ДСГ, возможно связанных с вероятностью развития летального исхода у пациентов 3-ей подгруппы с ДСГ, n=130

Показатели	Коэффициент регрессии (B <sub>i</sub> )	Отношение шансов	95% Доверительный интервал		p
			Нижняя граница	Верхняя граница	
Константа	-0.631	0.532			0.134
mutBRAF(V600E)№2	8.917	7458.836	0.032	1726336264.599	0.157
wtBRAF_№2	-0.016	0.984	0.951	1.019	0.360
mutH3F3A(K27M)№2	1.214	3.367	0.348	32.535	0.294
wtH3F3A_№2	0.001	1.001	0.932	1.076	0.970
mutIDH2(R140Q)№2	0.384	1.469	0.617	3.496	0.385
wtIDH2_№2	0.007	1.007	0.977	1.038	0.664
mutIDH1(R132H)№2	-15.313	0.000	0.000	11.192	0.090
wtIDH1_№2	0.006	1.007	0.977	1.037	0.667

Для определения факторов, возможно связанных с вероятностью развития прогрессирования заболевания, для группы из 130 пациентов с ДСГ, по результатам молекулярно-генетических исследования образцов №2, проведен бинарный логистический регрессионный анализ показателей, при

котором не выявлены переменные-предикторы, которые могут являться маркерами прогрессирования заболевания (табл. 51).

**Таблица 51.** Результаты бинарного логистического регрессионного анализа переменных-предикторов образцов №2, оценка значимости молекулярных маркеров для прогнозирования прогрессирования заболевания у пациентов 3-ей подгруппы с ДСГ, n=130

Показатели	Коэффициент регрессии ( $B_i$ )	Отношение шансов	95% Доверительный интервал		p
			Нижняя граница	Верхняя граница	
Константа	-0.397	0.672			0.318
mutBRAF_№2	21.397	19617746.572	0.060	640476501804.000	0.083
wtBRAF_№2	-0.013	0.987	0.957	1.019	0.431
mutK27M_№2	1.103	3.012	0.294	30.910	0.353
wtK27M_№2	0.026	1.026	0.960	1.098	0.444
mutIDH2_№2	0.260	1.297	0.658	2.557	0.452
wtIDH2_№2	-0.009	0.991	0.962	1.022	0.572
mutIDH1_№2	-13.245	0.000	0.000	4.213	0.077
wtIDH1_№2	0.018	1.018	0.989	1.047	0.221

Для определения прогностических факторов, возможно связанных с вероятностью развития прогрессирования, для группы из 130 пациентов с ДСГ, был проведен анализ результатов молекулярно-генетического исследования образцов №3, полученных после этапа ХЛТ. Проведенный бинарный логистический регрессионный анализ показателей выявил переменные-предикторы, которые могут иметь прогностическую значимость при оценке вероятности прогрессирования заболевания (табл.52). Многопараметрический анализ показал, что концентрация мутантной ДНК гена *N3F3A(K27M)* ( $p=0.008$ ), ДНК дикого типа гена *N3F3A* ( $p=0.017$ ) и ДНК дикого типа гена *IDH1(R132H)* ( $p=0.048$ ) имеют прямую связь с вероятностью возникновения прогрессирования заболевания и данные маркеры могут рассматриваться в качестве факторов прогноза течения заболевания (табл. 52).

**Таблица 52.** Результаты бинарного логистического регрессионного анализа переменных-предикторов образцов №3, оценка значимости молекулярных маркеров для прогнозирования прогрессирования заболевания у пациентов 3-ей подгруппы, n=130

Показатели	Коэффициент регрессии (B <sub>i</sub> )	Отношение шансов	95% Доверительный интервал		p
			Нижняя граница	Верхняя граница	
Показатели, вошедшие в прогностическую модель					
Константа	0.324	1.724			0.027
<b>mutH3F3A(K27M)№3</b>	<b>3.683</b>	<b>9.785</b>	<b>1.658</b>	<b>2405.322</b>	<b>0.008*</b>
<b>wtH3F3A_№3</b>	<b>0.042</b>	<b>2.043</b>	<b>1.979</b>	<b>8.111</b>	<b>0.017*</b>
<b>wtIDH1_№3</b>	<b>0.011</b>	<b>2.012</b>	<b>1.980</b>	<b>5.044</b>	<b>0.048*</b>
Показатели, исключенные из прогностической модели					
mutBRAF(V600E)№3	28.319	1990379182 227.160	29.432	1346034057522578 30000000.000	0.126
wtBRAF_№3	-0.002	0.998	0.969	1.027	0.887
mutIDH2(R140Q)№3	-4.297	0.014	0.000	2.142	0.096
wtIDH2_№3	-0.026	0.974	0.944	1.005	0.104
mutIDH1(R132H)№3	-7.996	0.000	0.000	32.636	0.172

Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, модель учитывает 20.8% факторов, определяющих вероятность развития прогрессирования. При этом модель является статистически значимой (p - 0.021).

**Наблюдаемая зависимость описывается уравнением:**

$$p = 1 / (1 + e^{-z}) * 100\%$$

$$z = 0.324 + 3.683 * X_{mutK27M} + 0.042 * X_{wtK27M} + 0.011 * X_{wtIDH1}$$

где: p – вероятность развития прогрессирования заболевания (%).

$X_{mutK27M}$  – свободно циркулирующая мутантная ДНК гена *H3F3A(K27M)* в крови после проведенного лечения.

$X_{wtK27M}$  – свободно циркулирующая мутантная ДНК «дикого типа» гена *H3F3A(K27M)* в крови после проведенного лечения

$X_{wtIDH1}$  – свободно циркулирующая ДНК «дикого типа» гена *IDH1(R132H)* в крови после проведенного лечения

Увеличивается вероятность прогрессирования заболевания при увеличении концентрации свободно циркулирующей ДНК дикого типа после

проведенного лечения для генов: *H3F3A(K27M)* в 2.043 раза (95% ДИ: 1.979-8.111), *IDH1(R132H)* в 2.012 раз (95% ДИ: 1.980-5.044). В 9.785 раз увеличивается вероятность прогрессирования заболевания при увеличении концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *H3F3A(K27M)* (95% ДИ: 1.658-2405.322) после проведенного лечения.

Для определения молекулярно-генетических маркеров, способных прогнозировать вероятность развития летального исхода, для группы из 130 пациентов с ДСГ, по результатам оценки образцов №3, проведен бинарный логистический регрессионный анализ показателей, при котором выявлены переменные-предикторы, которые могут являться прогностическими факторами вероятности летального исхода (табл.53).

Многопараметрический анализ показал, что выявление или повышение концентрации мутантной цоДНК гена *H3F3A(K27M)* ( $p=0.029$ ) в периферической крови после этапа ЛТ имеет прямую связь с вероятностью возникновения летального исхода.

**Таблица 53.** Результаты бинарного логистического регрессионного анализа переменных-предикторов образцов №3 подгруппы ДСГ, способных прогнозировать вероятность развития летального исхода у пациентов 3-ей подгруппы с ДСГ, n=130

Показатели	Коэффициент регрессии ( $B_i$ )	Отношение шансов	95% Доверительный интервал		p
			Нижняя граница	Верхняя граница	
Показатели, вошедшие в прогностическую модель					
Константа	0.831	1.436			0.000
<b>mutH3F3A(K27M)№3</b>	<b>0.656</b>	<b>1.927</b>	<b>1.134</b>	<b>27.617</b>	<b>0.029*</b>
Показатели, исключенные из прогностической модели					
mutBRAF(V600E)№3	17.560	4.718	0.469	4004.100	0.132
wtBRAF №3	-0.001	0.999	0.969	1.029	0.928
wtH3F3A №3	0.039	1.039	0.978	1.104	0.211
mutIDH2(R140Q)№3	-2.649	0.071	0.001	6.908	0.257
wtIDH2 №3	-0.017	0.983	0.953	1.014	0.284
mutIDH1(R132H)№3	-0.620	0.538	0.004	77.776	0.807
wtIDH1 №3	0.005	1.005	0.973	1.038	0.763

**Примечание:** \* – статистически значимое изменение

Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, модель учитывает 8.4% факторов, определяющих вероятность развития

летального исхода. При этом модель является статистически значимой ( $p = 0.007$ ).

**Наблюдаемая зависимость описывается уравнением:**

$$p = 1 / (1 + e^{-z}) * 100\%$$

$$z = 0.831 + 0.656 * X_{mutK27M}$$

где:  $p$  – вероятность развития летального исхода (%)

$z$  – показатель степени в логистической функции

$e$  – число Эйлера, математическая константа ( $\approx 2,718$ )

$X_{mutK27M}$  – свободно циркулирующая мутантная ДНК гена *H3F3A(K27M)* в крови после проведенного лечения

После проведенного лечения в 1.927 раз увеличивается вероятность летального исхода при увеличении концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *H3F3A(K27M)* (95% ДИ: 1.134-27.617).

Наше исследование демонстрирует клиническую целесообразность и информативность анализа в динамике сцДНК в плазме периферической крови пациентов с установленным диагнозом ДСГ. Изменения сцДНК с течением времени, в особенности до и после проведенного химиолучевого лечения, имеют прогностическую значимость в оценке вероятности прогрессирования заболевания и летальности, а также позволяют оценить эффективность химиолучевого лечения.

При анализе динамики концентрации сцДНК в плазме периферической крови у выборки из 209 пациентов, было установлено, что вероятность прогрессирования заболевания и летального исхода увеличивается в 2.001 раз и 1.025 раз, соответственно, при высокой концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *IDH1(R132H)* до начала терапии. При этом, согласно результатам анализа образцов из 3-го забора крови (после завершения лечения) в 12.182 раза увеличивается вероятность летального

исхода при высокой концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *H3F3A (K27M)*.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют об информативности результатов анализа забора крови до начала химиолучевого лечения у пациентов в части прогнозирования вероятности прогрессирования заболевания и летального исхода, а результаты анализа забора крови после завершения химиолучевого лечения дополнительно к прогнозированию течения и исхода заболевания (вероятность прогрессирования и летального исхода), позволяют оценить эффективность проведенного химиолучевого лечения.

В последующем, были изучены особенности изменения концентрации цоДНК исследуемых генов в периферической крови у пациентов с ДСГ.

Было установлено, что вероятность прогрессирования заболевания и летального исхода увеличивается в 2.001 раз и 1.028 раз, соответственно, при высокой концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *IDH1(R132H)* до начала терапии. Также увеличивается вероятность летального исхода при высокой концентрации свободно циркулирующей ДНК дикого типа гена *H3F3A* до начала лечения.

При анализе образцов периферической крови пациентов с ДСГ после проведенного лечения нами было установлено, что вероятность прогрессирования заболевания увеличивается при высокой концентрации свободно циркулирующей ДНК дикого типа для генов: *wtH3F3A* в 2.043 раза, *wtIDH1* в 2.012 раз; при высокой концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *H3F3A(K27M)* в 9.785 раз. В 1.927 раз увеличивается вероятность летального исхода при высокой концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *H3F3A(K27M)* после проведенного лечения.

Тем самым мы получили подтверждение того, что наиболее информативен 1-ый (до лечения) и 3-ий (после лечения) заборы крови по сравнению со 2-ым забором крови (в процессе лечения), при анализе в

котором не было выявлено статистически значимых зависимостей по показателям, обладающим прогностической ценностью.

Необходимо учитывать, что процедура взятия ликвора (особенно у детей) более сложна с точки зрения логистики и сопряжена с большими рисками, чем получение образцов периферической крови, поэтому для прогнозирования течения заболевания и результатов лечения пациентов с ДСГ выявление в динамике цоДНК целесообразно проводить именно в плазме периферической крови

Наш анализ динамики изменений концентрации цоДНК на фоне проводимого лечения подтверждает, что высокие концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК и ДНК дикого типа гена *H3F3A (K27M)* и концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *IDH1* могут указывать на вероятность клинического прогрессирования заболевания. В дальнейшем, в клинической практике возможно использование данных молекулярных маркеров в качестве факторов прогноза течения и исхода заболевания, кроме того, мониторинг динамики изменений концентрации цоДНК указанных генов в периферической крови у пациентов с ДСГ может также позволить врачам корректировать проводимое химиолучевое лечение.

Таким образом, данное исследование демонстрирует целесообразность и потенциальную эффективность мониторинга изменений концентрации цоДНК в периферической крови на фоне проводимого химиолучевого лечения.

## ГЛАВА 4. АНАЛИЗ ОБЩЕЙ И БЕЗРЕЦИДИВНОЙ ВЫЖИВАЕМОСТИ ПРИ ГЛИОМАХ ВЫСОКОЙ СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ

### 4.1. Общая и безрецидивная выживаемость группы пациентов с ГВСЗ до и после проведенного лечения

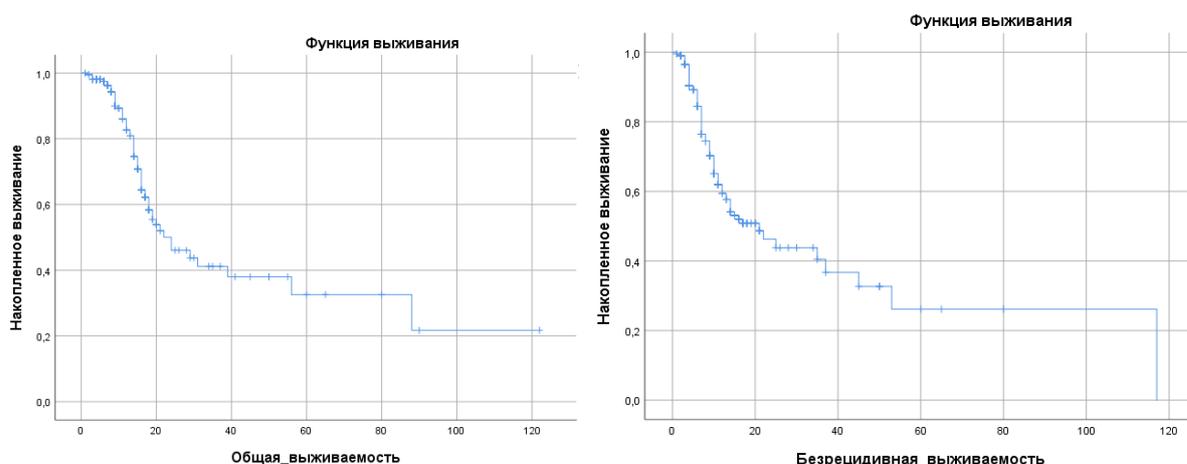
На сегодняшний день рак головного мозга у детей является основной причиной смертности от этого заболевания среди детей в возрасте до 14 лет [324]. При этом злокачественные опухоли, возникающие в срединных структурах головного мозга, имеют один из самых неблагоприятных исходов [106]. У детей с ДСГ средняя продолжительность жизни составляет всего 12 месяцев, а наличие мутации в гене *N3F3A* часто приводит к худшим результатам по сравнению с опухолями без данной мутации, поэтому эти опухоли были переклассифицированы ВОЗ как «диффузная глиома средней линии с мутацией *N3 K27*» [106]. Стоит отметить, что общая (ОВ) и безрецидивная выживаемость (БВ) существенно различаются в разных клинических наблюдениях, что говорит о преимуществах некоторых стратегий лечения ДСГ. Тем самым это позволяет последовательно развивать сферу молекулярно-генетических исследований с целью выделения ведущих биомаркеров онкогенеза для дальнейшего совершенствования как терапевтических, так и диагностических возможностей.

В данном направлении исследования мы провели анализ ОВ и БВ группы из 209 пациентов с ГВСЗ (из которых 130 пациентов с ДСГ), которым проводился забор крови до лечения (забор №1) и после лечения (забор №3) (табл.54, рис.35).

**Таблица 54.** Общая и безрецидивная выживаемость среди пациентов 3-ей группы, которым был проведен забор крови (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 пациентов с ДСГ)

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Общая	122	24 [14.5; 33.5]	82.6 ± 3.2	41.2 ± 6.0	32.6 ± 7.4
Безрецидивная	117	21 [13.1; 28.9]	59.4 ± 4.0	40.4 ± 5.9	26.1 ± 8.0

При рассмотрении литературных источников можно отметить, что наши данные не противоречат международным исследованиям (табл.54, рис.35).



**Рисунок 35.** Общая и безрецидивная выживаемость среди пациентов 3-ей группы, которым был проведен забор крови (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 пациентов с ДСГ)

Так если оценить однолетнюю и пятилетнюю относительную выживаемость больных злокачественными новообразованиями головного мозга по данным популяционных раковых регистров европейских стран [371], то 5-ти летняя выживаемость находится также на более низком уровне по сравнению с 1-летней выживаемостью. При ДСГ ОВ составляет около 30% через 1 год и 10% через 2 года. Поэтому больные, прожившие 2 года и более, считаются «долгожителями» [192, 199, 414]. При этом мутация в гистоне H3 гена K27M также существенно ухудшает прогноз заболевания.

Отдельно стоит отметить крупное исследование, результаты которого были опубликованы в 2017 году. Этот систематический обзор и метаанализ был проведён для определения у пациентов показателей выживаемости и оценки потенциальных прогностических факторов, куда были включены дети с ГВСЗ. Данные мета-анализа показали, что 1-летняя общая выживаемость составила 41%, 2-летняя - 15,3% и 3-летняя - 7,3%. Однако оценка результатов по медиане общей выживаемости была невозможна из-за отсутствия данных о дисперсии [187, 199].

Таким образом, показатели выживаемости при ГВСЗ остаются очень низкими.

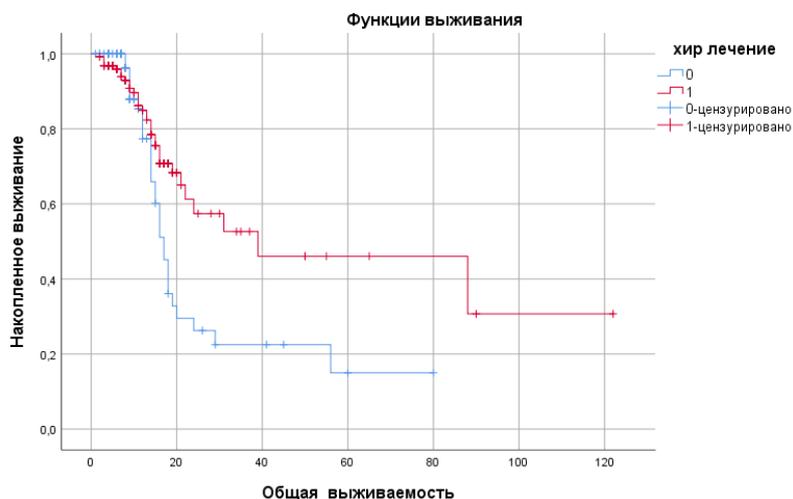
#### 4.2. Сравнительный анализ показателей общей и безрецидивной выживаемости между группами пациентов с ГВСЗ, которым проводилось хирургическое лечение и пациентами с ГВСЗ без хирургического лечения

В дальнейшем нами был проведен сравнительный анализ показателей ОВ и БВ между 128 пациентами, которым проводилось хирургическое лечение и 81 пациентами без хирургического лечения (рис. 36 и 37, табл. 55 и 56).

**Таблица 55.** Показатели общей выживаемости у больных 3-ей группы с\без хирургического лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 пациентов с ДСГ)

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % $\pm$ станд. ошибка	3-летняя, % $\pm$ станд. ошибка	5-летняя, % $\pm$ станд. ошибка
Без хирургического лечения	80	17.0 [14.9; 19.0]	77.3 $\pm$ 6.4	22.5 $\pm$ 7.4	15.0 $\pm$ 7.9
С хирургическим лечением	122	39.0 [0; 83.4]	84.9 $\pm$ 3.6	52.6 $\pm$ 8.2	46.0 $\pm$ 9.5

Согласно полученным результатам, ОВ ( $p=0.008$ ) и БВ ( $p=0.008$ ) статистически значимо различалась между группами, что в первую очередь говорит о лучших показателях выживаемости у когорты пациентов после хирургического лечения, что демонстрируют таблицы дожития и графики.



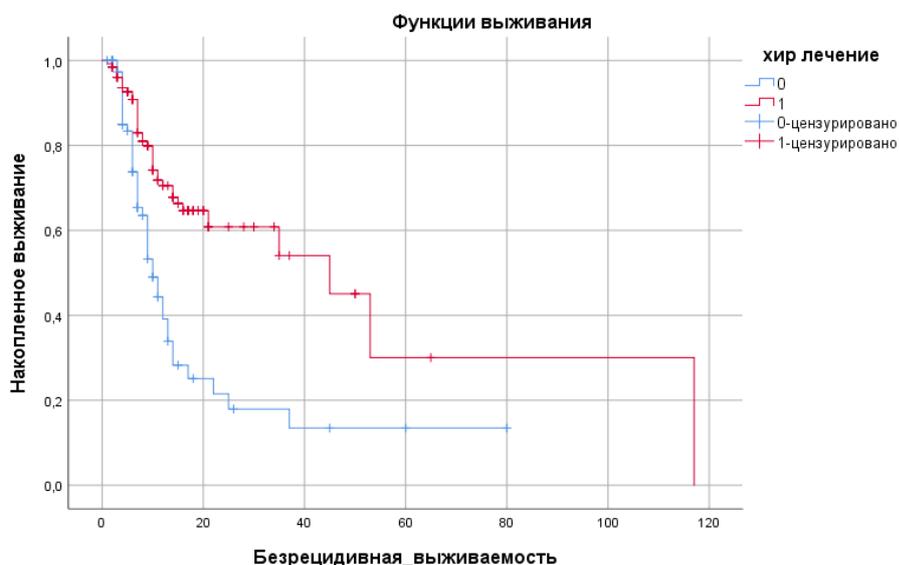
**Рисунок 36.** Общая выживаемость у больных 3-ей группы с\без хирургического лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 пациентов с ДСГ)

Тем самым показано, что хирургическое лечение играет весомую роль в определении прогноза для пациентов с ГВСЗ.

**Таблица 56.** Показатели безрецидивной выживаемости у больных 3-ей группы с\без хирургического лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 пациентов с ДСГ)

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без хирургического лечения	80	10.0 [7.9; 12.0]	39.1 ± 7.0	17.9 ± 6.5	13.5 ± 6.2
С хирургическим лечением	117	45.0 [23.1; 66.9]	70.5 ± 4.6	54.1 ± 8.3	30.0 ± 14.2

Примечательно, что объём резекции может значительно коррелировать с показателями выживаемости пациентов [195, 228].



**Рисунок 37.** Безрецидивная выживаемость у больных 3-ей группы с\без хирургического лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 пациентов с ДСГ)

В 2022 году Kenan Zhang и соавт. опубликовали результаты собственного исследования, где было выявлено следующее: субтотальная резекция по сравнению с тотальной резекцией не оказала существенного влияния на результаты лечения пациентов с мутацией в гене IDH, что

указывает на то, что объем резекции по-разному влияет на прогноз выживаемости пациентов с разными молекулярными подтипами опухолей [452].

#### 4.3. Сравнительный анализ показателей ОБ и БВ между группами пациентов с ГВСЗ, у которых в крови была выявлена свободно циркулирующая мутантная ДНК генов *H3F3A* (K27M), *BRAF* (V600E), *IDH1*(R132H), *IDH2*(R140Q) до и после проведенного лечения и пациентов с ГВСЗ без наличия данных мутаций в генах до и после проведенного лечения

Свойства внутриопухолевой гетерогенности ДСГ представляются чрезвычайно важными для развития нейроонкологии. Поэтому изучение ОБ и БВ у пациентов, страдающих ДСГ, с учетом выявляемости мутаций в генах *H3F3A*, *BRAF* и *IDH1*\2, крайне важно [195].

В рамках нашего исследования мы провели сравнительный анализ ОБ и БВ между пациентами, у которых в крови была выявлена свободно циркулирующая мутантная ДНК генов *H3F3A* (K27M), *BRAF* (V600E), *IDH1*(R132H), *IDH2*(R140Q) до и после проведенного лечения и пациентами без наличия данных мутаций в генах до и после проведенного лечения.

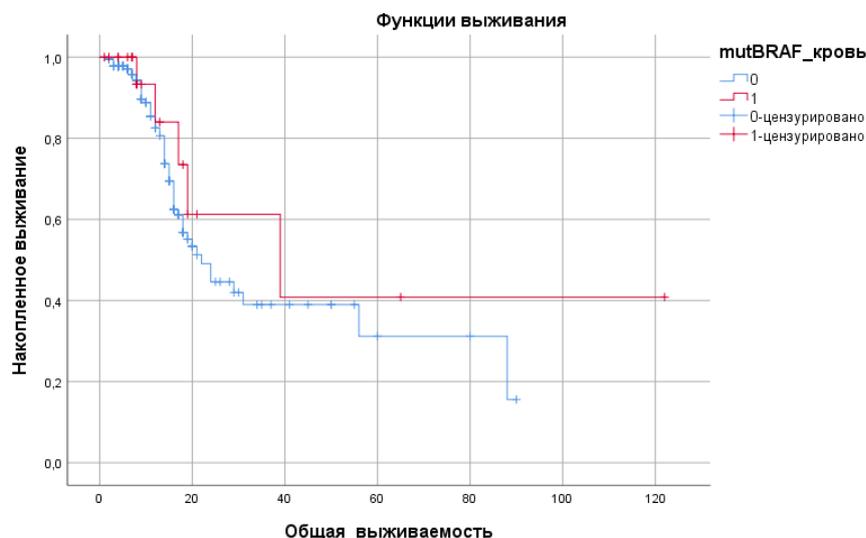
#### Анализ выживаемости при наличии мутация V600E гена BRAF до/после проведения лечения

Проведен сравнительный анализ ОБ и БВ групп пациентов (n=23), у которых выявлена мутация V600E гена *BRAF* до проведения лечения и 186 пациентов без наличия мутация V600E гена *BRAF* до проведения лечения.

**Таблица 57.** Общая выживаемость у 3-ей группы больных с\без наличия мутации V600E гена *BRAF* в крови до проведения лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % $\pm$ станд. ошибка	3-летняя, % $\pm$ станд. ошибка	5-летняя, % $\pm$ станд. ошибка
Без мутации V600E гена <i>BRAF</i>	90	22.0 [16.7; 27.3]	82.5 $\pm$ 3.4	39.0 $\pm$ 6.4	31.2 $\pm$ 8.7
С мутацией V600E гена <i>BRAF</i>	122	39.0 [1.1; 76.9]	84.0 $\pm$ 10.6	61.3 $\pm$ 15.9	40.8 $\pm$ 19.7

Мутации *V600E* гена *BRAF* были широко описаны как в первичных опухолях ЦНС у детей, так и у взрослых.



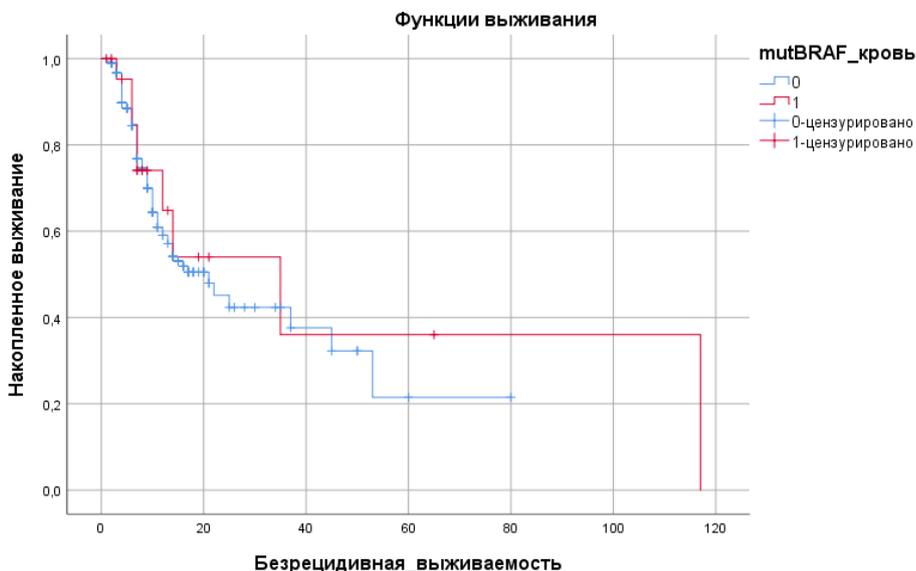
**Рисунок 38.** Общая выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутации *V600E* гена *BRAF* в крови до проведения лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

У детей изменения в гене *BRAF* в основном наблюдаются при ГНСЗ, включая пилоцитарную астроцитому и глиально-нейронные опухоли. Несмотря на относительно низкую распространённость мутации *V600E* гена *BRAF* в ГВСЗ, всё больше данных свидетельствует о том, что таргетная терапия *BRAF* представляет собой многообещающий вариант лечения взрослых пациентов с ГВСЗ. Тем самым это напрямую будет влиять на ОВ и БВ в будущем [225, 241, 380].

**Таблица 58.** Безрецидивная выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутации *V600E* гена *BRAF* в крови до проведения лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации <i>V600E</i> гена <i>BRAF</i>	80	21.0 [13.0; 28.9]	59.1 ± 4.2	42.3 ± 5.8	21.5 ± 10.2
С мутацией <i>V600E</i> гена <i>BRAF</i>	117	35.0 [7.6; 62.4]	64.8 ± 12.3	36.0 ± 17.5	36.0 ± 17.5

В нашем исследовании показатели ОБ и БВ у пациентов с выявленной *mutBRAF* в крови до проведения лечения были выше в сравнении с когортой пациентов без выявленной мутации, при этом общая ( $p=0.384$ ) и безрецидивная ( $p=0.653$ ) выживаемость не имела статистически значимого различия между группами (рис. 38, рис. 39 и табл. 57, табл. 58).



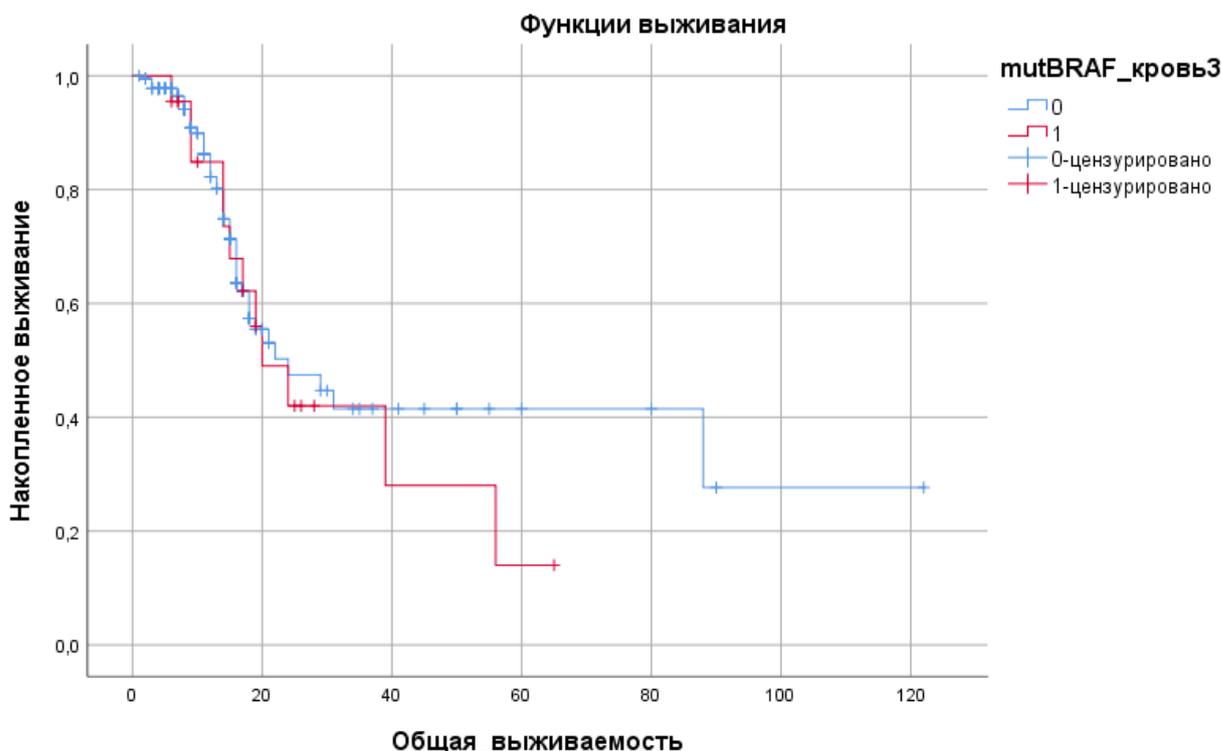
**Рисунок 39.** Безрецидивная выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутации *V600E* гена *BRAF* в крови до проведения лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

В последующем мы провели сравнительный анализ показателей ОБ и БВ между 22 пациентами, у которых выявлена мутация *V600E* гена *BRAF* после проведенного лечения и 187 пациентами без мутации *V600E* гена *BRAF* после проведенной терапии.

**Таблица 59.** Общая выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутации *V600E* гена *BRAF* в крови после проведенного лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации <i>V600E</i> гена <i>BRAF</i>	122	24.0 [12.4; 35.6]	82.2 ± 3.5	41.5 ± 6.8	41.5 ± 6.8
С мутацией <i>V600E</i> гена <i>BRAF</i>	65	20.0 [11.4; 28.6]	84.8 ± 8.1	42.0 ± 12.3	28.0 ± 14.1

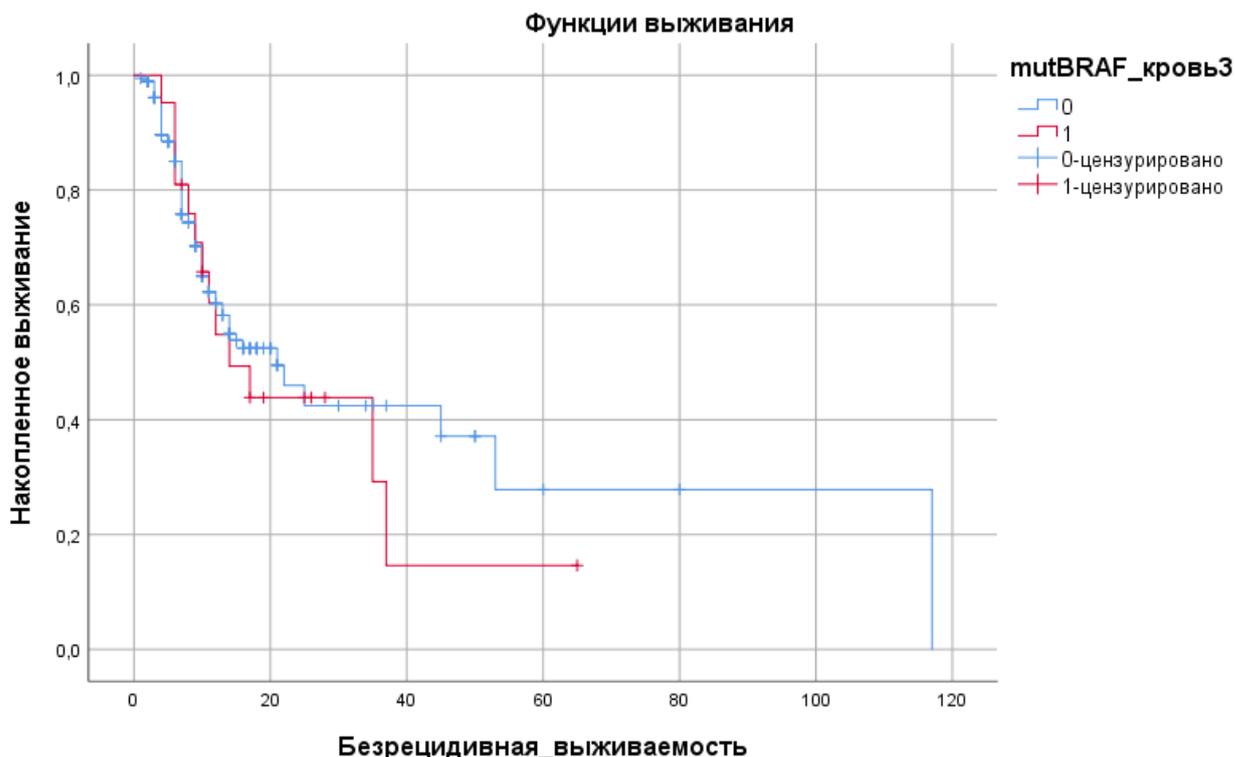
При анализе полученных результатов было установлено, что ОВ ( $p=0.517$ ) и БВ ( $p=0.600$ ) у пациентов с/без наличия мутации *V600E* гена *BRAF* в крови после проведенного лечения также не имела статистически значимого различия между группами (табл. 59, табл.60 и рис.40, рис.41).



**Рисунок 40.** Общая выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутации *V600E* гена *BRAF* в крови после проведенного лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

**Таблица 60.** Таблица дожития безрецидивной выживаемости у 3-ей группы больных с/без наличия мутации *V600E* гена *BRAF* в крови после проведенного лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации <i>V600E</i> гена <i>BRAF</i>	65	21.0 [13.2; 28.8]	60.3 ± 4.3	42.4 ± 6.4	27.8 ± 9.8
С мутацией <i>V600E</i> гена <i>BRAF</i>	117	14.0 [5.9; 22.1]	54.8 ± 11.3	29.2 ± 14.1	14.6 ± 12.5



**Рисунок 41.** Безрецидивная выживаемость у 3-ей группы больных с\без наличия мутации *V600E* гена *BRAF* в крови после проведенного лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

Безусловно, мутация *V600E* гена *BRAF* имеет свои клинико-патологические особенности, но до сих пор мало данных о прогностической роли данной мутации [410].

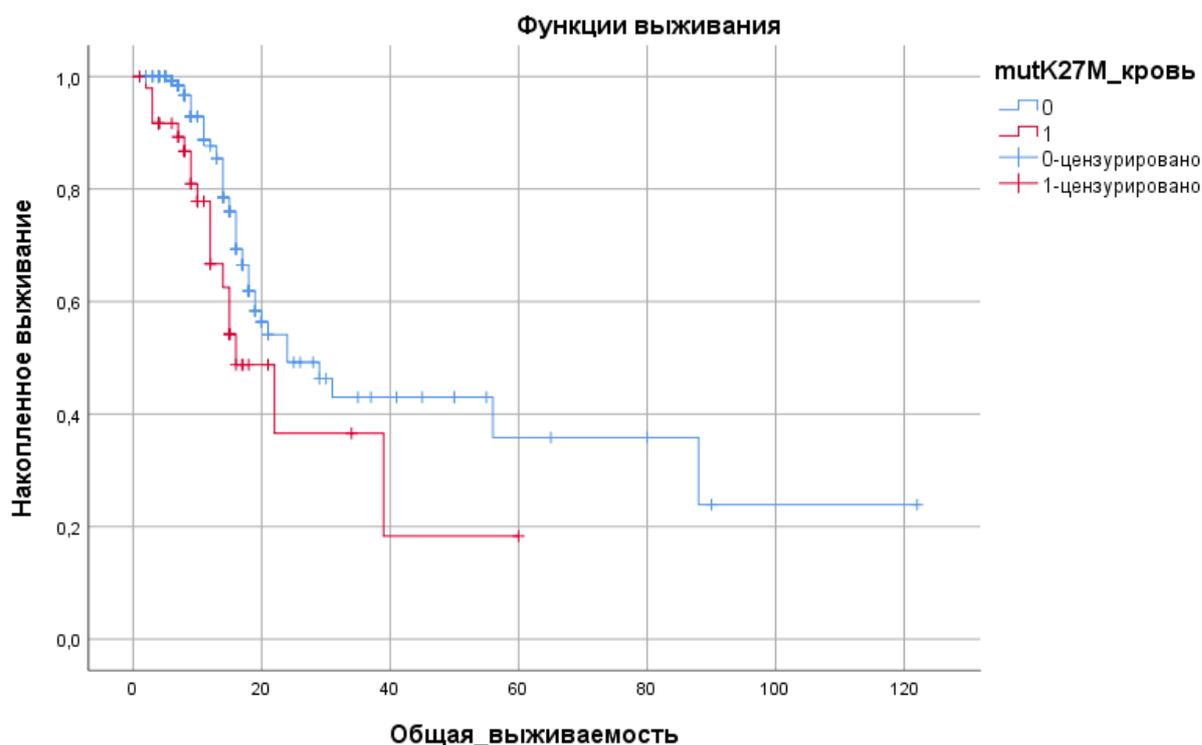
### **Анализ выживаемости при наличии мутация *K27M* гена *H3F3A* до/после проведения лечения**

Проведен сравнительный анализ показателей ОВ и БВ между 49 пациентами, у которых выявлена мутация *K27M* гена *H3F3A* и 160 пациентами без наличия мутации *K27M* гена *H3F3A* до проведения лечения (рис. 42, рис. 43 и табл. 61, табл. 62).

**Таблица 61.** Общая выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутации *K27M* гена *H3F3A* до проведения лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации <i>K27M</i> гена <i>H3F3A</i>	122	24.0 [13.7; 34.3]	87.7 ± 3.2	43.0 ± 6.9	35.8 ± 8.7
С мутацией <i>K27M</i> гена <i>H3F3A</i>	60	16.0 [10.0; 21.9]	66.7 ± 8.3	36.6 ± 12.9	18.3 ± 14.4

Общая ( $p=0.018$ ) и безрецидивная ( $p=0.016$ ) выживаемость имела статистически значимые различия в группах с/без наличия мутации *K27M* гена *H3F3A* до проведения лечения.

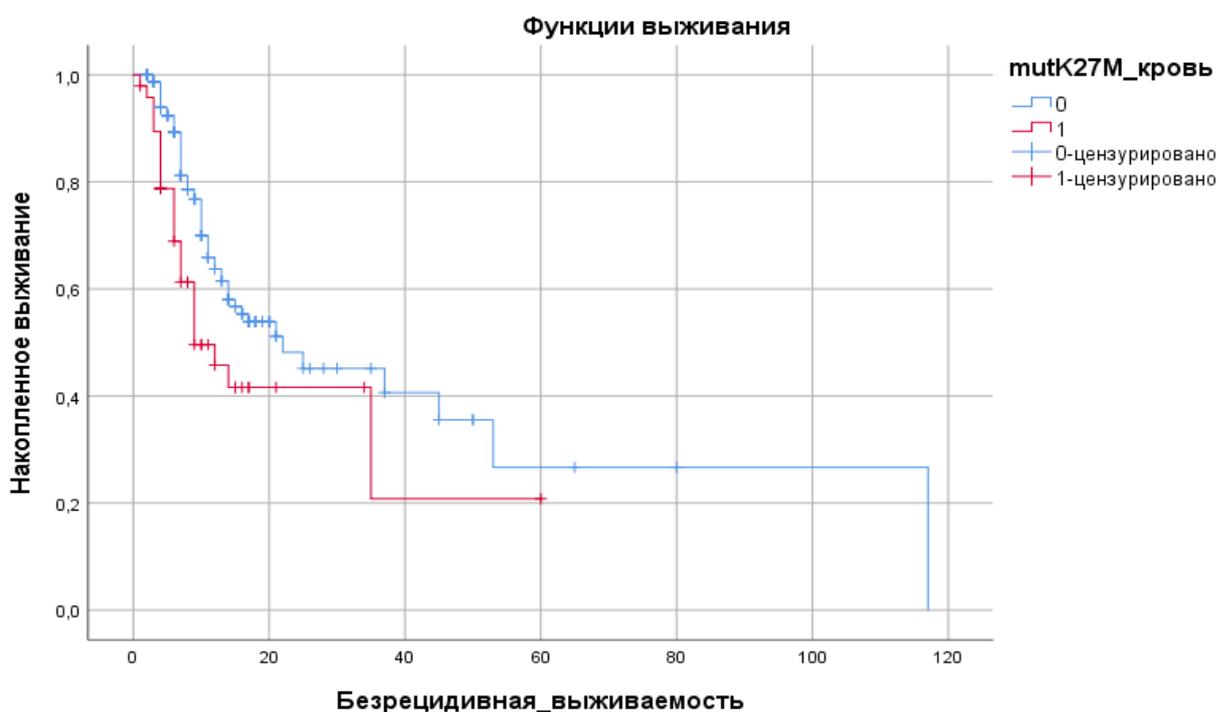


**Рисунок 42.** Общая выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутации *K27M* гена *H3F3A* до проведения лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

Так, у пациентов с отсутствием мутации *K27M* гена *H3F3A* до проведения лечения показатели ОВ и БВ была выше, что демонстрируют таблицы дожития (табл. 61, табл.62) и графики (рис.42, рис.43).

**Таблица 62.** Безрецидивная выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутация *K27M* гена *N3F3A* до проведения лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации <i>K27M</i> гена <i>N3F3A</i>	117	22.0 [5.5; 38.5]	63.7 ± 4.5	45.1 ± 6.3	26.7 ± 9.7
С мутацией <i>K27M</i> гена <i>N3F3A</i>	65	9.0 [3.4; 14.6]	45.8 ± 8.2	20.8 ± 15.3	20.8 ± 15.3

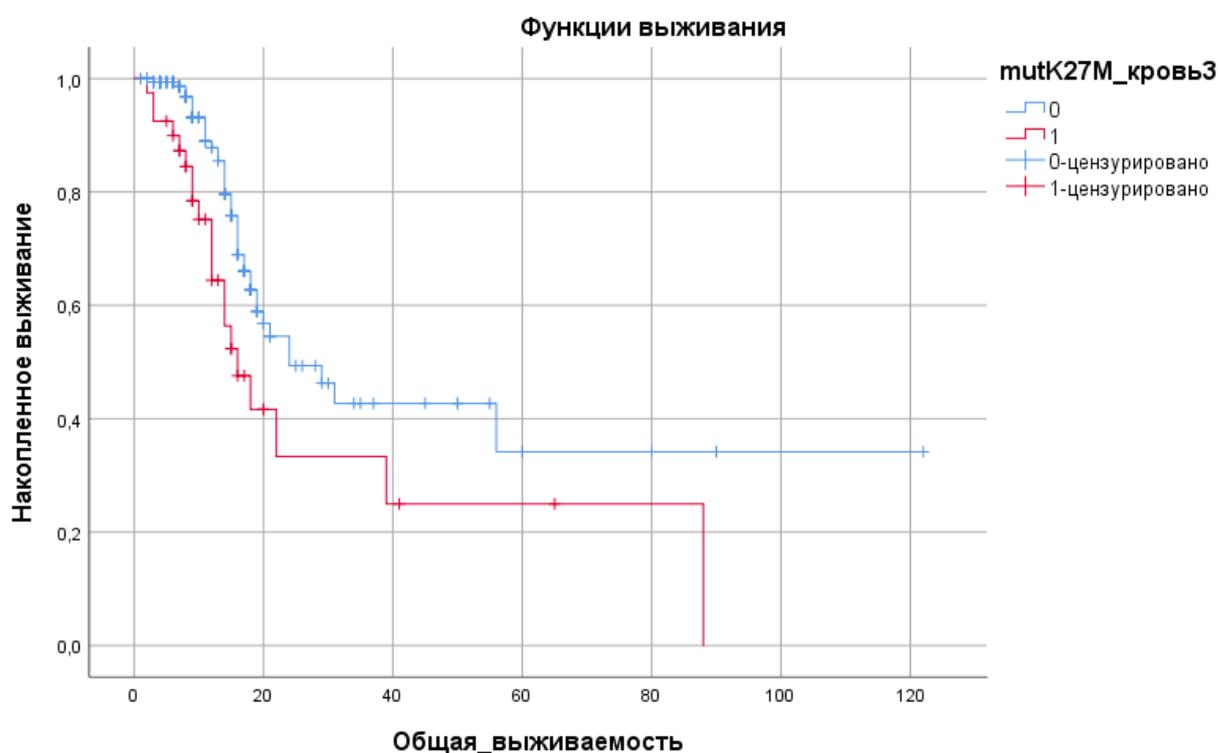


**Рисунок 43.** Безрецидивная выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутация *K27M* гена *N3F3A* до проведения лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

Следующим этапом было проведение сравнительного анализа показателей ОВ и БВ между 40 пациентами, у которых выявлена мутация *K27M* гена *N3F3A* и 169 пациентами без наличия мутации *K27M* гена *N3F3A* после проведенного лечения.

**Таблица 63.** Общая выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутации *K27M* гена *N3F3A* в крови после проведенного лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации <i>K27M</i> гена <i>N3F3A</i>	122	24.0 [14.0; 33.9]	87.8 ± 3.2	42.7 ± 7.2	34.2 ± 9.5
С мутацией <i>K27M</i> гена <i>N3F3A</i>	88	16.0 [10.9; 21.1]	64.4 ± 8.5	33.3 ± 11.0	25.0 ± 10.9



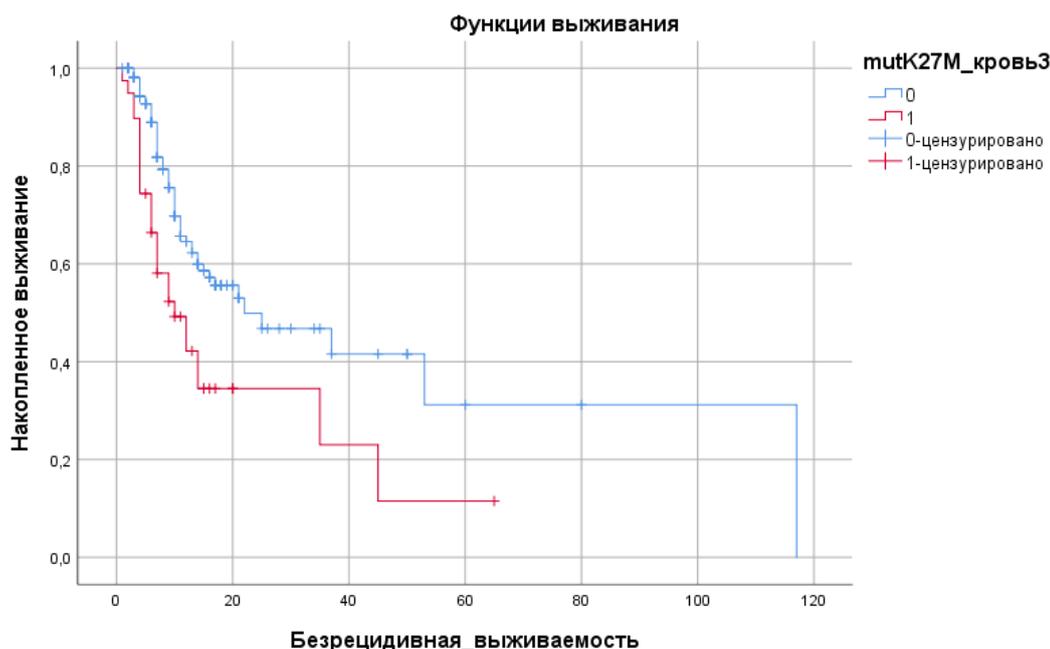
**Рисунок 44.** Общая выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутации *K27M* гена *N3F3A* в крови после проведенного лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

Общая ( $p=0.008$ ) и безрецидивная ( $p=0.002$ ) выживаемость имела статистически значимые различия в группах с/без наличия мутации *K27M* гена *N3F3A* после проведенного лечения.

**Таблица 64.** Безрецидивная выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутации *K27M* гена *N3F3A* в крови после проведенного лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации <i>K27M</i> гена <i>N3F3A</i>	117	22.0 [5.5; 38.5]	64.6 ± 4.5	46.8 ± 6.3	31.2 ± 10.6
С мутацией <i>K27M</i> гена <i>N3F3A</i>	65	10.0 [4.9; 15.1]	42.2 ± 8.5	23.0 ± 11.0	11.5 ± 9.8

Так, у пациентов с отсутствием мутации *K27M* гена *N3F3A* после проведенного лечения показатели ОВ и БВ была выше, что демонстрируют таблицы (табл.63, табл.64) и графики (рис.44, рис.45).



**Рисунок 45.** Безрецидивная выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутации *K27M* гена *N3F3A* в крови после проведенного лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

Таким образом, обнаружение мутации *K27M* гена *N3F3A* достоверно ухудшает показатели выживаемости и сопряжено с более агрессивным течением заболевания. К сожалению, и в нашем исследовании результаты комбинированного лечения ГВСЗ с наличием мутации *K27M* гена *N3F3A* также неудовлетворительны, и соответствуют общемировым показателям,

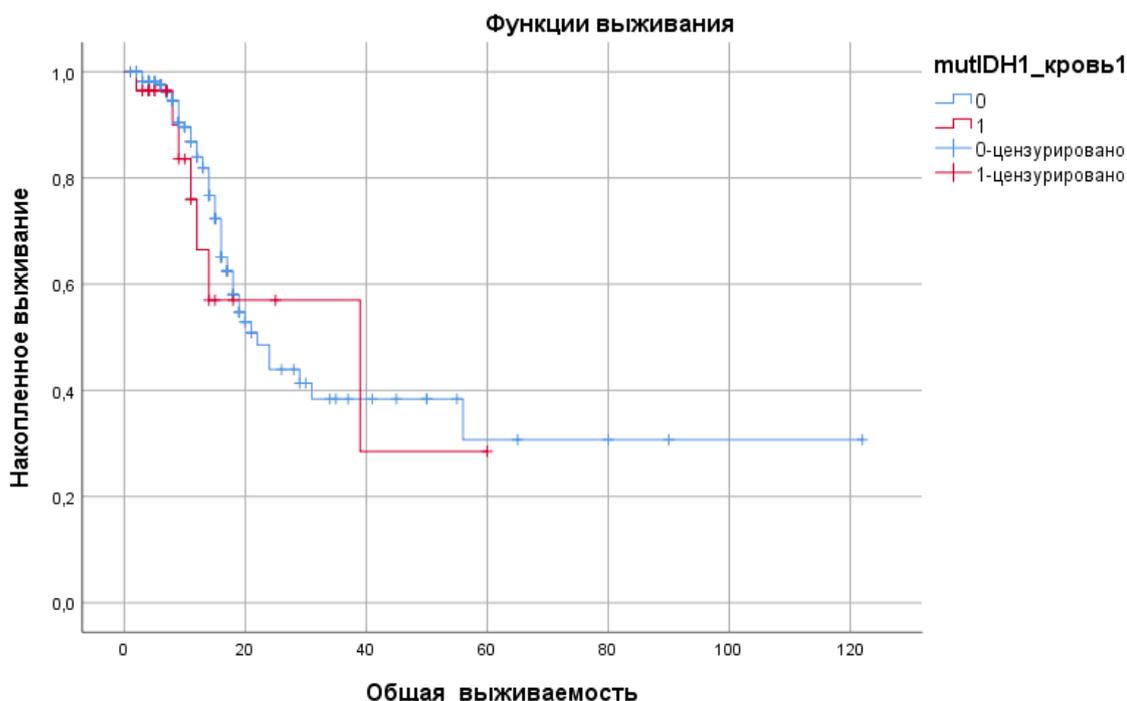
ГВСЗ с наличием мутации *K27M* гена *H3F3A* всегда являются агрессивными опухолями, для которых не существует эффективного лечения, кроме паллиативной химиолучевой терапии, направленной на некоторое увеличение продолжительности жизни [279].

**Анализ выживаемости при наличии мутация *R132H* гена *IDH1* и мутация *R140Q* гена *IDH2* до/после проведения лечения**

Проведен сравнительный анализ показателей ОВ и БВ между 28 пациентами, у которых выявлена мутация *R132H* гена *IDH1* и 181 пациентами без наличия мутации *R132H* гена *IDH1* до проведения лечения.

**Таблица 65.** Общая выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутации *R132H* гена *IDH1* в крови до проведения лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации <i>R132H</i> гена <i>IDH1</i>	122	22.0 [17.1; 26.9]	83.9 ± 3.4	38.4 ± 6.5	30.7 ± 8.6
С мутацией <i>R132H</i> гена <i>IDH1</i>	60	39.0 [2.2; 75.7]	66.5 ± 13.0	57.0 ± 14.2	28.5 ± 21.4

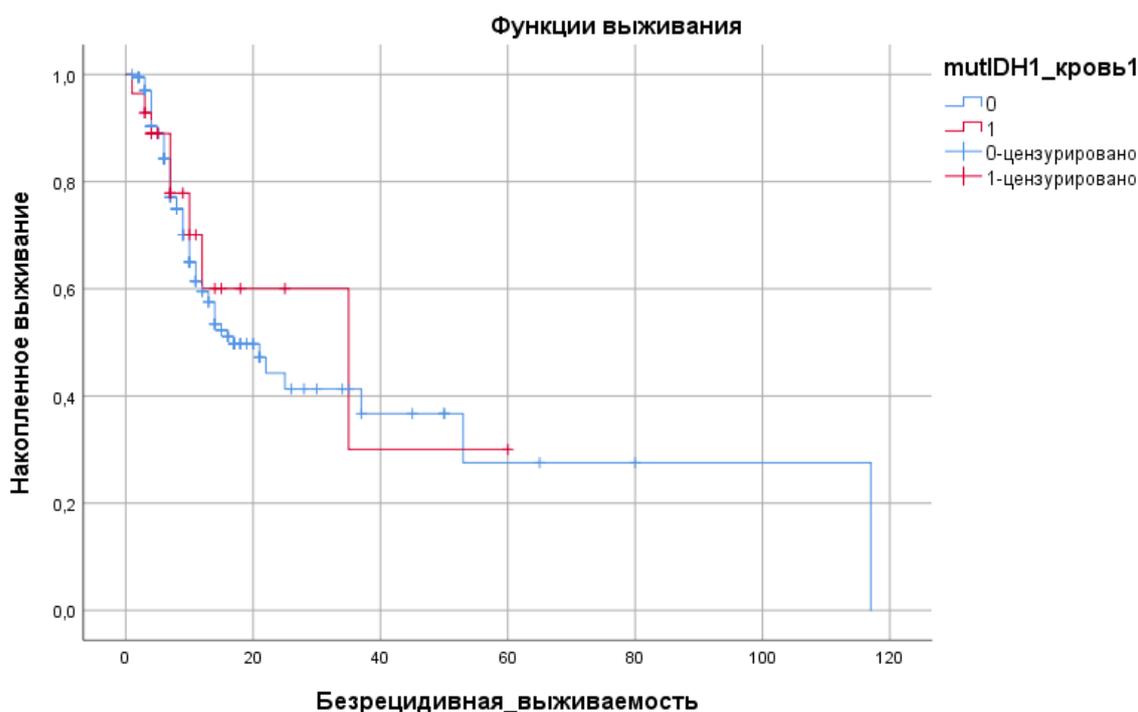


**Рисунок 46.** Общая выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутации *R132H* гена *IDH1* в крови до проведения лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

Общая ( $p=0.554$ ) и безрецидивная ( $p=0.691$ ) выживаемость с/без наличия мутации *R132H* гена *IDH1* в крови до проведения лечения не имела статистически значимых различий между группами (табл. 65, табл.66 и рис. 46, рис.47).

**Таблица 66.** Безрецидивная выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутации *R132H* гена *IDH1* в крови до проведения лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без mutIDH1	117	17.0 [10.7; 23.2]	59.5 ± 4.3	41.3 ± 5.9	27.5 ± 9.5
С mutIDH1	60	35.0 [1.6; 68.4]	60.1 ± 13.2	30.0 ± 22.2	30.0 ± 22.2

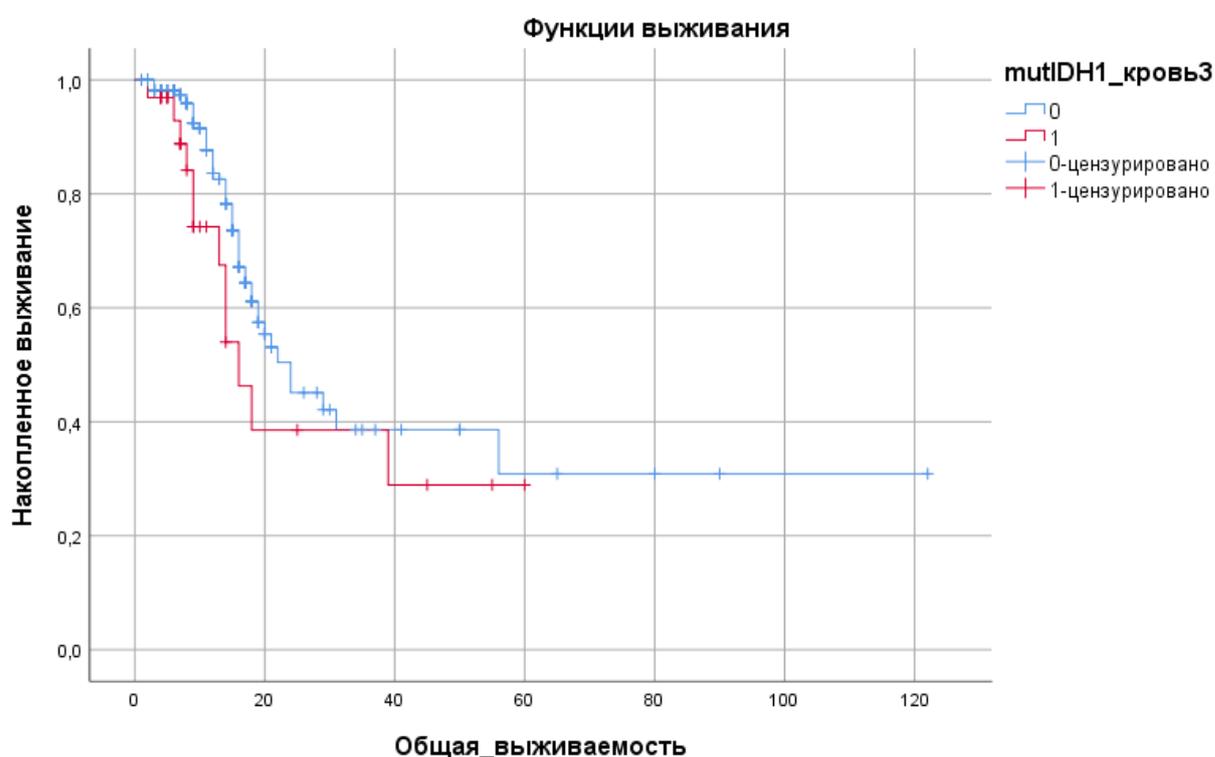


**Рисунок 47.** Безрецидивная выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутации *R132H* гена *IDH1* в крови до проведения лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

В дальнейшем был проведен сравнительный анализ ОВ и БВ между 32 пациентами, у которых выявлена мутация *R132H* гена *IDH1* и 177 пациентами без наличия мутации *R132H* гена *IDH1* после проведенного лечения.

**Таблица 67.** Общая выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутации *R132H* гена *IDH1* в крови после проведенного лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации <i>R132H</i> гена <i>IDH1</i>	122	24.0 [15.2; 32.8]	83.6 ± 3.5	38.6 ± 7.1	30.9 ± 8.9
С мутацией <i>R132H</i> гена <i>IDH1</i>	60	16.0 [11.7; 20.2]	74.2 ± 9.3	38.6 ± 12.6	28.9 ± 12.6

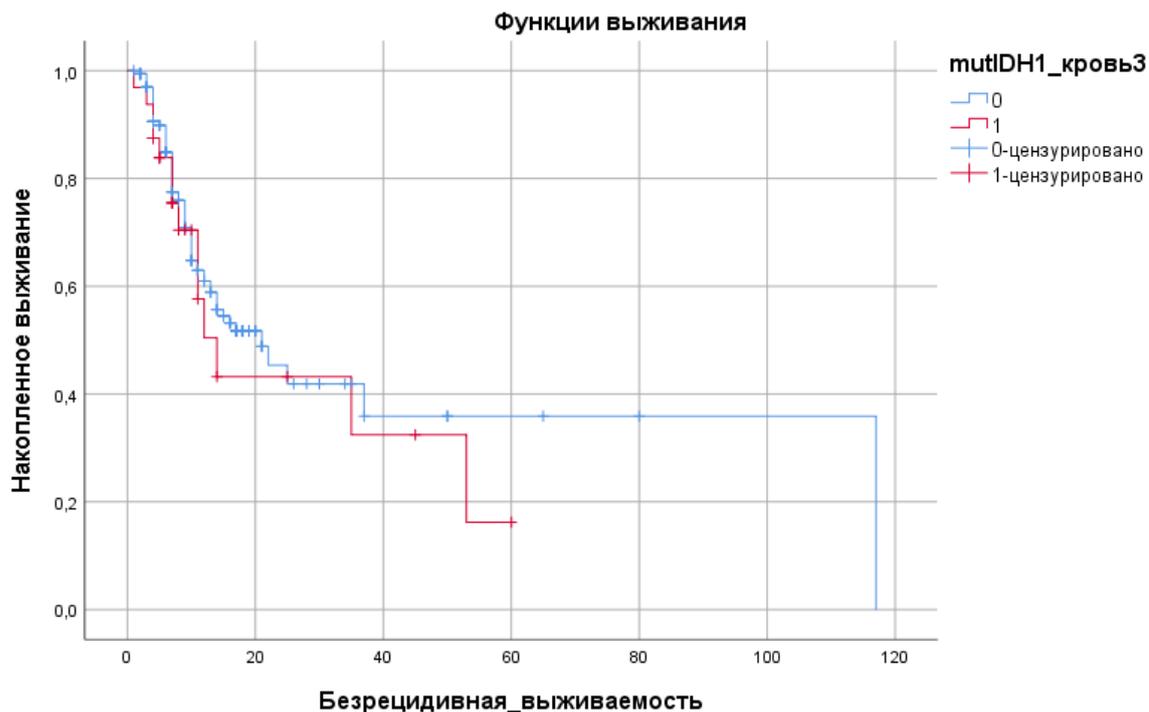


**Рисунок 48.** Общая выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутации *R132H* гена *IDH1* в крови после проведенного лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

Общая ( $p=0.123$ ) и безрецидивная ( $p=0.485$ ) выживаемость с/без наличия мутации *R132H* гена *IDH1* в крови после проведенного лечения не имела статистически значимых различий между группами (рис. 48, рис.49 и табл.67, табл.68).

**Таблица 68.** Безрецидивная выживаемость у 3-ей группы больных с\без наличия мутации *R132H* гена *IDH1* в крови после проведенного лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

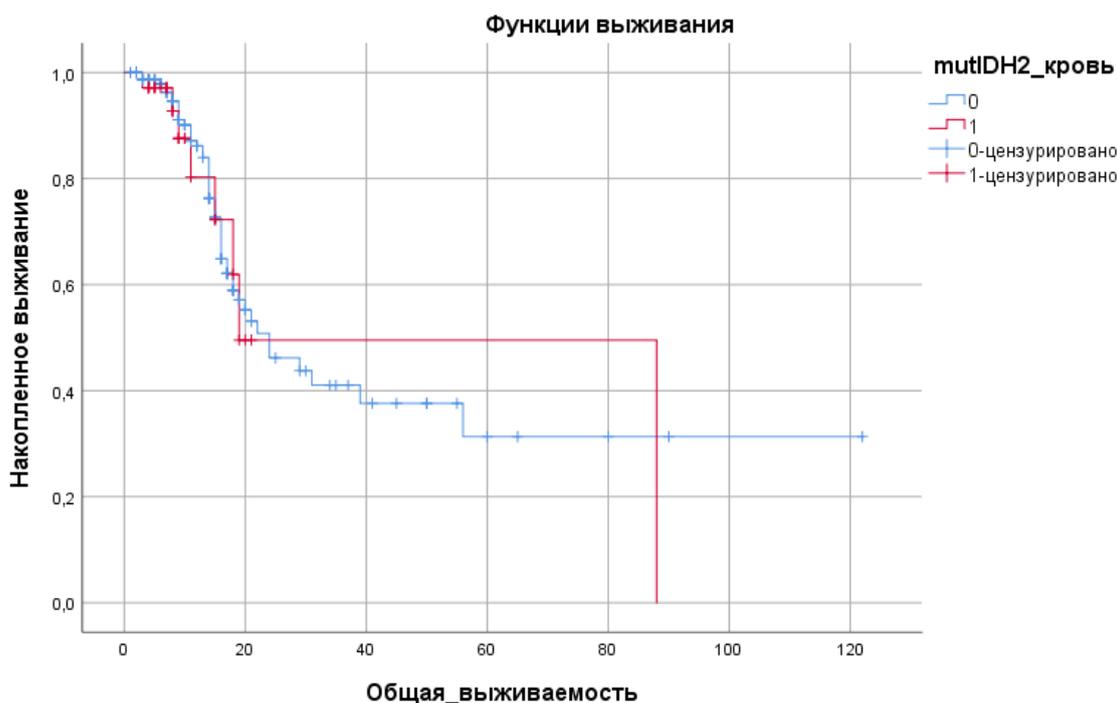
Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % $\pm$ станд. ошибка	3-летняя, % $\pm$ станд. ошибка	5-летняя, % $\pm$ станд. ошибка
Без мутации <i>R132H</i> гена <i>IDH1</i>	117	21.0 [12.7; 29.3]	60.9 $\pm$ 4.4	41.9 $\pm$ 6.5	35.9 $\pm$ 7.8
С мутацией <i>R132H</i> гена <i>IDH1</i>	60	14.0 [9.0; 18.9]	50.4 $\pm$ 11.8	32.4 $\pm$ 13.0	16.2 $\pm$ 13.2



**Рисунок 49.** Безрецидивная выживаемость у 3-ей группы больных с\без наличия мутации *R132H* гена *IDH1* в крови после проведенного лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

**Таблица 69.** Общая выживаемость у 3-ей группы больных с\без наличия мутации *R140Q* гена *IDH2* в крови до проведения лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % $\pm$ станд. ошибка	3-летняя, % $\pm$ станд. ошибка	5-летняя, % $\pm$ станд. ошибка
Без мутации <i>R140Q</i> гена <i>IDH2</i>	122	24.0 [14.3; 33.6]	86.1 $\pm$ 3.3	41.0 $\pm$ 6.6	31.3 $\pm$ 8.1
С мутацией <i>R140Q</i> гена <i>IDH2</i>	88	19.0 [0; 53.5]	80.3 $\pm$ 9.4	49.5 $\pm$ 15.6	49.5 $\pm$ 15.6



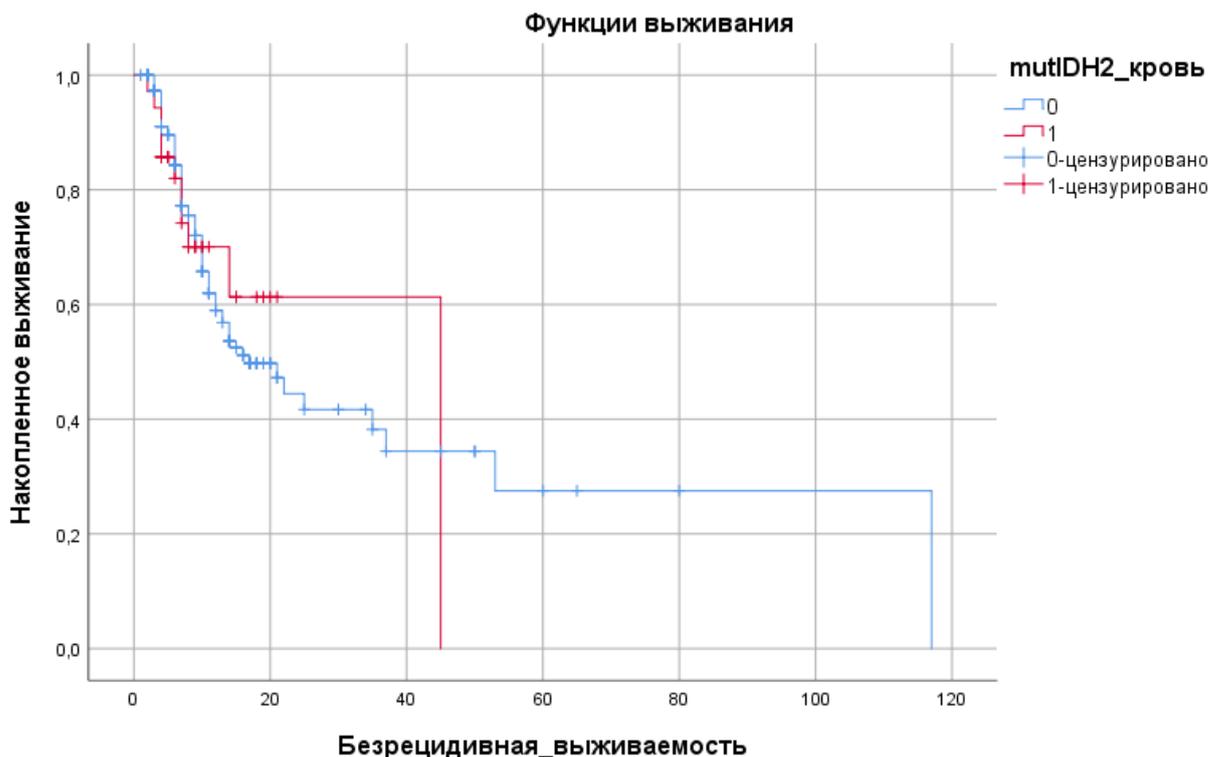
**Рисунок 50.** Общая выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутации *R140Q* гена *IDH2* в крови до проведения лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

Далее был проведен сравнительный анализ показателей ОВ и БВ между 35 пациентами, у которых выявлена мутация *R140Q* гена *IDH2* и 174 пациентами без наличия мутации *R140Q* гена *IDH2* до проведения лечения.

Общая ( $p=0.734$ ) и безрецидивная ( $p=0.955$ ) выживаемость с/без наличия мутации *R140Q* гена *IDH2* в крови до проведения лечения не имела статистически значимых различий между группами.

**Таблица 70.** Безрецидивная выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутации *R140Q* гена *IDH2* в крови до проведения лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации <i>R140Q</i> гена <i>IDH2</i>	117	17.0 [10.7; 23.2]	58.9 ± 4.5	38.2 ± 6.4	27.5 ± 8.2
С мутацией <i>R140Q</i> гена <i>IDH2</i>	45	45.0	85.7 ± 5.9	61.3 ± 11.1	-

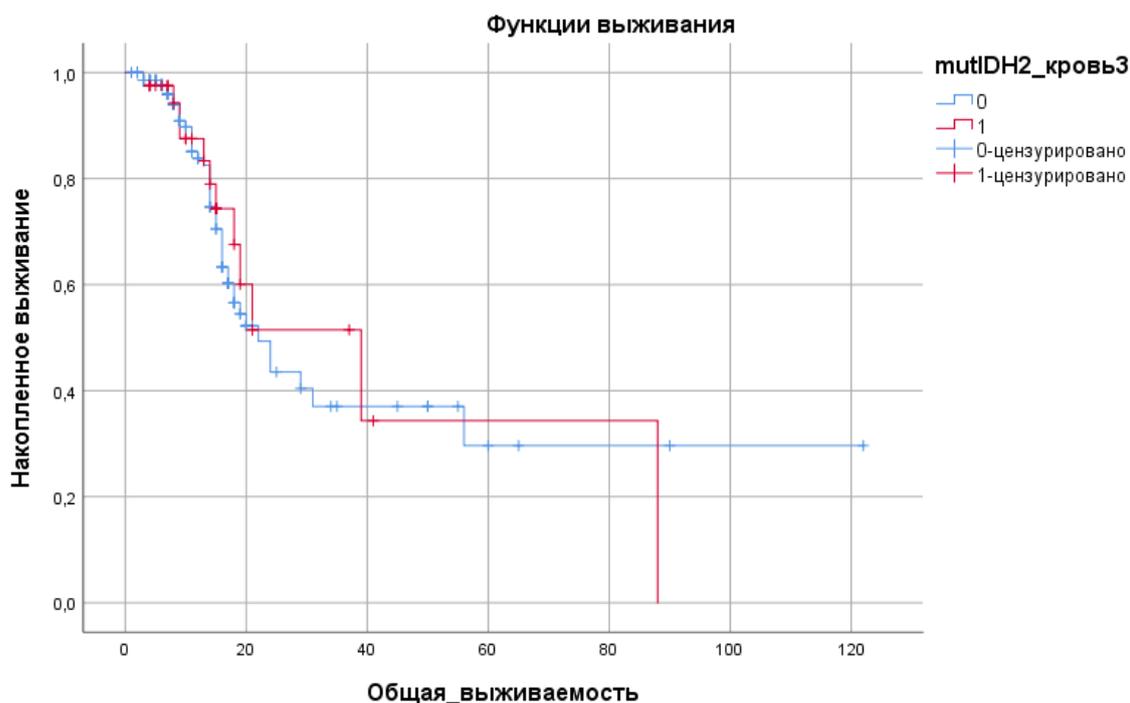


**Рисунок 51.** Безрецидивная выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутации *R140Q* гена *IDH2* в крови до проведения лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

При анализе ОВ и БВ выживаемости между 40 пациентами, у которых выявлена мутация *R140Q* гена *IDH2* и 169 пациентами без наличия мутации *R140Q* гена *IDH2* после проведенного лечения также не было выявлено значимых различий (табл.71, табл.72 и рис.52, рис.53).

**Таблица 71.** Общая выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутации *R140Q* гена *IDH2* в крови после проведенного лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации <i>R140Q</i> гена <i>IDH2</i>	122	22.0 [16.2; 27.8]	83.8 ± 3.8	37.0 ± 7.2	29.6 ± 8.8
С мутацией <i>R140Q</i> гена <i>IDH2</i>	88	39.0 [14.1; 63.9]	87.5 ± 5.9	51.5 ± 12.6	34.3 ± 16.3



**Рисунок 52.** Общая выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутации *R140Q* гена *IDH2* в крови после проведенного лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

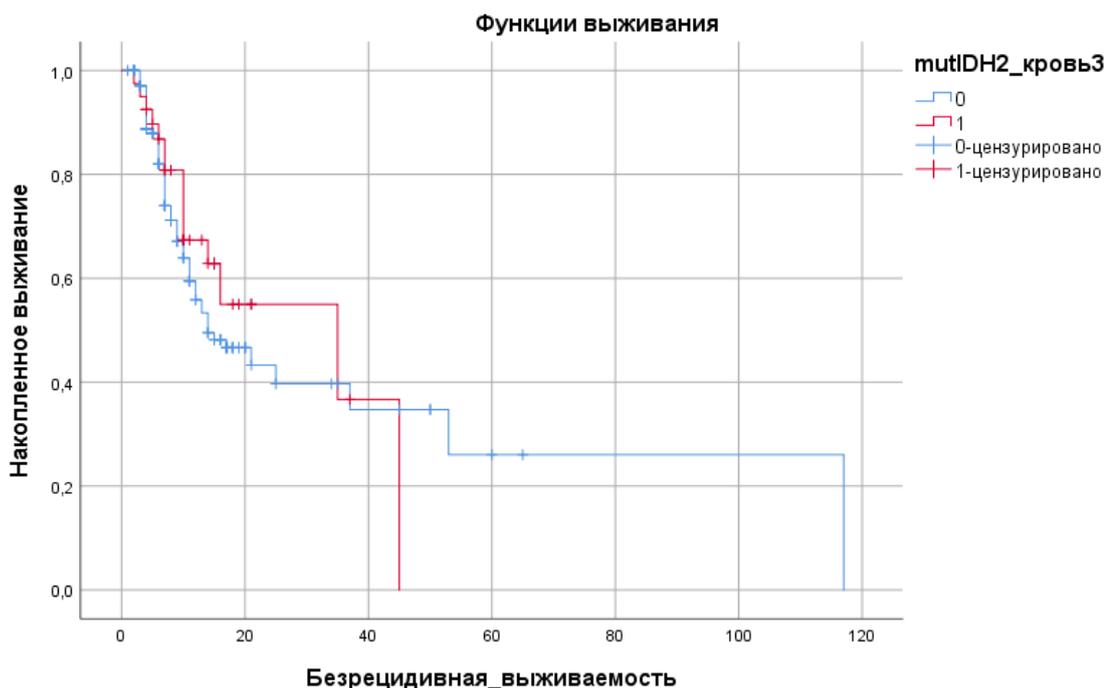
Общая ( $p=0.847$ ) и безрецидивная ( $p=0.469$ ) выживаемость с/без наличия мутации *R140Q* гена *IDH2* в крови после проведенного лечения не имела статистически значимых различий между группами.

**Таблица 72.** Безрецидивная выживаемость у 3-ей группы больных с/без наличия мутации *R140Q* гена *IDH2* в крови после проведенного лечения (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации <i>R140Q</i> гена <i>IDH2</i>	117	14.0 [6.8; 21.1]	55.9 ± 4.9	39.7 ± 6.3	26.0 ± 9.3
С мутацией <i>R140Q</i> гена <i>IDH2</i>	15	35.0 [1.3; 68.6]	67.3 ± 8.2	36.7 ± 16.6	-

Несомненно, наиболее изученными прогностическими маркерами глиом у взрослых являются мутации в генах *IDH1* и *IDH2*, но у детей мутации в данных генах наблюдаются в редких случаях. Согласно данным Детской онкологической группы США (Children's Oncology Group, COG)

наличие мутации IDH1 имеет благоприятное влияние на 1-годовалую безрецидивную выживаемость и общую годовую выживаемость [7].



**Рисунок 53.** Безрецидивная выживаемость у группы больных с/без наличия мутации *R140Q* гена *IDH2* в крови после проведенного лечения

Стоит отметить, что в нашем исследовании пациенты с наличием мутации *R140Q* гена *IDH2* после проведенного лечения не достигли пятилетней безрецидивной выживаемости. Кроме того, исследования молекулярных альтераций опухолей у пациентов - «долгожителей» начали проводиться достаточно давно и продолжают до сих пор, где к одному из маркеров относят мутацию IDH1/IDH2, метилирование промотора MGMT и другие.

В ходе нашей работы мы также установили, что для зависимости выживаемости от наличия концентрации цоДНК исследуемых генов в ликворе получены аналогичные зависимости.

Таким образом, необходимо дальнейшее изучение молекулярной биологии ГВСЗ, так как определение ведущих патогенетически значимых молекулярных маркеров имеет высокий уровень практической значимости для определения тактики ведения пациентов и поиска новых терапевтических возможностей, в том числе таргетной терапии.

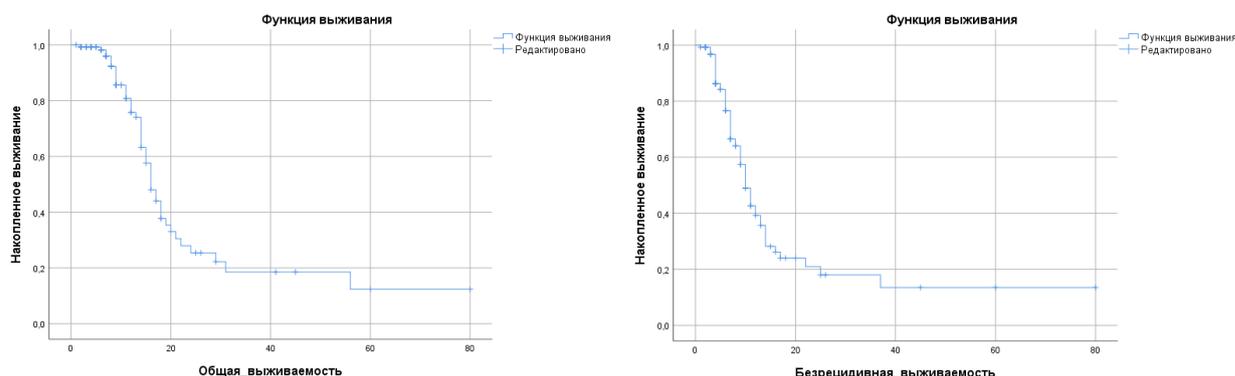
## ГЛАВА 5. АНАЛИЗ ОБЩЕЙ И БЕЗРЕЦИДИВНОЙ ВЫЖИВАЕМОСТИ ПРИ ДИФФУЗНЫХ СРЕДИННЫХ ГЛИОМАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ

### 5.1. Общая и безрецидивная выживаемость группы пациентов с ДСГ до и после проведенного лечения

Проведен анализ ОВ и БВ группы из 130 пациентов с ДСГ (табл.73, рис.54), у которых был выполнен забор крови в различные периоды времени: до лечения (забор №1) и после лечения (забор №3).

**Таблица 73.** Общая и безрецидивная выживаемость у больных с ДСГ, n=130

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Общая	122	16 [14.1; 17.9]	75.8 ± 5.1	18.5 ± 6.2	12.3 ± 6.5
Безрецидивная	80	10 [8.5; 11.4]	39.2 ± 5.7	18.0 ± 5.5	13.5 ± 5.7



**Рисунок 54.** Общая и безрецидивная выживаемость больных с ДСГ, n=130

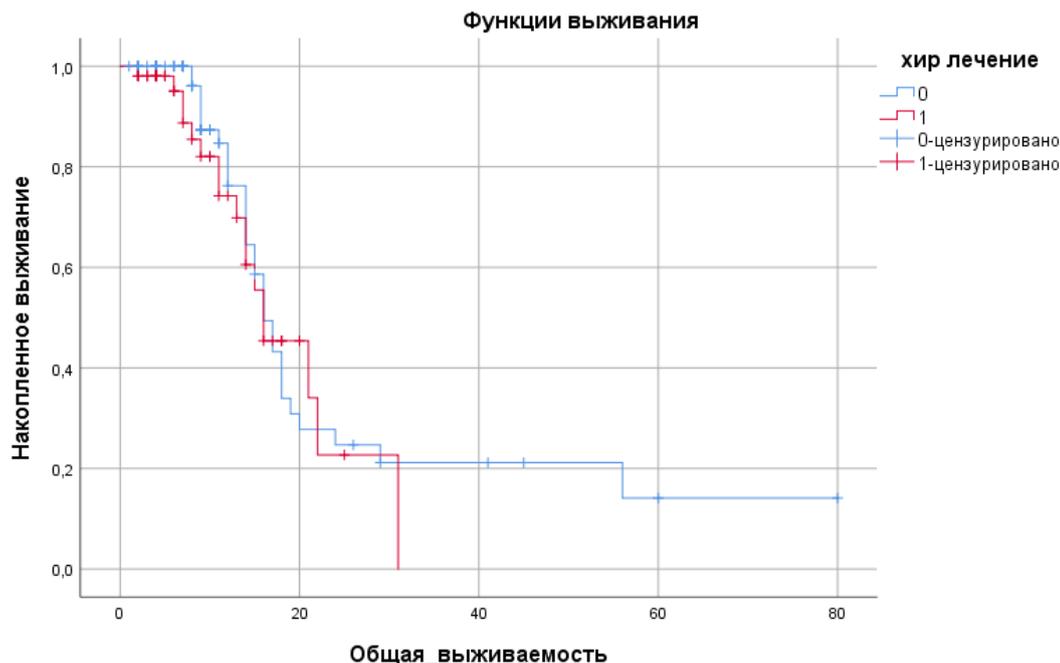
Таким образом, полученные нами данные об ОВ и БВ соответствуют общемировым данным [187, 195, 228].

### 5.2. Сравнительный анализ общей и безрецидивной выживаемости между пациентами с ДСГ, которым проводилось хирургическое лечение и пациентами с ДСГ без хирургического лечения

Проведен сравнительный анализ ОВ и БВ между 51 пациентом с ДСГ, которым проводилось хирургическое лечение и 79 пациентами с ДСГ без хирургического лечения.

**Таблица 74.** Общая выживаемость у группы больных с ДСГ с\без хирургического лечения, n=130

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без хирургического лечения	80	16.0 [13.8; 18.1]	76.2 ± 6.7	21.2 ± 7.2	14.1 ± 7.5
С хирургическим лечением	31	16.0 [10.2; 21.8]	74.2 ± 8.1	-	-

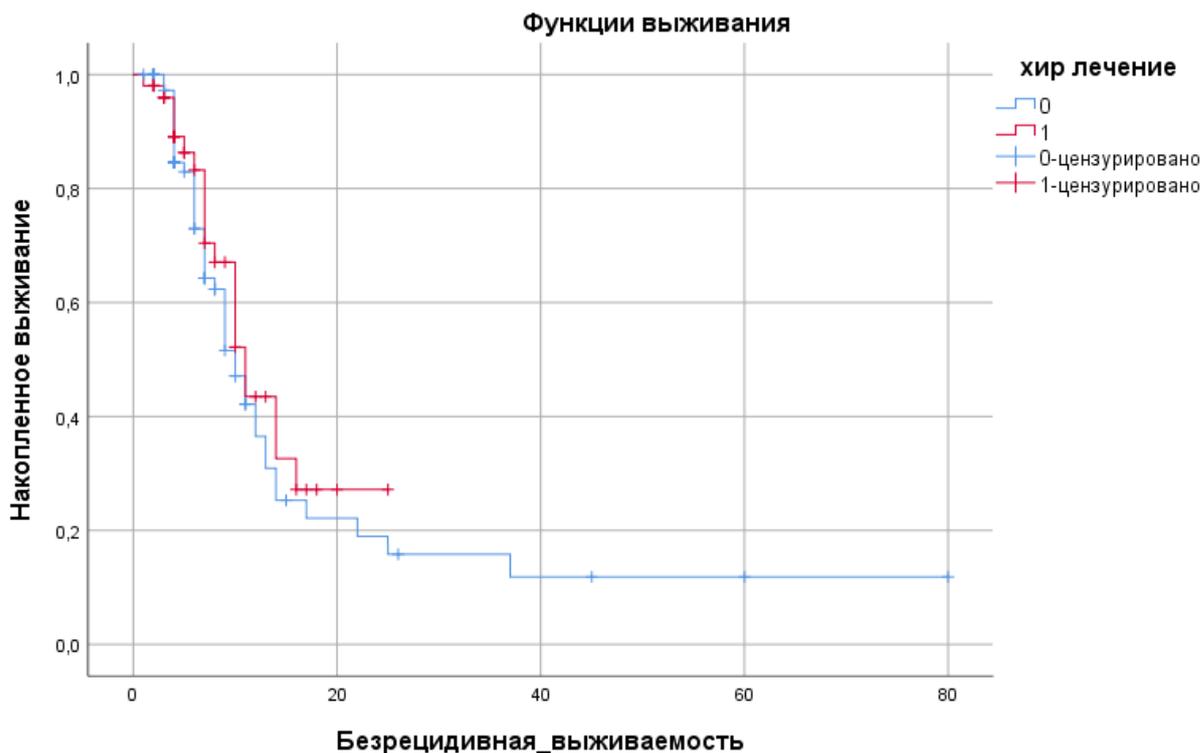


**Рисунок 55.** Общая выживаемость у группы больных с ДСГ с\без хирургического лечения, n=130

Общая ( $p=0.598$ ) и безрецидивная ( $p=0.397$ ) выживаемость статистически значимо не различалась между группами. Стоит отметить, что пациенты после хирургического лечения с ДСГ не достигли трехлетней общей и безрецидивной выживаемости (табл.74, табл.75 и рис.55, рис.56).

**Таблица 75.** Безрецидивная выживаемость у группы больных с ДСГ с\без хирургического лечения, n=130

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без хирургического лечения	80	10.0 [8.0; 12.0]	36.5 ± 7.1	15.8 ± 6.1	11.9 ± 5.7
С хирургическим лечением	25	11.0 [8.6; 13.3]	43.5 ± 9.4	-	-



**Рисунок 56.** Безрецидивная выживаемость у группы больных с ДСГ с\без хирургического лечения, n=130

Безусловно, хирургическое лечение существенным образом влияет на ОВ и БВ при ДСГ, так как происходят изменения взаимоотношений между опухолевой тканью и неизменной тканью ГМ как с анатомической, так и с физиологической точки зрения. Примечательно, что в литературных источниках мало сведений о диффузном поражении таламуса у взрослых пациентов. Видимо, учитывая редкость таламических глиом у взрослых, комплексные характеристики, методы лечения и результаты выживаемости изучены недостаточно. Однако в 2020 году Xiaodong Ni. И соавт. опубликовали данные [315], где показали следующее: максимальная хирургическая резекция может улучшить показатели выживаемости. Тем самым это также доказывает многогранность вопросов, касающихся особенностей терапии ДСГ как у детей, так и у взрослых.

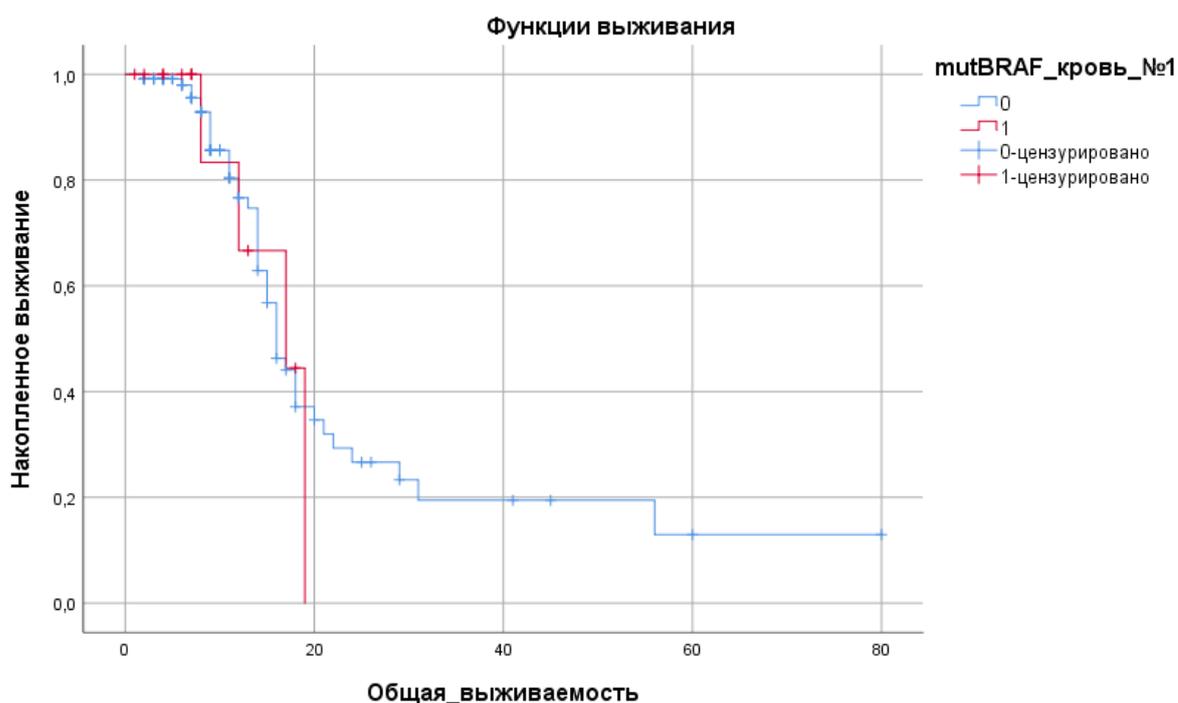
**5.3. Сравнительный анализ показателей ОБ и БВ пациентов с ДСГ, у которых в крови была выявлена свободно циркулирующая мутантная ДНК генов *H3F3A* (K27M), *BRAF* (V600E), *IDH1*(R132H), *IDH2*(R140Q) до и после проведенного лечения и пациентов с ДСГ без наличия данных мутаций в генах до и после проведенного лечения**

**Анализ выживаемости при наличии мутация *V600E* гена *BRAF* до/после проведения лечения**

Проведен сравнительный анализ показателей ОБ и БВ между 14 пациентами с ДСГ, у которых выявлена мутация *V600E* гена *BRAF* до проведения лечения и 116 пациентами с ДСГ без наличия мутации *V600E* гена *BRAF* до проведения лечения.

**Таблица 76.** Общая выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутация *V600E* гена *BRAF* в крови до проведения лечения, n=130

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации <i>V600E</i> гена <i>BRAF</i>	80	16.0 [13.9; 18.1]	76.6 ± 5.3	19.4 ± 6.5	13.0 ± 6.9
С мутацией <i>V600E</i> гена <i>BRAF</i>	19	17.0 [7.2; 26.8]	66.7 ± 19.2	-	-

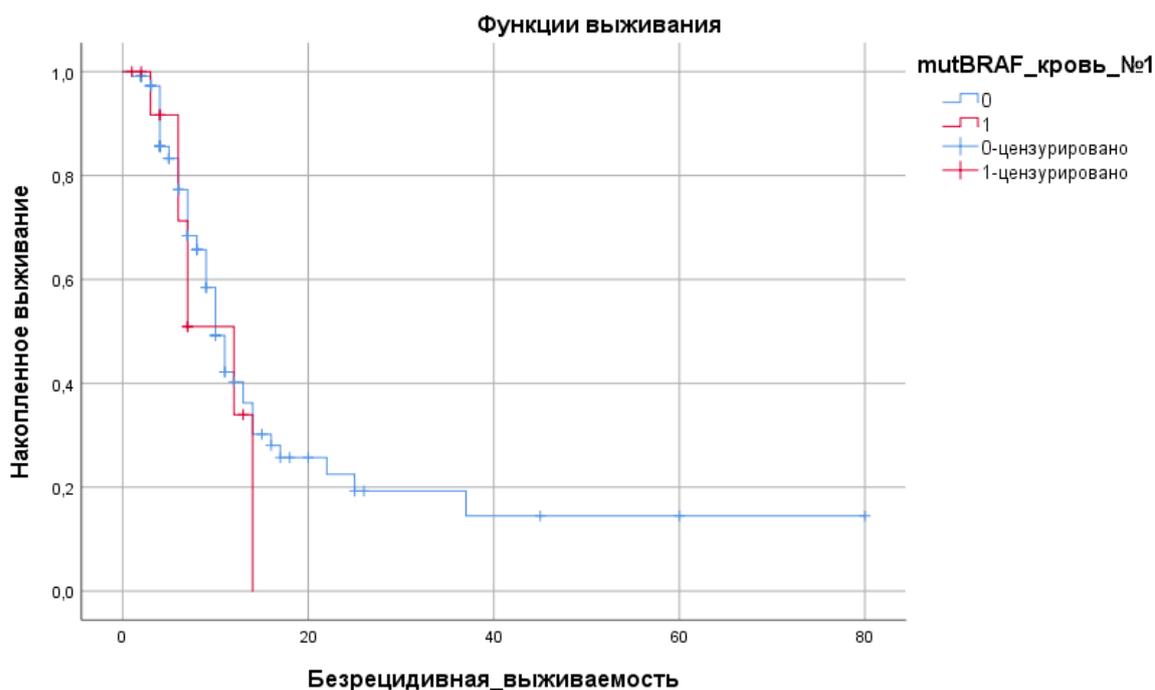


**Рисунок 57.** Общая выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *V600E* гена *BRAF* в крови до проведения лечения, n=130

Общая ( $p=0.765$ ) и безрецидивная ( $p=0.458$ ) выживаемость не имела статистически значимого различия между группами. Стоит отметить, что пациенты с наличием мутация *V600E* гена *BRAF* не достигли трехлетней ОБ и БВ (табл.76, табл.77 и рис. 57, рис.58).

**Таблица 77.** Безрецидивная выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *V600E* гена *BRAF* в крови до проведения лечения,  $n=130$

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % $\pm$ станд. ошибка	3-летняя, % $\pm$ станд. ошибка	5-летняя, % $\pm$ станд. ошибка
Без мутации <i>V600E</i> гена <i>BRAF</i>	80	10.0 [8.6; 11.4]	40.3 $\pm$ 6.0	19.3 $\pm$ 5.9	14.5 $\pm$ 6.1
С мутацией <i>V600E</i> гена <i>BRAF</i>	14	12.0 [6.5; 17.5]	34.0 $\pm$ 17.4	-	-

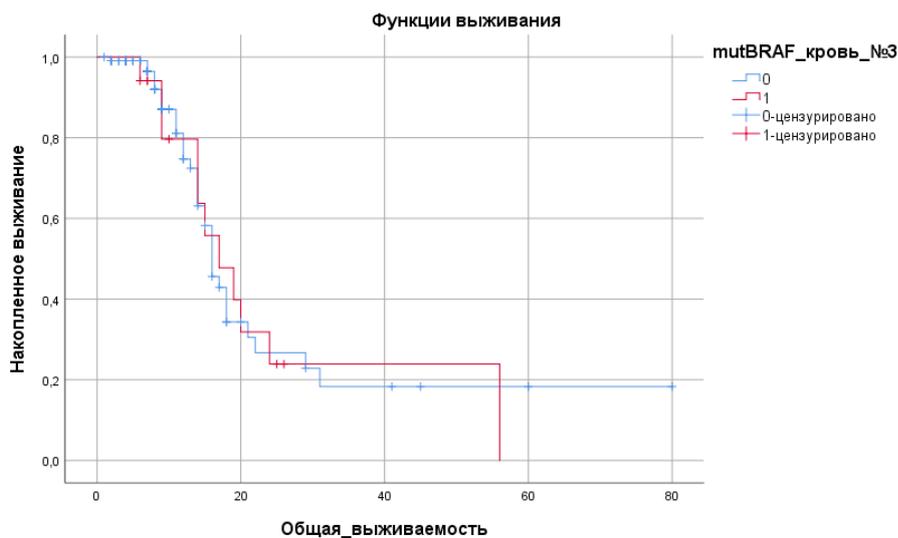


**Рисунок 58.** Безрецидивная выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *V600E* гена *BRAF* в крови до проведения лечения,  $n=130$

Также нами был проведен сравнительный анализ показателей ОБ и БВ между 17 пациентами с ДСГ, у которых выявлена мутация *V600E* гена *BRAF* и 113 пациентами с ДСГ без наличия мутации *V600E* гена *BRAF* после проведения лечения.

**Таблица 78.** Общая выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *V600E* гена *BRAF* в крови после проведенного лечения, n=130

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации <i>V600E</i> гена <i>BRAF</i>	80	16.0 [14.1; 17.9]	74.7 ± 5.8	18.3 ± 7.2	18.3 ± 7.2
С мутацией <i>V600E</i> гена <i>BRAF</i>	56	17.0 [10.2; 23.8]	79.6 ± 10.6	23.9 ± 12.0	-

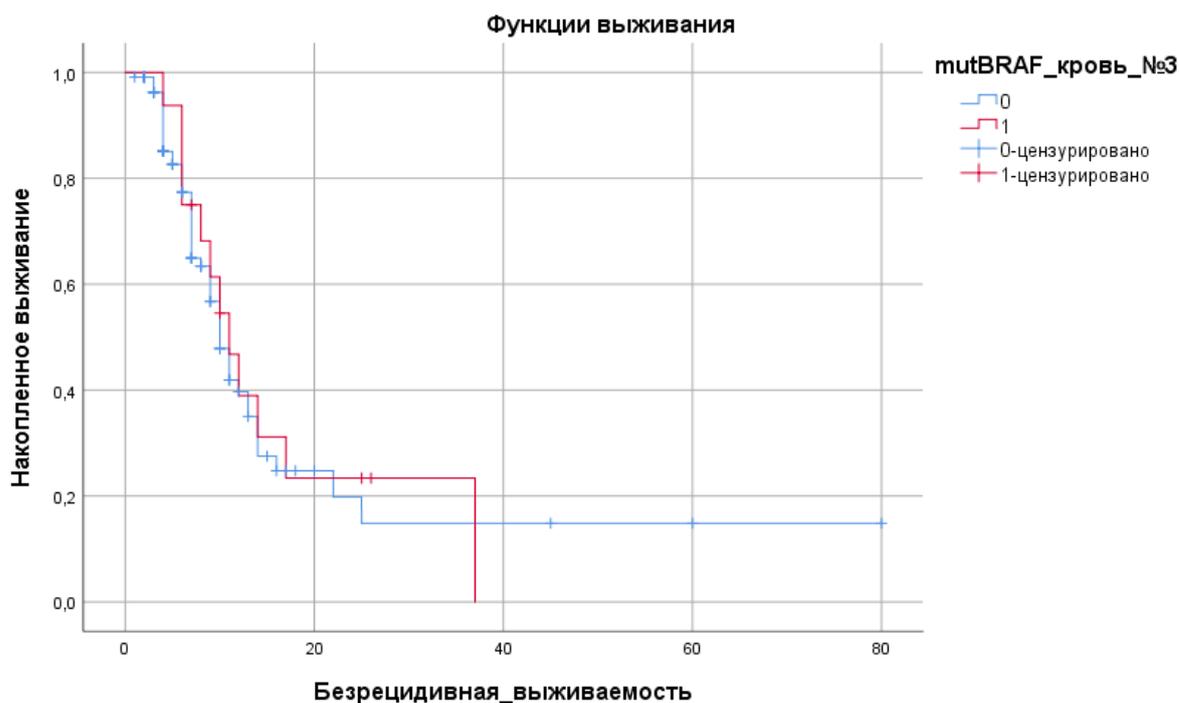


**Рисунок 59.** Общая выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *V600E* гена *BRAF* в крови после проведенного лечения, n=130

Общая ( $p=0.889$ ) и безрецидивная ( $p=0.773$ ) выживаемость у пациентов с/без наличия мутации *V600E* гена *BRAF* в крови после проведенного лечения не имела статистически значимого различия между группами. Стоит отметить, что пациенты с наличием мутация *V600E* гена *BRAF* не достигли пятилетней общей выживаемости (табл.78, табл.79 и рис.59, рис.60).

**Таблица 79.** Безрецидивная выживаемость у группы больных с/без наличия мутации *V600E* гена *BRAF* в крови после проведенного лечения с диффузным поражением ствола и таламуса

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации <i>V600E</i> гена <i>BRAF</i>	80	10.0 [8.4; 11.6]	39.7 ± 6.3	14.9 ± 6.6	14.9 ± 6.6
С мутацией <i>V600E</i> гена <i>BRAF</i>	37	11.0 [7.5; 14.4]	39.0 ± 13.0	23.4 ± 11.6	23.4 ± 11.6



**Рисунок 60.** Безрецидивная выживаемость у группы больных с/без наличия мутации *V600E* гена *BRAF* в крови после проведенного лечения с диффузным поражением ствола и таламуса

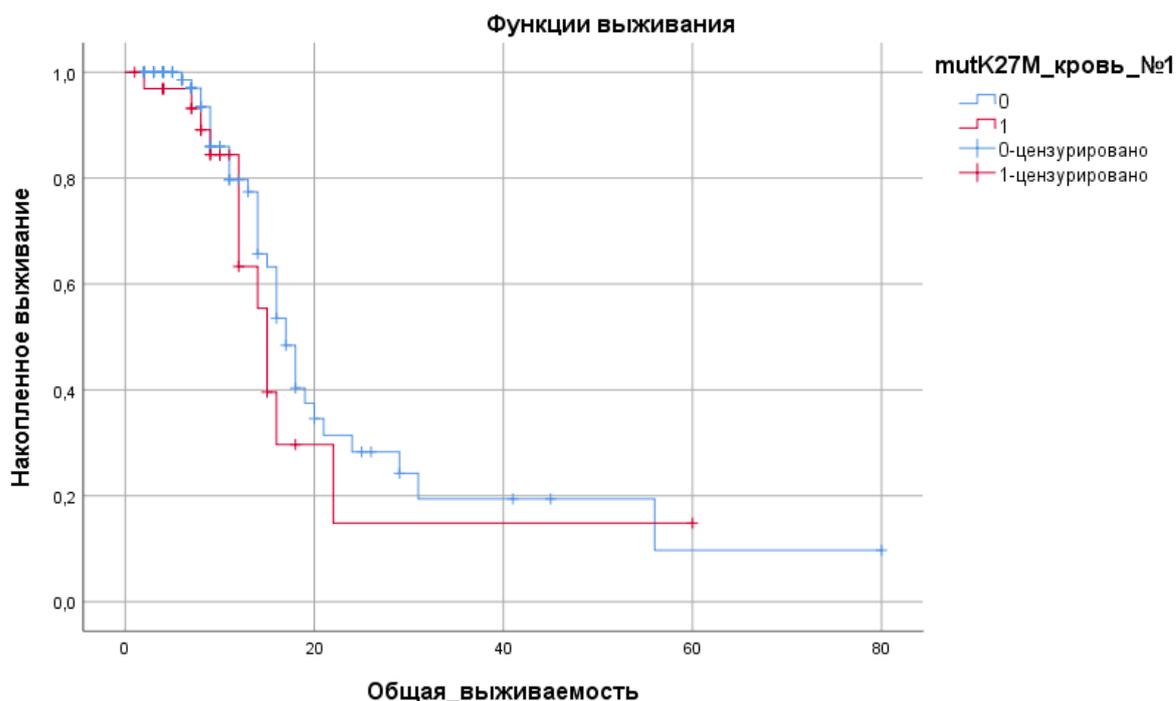
Полученные данные подтверждают, что ДСГ с мутацией *V600E* гена *BRAF* отличаются от опухолей с другой молекулярно-генетической природой.

### Мутация *K27M* гена *H3F3A* до/после проведения лечения

Проведен сравнительный анализ показателей ОВ и БВ между 33 пациентами с ДСГ, у которых выявлена мутация *K27M* гена *H3F3A* до проведения лечения и 97 пациентами с ДСГ без наличия мутации *K27M* гена *H3F3A* до проведения лечения.

**Таблица 80.** Общая выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *K27M* гена *H3F3A* в крови до проведения лечения, n=130

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации <i>K27M</i> гена <i>H3F3A</i>	80	17.0 [15.0; 18.9]	79.7 ± 5.5	19.4 ± 7.3	9.7 ± 7.8
С мутацией <i>K27M</i> гена <i>H3F3A</i>	60	15.0 [13.4; 16.6]	63.3 ± 11.9	14.8 ± 12.4	14.8 ± 12.4

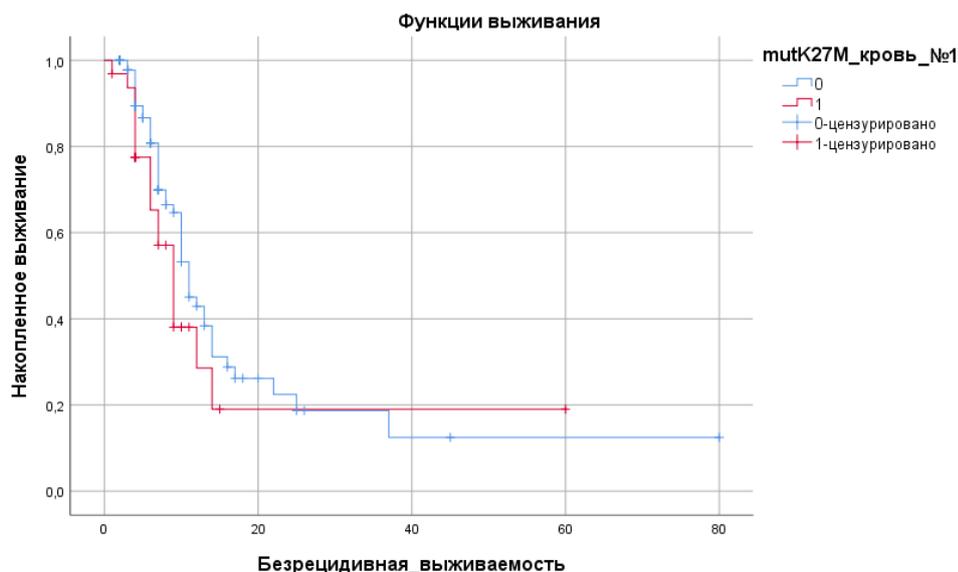


**Рисунок 61.** Общая выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *K27M* гена *H3F3A* в крови до проведения лечения, n=130

Общая ( $p=0.334$ ) и безрецидивная ( $p=0.169$ ) выживаемость не имела статистически значимых различий между группой с/без наличия мутации *K27M* гена *H3F3A* во время проведения лечения (табл.80, табл.81 и рис.61, рис.62).

**Таблица 81.** Безрецидивная выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *K27M* гена *H3F3A* в крови до проведения лечения, n=130

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации <i>K27M</i> гена <i>H3F3A</i>	80	11.0 [9.2; 12.8]	42.9 ± 6.6	18.7 ± 6.4	12.5 ± 6.6
С мутацией <i>K27M</i> гена <i>H3F3A</i>	60	9.0 [6.9; 11.7]	28.6 ± 11.2	19.0 ± 10.8	19.0 ± 10.8

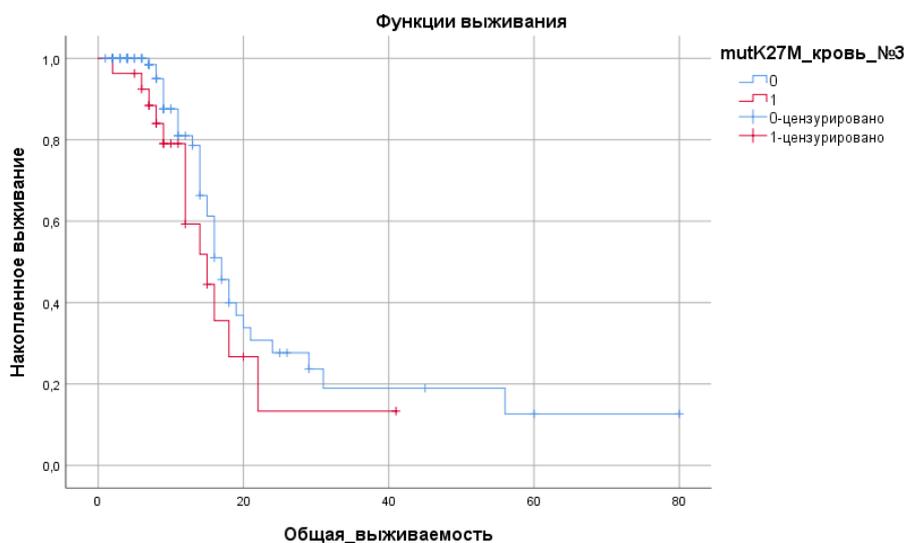


**Рисунок 62.** Безрецидивная выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *K27M* гена *H3F3A* в крови до проведения лечения, n=130

В дальнейшем был осуществлен сравнительный анализ показателей ОВ и БВ между 27 пациентами с ДСГ, у которых выявлена мутация *K27M* гена *H3F3A* и 103 пациентами с ДСГ без наличия мутации *K27M* гена *H3F3A*.

**Таблица 82.** Общая выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *K27M* гена *H3F3A* в крови после проведенного лечения, n=130

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без mutK27M	80	17.0 [14.8; 19.1]	81.0 ± 5.5	19.0 ± 7.2	12.6 ± 7.1
С mutK27M	41	15.0 [9.9; 20.0]	79.1 ± 8.4	13.3 ± 11.3	-

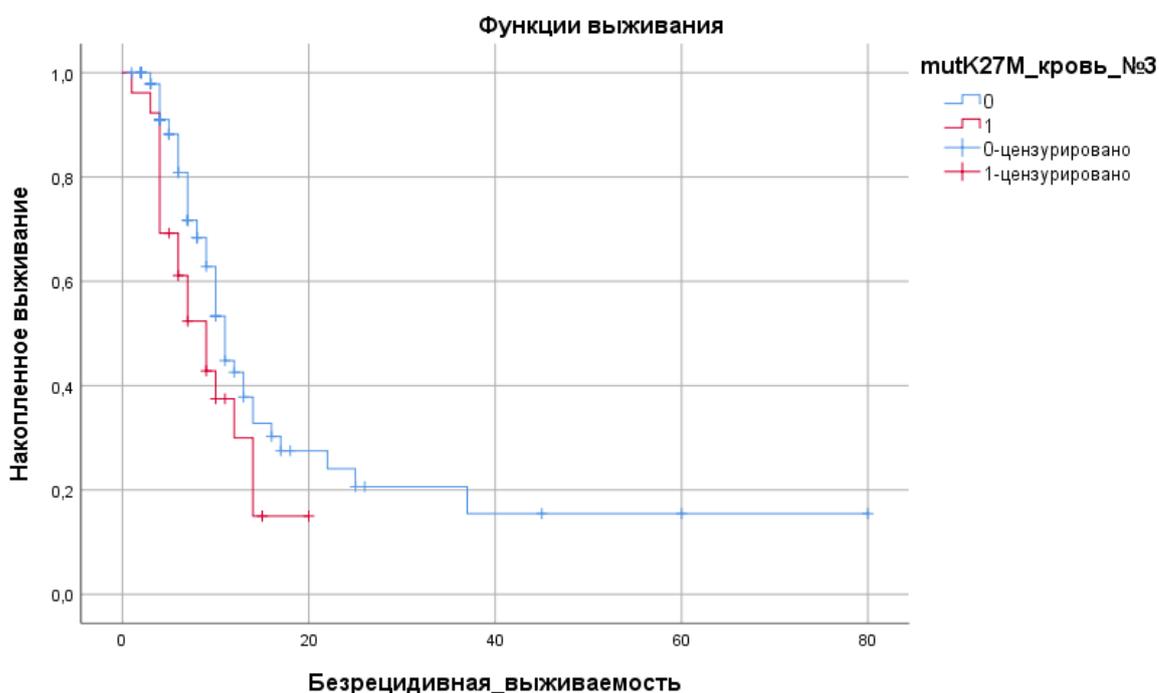


**Рисунок 63.** Общая выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *K27M* гена *H3F3A* в крови после проведенного лечения, n=130

Общая ( $p=0.179$ ) и безрецидивная ( $p=0.059$ ) выживаемость не имела статистически значимых различий между группой с/без наличия мутации *K27M* гена *H3F3A* после проведенного лечения. Стоит отметить, что пациенты с наличием мутации *K27M* гена *H3F3A* не достигли пятилетней ОВ и трехлетней БВ (табл.82, табл.83 и рис.63, рис.64).

**Таблица 83.** Безрецидивная выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *K27M* гена *H3F3A* в крови после проведенного лечения,  $n=130$

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % $\pm$ станд. ошибка	3-летняя, % $\pm$ станд. ошибка	5-летняя, % $\pm$ станд. ошибка
Без мутации <i>K27M</i> гена <i>H3F3A</i>	80	11.0 [9.5; 12.4]	42.5 $\pm$ 6.7	20.6 $\pm$ 6.5	15.5 $\pm$ 6.6
С мутацией <i>K27M</i> гена <i>H3F3A</i>	20	9.0 [5.7; 12.3]	30.0 $\pm$ 10.6	-	-



**Рисунок 64.** Безрецидивная выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *K27M* гена *H3F3A* в крови после проведенного лечения,  $n=130$

Таким образом, ДСГ с НЗ *K27M*-мутацией — это инфильтративная глиома срединных структур высокой степени злокачественности с

преимущественно астроцитарной дифференцировкой и мутацией K27M в H3F3A или HIST1H3B/C, которая чаще встречается у детей, но может возникать и у взрослых. Как правило, прогноз при диффузном поражении ствола и таламуса неблагоприятный: двухлетняя выживаемость составляет менее 10%, несмотря на интенсивные исследования и разнообразные методы лечения. Следовательно, единственным методом терапии является ЛТ [3], а эффективных схем химиотерапии не существует.

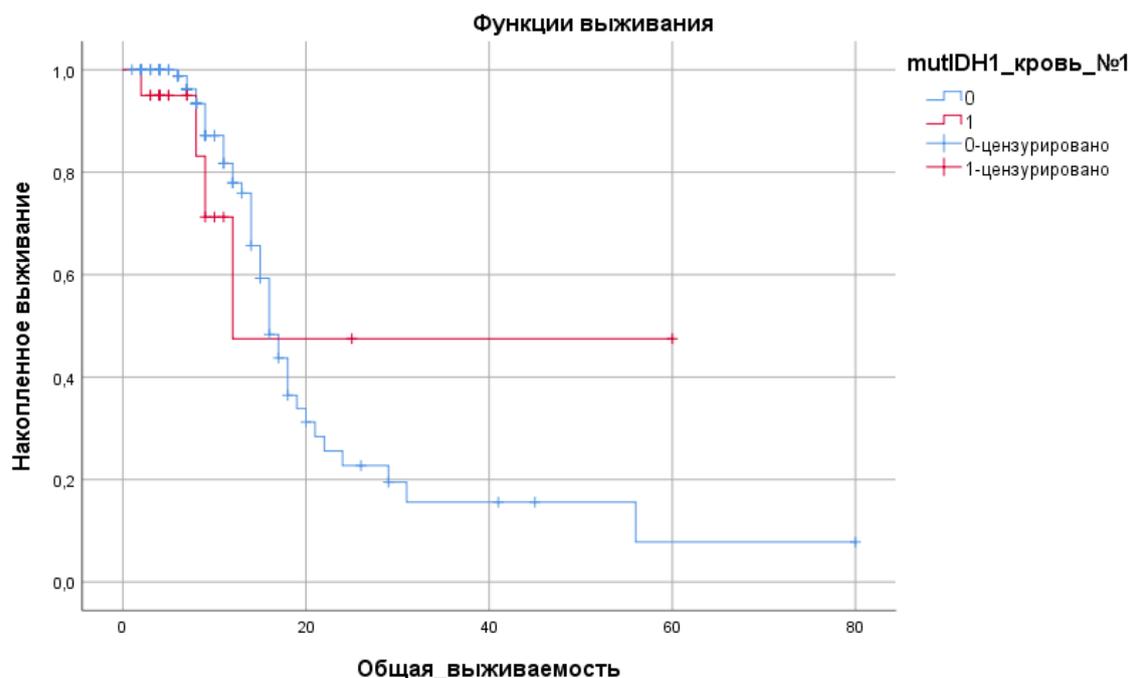
Также стоит подчеркнуть, что проведено уже около 250 клинических испытаний с использованием молекулярно-таргетной терапии в качестве стратегии при ДСГ, но, к сожалению, ни одно из них не продемонстрировало значительной эффективности. Так как одной из проблем в этих клинических испытаниях является недостаточное знание того, проникает ли таргетный препарат через ГЭБ, поэтому необходимо непрерывное совершенствование разработки эффективных методов лечения ДСГ.

#### **Мутация R132H гена IDH1 и мутация R140Q гена IDH2 до/после проведения лечения**

Проведен сравнительный анализ показателей ОБ и БВ между 20 пациентами с ДСГ, у которых выявлена мутация R132H гена IDH1 и 110 пациентами с ДСГ без наличия мутации R132H гена IDH1 до проведения лечения.

**Таблица 84.** Общая выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации R132H гена IDH1 в крови до проведения лечения, n=130

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации R132H гена IDH1	80	16.0 [14.2; 17.8]	77.9 ± 5.3	15.6 ± 6.2	7.8 ± 6.3
С мутацией R132H гена IDH1	60	12.0	47.5 ± 21.8	47.5 ± 21.8	47.5 ± 21.8

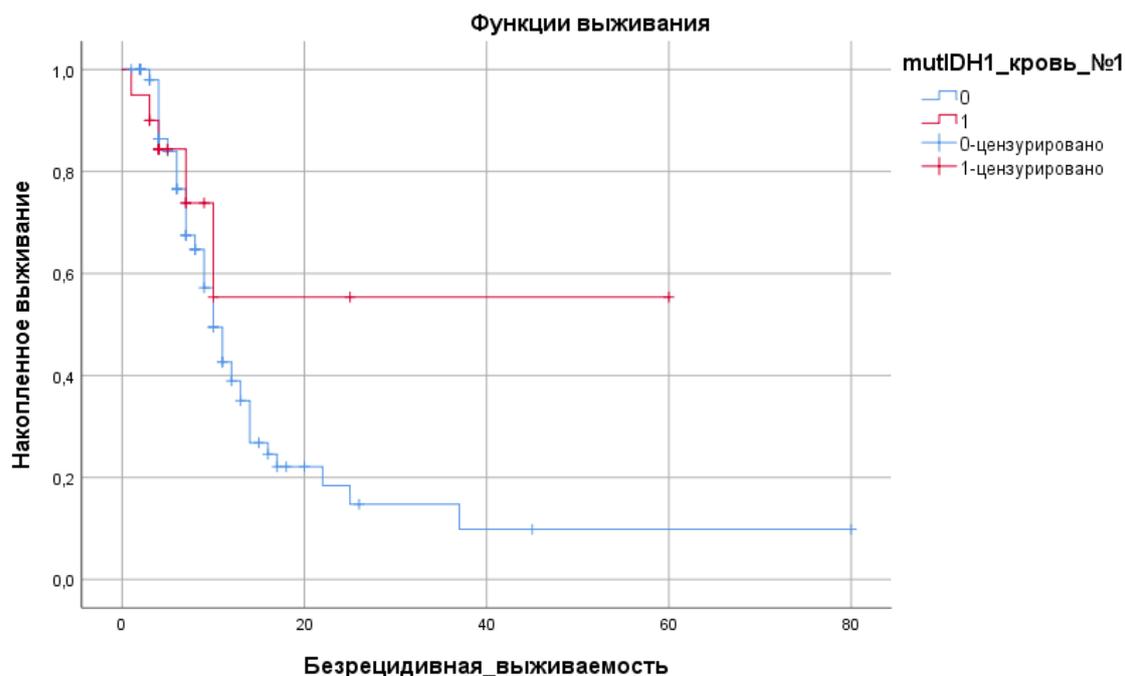


**Рисунок 65.** Общая выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *R132H* гена *IDH1* в крови до проведения лечения, n=130

Общая ( $p=0.815$ ) и безрецидивная ( $p=0.284$ ) выживаемость с/без наличия мутации *R132H* гена *IDH1* в крови до проведения лечения не имела статистически значимых различий между группами. Стоит отметить, что безрецидивная выживаемость у больных с выявленной мутации *R132H* гена *IDH1* не достигла медианы наблюдения (табл.84, табл.85 и рис.65, рис.66).

**Таблица 85.** Безрецидивная выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *R132H* гена *IDH1* в крови до проведения лечения, n=130

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации <i>R132H</i> гена <i>IDH1</i>	80	10.0 [8.4; 11.6]	38.9 ± 6.0	14.7 ± 5.7	9.8 ± 5.5
С мутацией <i>R132H</i> гена <i>IDH1</i>	60	-	55.4 ± 18.4	55.4 ± 18.4	55.4 ± 18.4

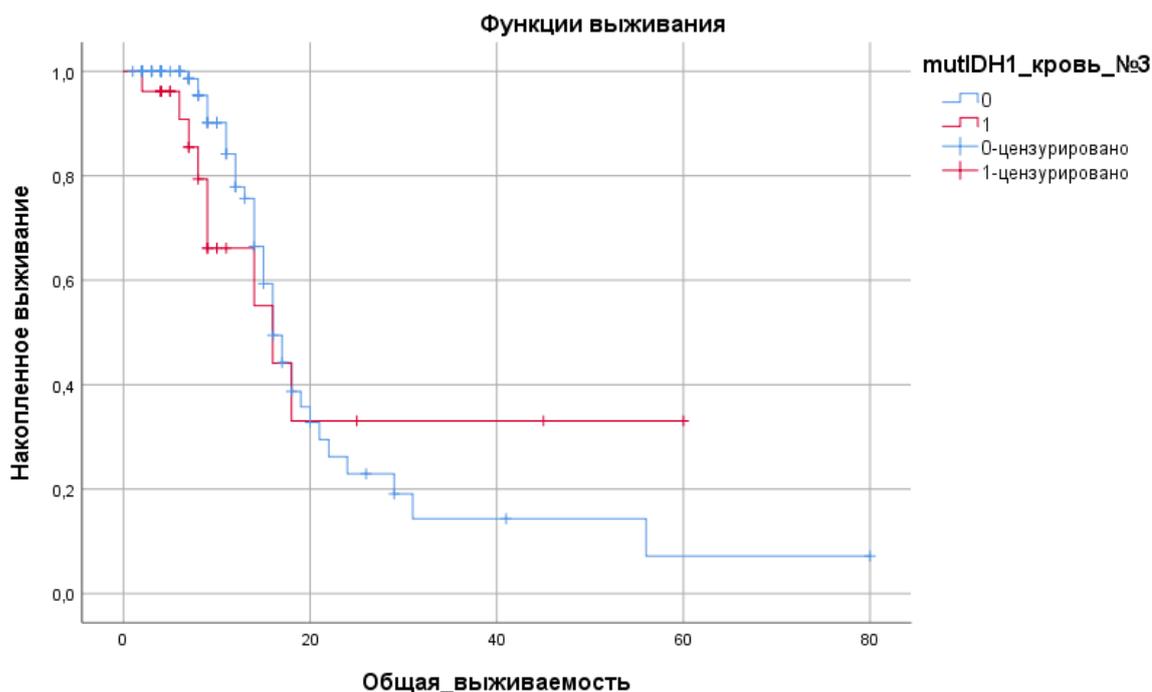


**Рисунок 66.** Безрецидивная выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *R132H* гена *IDH1* в крови до проведения лечения, n=130

Следующим этапом было проведение сравнительного анализа показателей ОВ и БВ между 26 пациентами с ДСГ, у которых выявлена мутация *R132H* гена *IDH1* и 104 пациентами с ДСГ без наличия мутации *R132H* гена *IDH1* с диффузным поражением ствола и таламуса после проведённого лечения.

**Таблица 86.** Общая выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *R132H* гена *IDH1* в крови после проведенного лечения, n=130

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации <i>R132H</i> гена <i>IDH1</i>	80	16.0 [14.0; 17.9]	77.9 ± 5.7	14.3 ± 6.6	7.2 ± 6.0
С мутацией <i>R132H</i> гена <i>IDH1</i>	60	16.0 [10.7; 21.3]	66.1 ± 11.6	33.1 ± 14.7	33.1 ± 14.7

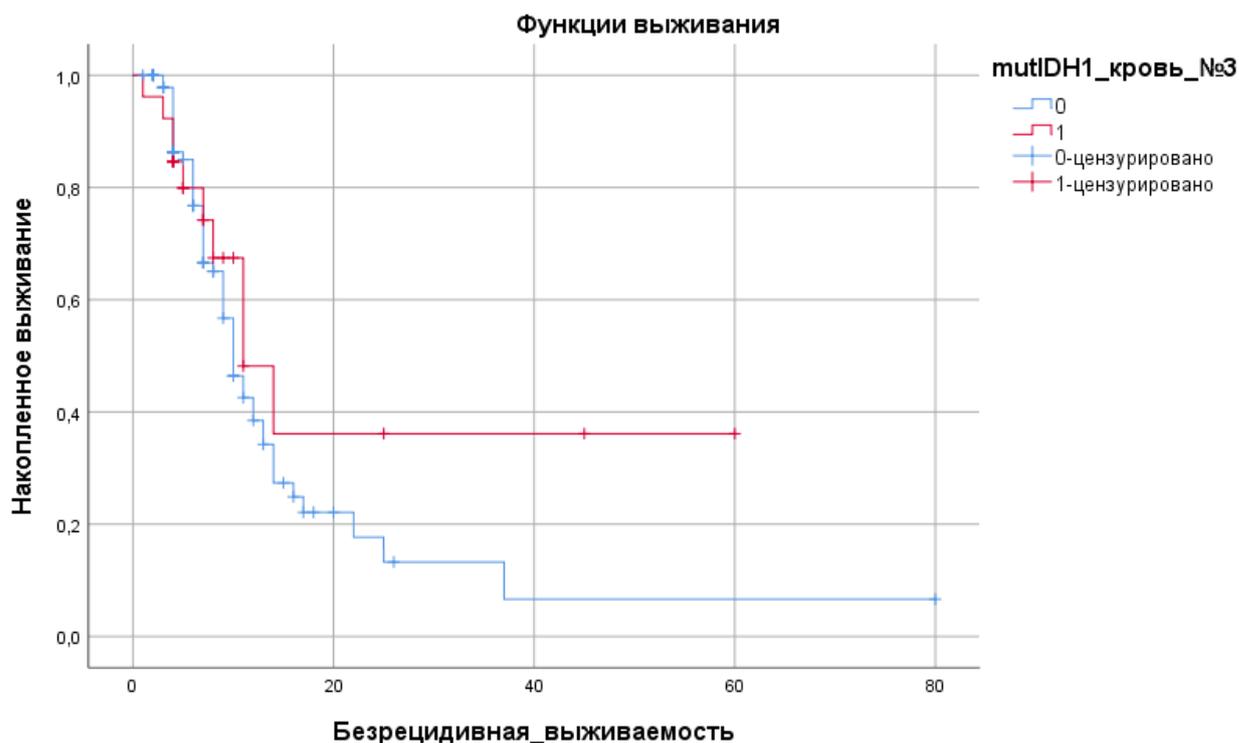


**Рисунок 67.** Общая выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *R132H* гена *IDH1* в крови после проведенного лечения, n=130

Общая ( $p=0.772$ ) и безрецидивная ( $p=0.268$ ) выживаемость с/без наличия мутации *R132H* гена *IDH1* в крови после проведенного лечения не имела статистически значимых различий между группами (табл.86, табл.87 и рис.67, рис.68).

**Таблица 87.** Безрецидивная выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *R132H* гена *IDH1* в крови после проведенного лечения, n=130

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации <i>R132H</i> гена <i>IDH1</i>	80	10.0 [8.3; 11.7]	38.5 ± 6.3	13.3 ± 6.0	6.6 ± 5.6
С мутации <i>R132H</i> гена <i>IDH1</i>	60	11.0 [5.8; 16.2]	48.2 ± 13.8	36.1 ± 14.7	36.1 ± 14.7

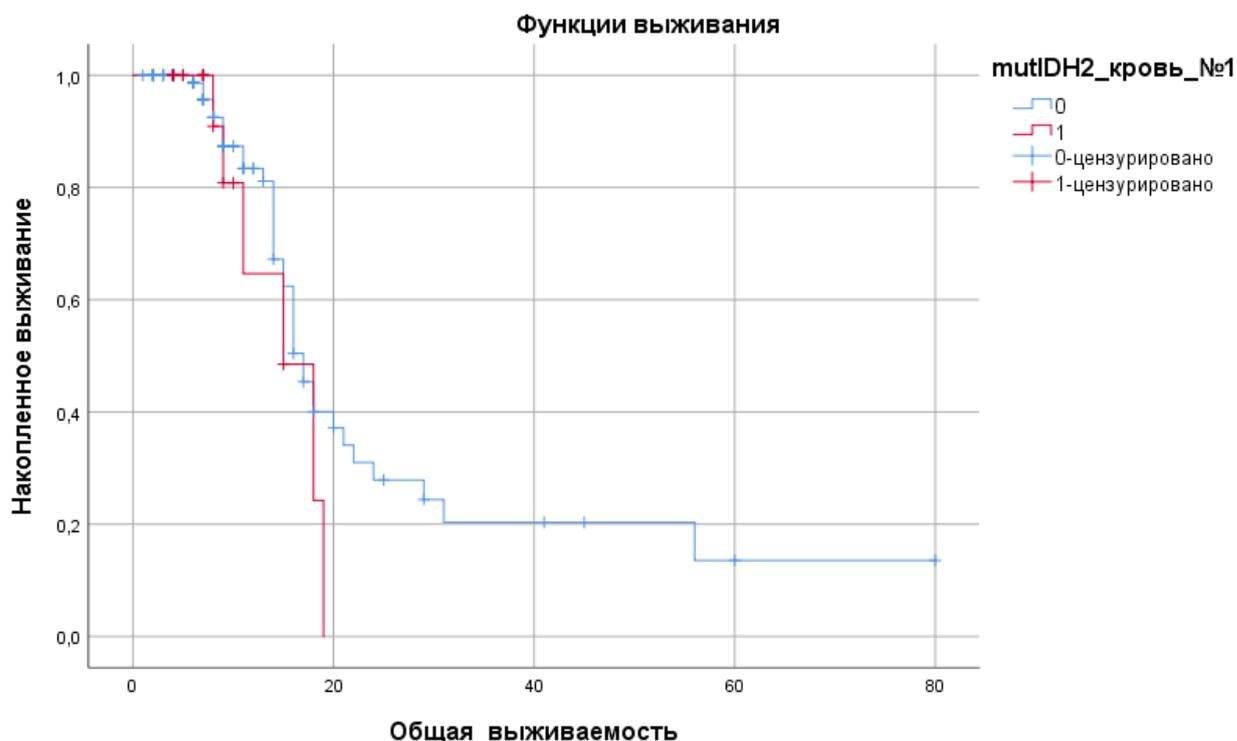


**Рисунок 68.** Безрецидивная выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *R132H* гена *IDH1* в крови после проведенного лечения, n=130

Также был проведен сравнительный анализ показателей ОВ и БВ между пациентами с ДСГ, у которых выявлена мутация *R140Q* гена *IDH2* и 109 пациентами с ДСГ без наличия мутация *R140Q* гена *IDH2* с диффузным поражением ствола и таламуса до проведения лечения.

**Таблица 88.** Общая выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутация *R140Q* гена *IDH2* в крови до проведения лечения, n=130

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации <i>R140Q</i> гена <i>IDH2</i>	80	17.0 [15.0; 18.9]	83.4 ± 4.9	20.3 ± 7.0	13.6 ± 7.3
С мутацией <i>R140Q</i> гена <i>IDH2</i>	19	15.0 [8.5; 21.5]	64.6 ± 17.5	-	-

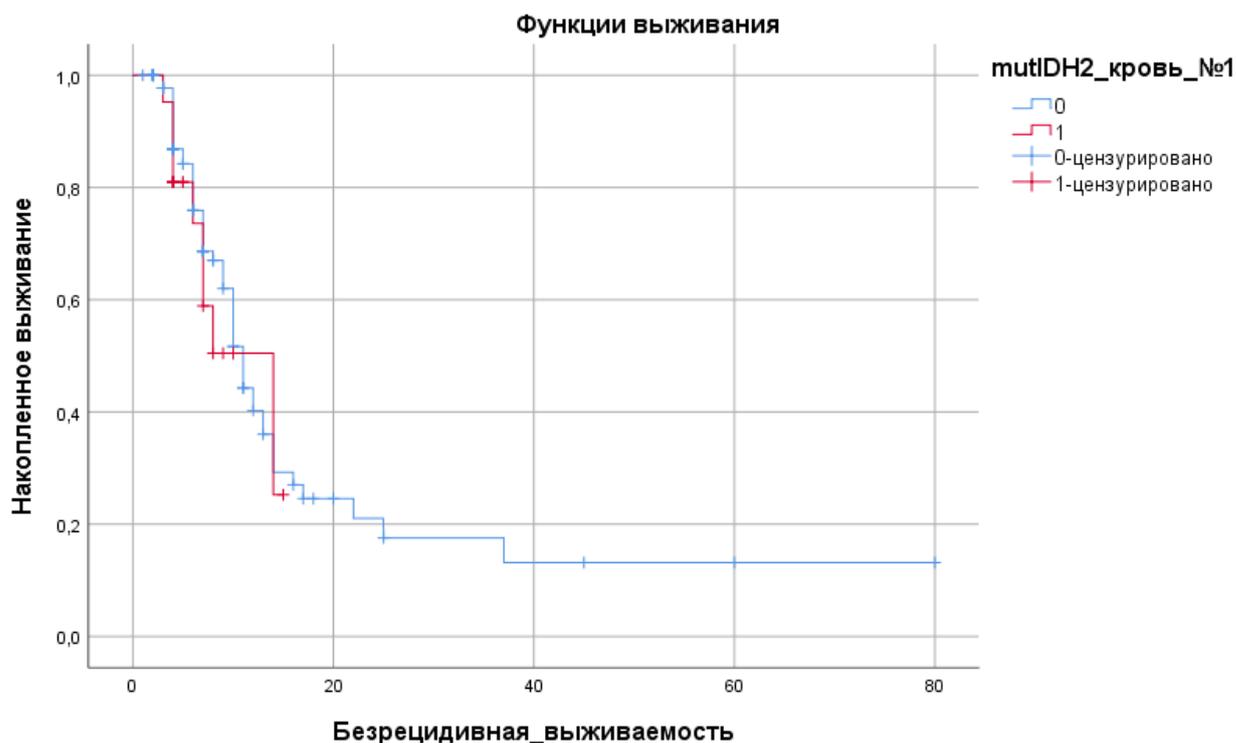


**Рисунок 69.** Общая выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *R140Q* гена *IDH2* в крови до проведения лечения, n=130

Общая ( $p=0.236$ ) и безрецидивная ( $p=0.614$ ) выживаемость с/без наличия мутация *R140Q* гена *IDH2* в крови до проведения лечения не имела статистически значимых различий между группами. Пациенты с наличием мутации *R140Q* гена *IDH2* в крови до проведения лечения не достигли трехлетней общей и безрецидивной выживаемости (табл.88, табл.89 и рис.69, рис.70).

**Таблица 89.** Безрецидивная выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутация *R140Q* гена *IDH2* в крови до проведения лечения, n=130

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации <i>R140Q</i> гена <i>IDH2</i>	80	11.0 [9.6; 12.4]	40.3 ± 6.3	17.5 ± 6.0	13.2 ± 5.9
С мутацией <i>R140Q</i> гена <i>IDH2</i>	15	14.0 [6.2; 21.8]	50.5 ± 13.3	-	-

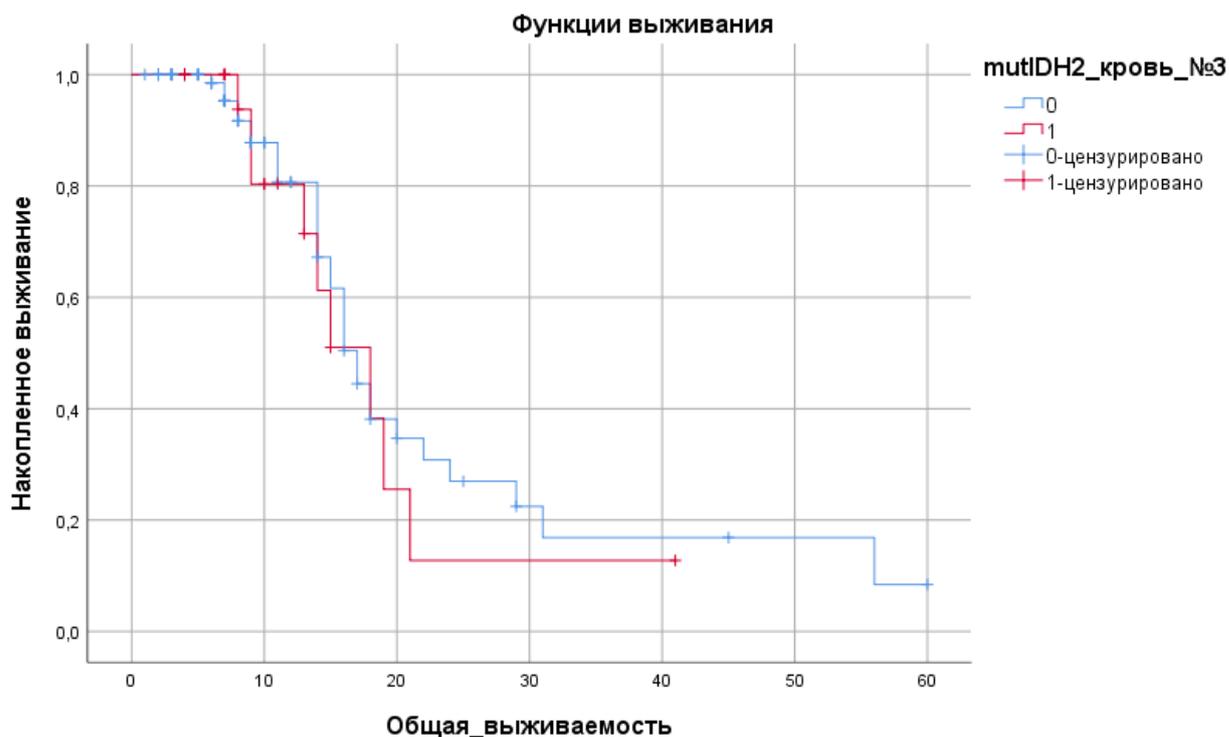


**Рисунок 70.** Безрецидивная выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *R140Q* гена *IDH2* в крови до проведения лечения, n=130

В последующем был проведен сравнительный анализ показателей ОВ и БВ между 23 пациентами с ДСГ, у которых выявлена мутация *R140Q* гена *IDH2* и 107 пациентами с ДСГ без наличия мутация *R140Q* гена *IDH2* с диффузным поражением ствола и таламуса после проведенного лечения.

**Таблица 90.** Общая выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *R140Q* гена *IDH2* в крови после проведенного лечения, n=130

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации <i>R140Q</i> гена <i>IDH2</i>	60	17.0 [15.1; 18.8]	80.7 ± 5.6	16.8 ± 7.6	8.4 ± 7.1
С мутацией <i>R140Q</i> гена <i>IDH2</i>	41	18.0 [12.6; 23.4]	80.4 ± 10.2	12.8 ± 11.7	-

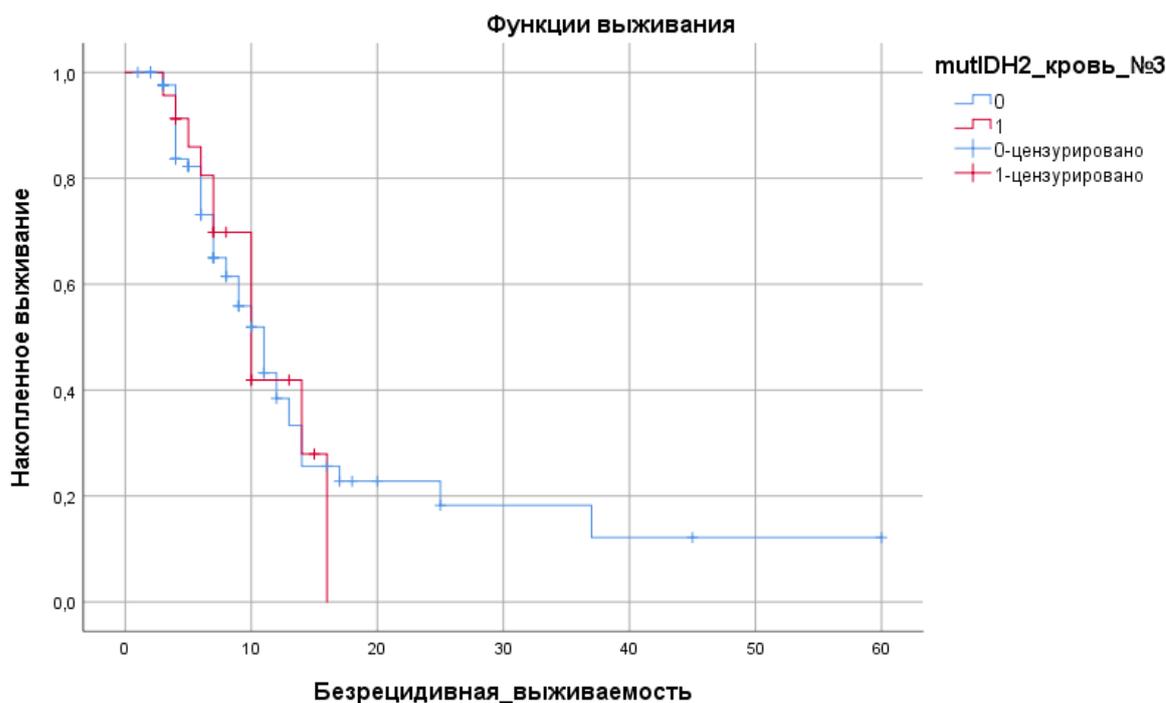


**Рисунок 71.** Общая выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *R140Q* гена *IDH2* в крови после проведенного лечения, n=130

Общая ( $p=0.582$ ) и безрецидивная ( $p=0.989$ ) выживаемость с/без наличия мутации *R140Q* гена *IDH2* в крови после проведенного лечения не имела статистически значимых различий между группами. Стоит отметить, что пациенты с наличием мутации *R140Q* гена *IDH2* после проведенного лечения не достигли пятилетней общей и трехлетней безрецидивной выживаемости (табл.90, табл.91 и рис. 71, рис.72).

**Таблица 91.** Безрецидивная выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *R140Q* гена *IDH2* в крови после проведенного лечения, n=130

Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Без мутации <i>R140Q</i> гена <i>IDH2</i>	60	11.0 [8.9; 13.0]	38.4 ± 6.7	18.2 ± 6.5	12.1 ± 6.6
С мутацией <i>R140Q</i> гена <i>IDH2</i>	16	10.0 [7.4; 12.6]	41.9 ± 12.5	-	-



**Рисунок 72.** Безрецидивная выживаемость у группы больных с ДСГ с/без наличия мутации *R140Q* гена *IDH2* в крови после проведенного лечения, n=130

Также мы установили, что для зависимости выживаемости от наличия концентрации цоДНК исследуемых генов в ликворе получены аналогичные зависимости.

Эффективность лечения и поведение глиомы при прогрессировании значимо зависят от мутационного статуса генов IDH1 и IDH2, так как IDH-мутация является ранним событием в процессе онкогенеза опухолей глиального происхождения и имеет серьезные последствия для прогрессии глиомы и поведения опухоли.

## ГЛАВА 6. РАДИОГЕНОМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДИФФУЗНЫХ СРЕДИННЫХ ГЛИОМ

### 6.1. Традиционная оценка МРТ-изображений диффузных срединных глиом у детей

Диффузные срединные глиомы включают в себя глиальные опухоли, расположенные в срединных структурах головного мозга, и включают в себя опухоли ствола, таламусах и спинного мозга, отдельно, как наиболее частая локализация из них выделяется диффузная глиома моста, или диффузная понтийная глиома. Диффузная понтийная глиома изначально исходит из Варолиева моста, но в большинстве случаев распространяется на прилежащие анатомические структуры головного мозга, такие как мост, продолговатый мозг, ножки мозжечка, гемисферы мозжечка, таламусы и глубинные отделы полушарий головного мозга, зачастую вдоль проводящих путей, в частности вдоль внутренних капсул. В часто вовлекаемые структуры также включаются хвостатые ядра и перивентрикулярное белое вещество в области передних рогов боковых желудочков. Диффузные глиомы всех локализаций характеризуются инфильтративным ростом с достаточно равномерным увеличением объема пораженных анатомических структур головного мозга, т.е. вещество мозга в пораженных опухолью участках на фоне патологических изменений диффузно изменено, не имеет четких границ, отсутствуют какие-либо демаркационные признаки, разграничивающие опухоль и вещество мозга [154, 191, 248, 377, 450].

В отделении лучевой терапии детей ФГБУ РНЦР в период с 2014 по 2024 г.г. было пролечено 559 детей с ГВСЗ. На первом этапе радиомического исследования были проанализированы все первичные МР-данные головного мозга перед началом РТ. В последующем из данной выборки была выделена группа 223 больных с ДСГ, из которых в радиомический анализ были включены данные МРТ головного мозга 98-ми пациентов с ДСГ, у которых был оценен мутационный статус гена *N3F3A* на предмет наличия или отсутствия мутации *K27M* (табл.92).

**Таблица 92.** Общие характеристики подгруппы, n=98

Характеристика		Показатель
Пол	Мужской	41,8% (n=41)
	Женский	58,2% (n=57)
Возраст, Me [Q25%;Q75%] лет		8.0 [6.0; 11.0]
Возраст	До 18 лет	100% (n=98)
Объем опухоли по данным МРТ, Me [Q25%;Q75%] см <sup>3</sup>		44.0 [26.0; 78.3]
	S71.7 (ствол мозга)	100% (n=98)
	Gr 3-4	100% (n=98)
Выявленная мутация в гистологическом материале/ликворе/крови	H3FA3 (K27M)	76,5% (n=75)
Дикий тип опухоли	H3F3A	23,5% (n=23)

Нами был проведен предварительный анализ 223 МРТ – изображений с целью выявления характерных особенностей визуализации ДСГ.

Критерием включения в дальнейшую оценку МРТ-изображений являлось наличие диффузного опухолевого образования, которое располагается в срединных структурах, в частности в стволе или в таламусах, возраст до 18 лет, отсутствие в анамнезе инвазивных вмешательств на структурах ствола головного мозга, отсутствие в анамнезе курсов лучевой терапии.

Критериями исключения явились наличие различных артефактов на изображениях, сильно искажающих область интереса, или МРТ - исследование с несопоставимыми параметрами сканирования (например, отсутствие T2ВИ, неполный захват области интереса).

В дальнейшем на основании указанных выше критериев исключения были оставлены для анализа 98 МР - томограмм пациентов с диффузными срединными глиомами, из них 75 пациент с верифицированной мутацией K27M в гене H3F3A и 23 пациентов без этой мутации.

Предварительная оценка МРТ-признаков ДСГ была проведена у всех 98 пациентов. МРТ-исследование было выполнено на разных приборах, с различными техническими условиями сканирования. Возможности количественного и качественного анализа в данных условиях были весьма ограничены.

Предлагаемые нами МР- характеристики были использованы для предварительного анализа: можно ли их применить для достоверного суждения о наличии, либо об отсутствии мутации K27M в гене H3F3A в диффузной срединной глиоме.

По данным МРТ ДСГ визуализируется как образование, расположенное непосредственно в веществе ствола (диффузная глиома ствола), а неизменная ткань на фоне опухолевого поражения либо не дифференцируется, либо расположена по периферии зоны опухолевой инфильтрации, либо представлена в виде тяжей как «исчерченность» в области поражения, что связано с инфильтративным характером роста опухоли.

МР- картина диффузной глиомы выглядит как зона измененного МР- сигнала: FLAIR, T2ВИ – гиперинтенсивная, T1ВИ – гипоинтенсивная; отмечается преимущественно сниженное накопление в структуре опухоли, иногда с наличием фрагментарных участков повышенного накопления однородного или кольцевидного характера.

Структура опухоли может быть как однородной, так и неоднородной, семиотическая картина при этом различна:

- наличие участков некроза, которые могут быть представлены как зоны повышенного очагового однородного или периферического накопления с резко сниженным накоплением в центре очага и как участки гиперинтенсивного МР-сигнала в T1ВИ, что зависит от стадии кровоизлияния/некроза;

- наличие резко гиперинтенсивных зон в T2ВИ как наиболее гипергидратированных участков опухоли;

- наличие изоинтенсивных участков в T2ВИ, расположенных в толще зон резко гиперинтенсивного сигнала;

- участки поперечной исчерченности на фоне резко гиперинтенсивного сигнала в T2ВИ;

- участки перифокального отека, который можно характеризовать как гиперинтенсивную в T2 изображении зону, но по интенсивности несколько меньшую, чем основная часть опухоли.

Степень выраженности и сочетание участков неоднородностей в структуре опухоли отличаются у разных пациентов, отражая собой вариабельность строения опухоли и, возможно, характеризуя черты ее гетерогенности.

Контур опухоли всегда нечеткий, граница с веществом мозга отсутствует. В большинстве случаев опухоль распространяется за пределы вещества мозга, пролабируя контура моста в прилежащие ликворные цистернальные пространства. Так же стоит отметить, что иногда опухоль может иметь солидное или многоузловое солидное строение, при этом основные характеристики МР-сигнала образования соответствуют вышеописанной семиотике.

Оценка структуры опухолей и выделение потенциальных признаков осуществлялись по данным протокола МРТ, который включал в себя основные типы последовательностей: T1ВИ (как спиновое эхо так и градиентные последовательности, выполненные до и после внутривенного введения внутрисосудистого парамагнитного контрастного препарата); T2ВИ спиновое эхо; FLAIR; DWI; и последовательности, взвешенные по магнитной восприимчивости T2\*/SWAN/SWI.

Данные МРТ опухоли, несмотря на диффузный и инфильтративный характер роста, имеют неоднородную структуру, на основании чего осуществлена попытка выделения отдельных условных визуальных признаков их строения с целью дальнейшего их сопоставления с наличием или отсутствием мутации в опухоли (табл.93).

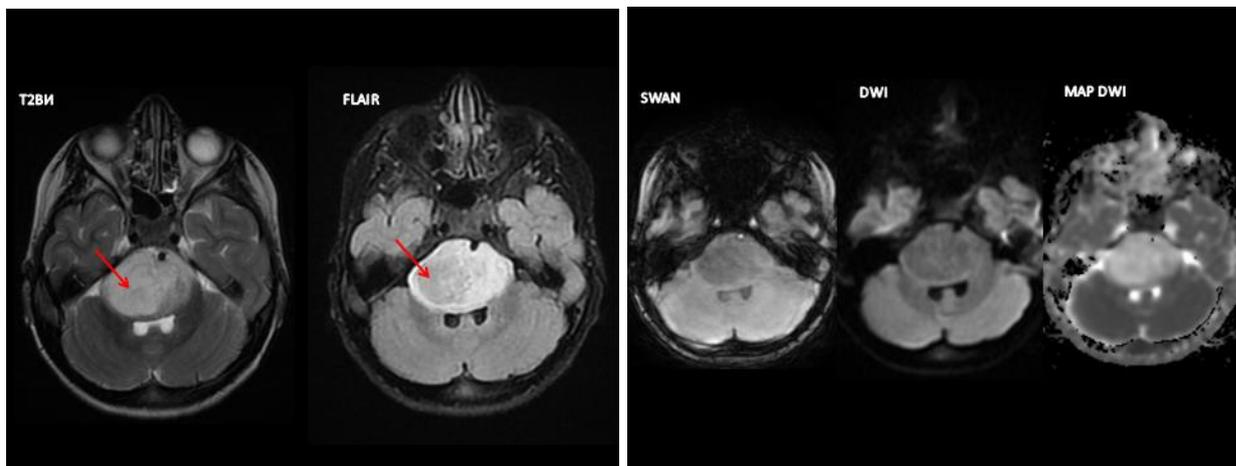
**Таблица 93.** Основные признаки, выделенные при анализе МР-изображений пациентов с ДСГ в режиме T2ВИ

1.	Диффузно-инфильтративная опухоль (без многоузлового строения)
2.	Многоузловая или солидная структура опухоли, хорошо отграниченная от прилежащего вещества мозга
3.	Однородная структура опухоли без как-либо неоднородностей
4.	Кровоизлияние и/или некроз, полость распада в структуре опухоли
5.	Наличие или отсутствие контрастирования в структуре опухоли
6.	Кольцевидный или периферический тип накопления в отдельных участках структуры опухоли
7.	Любой другой вариант накопления (кроме кольцевидного или периферического) накопления в структуре опухоли
8.	Кистозный компонент с четко отчерченными контурами, расположенный в структуре опухоли
9.	Резко гиперинтенсивный участок в T2ВИ, по типу повышенной гидратации, ориентировочно, более или равно 50%, менее 50%
10.	Отсутствие резко гиперинтенсивного участка в T2ВИ
11.	Изоинтенсивное включение в структуре опухоли в T2ВИ (не имеющее признаков кровоизлияния, и без накопления парамагнетика) любых размеров или его отсутствие
12.	Изоинтенсивное включение в структуре опухоли (не имеющее признаков кровоизлияния, и без накопления парамагнетика) любых размеров
13.	Изоинтенсивное включение в структуре опухоли (не имеющее признаков кровоизлияния, без накопления парамагнетика) небольших размеров, ориентировочно менее 50% образования, более или равно 50%
14.	Поперечная исчерченность в структуре опухоли на фоне гиперинтенсивного сигнала или ее отсутствие
15.	Наличие перифокального отека, отличающегося от структуры опухоли, или его отсутствие
16.	Распространение или отсутствие распространения патологических изменений: единая неразрывная зона поражения любой из соседних анатомических структур (ножки мозжечка, гемисферы мозжечка, мост, средний мозг, продолговатый мозг, таламус, расположенные рядом базальные ядра, прилежащие глубинные отделы полушарий головного мозга)
17.	Наличие или отсутствие отдельно расположенных очагов опухолевого поражения (без визуальной связи с основной опухолью)

На основании приведенных выше признаков была произведена попытка выявить различия в семиотической картине для опухолей с/без мутации K27M в гене H3F3A.

Стоит сразу отметить, что существует сложность воспроизведения результатов, связанная с некоторым субъективизмом экспертной оценки выделяемых признаков. Ниже приведены примеры признаков, выделенных при анализе представленных МРТ и их обсуждение.

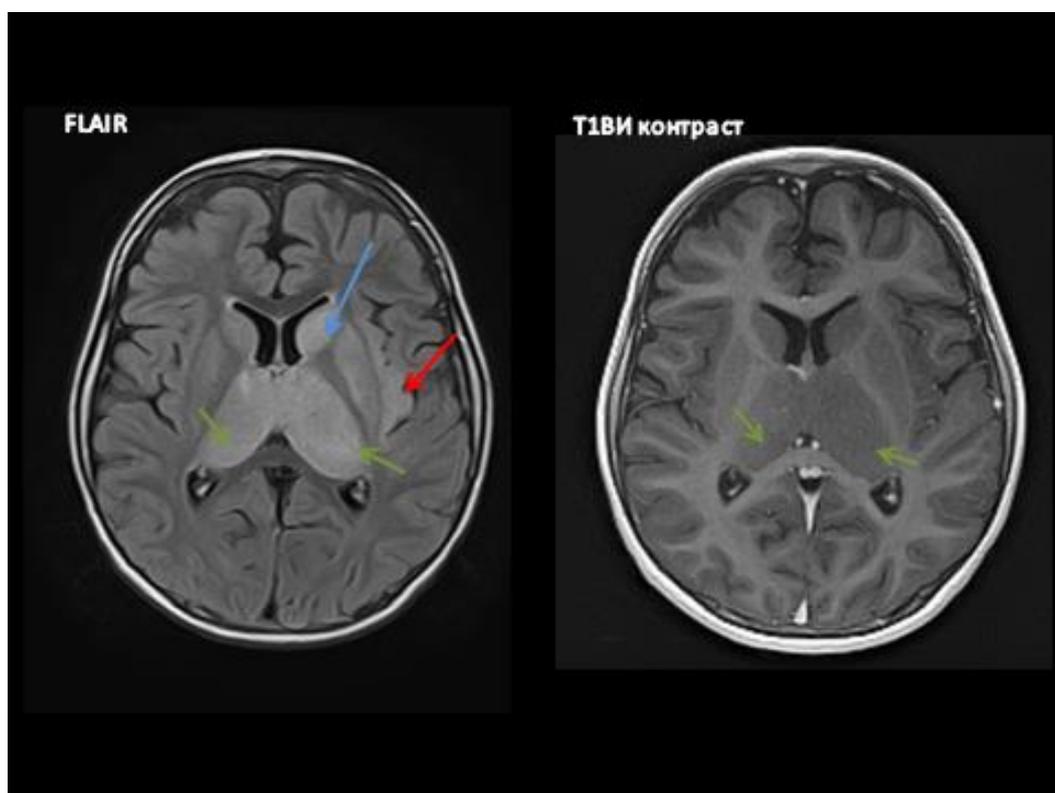
На рисунке 73 «красная стрелка» показывает на участок, который является выделенным признаком №10 и №11 - «резко гиперинтенсивный участок в T2ВИ, по типу повышенной гидратации». Данный участок резко гиперинтенсивен в T2ВИ, по характеристикам близок к жидкости. На FLAIR данный участок выглядит как относительно гипоинтенсивная зона. В диффузионно-взвешенных изображениях - в T1ВИ и в SWAN он неразличим от остальных частей образования. В данном случае участок занимает около 50% опухоли и рассматривается как признак №11. Подобные результаты были получены и у Chiang J. и соав., где диффузная понтийная глиома определялась рентгенологически как плохо очерченная, гипоинтенсивная по T1 и гиперинтенсивная по T2 опухоль с масс-эффектом, занимающая  $\geq 75\%$  осевого диаметра моста; 50% с мутацией H3 K27M [117].



**Рисунок 73.** Магнитно-резонансная томография диффузной срединной глиомы ствола головного мозга

На рисунке 74 опухоль располагается в левом и правом таламусах и имеет однородную структуру, распространяется, как единая неразрывная зона поражения на головку хвостатого ядра слева (синяя стрелка), также есть

отдельно расположенное диффузно-инфильтративное опухолевое поражение в кортикальном слое левой островковой доли (красная стрелка).



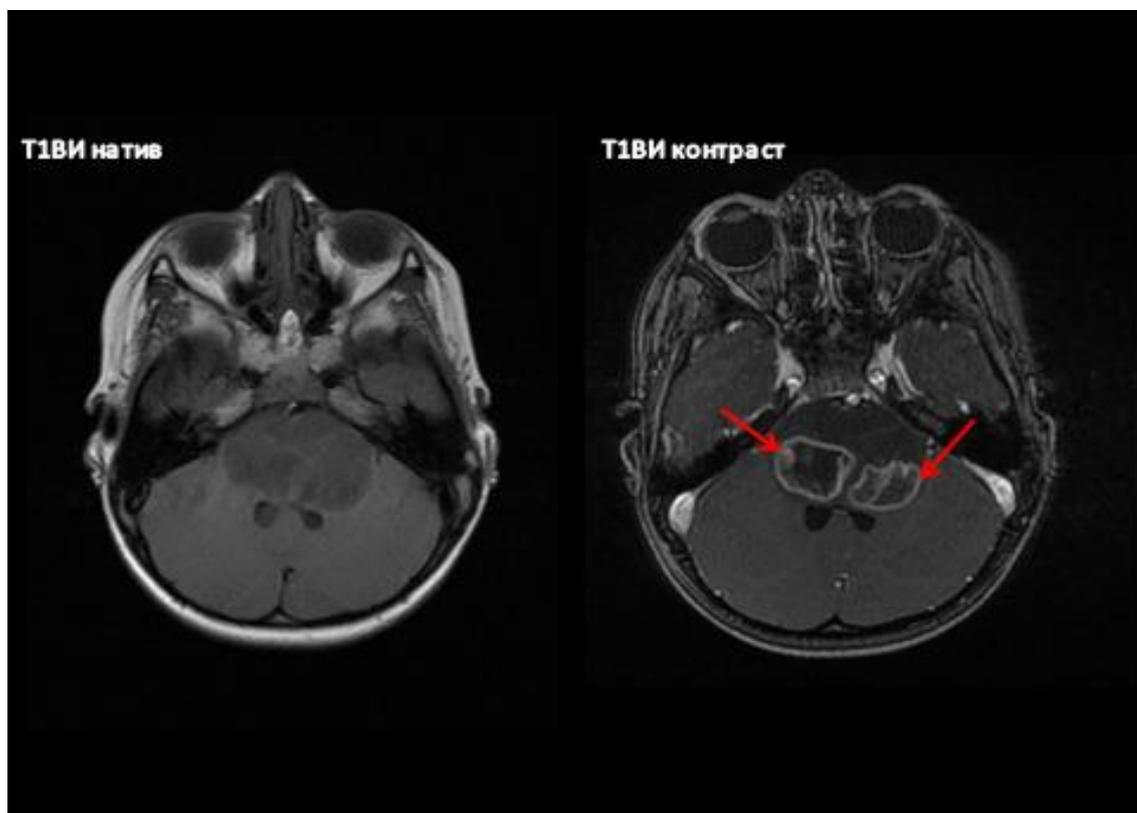
**Рисунок 74.** Магнитно-резонансная томография срединной биталамической глиомы головного мозга

В исследовании Qiu T. и соав. отметили, что глиомы с мутацией НЗ К27М, которые поражали только ствол головного мозга, располагались дорсально, хотя такие опухоли составляли меньшинство в их выборке (6/66) [350]. Также стоит отметить, что результаты исследований частоты кровоизлияний в глиомах с мутацией НЗ К27М варьируются, но в целом эта особенность, по-видимому, имеет ограниченную прогностическую ценность [116, 200, 222, 350].

При анализе МРТ-изображений в сопоставлении с результатами других исследований ДСГ можно отметить, что данные о контрастном усилении сильно варьируются. Глиомы с мутацией НЗ К27М демонстрируют широкий спектр проявлений: от отсутствия усиления до кольцевидного участка накопления с центральным некрозом [49]. Так, Hohm A. и соав. обнаружили,

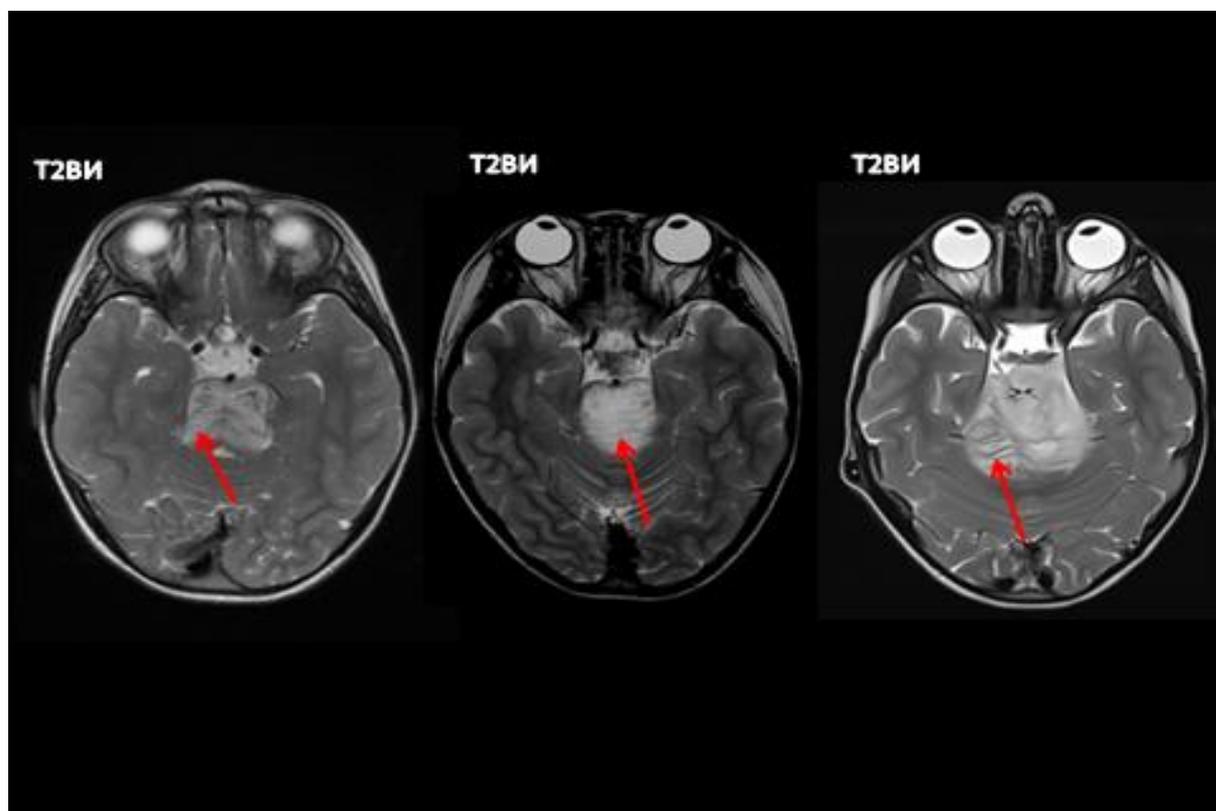
что у детей глиомы с мутацией H3 K27M чаще были гиперинтенсивными по T2 и неоднородными по сравнению с диким типом гена H3F3A [200]. В другом исследовании было показано, что опухоли с мутацией H3 K27M значительно сильнее накапливают контраст, чем при диком типе H3 K27M ( $p < 0,05$ ). Однако другие исследования не выявили статистически значимых различий в степени контрастного усиления между опухолями с мутацией H3 K27M и опухолями «дикого типа» данного гена [49, 126, 179].

Диффузно-инфильтративная опухоль ствола, с распространением на левую ножку мозжечка (рис.75), имеет интенсивный неоднородный многоузловой участок контрастирования в ее структуре. Участок накопления контраста указан красной стрелкой. Красные стрелки показывают на отдаленные очаги опухолевого поражения, расположенные в области прозрачной перегородки. Очаги поражения интенсивно накапливают контрастный препарат.



**Рисунок 75.** Диффузно-инфильтративная опухоль ствола, с распространением на левую ножку мозжечка

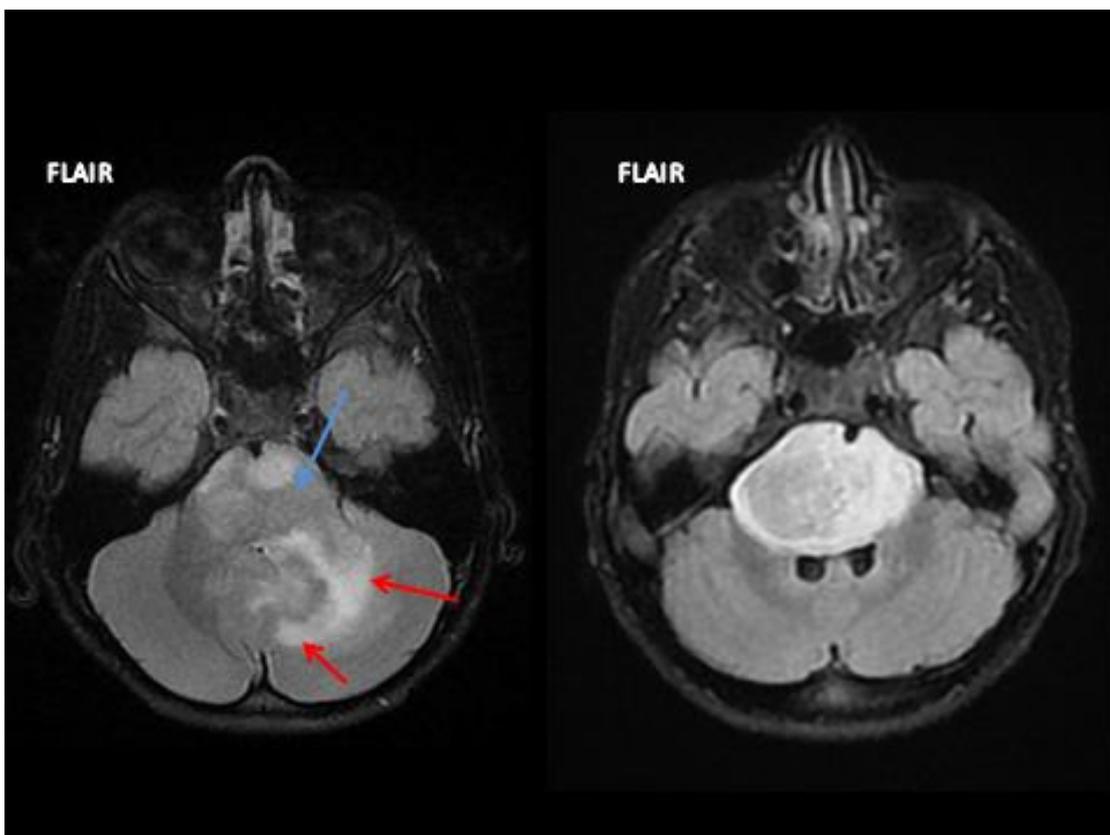
Красная стрелка на рисунке 76 указывает на участки поперечной исчерченности в структуре опухоли, которые видны как изоинтенсивные горизонтальные тонкие полосы, расположенные в толще зоны опухолевого поражения.



**Рисунок 76.** Диффузная срединная глиома моста головного мозга.

Встречаются как четко, так и нечетко очерченные края опухоли. Исследование, проведенное Su и соав. [400], показало, что максимальный диаметр 2D-среза был значительно ниже для глиом с мутацией H3K27M по сравнению с опухолями, характеризующиеся наличием «дикого типа» гена.

Синяя стрелка на рисунке 77 (на левом изображении) указывает на основной компонент ДСГ, расположенный в мосту. Красные стрелки указывают на перифокальный отек, окружающий по контуру зону распространения опухоли на левую гемисферу мозжечка.



**Рисунок 77.** Диффузная срединная глиома моста головного мозга.

Необходимо отметить, что ствол головного мозга был наиболее распространенной локализацией в исследованиях, ориентированных на педиатрическую популяцию [164, 400, 419]. Другой общей чертой было то, что большинство интракраниальных глиом с мутацией H3K27M располагались либо в таламусе, либо в стволе головного мозга, в то время как опухоли с мутацией «дикого типа» гена H3F3 (K27M) были относительно более равномерно распределены по средней линии [164, 200].

Существует ряд дополнительных признаков, косвенно указывающих на предполагаемую степень злокачественности, таких как наличие кист, зон распада, накопление кальцинатов, прорастание в соседние структуры, наличие отсевов и гидроцефалии [33].

Проведённый нами сравнительный анализ структуры опухолей по данным МРТ с использованием условных визуальных признаков, характеризующих строение ДСГ, не выявил достоверных отличий между опухолями с/без наличием мутации в гене H3F3 (K27M), что не позволило

на основании традиционной оценки МРТ-изображений делать выводы о наличии либо отсутствии данного типа мутации в диффузных глиомах ствола и таламусов у детей.

В проведенной нами оценке не использовались такие современные методики МРТ, как магнитно-резонансная спектроскопия, АСЛ-перфузия, T1 или T2\* перфузия ввиду их недостаточного применения в повседневной клинической практике.

В отличие от традиционных рентгенологических методов, радиогеномный текстурный анализ данных МР-визуализации диффузных срединных глиом у детей открывает возможности поиска, так называемых, «биомаркеров изображения» [16], связанных с наличием фенотипических признаков положительного статуса НЗК27М мутации, что позволит определить прогноз заболевания, не прибегая к инвазивным методам верификации.

## **6.2. Текстурный анализ МРТ - изображений головного мозга у пациентов с диффузными опухолями срединных структур и сравнительный анализ результатов проведенного радиомического исследования с данными традиционной оценки МРТ – изображений**

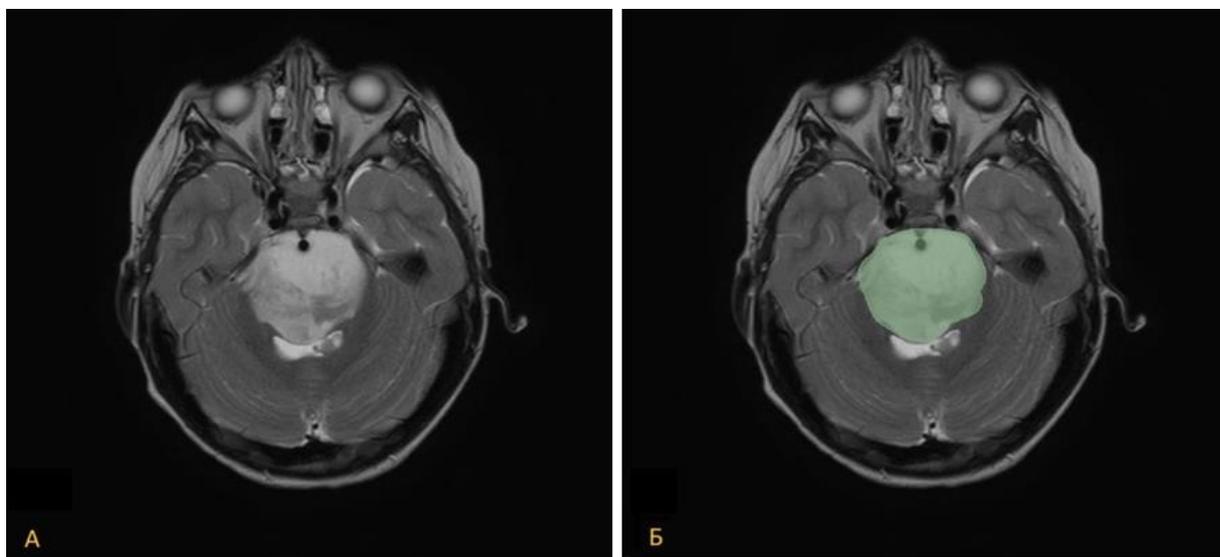
### **Методика радиогеномного анализа**

Процесс получения и обработки информации для радиомического исследования включал несколько этапов.

На первом этапе в рамках традиционной оценки были отобраны МРТ-изображения 98-ми больных с ДСГ, которые были разделены на две подгруппы в зависимости от наличия или отсутствия мутации в гене НЗФ3А по данным МГИ ликвора и крови: без мутации (n=23) и с мутацией (n=75). Данные МРТ для каждого ребенка получены в виде серии аксиальных изображений в формате DICOM. Отобраны T2-взвешенные последовательности (T2ВИ) из серий МРТ, выполненных до начала лучевой терапии. Для сохранения конфиденциальности информации о

пациентах медицинские данные были обезличены.

На втором этапе проводилась ручная сегментация («разметка») данных в специальном программном обеспечении 3D Slicer. В область интереса включались: видимое ядро опухоли, некротические и кистозные изменения в структуре ядра опухоли, перитуморальный отек. После завершения выделения области сегментации, полученные маски сохранялись в формате NIfTI (Neuroimaging Informatics Technology Initiative). Этот формат файлов широко используется при обработке именно медицинских изображений. Кроме того, он хорошо подходит для коллекционирования трехмерных сегментов (рис.78).



**Рисунок 78.** МРТ пациента М., 2008 г.р. с диффузной глиомой ствола мозга, магнитно-резонансная томография головного мозга. (А) Режим Т2ВИ демонстрирует исходный объем опухоли. (Б) Область ручной сегментации зоны интереса (выделена зеленым цветом).

На третьем этапе из базы данных извлекались радиомические признаки. Для извлечения из изображений количественных признаков использовался пакет с открытым исходным кодом PyRadiomics на базе языке программирования Python. Полученные признаки разделялись на статистики первого, второго и высшего порядка, геометрические признаки и текстурные признаки. Выходные данные, представляющие собой многомерное признаковое пространство, в последующем было

дополнительно проанализировано для выявления наиболее информативных признаков для обучения предсказательной модели «классического» машинного обучения. Суммарно в результате радиомического расчета было получено 120 рабочих признаков. Эти многомерные характеристики количественно отражают фенотипические признаки опухоли, учитывающие во внимание её гетерогенность (табл.94).

**Таблица 94.** Радиомические признаки, используемые в исследовании и описание

<b>Радиомический признак</b>	<b>Описание признака</b>
Форма опухоли (Shape)	Геометрические характеристики опухоли - форма, ориентация
Статистика первого порядка (First Order Statistics - FOS)	Распределение интенсивностей вокселей в пределах области интереса
Матрица взаимосвязи уровней серого (GLCM)	Взаимосвязь между парой пикселей с разными уровнями яркости
Матрица размеров зон уровней серого (GLSZM)	Различные зоны с одинаковыми уровнями яркости.
Матрица зависимостей уровней серого (GLDM)	Количественное описание текстур и паттернов на изображении на основе их значений уровня яркости
Матрица разности соседних серых тонов (NGTDM)	Разница между уровнями серого внутри вокселей и средними уровнями серого соседних вокселей, располагающихся на дистанции $\delta$ .
Матрица длины серии уровней серого (GLRLM)	Количественная оценка распределения последовательных пикселей с одинаковыми уровнями яркости на медицинских изображениях.

Следующий этап исследования – это постпроцессинг данных текстурного анализа и обучение моделей машинного обучения с последующей валидацией. Целью постпроцессинга являлось уменьшение размерности признакового пространства. Были убраны признаки, имеющие сильную корреляционную зависимость между собой ( $r > 0.9$ ), а так же близкие по значению к нулю. Проведенный анализ позволил исключить неинформативные, «шумовые» признаки, что, в конечном итоге, привело к выделению 16 наиболее информативных радиомических признаков - mesh volume (shape), surface area (shape), voxel volume (shape), sphericity (shape),

energy (FOS), variance (FOS), cluster prominence (GLCM), cluster shade (GLCM), dependence non-uniformity (GLDM), large dependence high gray level emphasis (GLDM), long run high gray level emphasis (GLRLM), run length non-uniformity (GLRLM), large area emphasis (GLSZM), large area high gray level emphasis (GLSZM), zone variance (GLSZM), complexity (NGTDM).

Для машинного обучения были выбраны как классические модели машинного обучения, так и модели глубокого машинного обучения (нейросети). Для задачи классификации были использованы следующие модели классификаторов: решающие деревья (decision tree), случайный лес (random forest), классификатор AdaBoost, метод опорных векторов (SVM), классификатор k-ближайших соседей (k-nearest neighbors), градиентный бустинг (LightGBM), логистическая регрессия и гребневая регрессия. Также были применены и классифицирующие методы глубокого обучения: TabPFN – нейросеть, ориентированная на работу с небольшими табличными данными и направленная на решение задач классификации данных; TabR – нейросеть прямого распространения со встроенным компонентом, работающим по принципу метрического алгоритма k-ближайших соседей, решающего задачи классификации или регрессии. Модель, также как и TabPFN, ориентирована на работу с табличными данными; MLP - многослойный перцептрон, представляющий собой математическую модель, которая используется для задач классификации и регрессии и состоит из нескольких слоёв искусственных нейронов, которые последовательно обрабатывают входные данные; Scarf – самообучающаяся модель глубокого обучения, подходящая для обработки и анализа изображений.

В нашем случае, для обучения доступно только около 100 МРТ-сканов с известной классификацией (наличие мутации или ее отсутствие), причем данные сильно несбалансированные: около 75% МРТ-сканов с мутацией и лишь 23% - без мутации. Этот дисбаланс усложняет процесс обучения моделей, поскольку они могут переобучиться на доминирующий класс, игнорируя редкие случаи.

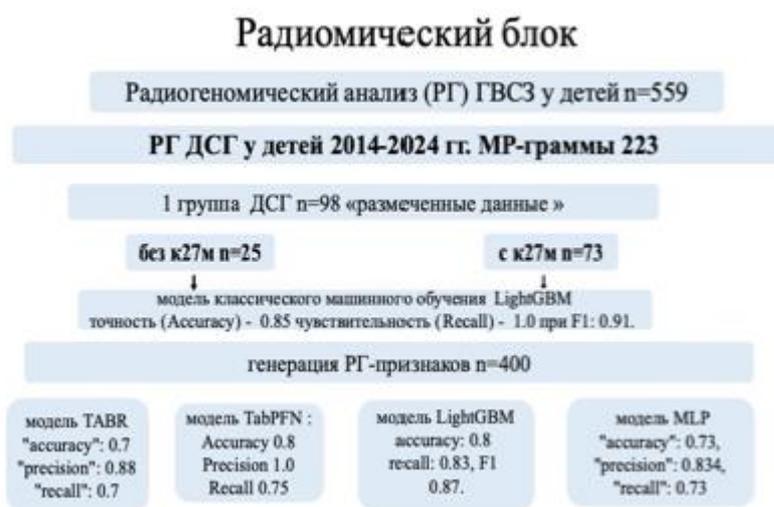
Учитывая небольшой общий объем датасета и имеющийся дисбаланс данных, в исследовании были применены генеративные модели для создания синтетически сгенерированных радиометрических данных: TAB-DDPM. Синтетические данные — это искусственно созданные наборы данных, которые имитируют реальные и помогают сбалансировать исходные данные за счет генерации новых данных в минорном классе (класс без мутации), а также позволяют увеличить их количество, что может способствовать улучшению обучения моделей и повышению их точности.

В исследовании было применено три подхода для генерации синтетических данных: StyleGAN, SMOTE и более современная модель TAB-DDPM, разработанная в Яндекс. StyleGAN позволяла генерировать новые МРТ-сканы с достаточно хорошим качеством, однако их было необходимо дополнительно «размечать» вручную, что значительно усложняло процесс, поэтому мы отказались от этого метода ввиду его высокой трудоемкости. Два других подхода SMOTE и TAB-DDPM создают синтетические данные на основе радиометрических признаков, извлеченных из МРТ-сканов. Соответственно, результатом работы этих подходов являлись не сгенерированные новые МРТ-изображения, а наборы радиометрических признаков, что упростило работу с данными и устранило необходимость в дополнительной «разметке» МРТ-сканов.

Исследование показало, что TAB-DDPM более эффективно справляется с задачей генерации синтетических данных для табличных наборов по сравнению с SMOTE. Эта модель основывается на диффузии и может генерировать качественные данные, сохраняя структуру, зависимости и свойства оригинальных медицинских данных. Мы использовали 16 наиболее значимых радиометрических признаков, которые были извлечены из МРТ-сканов пациентов. Исходные размеченные данные были разделены на обучающую и тестовую выборки в соотношении 70% к 30%. Далее мы обучили модель TAB-DDPM на обучающей выборке, чтобы сгенерировать

синтетические данные для минорного класса (без мутации), а также для увеличения общего количества данных.

В результате мы создали два новых набора данных путем объединения оригинальных размеченных данных из обучающей выборки с синтетическими данными, сгенерированными с помощью TAB-DDPM. Оба набора были сбалансированы по количеству записей для каждого класса (50% с мутацией к27м и 50% без мутации к27м). Первый набор содержит 200 строк, а второй — 400 строк за счет добавления большего количества синтетических данных (рис.79).

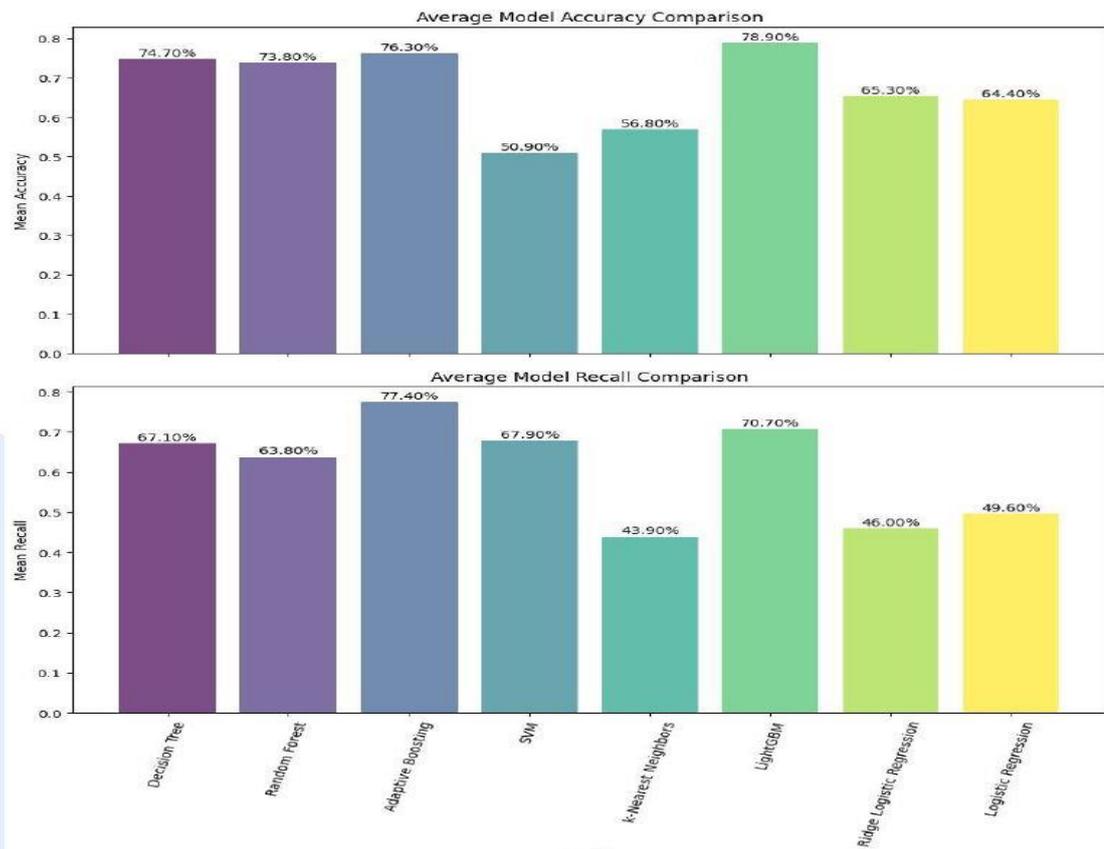


**Рисунок 79.** Дизайн исследования – радиомический блок

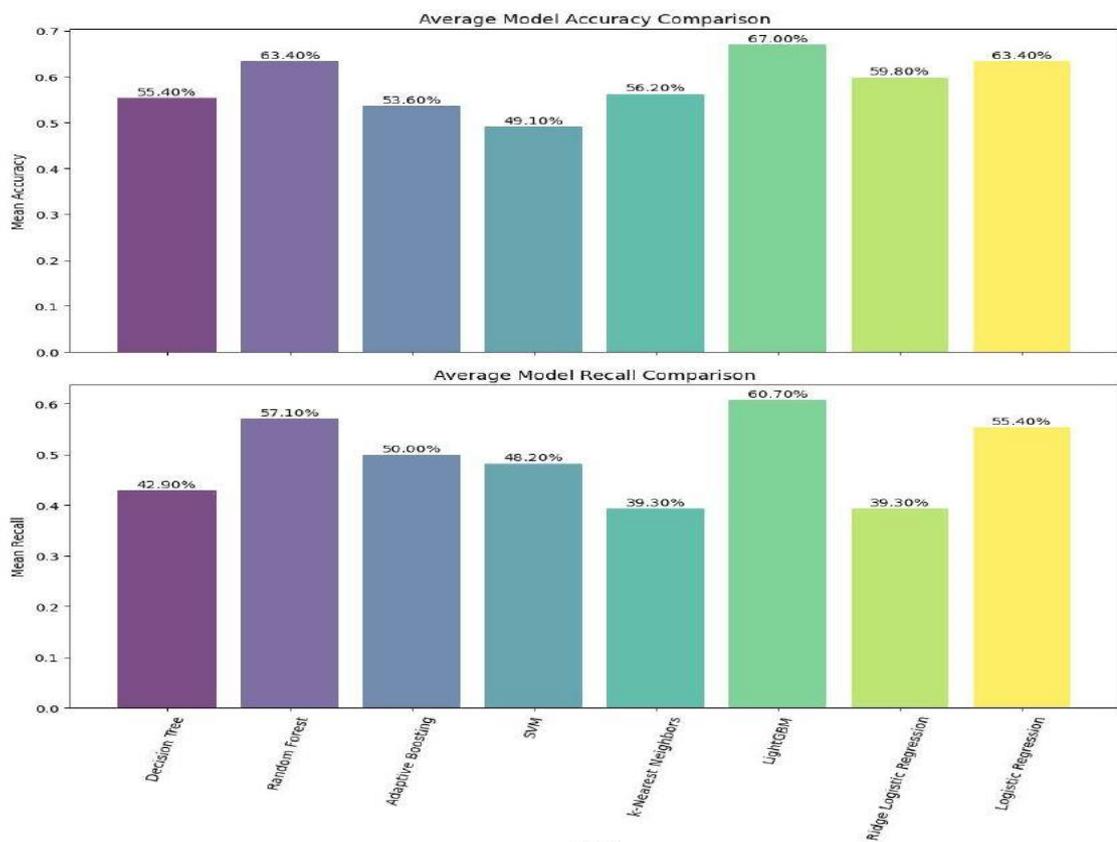
### Результаты радиогеномного исследования

Данные были разделены на тренировочную (70%) и тестовую выборки (30%). Для оценки качества классификации модели выбраны такие метрики, как: accuracy (общая точность), precision (точность по положительным результатам), recall (чувствительность), F1-метрика.

Обучение проведено на размеченных данных (пациенты с известным мутационным статусом Н3к27м) и на смешенных данных (размеченные и неразмеченные). Результаты обучения данных моделей представлены на рисунках 80,81.



**Рисунок 80.** Результаты обучения моделей машинного обучения на размеченных данных



**Рисунок 81.** Результаты обучения моделей машинного обучения на смешанных данных (размеченные и неразмеченные)

Как следует из результатов, представленных на рисунке 80 и 81, с задачей классификации лучше справлялись модели, обученные на данных с известным мутационным статусом. При этом наилучшие результаты показали модели адаптивного бустинга (accuracy 0,76; recall 0,77) и градиентного бустинга (accuracy 0,789; recall 0,7). При обучении на смешанных данных, оказалось, что методы машинного обучения хуже справляются с поставленной задачей классификации и являются неудовлетворительными, хотя и с положительной тенденцией у модели градиентного бустинга (accuracy 0,67; recall 0,6).

Следующим этапом являлось исследование моделей глубокого машинного обучения. При этом определено 2 подхода – экспериментов.

**Первый подход.** Целью в данном случае являлась демонстрация других моделей машинного обучения на радиометрических показателях пациентов с известным мутационным статусом НЗК27М (размеченные данные). Проводилось обучение моделей Scarf, MLP, TabR. В результате валидации моделей были получены следующие результаты: для Scarf - accuracy 0.75; precision 0.56; recall 0.75; для MLP - accuracy 0.8; precision 0.64; recall 0.8; для TabR - accuracy 0.8; precision 0.64; recall 0.8. Несмотря на неплохую точность (accuracy), метрика precision указывает на то, что все три модели пропускают случаи с положительным мутационным статусом, что является крайне нежелательным явлением.

**Второй подход.** Проведено обучение моделей машинного обучения на данных пациентов с известным мутационным статусом (размеченные данные), содержащих 200 и 400 дополнительно синтезированных экземпляров. Обучены и протестированы модели машинного обучения: MLP, TabR, TabPFN для обоих наборов данных. Для данных, содержащих 200 генераций, при обучении MLP, тестирование выявило следующие значения метрик: accuracy 0.67; precision 0.78; recall 0.67. Низкий уровень общей точности (accuracy) указывал на проблемы с обобщением и возможное переобучение на тренировочных данных. При тестировании модели TabR

были выявлены следующие метрики: accuracy 0.8; precision 0.86; recall 0.8. Высокие значения метрик указывают на хорошую обобщающую способность TabR. Это означало, что модель справляется с задачей классификации. При тестировании модели TabPFN получены значения метрик: accuracy 0.87; precision 0.95; recall 0.88. Высокие значения метрик качества модели указывали на высокую обобщающую способность и означали, что модель хорошо классифицирует тестовые данные.

Таким же образом проанализирован набор данных, содержащий 400 генераций. Обучение и тестирование модели MLP продемонстрировало следующие метрики: accuracy 0.73; precision 0.83; recall 0.73. Как и в случае с 200 генерациями, MLP демонстрирует проблемы с обобщением на тестовой выборке, что может указывать на переобучение. В результате обучения и тестирования TabR были получены метрики: accuracy 0.7; precision 0.88; recall 0.7. TabR показывала хорошие и стабильные результаты на всех выборках, что свидетельствует о его способности к обобщению и высокой эффективности. Для модели TabPFN определились метрики: accuracy 0.8; precision 1.0; recall 0.75. Снижение recall до 0.75 указывает на проблемы с предсказанием положительных классов. В таблице 95 представлены результаты 1 и 2 подходов - экспериментов.

**Таблица 95.** Результаты 1-го и 2-го подхода обучения моделей машинного обучения

Модель (данные)	Accuracy	Precision	Recall
Scarf (с известным h3k27m статусом)	0,75	0,56	0,75
MLP (с известным h3k27m статусом)	0,8	0,64	0,8
TabR (с известным h3k27m статусом)	0,8	0,64	0,8
MLP (+200 генераций)	0,67	0,78	0,67
TabR (+200 генераций)	<b>0,8</b>	<b>0,86</b>	<b>0,8</b>
TabPFN (+200 генераций)	<b>0,87</b>	<b>0,95</b>	<b>0,88</b>
MLP (+400 генераций)	0,73	0,84	0,73
TabR (+400 генераций)	0,7	0,88	0,7
TabPFN (+400 генераций)	<b>0,8</b>	<b>1,0</b>	<b>0,75</b>

Из данных, представленных в таблице 95 можно сделать вывод о том, что наилучшей обобщающей способностью, полученной в результате

обучения, обладают TabPFN и TabR, работающие с табулярным представлением радиомических признаков. При этом лучшие результаты показали наборы радиомических признаков, сбалансированные умеренным количеством синтетически сгенерированных данных, так как при дальнейшем увеличении компонента сгенерированных данных в исследованиях модели ухудшают свои обобщающие способности.

Таким образом, нами показано, что анализ текстур МРТ изображения глиом с использованием алгоритма TABPFN, позволяет с высокой достоверностью прогнозировать наличие или отсутствие мутации гена H3F3 K27M в ткани опухоли. Эти результаты позволяют, во-первых, судить о возможности получения генетической информации для злокачественных глиом на основании текстурного анализа МРТ изображения, а во-вторых, использование данного подхода дает перспективы неинвазивного анализа молекулярно-генетического статуса малодоступных опухолей мозга для планирования прогноза и таргетной терапии.

### **Обсуждение**

Диффузные опухоли срединных структур демонстрируют генетическое разнообразие как между опухолями, так и внутри них, что приводит к разнообразным фенотипам опухоли, прогрессированию заболевания и терапевтической резистентности.

Микроокружение опухоли представляет собой сложную экосистему, включающую клетки иммунной системы, фибробласты, внеклеточный матрикс и цитокины, стромальные клетки. Поэтому изменения в окружающей среде влияют на инициацию опухоли, ее прогрессирование и ответ на проводимую терапию [84]. Поэтому всестороннее понимание гетерогенности опухолевого окружения имеет решающее значение для точной прогностической оценки и эффективного ведения больных, страдающих ДСГ.

Стандартом диагностического обследования пациентов с первичными

опухольями ЦНС является выполнение МРТ головного мозга. Современные возможности МРТ позволяют с высокой степенью достоверности проводить как дифференциальную диагностику с другими заболеваниями, так и уточнить природу первичной опухоли ЦНС [17, 39].

Применение современных методов нейровизуализации способствует принятию правильного решения при выборе лечебной тактики, позволяет оценить эффективность лечения [13, 38].

Различным гистологическим вариантам опухолей ствола головного мозга присущи особенности, визуализируемые методом МРТ. Так, одним из основополагающих диагностических критериев при оценке строения опухоли является её ограниченность. Принципиально визуализируемые глиомы делятся на МР-отграниченные, имеющие четкие границы на снимках, и МР-диффузные, с неоднородным изменением сигнала. Первые более характерны для глиом низкой степени злокачественности, вторые - для глиом высокой степени злокачественности. Однако эти данные неспецифичны; учитывая склонность таких новообразований к гетерогенности, не всегда можно точно оценить и отнести опухоль к той или иной гистологической группе [6, 25].

Радиомика – это направление, сочетающее в себе радиологию, математическое моделирование и глубокое машинное обучение. Этот гибридный подход включает в себя анализ текстуры изображения и количественную оценку для неинвазивной оценки злокачественности опухоли на основе объективных радиомических признаков. В процессе анализа из медицинских изображений извлекаются количественные характеристики, а затем эти характеристики связываются с биологическими конечными точками и клиническими результатами.

Необходимо понимать, что мутационный статус опухоли также важен, как одна из наиболее значимых прогностических молекулярных мишеней, которые вносят существенный вклад в понимание патофизиологии ДСГ – это мутация *K27M* в гене *H3F3A*. Исследования, в

которых была обнаружена связь между радиометрическими и молекулярно-генетическими параметрами, подпадают под определение радиогеномики [41].

На сегодняшний день радиомика применялась для прогнозирования мутации IDH, экстраполяции уровня инфильтрации иммунных клеток при глиомах низкой степени злокачественности, а также для прогнозирования выживаемости при глиомах и оценки степени инфильтрации макрофагов при глиомах [457]. Однако область радиогеномики диффузной срединной глиомы головного мозга остается относительно неизученной, поэтому в нашем исследовании мы попытались выяснить потенциальные корреляции между МРТ-признаками и мутацией K27M в исследуемом гене H3F3A, где целью было идентифицировать радиогеномные сигнатуры мутаций и исследовать потенциал визуализации данных мутаций, как биомаркера для прогнозирования прогноза при ДСГ. В отличие от традиционных исследований, основанных на данных, которые фокусируются на выявлении клинически значимых сигнатур изображений, наш радиогеномный анализ направлен на выявлении мутации в гене H3F3A, тем самым предоставляя дополнительную информацию на геномном уровне, имеющую важное биологическое значение [29].

Необходимо отметить, что машинное обучение, которое применялось в нашем исследовании, а в частности глубокое машинное обучение, – это класс методов искусственного интеллекта, в основе которых лежат математические модели, предназначенные для автоматического поиска наилучшего достижения поставленных целей [26]. Среди общих задач машинного обучения находятся задачи классификации, регрессии, кластеризации и другие. Так, например, для задач классификации опухолей в соответствии с их гистологическим типом применимы такие традиционные алгоритмы машинного обучения как метод опорных векторов (SVM), либо метод случайного леса. Однако необходимость ручной или полуавтоматической сегментации медицинских изображений делает этот подход очень

трудоемким и недостаточно объективным ввиду наличия элемента субъективности в каждом отдельном случае и необходимости дополнительной обработки большого массива данных [6, 16].

Глубокое машинное обучение, как метод с использованием многослойных нейронных сетей, по сравнению с традиционными методиками, открывает новые возможности для автоматической сегментации данных, опираясь на объективные критерии, рассчитываемые математическими алгоритмами. Именно создание таких нейросетей послужило импульсом к бурному развитию радиогеномики в последнее десятилетие. Примером применяемых с этой целью нейросетей могут служить сверточные нейросети CNN (convolutional neural network) [42].

Объективно, на данном этапе полученный результат сохраняет значительный потенциал для дальнейшего совершенствования модели. Прогностическая ценность визуализации при установленной мутации в гене H3F3A, которая служит суррогатом для анализа прогноза, пока остается неопределенной. Для этого в дальнейшем целесообразно проанализировать радиомические признаки в динамике с учетом особенностей течения и исхода заболевания. В настоящее время, ввиду получения удовлетворительных критериев эффективности модель может быть применена в клинической практике для распознавания глиом с мутацией K27M в гене H3F3A.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диффузные срединные глиомы (ДСГ) головного мозга - наиболее тяжелые онкологические заболевания у детей и взрослых.

Заболеваемость глиомами среди пациентов детского возраста составляет 45,7%, где до 12% составляют ДСГ [417]. В большинстве своем случаев ДСГ чаще встречаются у детей, у взрослых данная патология составляет около 1-2% от всех опухолей головного мозга. Согласно данным исследования Национального института рака в США, проведенного в 2021 году, показатель заболеваемости ДСГ с поправкой на возраст составил 0,311 случая на 100 000 человек в период с 2004 по 2016 год. Дети и подростки (0-19 лет) составили 34,3% от всех пациентов. Всего было проанализировано 3387 пациентов с ДСГ, из них ГВСЗ составили около 85% случаев [218, 250, 347].

За последние три десятилетия выживаемость при ДСГ сохраняется неизменной, медиана общей выживаемости (ОВ) остается низкой (8-11 месяцев), более 90% детей умирают в течение 2-х лет после постановки диагноза [193].

Основным методом лечения ДСГ в настоящее время является радиотерапия (РТ), однако результаты лечения в течение многих лет остаются неудовлетворительными.

Систематический обзор, проведенный Gallitto и соавт., показал, что медиана ОВ пациентов, получавших стандартную или модифицированную гипер- или гипофракционированную фотонную РТ, оставалась неизменной в период с 1988 по 2017 год. У пациентов с рецидивирующими или прогрессирующими ДСГ повторная фотонная РТ продлевала ОВ (у детей примерно на 4 месяца) и позволяла контролировать процесс прогрессирования опухоли [159].

Определенные надежды возлагаются на применение современных таргетных препаратов, назначение которых должно быть обосновано

результатами морфологического и молекулярно-генетического исследования опухолевой ткани.

Вместе с тем, проведение радикального хирургического вмешательства при ДСГ невозможно ввиду диффузно-инфильтративного характера роста с вовлечением проводящих путей и структур ствола головного мозга, а возможности получения биопсийного материала (стереотаксическая биопсия – СТБ), ограничены относительно небольшим процентом случаев в условиях крупных специализированных нейрохирургических центров. Кроме того, проведение СТБ зачастую сопряжено с рядом серьезных осложнений.

Ранняя диагностика ДСГ определяет успех лечения и соответственно влияет на прогноз заболеваний.

Современные инновационные методы биопсии (жидкостная биопсия, стереотаксическая биопсия и виртуальная биопсия) и доставки препаратов с усилением конвекции предоставили новые возможности для совершенствования диагностики и существующей лечебной тактик [45].

Одним из альтернативных СТБ способов получения информации о молекулярном статусе ДСГ, является жидкостная биопсия. Жидкостная биопсия является безопасным и эффективным вариантом верификации диагноза у пациентов с ДСГ. Жидкостная биопсия в большей степени, чем СТБ не зависит от гетерогенности опухоли и позволяет отслеживать эволюцию опухоли на фоне терапии.

При опухолях головного мозга в крови и спинномозговой жидкости (ликвор) обнаруживаются фрагменты опухолевой ДНК (цоДНК), обладающие высокой специфичностью и отражающие различные типы мутаций (в т. ч., точечные мутации и амплификации) в клетках глиомы. Обнаружение в крови и ликворе цоДНК в ряде случаев, может существенно опережать изменения на КТ и МРТ [131, 162, 281, 344, 426].

Анализ изменения содержания нуклеиновых кислот опухоли в течение РТ или после ее окончания позволяет проводить оценку эффекта

проводимого лечения и прогноза заболевания, оценить радиочувствительность опухоли [45].

Результаты жидкостной биопсии материала плазмы периферической крови и ликвора при неверифицированных ДСГ по выявляемости основных («драйверных») молекулярно-генетических маркеров заболевания, являются основой для создания программ уточненной диагностики, прогнозирования и персонализированной, в том числе и таргетной терапии [45]. Мутации в генах IDH1/2, TP53, EGFR, BRAF, H3K27M, а также статус метилирования гена MGMT наиболее часто рассматриваются как одни из самых перспективных прогностических маркеров ДСГ.

Основанием для постановки диагноза и определения показаний к проведению курса РТ у пациентов с недифференцированными ДСГ являются данные МР (магнитно-резонансной) - визуализации. В сложных случаях диагностики прогрессирования (псевдопрогрессия, радионекроз, нетипичная локализация) используется позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) с метионином или тирозином для оценки степени активности патологического процесса и конкретизации степени злокачественности опухоли.

МРТ имеет преимущества при мониторинге временных и пространственных характеристик опухоли. Сегодняшний прогресс в области использования искусственного интеллекта для обработки и анализа медицинских изображений, позволяет превратить МР-изображения в количественные и поддающиеся обработке данные.

«Виртуальная биопсия» представляет собой текстурный анализ изображений [252]. Биомаркеры изображений (БМИ), представляют собой вычисленные на основе анализа текстуры цифровых изображений параметры, характеризующие различные патологические изменения, с помощью которых проводится количественная оценка результатов цифровых методов визуализации (КТ, МРТ, УЗИ, ПЭТ). Особую роль играет применение БМИ в виде «виртуальной биопсии» [234].

Биомаркеры изображений позволяют улучшить прогнозирование местного рецидива, ответ на лечение, чувствительность к химиолучевой терапии и показатели безрецидивной выживаемости [437].

Основной диагностической задачей радиомики (науки, совмещающей в себе радиологию, математическое моделирование и глубокое машинное обучение) в онкологии является точное разграничение доброкачественных и злокачественных образований с использованием неинвазивных методов диагностики, а также оценка изменений в динамике на фоне проводимой терапии. Радиогеномика объединяет фенотипы изображений с молекулярными профилями опухолей (фенотипами визуализации) для построения прогностических моделей, определяющих диагностику, лечение и прогноз патологии [64, 163, 234, 240, 295, 405, 418].

В исследовании Ghaffari M. и соав [166] был разработан алгоритм на основе 3064 МРТ - изображений 233 больных для дифференциальной диагностики различных опухолей головного мозга, точность классификации опухолей по степени злокачественности составила 0,99 и 0,97 соответственно.

Безусловно, когда известен генотип и фенотип опухоли, то возможен выбор определенного, наиболее подходящего метода визуализации для определения местоположения опухоли, степени распространенности заболевания. Однако при ДСГ лишь в редких исследованиях пытались соотнести особенности визуализации с биологическими коррелятами, такими как тип мутировавшего гистона H3K27M.

Прогностическое значение мутации H3 K27M широко изучалось при ДСГ [52, 107, 126, 139, 232, 258, 286, 448]. ГВСЗ с мутацией H3 K27M обладают более агрессивным клиническим течением в сравнении с ГВСЗ другой генетической природы. Одной из важных особенностей данных опухолей является связь мутации K27M со срединной локализацией и плохим клиническим прогнозом. Для детей, страдающих ДСГ, наличие H3 K27M – крайне неблагоприятный прогностический фактор. Вместе с тем, для

супратенториальных глиом у взрослых с мутацией K27M показатели выживаемости достоверно не отличаются [286]. Необходимость дальнейшего развития и внедрения новых методов неинвазивной молекулярно-генетической верификации ДСГ, использования биомаркеров изображений в сочетании с математическим моделированием и глубоким машинным обучением для оценки молекулярного статуса опухоли, прогнозирования ответа и повышения чувствительности опухолей к РТ, определения показаний к раннему применению повторной РТ, таргетной терапии у пациентов с ДСГ определили актуальность настоящего исследования.

Таким образом, целью нашего исследования являлась оптимизация диагностики и тактики лечения диффузных срединных глиом у детей и взрослых на основе анализа результатов комплексного молекулярно-генетического и радиогеномного исследования.

Для решения поставленной нами цели на базе отделений клиники лучевой терапии ФГБУ «Российского научного центра рентгенорадиологии» (РНЦРР), в период с 2014 по 2024 г.г. был проведен отбор пациентов с глиомами высокой степени злокачественности головного мозга согласно критериям включения/исключения. Из данной выборки в раздел молекулярно-биологического исследования было включено 209 пациентов, из них 128 пациентам проводилось хирургическое лечение с последующей гистологической оценкой операционного материала и молекулярно-генетическим исследованием ткани опухоли.

При гистологическом исследовании ткани опухоли, было установлено следующее: высокая степень злокачественности опухоли мозга (Gr 3-4) имела у 92,2% пациентов. В опухолевой ткани были выявлены следующие мутации: мутация K27M гена *H3F3A* – у 22 пациентов (17,2%); мутация V600E гена *BRAF* – у 9 пациентов (7,0%); мутация R132H гена *IDH1* – у 15 пациентов (11,7%); мутация R140Q гена *IDH2* – 0 случаев.

В ходе исследования при решении задачи по изучению молекулярно-генетического профиля цодНК у пациентов с ГВСЗ (в том числе, с ДСГ) в

периферической крови и ликворе методом полимеразной цепной реакции (цкПЦР), а также в ликворе методом секвенирования нового поколения (NGS) был получен ряд важных результатов.

Были выявлены отличия в частоте выявляемости мутантных форм свободно циркулирующей опухолевой ДНК и значениях показателей относительной концентрации мутантной цоДНК и цоДНК «дикого типа» генов *H3F3A*, *IDH1*, *IDH2*, *BRAF* в ликворе и крови пациентов с ГВСЗ (в том числе, с ДСГ).

В образцах плазмы периферической крови (n-209) и образцах ликвора (n-96) с наибольшей частотой выявлялись мутантные формы свободно циркулирующей опухолевой ДНК *K27M* в гене *H3F3A*: в плазме периферической крови - 24,9%, в ликворе – 35,4%. Мутация *R140Q* в гене *IDH2* выявлялась в 16,7% и 16,7%, соответственно. Мутация *R132H* в гене *IDH1* – 13,4% и 26,0%, соответственно. Мутация *V600E* в *BRAF* - в 11%, в ликворе – в 3,1%.

Сравнительный анализ распределения мутантных форм исследуемых генов между образцами ликвора и крови показал, что для *BRAF* (*V600E*) и *IDH2* (*R140Q*) была характерна более высокая частота обнаружения в материале периферической крови, в то время как для *H3F3A* (*K27M*) и *IDH1* (*R132H*) наиболее информативным являлся материал ликвора.

При сравнении результатов исследования образцов ликвора и крови (n-96) было установлено, что мутантные формы сцДНК в ликворе и крови определялись с разной частотой: в 78 (81,2%) случаях в материале ликвора, в периферической крови - в 73 (76,0%) случаях. С разной частотой выявлялись также различные сочетания мутаций в исследуемых генах: в 13,5% случаев в ликворе, в 20,83% случаев в плазме периферической крови.

В ликворе в 12 случаях были выявлены различные варианты двойных мутаций и в 1 случае – тройное сочетание мутаций. Наиболее частой мутацией при сочетанных формах являлась *H3F3A* (*K27M*), которая была

обнаружена в 8 (66,70%) случаях множественных мутаций. Наиболее частым сочетанием - *IDH1 (R132H)/H3F3A (K27M)*, выявленное в 5 случаях (41,67%).

В плазме периферической крови наиболее частым сочетанием мутаций явилось *IDH2 (R132H)/H3F3A (K27M)*, выявленное в 7 случаях (35%). Также было установлено, что не всегда наблюдается одновременное обнаружение мутантных форм в ликворе и крови, особенно выражены отличия были в выявляемости для *BRAF (V600E)* и *IDH1 (R132H)*.

У пациентов с ГВСЗ статистически наибольшие значения показателей относительной концентрации цоДНК мутантных генов *H3F3A* и *IDH1* были в ликворе в сравнении с кровью, а для генов *IDH2* и *BRAF* - в крови в сравнении с ликвором.

Статистически более высокие значения показателей относительной концентрации цоДНК «дикого типа» гена *IDH1* были в крови (17.1) в сравнении с ликвором (9.5), ( $p=0.0007$ ), для «дикого типа» *BRAF (V600E)* – в ликворе в сравнении с кровью ( $p=0.022$ ), для «дикого типа» *H3F3A (K267M)* - в ликворе в сравнении с кровью ( $p=0.030$ ), для *IDH2 (R140Q)* - в крови в сравнении с ликвором ( $p=0.058$ , приближено к статистически значимому).

У пациентов с ДСГ также статистически значимо преобладали показатели относительной концентрации цоДНК мутантных генов *H3F3A* и *IDH1* - в ликворе в сравнении с кровью, а для дикого типа гена *IDH1* - в крови в сравнении с ликвором

В отличие от ГВСЗ иных локализаций у пациентов с ДСГ наибольшее значение показателей концентрации цоДНК мутантного гена *BRAF* и ДНК «дикого типа» *BRAF* было выявлено в крови.

При сравнении частоты выявленных мутаций по локализации процесса было установлено, что мутантная форма *H3F3A (K27M)* с высокой частотой обнаруживалась при локализации опухоли в области больших полушарий, лобных долей и ствола мозга, причем и в материале ликвора и крови. При одновременном обнаружении *H3F3A (K27M)* в материале ликвора и крови в 60% данная мутация сочеталась с наличием других мутантных форм: в 27%

случаев идентифицировалась также мутация *IDH1 (R132H)*, в 20% - *BRAF (V600E)*, в 6,67% - *IDH2 (R140Q)* и в 6,67% было выявлено тройное сочетание *H3F3 (K27M)* с *IDH1 (R132H)* и *IDH2 (R140Q)*.

Также были показаны различия по информативности биоматериала. В случаях обнаружения мутации *K27M* только в материале ликвора, опухоль локализовалась в лобных долях, стволе или имело место обширное поражение, более одной локализации. При обнаружении *H3F3A (K27M)* в крови и в материале ликвора в спектр локализаций также попадал большой мозг, при этом в ликвор не попадали мутантные формы *H3F3A (K27M)* при локализациях в височных и теменных долях, хотя эти мутантные формы были обнаружены в крови пациентов.

При изучении цоДНК гена *IDH1* с мутацией *R132H* были выявлены похожие закономерности, когда больший процент случаев был характерен для пациентов, у которых патологический процесс анатомически локализовался в стволе мозга или лобных долях. В ликворе и крови у больных с опухолями ствола удельный вес выявляемости мутации *R132H* в гене *IDH1* в структуре выявленных мутаций для данной локализации опухоли составил 31,11% для ликвора и 15,56% для крови, соответственно, у пациентов с глиомами лобных долей - 40,00% и 20,00%, соответственно.

Наибольший процент выявляемости мутации *R140Q* в гене *IDH2* был при локализации опухоли в области ствола мозга, в ликворе - 56,25% и в крови - 44,44%. Наиболее информативным оказался материал ликвора.

Результаты доказывают высокую эффективность определения цоДНК как мутантного типа, так и «дикого типа» гена в периферической крови и в ликворе.

Так, при сравнении показателей относительной концентрации мутантной формы гена *H3F3A (K27M)* и ДНК «дикого типа» гена *H3F3A (K27M)* в ликворе и крови не было выявлено статистически значимых отличий медиан ( $p=0.153$  и  $p=0.173$ ) относительной концентрации обеих форм, что доказывает равную прогностическую информативность ликвора и

периферической крови при оценке цоДНК для мутантной формы гена *H3F3A* (*K27M*) и «дикого типа» гена *H3F3A* (*K27M*).

Между ликвором и кровью были выявлены статистически значимые различия медиан относительной концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *BRAF(V600E)* ( $p=0.021$ ) и ДНК «дикого типа» гена *BRAF(V600E)* ( $p=0.022$ ). Наибольшее значение свободно циркулирующей ДНК преимущественно было в ликворе.

Медиана относительной концентрации «дикого типа» гена *IDH1(R132H)* была достоверно выше в материале крови ( $p=0,0007$ ), в то время как медиана относительной концентрации мутантного ДНК гена *IDH1(R132H)* статистически достоверно была выше в ликворе ( $p=0,009$ )

Результаты исследования в ликворе частоты выявления мутантных форм циркулирующей опухолевой ДНК генов *H3F3A* и *BRAF* методом цкПЦР и методом NGS показали сопоставимость по частоте выявляемости мутаций.

Для гена *H3F3A* частота выявления мутации *K27M* методом цкПЦР составила 40%, методом NGS -54,17% (после валидации результата путем занижения порогового уровня выявляемости мутаций); мутации *V600E* для гена *BRAF*– 10% и 12,0%, соответственно.

Таким образом, полученные результаты оценки молекулярно-генетического профиля опухоли по материалу периферической крови и ликвора методом ddPCR дают основания для рекомендации дальнейшего использования данного метода для получения объективных данных молекулярного статуса опухоли.

В ходе решения задачи по сравнению частоты выявляемости мутантных форм цоДНК в генах *H3F3A*, *IDH1*, *BRAF* в периферической крови и ликворе с аналогичными данными в ткани опухоли были получены следующие важные результаты.

Были выявлены достоверные отличия в частоте выявляемости в ткани, ликворе и плазме периферической крови пациентов с ГВСЗ (в том числе, с

ДСГ) мутантных форм свободно циркулирующей опухолевой ДНК: *K27M* для гена *H3F3A*, *R132H* для гена *IDH1*, *V600E* для гена *BRAF*.

Частота общей выявляемости мутантных форм цоДНК в генах *IDH1*, *H3F3A*, *BRAF* у пациентов с ГВСЗ в крови и ликворе была выше, чем в опухолевой ткани (72,8%, 52,5%, 37,3%, соответственно). В структуре выявленных мутаций во всех исследуемых средах (кровь, ликвор, ткань) преобладала мутация *R132H* в гене *IDH1* (27,1%, 27,1%, 18,6%, соответственно) и *K27M* в гене *H3F3A* (25,4 %, 20,3 %, 10,2 %, соответственно).

Имелось статистически значимое увеличение медиан показателей концентрации мутантного варианта *H3F3A* (*K27M*) в ликворе ( $p=0.017$ ), мутантного варианта *BRAF(V600E)* ( $p=0.024$ ) в крови в сравнении с опухолевой тканью.

Частота общей выявляемости мутантных форм цоДНК в генах *IDH1*, *H3F3A*, *BRAF* у пациентов с ДСГ в крови и ликворе была выше, чем в опухолевой ткани (39,3%, 57,1%, 35,7%%, соответственно). В структуре одновременно выявленных мутаций во всех исследуемых средах (кровь, ликвор, ткань) преобладала мутация *R132H* в гене *IDH1* (14,3%, 28,6%, 21,4%, соответственно) и *K27M* в гене *H3F3A* (14,3 %, 21,4 %, 10,7 %, соответственно).

Полученные результаты подтверждают необходимость и информативность проведения исследований крови и ликвора для получения достоверных молекулярно-генетических данных и последующей оценки молекулярного профиля опухолей головного мозга.

Решение следующей задачи было посвящено анализу МР-изображений у пациентов с ДСГ с целью верификации данных, характерных для ДСГ с мутацией *K27M*.

Традиционная оценка МР-изображений, проведенная с использованием условных семиотических признаков, характеризующих строение ДСГ, не

выявила достоверных отличий между глиомами с наличием мутации в гене *H3F3A* (K27M) или без нее.

Результаты проведенного радиомического анализа с использованием 16 наиболее информативных радиомических признаков, показали удовлетворительную обучаемость моделей классического машинного обучения в распознавании признаков, характерных для ДСГ с наличием мутации K27M в гене *H3F3A*: адаптивного бустинга (ассурасу (общая точность) - 0,76; recall (чувствительность) - 0,77) и градиентного бустинга (LightGBM) (accuracy 0,789; recall 0,7).

Проведенное исследование с применением моделей классического машинного обучения для анализа радиогеномных признаков ДСГ (оригинальных «размеченных» данных из обучающей выборки с синтетически сгенерированными радиомическими данными) показал, что наилучшей обобщающей способностью в распознавании характерных для наличия мутации K27M в гене *H3F3A* радиогеномных признаков обладают модели TabPFN и TabR. Для модели TabR показатели составили: ассурасу - 0,8. precision - 0,86, recall - 0,8. Для TabPFN: 0,87, 0,95, 0,88, соответственно.

Полученные результаты исследования продемонстрировали высокую достоверность разработанной модели анализа радиогеномных признаков ДСГ на основании комплексных данных МР-изображений для прогноза наличия мутации K27M в гене *H3F3* в ткани опухоли.

В рамках решения задачи по изучению динамики концентрации мутантных форм цоДНК и цоДНК «дикого типа» в генах *H3F3A*, *IDH1*, *IDH2*, *BRAF* в периферической крови и ликворе у пациентов с ГВСЗ (в том числе, с ДСГ на фоне лучевого и химиолучевого лечения в целях прогнозирования исхода заболевания) были получены важные результаты.

Проведенный многопараметрический анализ изменений относительной концентрации мутантных форм цоДНК и цоДНК «дикого типа» в генах *IDH1*, *IDH2*, *H3F3A*, *BRAF* в периферической крови до начала и после

проведения химиолучевого лечения показал наличие переменных предикторов, связанных с вероятностью прогрессирования заболевания.

У пациентов с ГВСЗ уровень концентрации до начала химиолучевого лечения мутантного типа гена *IDH1* ( $p=0.039$ ) и «дикого типа» *IDH1* ( $p=0.014$ ) в крови; у пациентов с ДСГ уровень концентрации мутантного типа *IDH1* ( $p=0.006$ ) в крови имел прямую связь с вероятностью возникновения прогрессирования заболевания.

Для больных с ДСГ уровень концентрации в крови после проведения лечения мутации *K27M* в гене *H3F3A* ( $p=0.008$ ), «дикого типа» гена *H3F3A* ( $p=0.017$ ) и «дикого типа» гена *IDH1* ( $p=0.048$ ) также был связан с вероятностью возникновения прогрессирования заболевания.

Проведенный многопараметрический анализ изменений относительной концентрации мутантных форм свободно циркулирующей опухолевой ДНК и цоДНК «дикого типа» в генах *IDH1*, *IDH2*, *H3F3A*, *BRAF* в периферической крови и ликворе пациентов с ГВСЗ до начала и после проведения химиолучевого лечения показал наличие переменных предикторов, связанных с вероятностью возникновения летального исхода.

Уровень относительной концентрации до начала химиолучевого лечения ДНК «дикого типа» гена *H3F3A* в ликворе ( $p=0.042$  для пациентов с ГВСЗ), ДНК «дикого типа» гена *H3F3A* в крови ( $p=0.50$  для пациентов с ГВСЗ,  $p=0.044$  для пациентов с ДСГ), мутантной формы ДНК гена *BRAF* в ликворе ( $p=0.30$  для пациентов с ДСГ), ДНК «дикого типа» гена *BRAF* в ликворе ( $p=0.47$  для пациентов с ДСГ), ДНК «дикого типа» гена *BRAF* в крови ( $p=0.42$ ), «дикого типа» *IDH1* в ликворе ( $p=0.013$  для пациентов с ДСГ), имеет прямую связь с вероятностью возникновения летального исхода.

У пациентов после проведения химиолучевого лечения уровень относительной концентрации в крови мутантного варианта *H3F3A* (*K27M*) ( $p=0.019$  для больных с ГВСЗ), ( $p=0.029$  для больных с ДСГ)

также имеет прямую связь с вероятностью возникновения летального исхода.

Следующим этапом нашей работы был сравнительный анализ ОВ и БВ между пациентами, у которых были выявлены мутантные формы цоДНК и пациентами без наличия мутантных форм.

Сравнительный анализ общей и безрецидивной выживаемости 209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 пациентов с ДСГ, показал, что для пациентов с ДСГ в целом имеется тенденция более низких показателей как общей, так и безрецидивной выживаемости. Медиана общей выживаемости для ГВСЗ составила 24 месяца, безрецидивной выживаемости - 21 месяц. Для ДСГ - 16 месяцев и 10 месяцев, соответственно.

Анализ общей и безрецидивной выживаемости пациентов с ГВСЗ в зависимости от данных мутационного статуса цоДНК в крови показал, что общая ( $p=0.109$ ) выживаемость с наличием и без мутации *K27M* в гене *H3F3A* в крови у пациентов с ГВСЗ не имела статистически значимого различия между группами, а безрецидивная ( $p=0.005$ ) выживаемость имела статистически значимое различие между группами с наличием и без мутации *K27M* в крови. Так, у пациентов с отсутствием мутации *K27M* в гене *H3F3A* после проведенного лечения ОВ и БВ была выше.

Анализ общей и безрецидивной выживаемости пациентов с ДСГ в зависимости от данных мутационного статуса цоДНК в крови показал, что для пациентов, у которых были выявлены в крови мутантные формы цоДНК в генах *H3F3A*, *IDH1*, *IDH2* были характерны более низкие показатели как общей, так и безрецидивной выживаемости в сравнении с пациентами, у которых указанные мутантные формы цоДНК не были выявлены.

Самые низкие показатели общей и безрецидивной выживаемости были у пациентов с ДСГ с выявленной в крови после завершения лечения мутацией *H3F3A(K27M)* (15 и 9 месяцев, соответственно). В группе пациентов без наличия мутации *H3F3A(K27M)* медиана общей и безрецидивной выживаемости составила 17 и 11 месяцев, соответственно.

У пациентов с ДСГ общая ( $p=0.450$ ) выживаемость с наличием и без мутации *K27M* в гене *H3F3A* до лечения в крови не имела статистически значимого различия между группами. Безрецидивная ( $p=0.028$ ) выживаемость имела статистически значимое различие между группами с наличием и без мутации *K27M* в гене *H3F3A* в крови до лечения. Преимущественно, безрецидивная выживаемость в группе с наличием мутации *K27M* в гене *H3F3A* была ниже.

Медиана общей и безрецидивной выживаемости пациентов с наличием мутации в гене *IDH1* составила 16 и 11 месяцев, соответственно. В группе пациентов без наличия *IDH1* – 16 и 10 месяцев, соответственно.

Медиана общей и безрецидивной выживаемости пациентов с наличием мутации в гене *IDH2* составила 18 и 10 месяцев, соответственно. В группе пациентов без наличия мутации в гене *IDH2* – 17 и 11 месяцев, соответственно.

Для пациентов с ДСГ, у которых были выявлены в крови мутантные формы цодНК гена *BRAF* были характерны более высокие показатели как общей, так и безрецидивной выживаемости в сравнении с пациентами, у которых мутация в гене *BRAF* не была выявлена. Медиана общей выживаемости пациентов с наличием мутации *BRAF* составила 17 месяцев, безрецидивной – 11 месяцев. В группе пациентов без наличия мутантного типа гена *BRAF* – 16 и 10 месяцев, соответственно.

Таким образом, наличие мутации *K27M* гена *H3F3A*, достоверно снижает общую и безрецидивную выживаемости. Наличие мутаций генов *IDH1* (R132H), *BRAF* (V600E) и *IDH2* (R140Q) достоверно не влияет на ОВ и БВ.

Для пациентов с ДСГ как в целом, так и в случаях наличия мутантных форм цодНК: *H3F3A*, *IDH1* и *IDH2* имеется тенденция более низких показателей как общей, так и безрецидивной выживаемости в сравнении с ОВ и БВ пациентов с ГВСЗ других локализаций.

В рамках исследования на основании полученных данных был создан алгоритм обследования и выбора тактики лечения пациентов с ДСТ на основании результатов анализа цоДНК и МР-изображений с использованием разработанной модели анализа радиогеномных признаков (Приложение 1).

Данный алгоритм позволяет исключить нейрохирургический этап, сохраняя при этом качество жизни пациенту и исключая, в последующем, диссеминацию опухолевого процесса по ЦНС.

Алгоритм, отвечающий задачам медико-экономической эффективности, позволяет своевременно начать РТ, изучить молекулярно-генетический профиль глиомы; своевременно начать персонифицированную таргентную терапию пациентам с мутацией гена BRAF.

Алгоритм предусматривает возможность в процессе РТ провести оценку в динамике относительной концентрации цоДНК как мутантных, так и генов «дикого типа» для прогнозирования эффективности терапии и вероятного исхода заболевания, что позволяет при необходимости своевременно начать противорецидивное лечение, увеличить ОВ пациентов и повысить их качество жизни.

## ВЫВОДЫ

1. Доказана сопоставимость определения мутантных форм исследуемых генов методами цкПЦР и NGS в материале ликвора у пациентов с ГВСЗ (в том числе, с ДСГ). Чувствительность метода цкПЦР относительно NGS при выявлении мутантных форм цоДНК составляет 85,02%.

Показана возможность оценки молекулярно-генетического профиля опухоли по материалу периферической крови и ликвора методом цкПЦР, что дает возможность использовать данный метод для получения объективных данных молекулярного статуса опухоли.

Для определения *BRAF (V600E)* и *IDH2 (R140Q)* наиболее информативным является материал плазмы периферической крови (16,67% и 25,00% соответственно), в то время как для *H3F3A (K27M)* и *IDH1 (R132H)* наиболее информативным является материал ликвора (43,59% и 32,05% соответственно).

2. Сравнительный анализ выявляемости мутантных форм генов *H3F3A(K27M)*, *IDH1(R132H)*, *BRAF (V600E)* определил достоверные отличия частоты обнаружения в образцах периферической крови, ликвора и ткани опухоли исследуемых мутаций.

Частота общей выявляемости мутантных форм цоДНК в генах *IDH1*, *H3F3A*, *BRAF* у пациентов с ГВСЗ в крови и ликворе выше, чем в опухолевой ткани (72,8%, 52,5%, 37,3%, соответственно). Частота общей выявляемости мутантных форм цоДНК в генах *IDH1*, *H3F3A*, *BRAF* у пациентов с ДСГ в крови и ликворе выше, чем в опухолевой ткани (39,3%, 57,1%, 35,7%%, соответственно).

Полученные результаты подтверждают необходимость проведения исследований крови и ликвора для получения достоверных молекулярно-генетических данных и последующей оценки молекулярного профиля опухолей головного мозга.

3. Разработана модель анализа радиогеномных признаков ДСГ на основании комплексных данных МР-изображений.

На основании анализа текстурных данных МР изображения с применением алгоритмов искусственного интеллекта показано, что алгоритм нейросетей TabPFN и TabR позволяет с высокой достоверностью (общая точность: 0,87 и 0,8; чувствительность: 0,88 и 0,8; соответственно) прогнозировать наличие мутации гена *H3F3 K27M* в ткани опухоли.

4.1 Анализ изменений относительной концентрации ДНК мутантных форм и ДНК «дикого типа» генов *IDH1*, *IDH2*, *H3F3A*, *BRAF* в периферической крови до и после проведения химиолучевого лечения выявил значимые показатели, являющиеся предикторами, высокого риска прогрессирования заболевания.

Наличие в образцах крови ДНК мутантных форм гена *IDH1* ( $p=0.039$ ) и ДНК «дикого типа» гена *IDH1* ( $p=0.014$ ) у пациентов с ГВСЗ и ДНК мутантных форм гена *IDH1* ( $p=0.006$ ) у пациентов с ДСГ до начала химиолучевого лечения, а также высокий уровень ДНК мутантных форм гена *H3F3A* ( $p=0.008$ ), ДНК «дикого типа» гена *H3F3A* ( $p=0.017$ ), ДНК «дикого типа» гена *IDH1* ( $p=0.048$ ) у пациентов с ДСГ после проведения химиолучевого лечения, коррелируют с высоким риском прогрессирования заболевания.

4.2. Анализ изменений относительной концентрации ДНК мутантных форм и ДНК «дикого типа» генов *IDH1*, *IDH2*, *H3F3A*, *BRAF* в периферической крови и ликворе пациентов с ГВСЗ до и после проведения химиолучевого лечения выявил значимые показатели, являющиеся предикторами, высокого риска летального исхода.

Предикторами высокого риска летального исхода являются выявленные до начала химиолучевого лечения в ликворе:

- ДНК «дикого типа» гена *H3F3A(K27M)* ( $p= 0.042$  для пациентов с ГВСЗ),
- ДНК мутантных форм гена *BRAF(V600E)* ( $p = 0.30$  для пациентов с ДСГ);

- ДНК «дикого типа» гена *BRAF(V600E)* ( $p = 0.47$  для пациентов с ДСГ),

- ДНК «дикого типа» гена *IDH1 (R132H)* ( $p=0.013$  для пациентов с ДСГ).

Выявленные до начала химиолучевого лечения в периферической крови:

- ДНК «дикого типа» гена *H3F3A(K27M)* ( $p = 0.50$  для пациентов с ГВСЗ,  $p = 0.044$  для пациентов с ДСГ);

- ДНК «дикого типа» гена *BRAF(V600E)* ( $p = 0.42$  для пациентов с ДСГ).

Предиктором высокого риска летального исхода оцениваемый после этапа химиолучевого лечения в крови является ДНК мутантных форм гена *H3F3A(K27M)* ( $p=0.019$  для больных с ГВСЗ), ( $p=0.029$  для больных с ДСГ).

5. Наличие мутации K27M гена H3F3A, достоверно снижает общую ( $p=0.018$ ) и безрецидивную ( $p=0.016$ ) выживаемость у пациентов с ГВСЗ. Наличие мутаций генов IDH1 (R132H), BRAF (V600E) и IDH2 (R140Q) достоверно не влияет на ОБ и БВ.

Для пациентов с ДСГ как в целом, так и в случаях наличия мутантных форм цоДНК: ДНК мутантных форм гена *H3F3A(K27M)*, ДНК мутантных форм гена *IDH1 (R132H)*, ДНК мутантных форм гена *IDH2 (R140Q)* имеется тенденция более низких показателей как общей, так и безрецидивной выживаемости в сравнении с ОБ и БВ пациентов с ГВСЗ других локализаций.

6. Разработан алгоритм обследования и выбора тактики лечения пациентов с ДСГ на основании результатов анализа цоДНК и МР-изображений с использованием предложенной модели анализа радиогеномических признаков (Приложение 1). Данный алгоритм позволит прогнозировать эффективность РТ-терапии, своевременно проводить таргетную и противорецидивную терапию.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациентам с диффузными срединными глиомами головного мозга до начала радиотерапевтического лечения показано молекулярно-генетическое исследование плазмы периферической крови и люмбального ликвора методом цифрового капельного ПЦР для оценки наличия и относительной концентрации мутантных форм цоДНК маркерных для глиальных опухолей генов IDH1, IDH2, H3F3A, BRAF. Исследование должно проводиться как в случаях наличия результатов исследования опухолевой ткани, так и при его отсутствии (когда проведение хирургической биопсия опухоли невозможно, либо нецелесообразно ввиду характера роста опухоли или серьезного риска фатальных осложнений).
2. Для оценки эффективности проводимого пациентам с ДСГ радиотерапевтического лечения и прогнозирования вероятности прогрессирования (рецидива) заболевания показано молекулярно-генетическое исследование плазмы периферической крови до начала и после радиотерапевтического лечения для оценки динамики относительной концентрации мутантных форм цоДНК «маркерных генов глиом» IDH1, IDH2, H3F3A, BRAF. При отсутствии выявленных соматических мутаций в исследуемых генах необходима оценка динамики относительной концентрации цоДНК генов «дикого типа» IDH1, IDH2, H3F3A, BRAF.
3. Комплексное молекулярно-генетическое исследование цоДНК в плазме периферической крови и люмбальном ликворе методом цифрового капельного ПЦР у пациентов с ДСГ в сочетании с текстурным анализом радиомических признаков МР-изображений головного мозга должно проводиться в организациях онкологического профиля, в специализированных нейрохирургических клиниках при наличии подготовленных специалистов и соответствующего оборудования.

## ПРИЛОЖЕНИЕ 1.

### Дизайн алгоритма диагностики и лечения

Установка диагноза=МРТ ЦНС при ДСГ

ЖИДКОСТНАЯ БИОПСИЯ ЛИКВОРА И КРОВИ до РТ  
H3F3A, BRAF, IDH1 (ddPCR)

РАДИОГЕНОМИКА H3K27M

k27mДСГ

ДСГ BRAF v600

РТ СОД 54Гр

РТ СОД 54Гр+ ингибиторы  
BRAF

ЖИДКОСТНАЯ БИОПСИЯ КРОВИ после РТ

Динамическое наблюдение

Контрольное обследование  
МРТ ЦНС+ ЖИДКОСТНАЯ БИОПСИЯ КРОВИ ddPCR

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Араблинский А. В. Нейровизуализация внутричерепных неотложных состояний // Мед. визуализация. 2012. (1). С. 7–14.
2. Бажанов С.П. Комплексное лечение пациентов со злокачественных глиомами головного мозга супратенториальной локализации. отдаленные результаты // Saratov Journal of Medical Scientific Research. 2010. № 1 (6). С. 189–194.
3. Боженко В.К., Кулинич Т.М., Джикия Е.Л. Прогнозирование эффективности применения лучевой терапии // 2020. Патент на изобретение RU 2780780 С2, 30.09.2022. Заявка № 2020143489 от 28.12.2020.
4. Гуляев Д.А., Олюшин В.Е., Чеботарев С.Я., Калакутский Н.В. Хирургическое лечение опухолей яремного отверстия: Российско-японский нейрохирургический симпозиум. Программа и статьи. — СПб, 2008. — С. 61-70.
5. Данилов Г.В. Первые результаты неинвазивного типирования глиом головного мозга по данным магнитно-резонансной томографии с помощью машинного обучения. // Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. 2022. № 6 (86). С. 36.
6. Данилов Г.В. и др. Неинвазивная диагностика глиом головного мозга по гистологическому типу с помощью нейрорадиомики в стандартизированных зонах интереса: на пути к цифровой биопсии. // Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. 2023. № 6 (87). С. 59.
7. Зайцева М.А. Анализ генетических aberrаций в глиомах высокой степени злокачественности у детей // Успехи молекулярной онкологии. 2020. № 3 (7). С. 37–47.
8. Зайцева М.А. и др. Молекулярно-генетические характеристики глиом у детей // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2019. № 4 (18). С. 109–117.

9. Захарова Н.Е. Современные стандарты мрт-диагностики опухолевых поражений головного мозга // Вопросы нейрохирургии им. н.н. бурденко. 2020. № 3 (84). С. 102–112.
10. Иванцов А. О. и др. Особенности подготовки опухолевого материала для молекулярно-генетического анализа // Вопросы онкологии. 2016. № 2 (62). С. 351–354.
11. Кадыров Ш.У. Глиомы глубинных структур мозга: автореферат дис. ... доктора медицинских наук: 3.1.10. / Кадыров Шавкат Умидович; Диссовет 21.1.031.01 (Д 001.025.01)]. — Москва, 2022. — 49 с.
12. Каприн А.Д. и др. Злокачественные новообразования в россии в 2021 году (заболеваемость и смертность) /Под. Редакцией Каприна А.Д. 2022. 1–252 с.
13. Каххаров Р.А. К. и др. Опыт хирургического лечения глиом больших полушарий и подкорковых структур головного мозга, прилегающих к кортикоспинальному тракту, у детей с использованием МР-трактографии и интраоперационного электрофизиологического мониторинга // Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. 2022. № 6 (86). С. 16–24.
14. Коновалов А. Н. и др. Нейрорентгенология детского возраста. / Под редакцией Коновалова А. Н., 2001. 361–374 с.
15. Корниенко В. Н. Рентгенография, компьютерная и магнитно-резонансная томография / П. И. Н. Корниенко В. Н., 2009. 148–163 с.
16. Литвин А.А. Радиомика и анализ текстур цифровых изображений в онкологии (обзор) // Современные технологии в медицине. 2021. № 2 (13). С. 97–106.
17. Лихтерман Л.Б. и др. Принципы современной диагностики опухолей головного мозга // Клинический разбор в общей медицине. 2023. № 5 (4). С. 6–16.
18. Москвичева Л.И. Применение HIFU-терапии в онкологии (2000—2021 гг.). // Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. 2022. № 1 (11). С. 64–74.
19. Мухутдинова Г.З. Сергеев Н.И., Регентова О.С., Сидибе Н., Ребрикова В.А., Цаллагова З.С., Лагкуева И.Д., Котляров П.М. Мостомозжечковом угле

головного мозга - что за ним скрывается? клиническое наблюдение // Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии. 2023. № 3 (23). С. 81–89.

20. Назарян Д., Друй А. Е., Ясько Л. А., Папуша Л. И., Новичкова Г. А. Жидкостные биопсии в детской нейроонкологии: в преддверии возможностей тераностики // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2018. № 1 (17). С. 133–135.

21. Никитин П.В. Гетерогенность опухолевых клеток в глиобластомах // Архив патологии. 2019. № 3 (81). С. 27–36.

22. Озеров С.С. Р. М. В., К. Э. В. Диффузные опухоли ствола головного мозга у детей. Биология опухоли и надежда на лучший исход. Современное состояние проблемы. // «Вопросы нейрохирургии» имени Н.Н. Бурденко. . 2021. № 85 (4). С. 77–86.

23. Олюшин В.Е. Улитин А. Ю. Хирургия и комплексное лечение опухолей головного мозга – прошлое, настоящее и будущее // Креативная хирургия и онкология. 2010. (2). С. 17–21.

24. Пономарчук Е. М. Морфологический анализ разрушений биологической ткани при облучении мощными фокусированными ультразвуковыми импульсами с ударными фронтами. // Ученые записки физического факультета МГУ. 2016. (4). С. 164701.

25. Регентова О.С., Боженко В. К., Кудинова Е. А., Кулинич Т. М. и др. Изменения концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК и ДНК дикого типа гена H3F3A (K27M) в крови и люмбальном ликворе у детей с диффузными срединными глиомами на фоне курса лучевой терапии // Южно-Российский онкологический журнал. 2024. № 3 (5). С. 64–75.

26. Регентова О.С., Гурова А. С. Программный комплекс для оценки эффективности лечения первичных опухолей центральной нервной системы на основе технологий искусственного интеллекта. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ. Номер свидетельства: RU 2023615290. Патентное ведомство: Россия. Год публикации: 2023. Номер

заявки: 2023613827. Дата регистрации: 01.03.2023. Дата публикации: 13.03.2023. Язык программирования: VBA (Visual Basic).

27. Регентова О.С., Пархоменко Р. А., Антоненко Ф. Ф. и др. Конвекционно-усиленная доставка препаратов при диффузных внутренних глиомах мозга головного мозга у детей и подростков // Вестник российского научного центра рентгенодиагностики (вестник рнцрр). 2024. № 3 (2024). С. 83–93.

28. Регентова О.С., Пархоменко Р. А., Боженко В. К. , Кулинич Т. М. , Джикия Е. Л. И др. Опыт применения жидкостной биопсии при диффузных срединных глиомах головного мозга у детей // Вестник Российского научного центра рентгенодиагностики. 2024. № 2 (24). С. 94–106.

29. Регентова О.С., Пархоменко Р. А. и др. Перспективы применения радиомики при опухолях головного мозга // Digital Diagnostics. 2024. № 3 (5). С. 1–14.

30. Регентова О.С., Пархоменко Р. А. , Щербенко О. И. и др. Перспективы применения ультразвука различной интенсивности для лечения пациентов со злокачественными глиомами головного мозга // Acta Biomedica Scientifica. 2024. № 1 (9). С. 96–106.

31. Регентова О.С., Пархоменко Р. А., Щербенко О. И. и др. Экстраневральное метастазирование глиомы головного мозга: описание случая у ребенка и обзор литературы // Южно-Российский онкологический журнал. 2024. № 3 (5). С. 111–120.

32. Регентова О.С., Солодкий В. А., Боженко В. К., и др. Радиомический анализ данных в нейроонкологии // Вестник Российского научного центра рентгенодиагностики. 2024. № 2 (24). С. 69–77.

33. Регентова О.С., Щербенко О. И., Антоненко Ф. Ф., Пархоменко Р. А. и др. Роль некоторых рентгено-морфологических и молекулярно-генетических параметров в прогнозе для детей больных глиомами головного мозга // Вестник Российского научного центра рентгенодиагностики. 2024. № 2 (24). С. 78–93.

34. Регентова О.С., Щербенко О. И. Содержание и динамика в процессе лечения некоторых молекулярно-генетических маркеров в плазме крови у больных глиальными опухолями мозга по данным «жидкостной биопсии» // Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии. 2020. № 2 (20). С. 117–128.
35. Регентова О.С., Щербенко О. И. , Кумирова Э. В. , Антоненко Ф. Ф. , Солодкий В. А. Терапия протонами в детской нейроонкологии. потенциальные достоинства и соотношение между стоимостью и результатами // Сибирский онкологический журнал. 2023. № 2 (23). С. 92–100.
36. Рубин А.Н. Проблемы диагностики и лечения гнойно-воспалительных заболеваний головного мозга // Вестник хирургии. 2016. (4). С. 91–96.
37. СВИСТОВ Д.В. Хирургическая резекция в сочетании со стереотаксической криодеструкцией у больных с супратенториальными глиомами в функционально значимых областях мозга: возможность применения комбинированного хирургического лечения и его результаты // Вестник хирургии. 2012. № 4 (171). С. 11–16.
38. Сергеев Н.И. T2\* - перфузия в определении фрагментов остаточной ткани опухоли у пациентов с глиомами высокой степени злокачественности после хирургического лечения в подострый постоперационный период // Вестник российского научного центра рентгенорадиологии. 2020. № 1 (20). С. 15–27.
39. Талыбов Р.С. Достоверность диффузионно-взвешенных изображений и перфузионных показателей в дифференциальной диагностике злокачественных и условнодоброкачественных интракраниальных образований: одноцентровое исследование. // Лучевая диагностика и терапия. 2023. № 2 (14). С. 48–63.
40. Телышева Е. Н. Свободно-циркулирующая ДНК плазмы крови. Возможности применения в онкологии // Вестник РНЦРР. 2017. (2). С. 1–29.

41. Хухлаева Е.А. Нейрорадиология и принципы классификации опухолей ствола головного мозга // Медицинская визуализация. 2011. (6). С. 62–74.
42. Чернобровцева В.В. Новые технологии в лучевой диагностике // Практическая онкология. 2022. № 4 (23). С. 203–210.
43. Щербань А.Е. Стереотаксическая биопсия опухолей головного мозга с планированием в условиях магнитнорезонансной томографии // Русский медицинский журнал. 2017. (16). С. 1194–1199.
44. Щербенко О.И., Кумирова Э. В., Регентова О. С. Радиационный некроз головного мозга // Российский журнал детской гематологии и онкологии (РЖДГиО). 2022. № 3 (9). С. 83–89.
45. Щербенко О.И., Кумирова Э. В., Регентова О. С. «Жидкая биопсия» при опухолях мозга: состояние проблемы // Российский журнал детской гематологии и онкологии. 2019;6(2):61—7.
46. Щербенко О.И., Панышин Г. А., Пархоменко Р. А. , Антоненко Ф. Ф. , Зелинская Н. И. Темозоломид в комплексном лечении глиом головного мозга у детей и взрослых. Предварительные результаты. Обзор литературы // Вестник РНЦРР. 2015. (2). С. 1–11.
47. Щербенко О.И., Регентова О. С. Повторная лучевая терапия при рецидивах опухолей мозга // Практическая онкология. 2018. № 4 (19). С. 429–443.
48. Щербенко О.И., Сергеев Н. И., Регентова О. С. Редкий случай псевдотуморозного энцефаломиелита, симулирующего неоперабельную опухоль ствола мозга. // Вестника РНЦРР МЗ РФ. 2012. (12). С. 1–31.
49. Aboian M. S. [и др.]. Imaging Characteristics of Pediatric Diffuse Midline Gliomas with Histone H3 K27M Mutation // AJNR. American journal of neuroradiology. 2017. № 4 (38). С. 795–800.
50. Adamczyk L. A. [и др.]. Current Understanding of Circulating Tumor Cells - Potential Value in Malignancies of the Central Nervous System // Frontiers in neurology. 2015. № Aug (6).

51. Ahmed N. [и др.]. HER2-Specific Chimeric Antigen Receptor-Modified Virus-Specific T Cells for Progressive Glioblastoma: A Phase 1 Dose-Escalation Trial // *JAMA oncology*. 2017. № 8 (3). С. 1094–1101.
52. Aihara K. [и др.]. H3F3A K27M mutations in thalamic gliomas from young adult patients // *Neuro-oncology*. 2014. № 1 (16). С. 140–146.
53. Akers J. C. [и др.]. Optimizing preservation of extracellular vesicular miRNAs derived from clinical cerebrospinal fluid // *Cancer biomarkers: section A of Disease markers*. 2016. № 2 (17). С. 125–132.
54. Albert N. L. [и др.]. Response Assessment in Neuro-Oncology working group and European Association for Neuro-Oncology recommendations for the clinical use of PET imaging in gliomas // *Neuro-oncology*. 2016. № 9 (18). С. 1199–1208.
55. Albright A. L. [и др.]. Magnetic resonance scans should replace biopsies for the diagnosis of diffuse brain stem gliomas: a report from the Children's Cancer Group // *Neurosurgery*. 1993. № 6 (33). С. 1026–1030.
56. Alli S. [и др.]. Brainstem blood brain barrier disruption using focused ultrasound: A demonstration of feasibility and enhanced doxorubicin delivery // *Journal of controlled release: official journal of the Controlled Release Society*. 2018. (281). С. 29–41.
57. Allott E. H. [и др.]. Intratumoral heterogeneity as a source of discordance in breast cancer biomarker classification // *Breast cancer research: BCR*. 2016. № 1 (18).
58. Andreiuolo F. [и др.]. H3F3A-G34R mutant high grade neuroepithelial neoplasms with glial and dysplastic ganglion cell components // *Acta neuropathologica communications*. 2019. № 1 (7). С. 78.
59. Antonarakis S. E. Down syndrome and the complexity of genome dosage imbalance // *Nature reviews. Genetics*. 2017. № 3 (18). С. 147–163.
60. Apuzzo M. L. J., Sabshin J. K. Computed tomographic guidance stereotaxis in the management of intracranial mass lesions // *Neurosurgery*. 1983. № 3 (12). С. 277–285.

61. Arroyave W. D. [и др.]. Challenges and recommendations on the conduct of systematic reviews of observational epidemiologic studies in environmental and occupational health // *Journal of exposure science & environmental epidemiology*. 2021. № 1 (31). С. 21–30.
62. Arya M. [и др.]. Basic principles of real-time quantitative PCR // *Expert review of molecular diagnostics*. 2005. № 2 (5). С. 209–219.
63. Au C. H. [и др.]. Clinical evaluation of panel testing by next-generation sequencing (NGS) for gene mutations in myeloid neoplasms // *Diagnostic pathology*. 2016. № 1 (11).
64. Avanzo M., Stancanella J., Naqa I. El Beyond imaging: The promise of radiomics // *Physica medica: PM: an international journal devoted to the applications of physics to medicine and biology: official journal of the Italian Association of Biomedical Physics (AIFB)*. 2017. (38). С. 122–139.
65. Baan R. [и др.]. Carcinogenicity of radiofrequency electromagnetic fields // *The Lancet. Oncology*. 2011. № 7 (12). С. 624–626.
66. Bai Y. [и др.]. Updates to the antitumor mechanism of oncolytic virus // *Thoracic cancer*. 2019. № 5 (10). С. 1031–1035.
67. Bailey S. [и др.]. Diffuse intrinsic pontine glioma treated with prolonged temozolomide and radiotherapy--results of a United Kingdom phase II trial (CNS 2007 04) // *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*. 2013. № 18 (49). С. 3856–3862.
68. Baldwin R. T., Preston-Martin S. Epidemiology of brain tumors in childhood - A review // *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2004. № 2 (199). С. 118–131.
69. Bambach S. [и др.]. Arterial Spin Labeling Applications in Pediatric and Adult Neurologic Disorders // *Journal of magnetic resonance imaging: JMRI*. 2022. № 3 (55). С. 698–719.
70. Barranha R. [и др.]. Genetic Heterogeneity in Colorectal Cancer and its Clinical Implications // *Acta medica portuguesa*. 2015. № 3 (28). С. 370–375.

71. Basolo F. [и др.]. The 5th edition of WHO classification of tumors of endocrine organs: changes in the diagnosis of follicular-derived thyroid carcinoma // *Endocrine*. 2023. № 3 (80). С. 470–476.
72. Batlevi C. L. [и др.]. Novel immunotherapies in lymphoid malignancies // *Nature reviews. Clinical oncology*. 2016. № 1 (13). С. 25–40.
73. Baxter P. A. [и др.]. A phase I/II study of veliparib (ABT-888) with radiation and temozolomide in newly diagnosed diffuse pontine glioma: a Pediatric Brain Tumor Consortium study // *Neuro-oncology*. 2020. № 6 (22). С. 875–885.
74. Beba Abadal K. [и др.]. Eleven Month Progression-Free Survival on Vemurafenib Monotherapy in a Patient With Recurrent and Metastatic BRAF V600E-Mutated Glioblastoma WHO Grade 4 // *JCO precision oncology*. 2017. № 1 (1). С. 1–5.
75. Behjati S., Gilbertson R. J., Pfister S. M. Maturation Block in Childhood Cancer // *Cancer discovery*. 2021. № 3 (11). С. 542–544.
76. Behling F., Schittenhelm J. Oncogenic BRAF Alterations and Their Role in Brain Tumors // *Cancers*. 2019. № 6 (11).
77. Beig N., Bera K., Tiwari P. Introduction to radiomics and radiogenomics in neuro-oncology: implications and challenges // *Neuro-oncology advances*. 2021. № Suppl 4 (2). С. IV3–IV14.
78. Bender S. [и др.]. Recurrent MET fusion genes represent a drug target in pediatric glioblastoma // *Nature medicine*. 2016. № 11 (22). С. 1314–1320.
79. Benedictis A. De [и др.]. Robot-assisted procedures in pediatric neurosurgery // *Neurosurgical focus*. 2017. № 5 (42).
80. Bérard C. [и др.]. Anticancer drug delivery by focused ultrasound-mediated blood-brain/tumor barrier disruption for glioma therapy: From benchside to bedside // *Pharmacology & therapeutics*. 2023. (250).
81. Best M. G. [и др.]. RNA-Seq of Tumor-Educated Platelets Enables Blood-Based Pan-Cancer, Multiclass, and Molecular Pathway Cancer Diagnostics // *Cancer cell*. 2015. № 5 (28). С. 666–676.

82. Bettegowda C. [и др.]. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies // *Science translational medicine*. 2014. № 224 (6).
83. Beyar-Katz O., Gill S. Advances in chimeric antigen receptor T cells // *Current opinion in hematology*. 2020. № 6 (27). С. 368–377.
84. Binnewies M. [и др.]. Understanding the tumor immune microenvironment (TIME) for effective therapy // *Nature medicine*. 2018. № 5 (24). С. 541–550.
85. Biollaz G. [и др.]. Site-specific anti-tumor immunity: differences in DC function, TGF-beta production and numbers of intratumoral Foxp3+ Treg // *European journal of immunology*. 2009. № 5 (39). С. 1323–1333.
86. Bischoff J. R. [и др.]. An adenovirus mutant that replicates selectively in p53-deficient human tumor cells // *Science (New York, N.Y.)*. 1996. № 5286 (274). С. 373–376.
87. Blass E., Ott P. A. Advances in the development of personalized neoantigen-based therapeutic cancer vaccines // *Nature reviews. Clinical oncology*. 2021. № 4 (18). С. 215–229.
88. Bodalal Z. [и др.]. Radiogenomics: bridging imaging and genomics // *Abdominal radiology (New York)*. 2019. № 6 (44). С. 1960–1984.
89. Boothe D. [и др.]. Bevacizumab as a treatment for radiation necrosis of brain metastases post stereotactic radiosurgery // *Neuro-oncology*. 2013. № 9 (15). С. 1257–1263.
90. Brandes A. A. [и др.]. Disease progression or pseudoprogression after concomitant radiochemotherapy treatment: pitfalls in neurooncology // *Neuro-oncology*. 2008. № 3 (10). С. 361–367.
91. Brioude F. [и др.]. Expert consensus document: Clinical and molecular diagnosis, screening and management of Beckwith-Wiedemann syndrome: an international consensus statement // *Nature reviews. Endocrinology*. 2018. № 4 (14). С. 229–249.
92. Brito C. [и др.]. Clinical insights gained by refining the 2016 WHO classification of diffuse gliomas with: EGFR amplification, TERT mutations, PTEN deletion and MGMT methylation // *BMC Cancer*. 2019. № 1 (19).

93. Bronk J. K. [и др.]. Brain Radiation Necrosis Outside the Target Volume After Proton Radiation Therapy: Analyses of Multiparametric Imaging and Proton Biologic Effectiveness // *Advances in radiation oncology*. 2022. № 6 (7).
94. Brown M. P., Ebert L. M., Gargett T. Clinical chimeric antigen receptor-T cell therapy: a new and promising treatment modality for glioblastoma // *Clinical & translational immunology*. 2019. № 5 (8).
95. Buckingham S. C. [и др.]. Glutamate release by primary brain tumors induces epileptic activity // *Nature medicine*. 2011. № 10 (17). С. 1269–1274.
96. Buczkowicz P. [и др.]. Genomic analysis of diffuse intrinsic pontine gliomas identifies three molecular subgroups and recurrent activating ACVR1 mutations // *Nature genetics*. 2014. № 5 (46). С. 451–456.
97. Buczkowicz P. [и др.]. Histopathological spectrum of paediatric diffuse intrinsic pontine glioma: diagnostic and therapeutic implications // *Acta neuropathologica*. 2014. № 4 (128). С. 573–581.
98. Burger M. C. [и др.]. Dabrafenib in patients with recurrent, BRAF V600E mutated malignant glioma and leptomeningeal disease // *Oncology reports*. 2017. № 6 (38). С. 3291–3296.
99. Calverley D. C. [и др.]. Significant downregulation of platelet gene expression in metastatic lung cancer // *Clinical and translational science*. 2010. № 5 (3). С. 227–232.
100. Campbell S. L., Buckingham S. C., Sontheimer H. Human glioma cells induce hyperexcitability in cortical networks // *Epilepsia*. 2012. № 8 (53). С. 1360–1370.
101. Carai A. [и др.]. Robot-Assisted Stereotactic Biopsy of Diffuse Intrinsic Pontine Glioma: A Single-Center Experience // *World neurosurgery*. 2017. (101). С. 584–588.
102. Cardis E. [и др.]. Risk of brain tumours in relation to estimated RF dose from mobile phones: results from five Interphone countries // *Occupational and environmental medicine*. 2011. № 9 (68). С. 631–640.

103. Caretti V. [и др.]. Subventricular spread of diffuse intrinsic pontine glioma // *Acta neuropathologica*. 2014. № 4 (128). С. 605–607.
104. Carlsson T. [и др.]. Psychological distress in parents of children treated for cancer: An explorative study // *PLOS ONE*. 2019. № 6 (14). С. e0218860.
105. Carpentier A. [и др.]. Clinical trial of blood-brain barrier disruption by pulsed ultrasound // *Science translational medicine*. 2016. № 343 (8).
106. Castel D. [и др.]. Histone H3F3A and HIST1H3B K27M mutations define two subgroups of diffuse intrinsic pontine gliomas with different prognosis and phenotypes // *Acta neuropathologica*. 2015. № 6 (130). С. 815–827.
107. Castel D. [и др.]. Transcriptomic and epigenetic profiling of «diffuse midline gliomas, H3 K27M-mutant» discriminate two subgroups based on the type of histone H3 mutated and not supratentorial or infratentorial location // *Acta neuropathologica communications*. 2018. № 1 (6). С. 117.
108. Ceccon G. [и др.]. Dabrafenib Treatment in a Patient with an Epithelioid Glioblastoma and BRAF V600E Mutation // *International journal of molecular sciences*. 2018. № 4 (19).
109. Cerretti G. [и др.]. Impressive response to dabrafenib and trametinib plus silybin in a heavily pretreated IDH wild-type glioblastoma patient with BRAFV600E -mutant and SOX2 amplification // *Anti-cancer drugs*. 2023. № 1 (34). С. 190–193.
110. Chaddad A. [и др.]. Radiomics in Glioblastoma: Current Status and Challenges Facing Clinical Implementation // *Frontiers in oncology*. 2019. № MAY (9).
111. Chang W. H. [и др.]. Stereotaxic biopsy of brain-stem tumours in children // *Child's nervous system : ChNS : official journal of the International Society for Pediatric Neurosurgery*. 1990. № 7 (6). С. 409–411.
112. Chaves C. [и др.]. Characterization of the Blood-Brain Barrier Integrity and the Brain Transport of SN-38 in an Orthotopic Xenograft Rat Model of Diffuse Intrinsic Pontine Glioma // *Pharmaceutics*. 2020. № 5 (12).

113. Chawla S. [и др.]. Spurious progression in pediatric brain tumors // *Journal of neuro-oncology*. 2012. № 3 (107). С. 651–657.
114. Chen W. W. [и др.]. BEAMing and Droplet Digital PCR Analysis of Mutant IDH1 mRNA in Glioma Patient Serum and Cerebrospinal Fluid Extracellular Vesicles // *Molecular therapy. Nucleic acids*. 2013. № 7 (2). С. e109.
115. Cheng C. [и др.]. Quantification of circulating cell-free DNA in the plasma of cancer patients during radiation therapy // *Cancer science*. 2009. № 2 (100). С. 303–309.
116. Cheng L. [и др.]. Clinicoradiological characteristics of primary spinal cord H3 K27M-mutant diffuse midline glioma // *Journal of neurosurgery. Spine*. 2021. № 2 (36). С. 303–314.
117. Chiang J. [и др.]. Clinical, imaging, and molecular analysis of pediatric pontine tumors lacking characteristic imaging features of DIPG // *Acta neuropathologica communications*. 2020. № 1 (8).
118. Choi B. D. [и др.]. CAR-T cells secreting BiTEs circumvent antigen escape without detectable toxicity // *Nature biotechnology*. 2019. № 9 (37). С. 1049–1058.
119. Cifarelli C. P., Jacques A., Bobko A. Heterogeneity of radiation response in mesenchymal subtype glioblastoma: molecular profiling and reactive oxygen species generation // *Journal of neuro-oncology*. 2021. № 2 (152). С. 245.
120. Clarke M. [и др.]. Infant High-Grade Gliomas Comprise Multiple Subgroups Characterized by Novel Targetable Gene Fusions and Favorable Outcomes // *Cancer discovery*. 2020. № 7 (10). С. 942–963.
121. Coca H. A. [и др.]. Diffuse intrinsic pontine gliomas in children: Interest of robotic frameless assisted biopsy. A technical note // *Neuro-Chirurgie*. 2016. № 6 (62). С. 327–331.
122. Cohen K. J. [и др.]. Temozolomide in the treatment of children with newly diagnosed diffuse intrinsic pontine gliomas: a report from the Children’s Oncology Group // *Neuro-oncology*. 2011. № 4 (13). С. 410–416.

123. Cole B. L. Neuropathology of Pediatric Brain Tumors: A Concise Review // Neurosurgery. 2022. № 1 (90). С. 7–15.
124. Colotta F. [и др.]. Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability // Carcinogenesis. 2009. № 7 (30). С. 1073–1081.
125. Crossley B. M. [и др.]. Guidelines for Sanger sequencing and molecular assay monitoring // Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc. 2020. № 6 (32). С. 767–775.
126. Daoud E. V. [и др.]. Adult Brainstem Gliomas With H3K27M Mutation: Radiology, Pathology, and Prognosis // Journal of neuropathology and experimental neurology. 2018. № 4 (77). С. 302–311.
127. Davis M. E. Glioblastoma: Overview of Disease and Treatment // Clinical journal of oncology nursing. 2016. № 5 Suppl (20). С. 1–8.
128. Dawson S.-J. [и др.]. Analysis of circulating tumor DNA to monitor metastatic breast cancer // The New England journal of medicine. 2013. № 13 (368). С. 1199–1209.
129. Desjardins A. [и др.]. Recurrent Glioblastoma Treated with Recombinant Poliovirus // The New England journal of medicine. 2018. № 2 (379). С. 150–161.
130. DeWire M. [и др.]. A phase I/II study of ribociclib following radiation therapy in children with newly diagnosed diffuse intrinsic pontine glioma (DIPG) // Journal of neuro-oncology. 2020. № 3 (149). С. 511–522.
131. Diaz L. A., Bardelli A. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA // Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. 2014. № 6 (32). С. 579–586.
132. Dock G. THE INFLUENCE OF COMPLICATING DISEASES UPON LEUKÆMIA.\* // The American Journal of the Medical Sciences. 1904. № 4 (127). С. 563–592.
133. Dolenc V. V. Transcranial epidural approach to pituitary tumors extending beyond the sella // Neurosurgery. 1997. № 3 (41). С. 542–552.

134. Donaldson S. S., Laningham F., Fisher P. G. Advances toward an understanding of brainstem gliomas // *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2006. № 8 (24). С. 1266–1272.
135. Dréan A. [и др.]. Temporary blood-brain barrier disruption by low intensity pulsed ultrasound increases carboplatin delivery and efficacy in preclinical models of glioblastoma // *Journal of neuro-oncology*. 2019. № 1 (144). С. 33–41.
136. Dube S., Qin J., Ramakrishnan R. Mathematical Analysis of Copy Number Variation in a DNA Sample Using Digital PCR on a Nanofluidic Device // *PLOS ONE*. 2008. № 8 (3). С. e2876.
137. E D. C., X W., S P. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas // *The New England journal of medicine*. 2009. № 21 (360). С. 2248–2249.
138. Ebrahimi A. [и др.]. ATRX immunostaining predicts IDH and H3F3A status in gliomas // *Acta neuropathologica communications*. 2016. № 1 (4). С. 60.
139. Ebrahimi A. [и др.]. High frequency of H3 K27M mutations in adult midline gliomas // *Journal of cancer research and clinical oncology*. 2019. № 4 (145). С. 839–850.
140. Eckstein C., Saidha S., Levy M. A differential diagnosis of central nervous system demyelination: beyond multiple sclerosis // *Journal of neurology*. 2012. № 5 (259). С. 801–816.
141. El-Khouly F. E. [и др.]. Diagnostics and treatment of diffuse intrinsic pontine glioma: where do we stand? // *Journal of neuro-oncology*. 2019. № 1 (145). С. 177–184.
142. Elsheikh S. S. M. [и др.]. Multi-stage Association Analysis of Glioblastoma Gene Expressions with Texture and Spatial Patterns // *Brainlesion : glioma, multiple sclerosis, stroke and traumatic brain injuries. BrainLes (Workshop)*. 2019. (11383). С. 239–250.
143. Ermoian R. [и др.]. Reirradiation in Pediatric Patients With Recurrent Brain Tumors: A Last Hope, But One With Greatly Feared Consequences // *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 2019. № 1 (103). С. 1–4.

144. Eschbacher K. L. [и др.]. Diffuse Gliomas of the Brainstem and Cerebellum in Adults Show Molecular Heterogeneity // *The American journal of surgical pathology*. 2021. № 8 (45). С. 1082–1090.
145. Fangusaro J. [и др.]. Phase 1 study of pomalidomide in children with recurrent, refractory, and progressive central nervous system tumors: A Pediatric Brain Tumor Consortium trial // *Pediatric blood & cancer*. 2021. № 2 (68).
146. Farrukh S. [и др.]. Emerging Therapeutic Strategies for Diffuse Intrinsic Pontine Glioma: A Systematic Review // *Healthcare (Basel, Switzerland)*. 2023. № 4 (11).
147. Ferreira M. M., Ramani V. C., Jeffrey S. S. Circulating tumor cell technologies // *Molecular oncology*. 2016. № 3 (10). С. 374–394.
148. Fiandaca M. S. [и др.]. Image-guided convection-enhanced delivery platform in the treatment of neurological diseases // *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*. 2008. № 1 (5). С. 123–127.
149. Figueroa J. M. [и др.]. Detection of wild-type EGFR amplification and EGFRvIII mutation in CSF-derived extracellular vesicles of glioblastoma patients // *Neuro-oncology*. 2017. № 11 (19). С. 1494–1502.
150. Filbin M. G. [и др.]. Developmental and oncogenic programs in H3K27M gliomas dissected by single-cell RNA-seq // *Science (New York, N.Y.)*. 2018. № 6386 (360). С. 331–335.
151. Fischer I. [и др.]. Utility of chromogenic in situ hybridization (CISH) for detection of EGFR amplification in glioblastoma: comparison with fluorescence in situ hybridization (FISH) // *Diagnostic molecular pathology : the American journal of surgical pathology, part B*. 2008. № 4 (17). С. 227–230.
152. Forshew T. [и др.]. Noninvasive identification and monitoring of cancer mutations by targeted deep sequencing of plasma DNA // *Science translational medicine*. 2012. № 136 (4).

153. Frappaz D. [и др.]. Preradiation chemotherapy may improve survival in pediatric diffuse intrinsic brainstem gliomas: final results of BSG 98 prospective trial // *Neuro-oncology*. 2008. № 4 (10). С. 599–607.
154. Freeman C. R., Farmer J. P. Pediatric brain stem gliomas: A review // *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*. 1998. № 2 (40). С. 265–271.
155. Fujimoto K. [и др.]. TERT promoter mutation status is necessary and sufficient to diagnose IDH-wildtype diffuse astrocytic glioma with molecular features of glioblastoma // *Acta Neuropathologica*. 2021. № 2 (142). С. 323–338.
156. Fujioka Y. [и др.]. Molecular diagnosis of diffuse glioma using a chip-based digital PCR system to analyze IDH, TERT, and H3 mutations in the cerebrospinal fluid // *Journal of neuro-oncology*. 2021. № 1 (152). С. 47–54.
157. Fukami S. [и др.]. Pathologic Findings and Clinical Course of Midline Paraventricular Gliomas Diagnosed Using a Neuroendoscope // *World neurosurgery*. 2018. (114). С. e366–e377.
158. Furukawa K., Ohmi Y., Furukawa K. Anti-GD2 CAR T cells could prove transformative for H3-K27M+ diffuse midline gliomas // *Translational cancer research*. 2019. № Suppl 2 (8). С. S87–S93.
159. Gallitto M. [и др.]. Role of Radiation Therapy in the Management of Diffuse Intrinsic Pontine Glioma: A Systematic Review // *Advances in radiation oncology*. 2019. № 3 (4). С. 520–531.
160. Gambella A. [и др.]. NTRK Fusions in Central Nervous System Tumors: A Rare, but Worthy Target // *International journal of molecular sciences*. 2020. № 3 (21).
161. Gao F. [и др.]. Role of circulating tumor cell detection in differentiating tumor recurrence from treatment necrosis of brain gliomas // *Bioscience trends*. 2021. № 2 (15). С. 107–117.
162. Gao Q. [и др.]. Circulating cell-free DNA for cancer early detection // *Innovation (Cambridge (Mass.))*. 2022. № 4 (3).

163. Gardin I. [и др.]. Radiomics: Principles and radiotherapy applications // Critical reviews in oncology/hematology. 2019. (138). С. 44–50.
164. Garibotto F. [и др.]. Pediatric Diffuse Midline Gliomas H3 K27M-Mutant and Non-Histone Mutant Midline High-Grade Gliomas in Neurofibromatosis Type 1 in Comparison With Non-Syndromic Children: A Single-Center Pilot Study // Frontiers in oncology. 2020. (10).
165. Gates E. D. H. [и др.]. Spatial Distance Correlates With Genetic Distance in Diffuse Glioma // Frontiers in oncology. 2019. (9).
166. Ghaffari M., Sowmya A., Oliver R. Automated Brain Tumor Segmentation Using Multimodal Brain Scans: A Survey Based on Models Submitted to the BraTS 2012-2018 Challenges // IEEE reviews in biomedical engineering. 2020. (13). С. 156–168.
167. Giglio P., Gilbert M. R. Cerebral radiation necrosis // The neurologist. 2003. № 4 (9). С. 180–188.
168. Gonzalez J. [и др.]. Effect of bevacizumab on radiation necrosis of the brain // International journal of radiation oncology, biology, physics. 2007. № 2 (67). С. 323–326.
169. Grabovska Y. [и др.]. Pediatric pan-central nervous system tumor analysis of immune-cell infiltration identifies correlates of antitumor immunity // Nature communications. 2020. № 1 (11).
170. Greenlee J. E. Subdural Empyema // Current treatment options in neurology. 2003. № 1 (5). С. 13–22.
171. Grill J. [и др.]. Phase II, Open-Label, Randomized, Multicenter Trial (HERBY) of Bevacizumab in Pediatric Patients With Newly Diagnosed High-Grade Glioma // Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. 2018. № 10 (36). С. 951–958.
172. Gröbner S. N. [и др.]. The landscape of genomic alterations across childhood cancers // Nature. 2018. № 7696 (555). С. 321–327.
173. Grossman S. A. [и др.]. Immunosuppression in patients with high-grade gliomas treated with radiation and temozolomide // Clinical cancer research : an

- official journal of the American Association for Cancer Research. 2011. № 16 (17). С. 5473–5480.
174. Grünewald T. G. P. [и др.]. Chimeric EWSR1-FLI1 regulates the Ewing sarcoma susceptibility gene EGR2 via a GGAA microsatellite // *Nature genetics*. 2015. № 9 (47). С. 1073–1078.
175. Guedan S., Ruella M., June C. H. Emerging Cellular Therapies for Cancer // *Annual review of immunology*. 2019. (37). С. 145–171.
176. Guez D. [и др.]. Radiation-induced vascular malformations in the brain, mimicking tumor in MRI-based treatment response assessment maps (TRAMs) // *Clinical and translational radiation oncology*. 2018. (15). С. 1–6.
177. Guillamo J. S., Doz F., Delattre J. Y. Brain stem gliomas // *Current opinion in neurology*. 2001. № 6 (14). С. 711–715.
178. Guiu S. [и др.]. [Bevacizumab/irinotecan. An active treatment for recurrent high grade gliomas: preliminary results of an ANOCEF Multicenter Study] // *Revue neurologique*. 2008. № 6–7 (164). С. 588–594.
179. Gutierrez D. R. [и др.]. Radiological Evaluation of Newly Diagnosed Non-Brainstem Pediatric High-Grade Glioma in the HERBY Phase II Trial // *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2020. № 8 (26). С. 1856–1865.
180. Gutman D. A. [и др.]. MR imaging predictors of molecular profile and survival: multi-institutional study of the TCGA glioblastoma data set // *Radiology*. 2013. № 2 (267). С. 560–569.
181. Haegelen C. [и др.]. Stereotactic robot-guided biopsies of brain stem lesions: Experience with 15 cases // *Neuro-Chirurgie*. 2010. № 5 (56). С. 363–367.
182. Hamisch C. [и др.]. Update on the diagnostic value and safety of stereotactic biopsy for pediatric brainstem tumors: a systematic review and meta-analysis of 735 cases // *Journal of neurosurgery. Pediatrics*. 2017. № 3 (20). С. 261–268.
183. Hanahan D., Weinberg R. A. The hallmarks of cancer // *Cell*. 2000. № 1 (100). С. 57–70.

184. Hanahan D., Weinberg R. A. Hallmarks of cancer: the next generation // *Cell*. 2011. № 5 (144). С. 646–674.
185. Hankinson T. C. [и др.]. Interpretation of magnetic resonance images in diffuse intrinsic pontine glioma: a survey of pediatric neurosurgeons // *Journal of neurosurgery. Pediatrics*. 2011. № 1 (8). С. 97–102.
186. Hargrave D., Bartels U., Bouffet E. Diffuse brainstem glioma in children: critical review of clinical trials // *The Lancet. Oncology*. 2006. № 3 (7). С. 241–248.
187. Hassan H. [и др.]. Survival rates and prognostic predictors of high grade brain stem gliomas in childhood: a systematic review and meta-analysis // *Journal of neuro-oncology*. 2017. № 1 (135). С. 13–20.
188. He J. [и др.]. Prognostic Effect of Albumin-to-Globulin Ratio in Patients with solid tumors: A Systematic Review and Meta-analysis // *Journal of Cancer*. 2017. № 19 (8). С. 4002–4010.
189. He Z. Q. [и др.]. Evaluation of cumulative prognostic score based on pretreatment plasma fibrinogen and serum albumin levels in patients with newly diagnosed high-grade gliomas // *Oncotarget*. 2017. № 30 (8). С. 49605–49614.
190. Heiss W. D., Raab P., Lanfermann H. Multimodality assessment of brain tumors and tumor recurrence // *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 2011. № 10 (52). С. 1585–1600.
191. Hempel J. M. [и др.]. Glioma-Specific Diffusion Signature in Diffusion Kurtosis Imaging // *Journal of clinical medicine*. 2021. № 11 (10).
192. Hennika T., Becher O. J. Diffuse Intrinsic Pontine Glioma: Time for Cautious Optimism // *Journal of child neurology*. 2016. № 12 (31). С. 1377–1385.
193. Herholz K. [и др.]. Brain tumors // *Seminars in nuclear medicine*. 2012. № 6 (42). С. 356–370.
194. Hersh D. S. [и др.]. Emerging Applications of Therapeutic Ultrasound in Neuro-oncology: Moving Beyond Tumor Ablation // *Neurosurgery*. 2016. № 5 (79). С. 643–654.

195. Hervey-Jumper S. L., Berger M. S. Maximizing safe resection of low- and high-grade glioma // *Journal of neuro-oncology*. 2016. № 2 (130). С. 269–282.
196. Hideaki Takahashi 1 T. S. T. U. M. K. J. H. I. G. R. T. Complications and Diagnostic Yield of Stereotactic Biopsy for the Patients with Malignant Brain Tumors // *No Shinkei Geka* . 2004. № 1 (32). С. 135–140.
197. Hindson B. J. [и др.]. High-throughput droplet digital PCR system for absolute quantitation of DNA copy number // *Analytical chemistry*. 2011. № 22 (83). С. 8604–8610.
198. Hoffman L. M. [и др.]. Clinical, Radiologic, Pathologic, and Molecular Characteristics of Long-Term Survivors of Diffuse Intrinsic Pontine Glioma (DIPG): A Collaborative Report From the International and European Society for Pediatric Oncology DIPG Registries // *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2018. № 19 (36). С. 1963–1972.
199. Hoffman L. M. [и др.]. Clinical, Radiologic, Pathologic, and Molecular Characteristics of Long-Term Survivors of Diffuse Intrinsic Pontine Glioma (DIPG): A Collaborative Report From the International and European Society for Pediatric Oncology DIPG Registries // *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2018. № 19 (36). С. 1963–1972.
200. Hohm A. [и др.]. Magnetic Resonance Imaging Characteristics of Molecular Subgroups in Pediatric H3 K27M Mutant Diffuse Midline Glioma // *Clinical neuroradiology*. 2022. № 1 (32). С. 249–258.
201. Hu X. [и др.]. Radiotherapy for diffuse brainstem glioma in children and young adults // *The Cochrane database of systematic reviews*. 2016. № 6 (2016).
202. Hu Z., Ott P. A., Wu C. J. Towards personalized, tumour-specific, therapeutic vaccines for cancer // *Nature reviews. Immunology*. 2018. № 3 (18). С. 168–182.
203. Huang L. E. Impact of CDKN2A/B Homozygous Deletion on the Prognosis and Biology of IDH-Mutant Glioma // *Biomedicines*. 2022. № 2 (10).

204. Huang T. Y. [и др.]. Detection of Histone H3 mutations in cerebrospinal fluid-derived tumor DNA from children with diffuse midline glioma // *Acta neuropathologica communications*. 2017. № 1 (5). С. 28.
205. Huggett J. F., Cowen S., Foy C. A. Considerations for digital PCR as an accurate molecular diagnostic tool // *Clinical chemistry*. 2015. № 1 (61). С. 79–88.
206. Ibrahim A. [и др.]. Radiomics for precision medicine: Current challenges, future prospects, and the proposal of a new framework // *Methods (San Diego, Calif.)*. 2021. (188). С. 20–29.
207. Idbaih A. [и др.]. Safety and Feasibility of Repeated and Transient Blood-Brain Barrier Disruption by Pulsed Ultrasound in Patients with Recurrent Glioblastoma // *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2019. № 13 (25). С. 3793–3801.
208. Ishiuchi S. [и др.]. Blockage of Ca(2+)-permeable AMPA receptors suppresses migration and induces apoptosis in human glioblastoma cells // *Nature medicine*. 2002. № 9 (8). С. 971–978.
209. Izzuddeen Y. [и др.]. Hypofractionated radiotherapy with temozolomide in diffuse intrinsic pontine gliomas: a randomized controlled trial // *Journal of neuro-oncology*. 2020. № 1 (146). С. 91–95.
210. Jackson C. M., Lim M., Drake C. G. Immunotherapy for brain cancer: recent progress and future promise // *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2014. № 14 (20). С. 3651–3659.
211. Jackson R. J. [и др.]. Limitations of stereotactic biopsy in the initial management of gliomas // *Neuro-oncology*. 2001. № 3 (3). С. 193–200.
212. Jain R. [и др.]. Correlation of perfusion parameters with genes related to angiogenesis regulation in glioblastoma: a feasibility study // *AJNR. American journal of neuroradiology*. 2012. № 7 (33). С. 1343–1348.
213. Jansen M. H. [и др.]. Survival prediction model of children with diffuse intrinsic pontine glioma based on clinical and radiological criteria // *Neuro-oncology*. 2015. № 1 (17). С. 160–166.

214. Jansen M. H. A. [и др.]. Diffuse intrinsic pontine gliomas: a systematic update on clinical trials and biology // *Cancer treatment reviews*. 2012. № 1 (38). С. 27–35.
215. Janssens G. O. [и др.]. Hypofractionation vs conventional radiation therapy for newly diagnosed diffuse intrinsic pontine glioma: a matched-cohort analysis // *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 2013. № 2 (85). С. 315–320.
216. Johanns T. M. [и др.]. Rapid Clinical and Radiographic Response With Combined Dabrafenib and Trametinib in Adults With BRAF-Mutated High-Grade Glioma // *Journal of the National Comprehensive Cancer Network : JNCCN*. 2018. № 1 (16). С. 4–10.
217. Johnson A. [и др.]. Comprehensive Genomic Profiling of 282 Pediatric Low- and High-Grade Gliomas Reveals Genomic Drivers, Tumor Mutational Burden, and Hypermutation Signatures // *The oncologist*. 2017. № 12 (22). С. 1478–1490.
218. Johnson K. J. [и др.]. Childhood brain tumor epidemiology: a brain tumor epidemiology consortium review // *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2014. № 12 (23). С. 2716–2736.
219. Jones C., Baker S. J. Unique genetic and epigenetic mechanisms driving paediatric diffuse high-grade glioma // *Nature reviews. Cancer*. 2014. № 10 (14). С. 651–661.
220. Jones D. T. W. [и др.]. Recurrent somatic alterations of FGFR1 and NTRK2 in pilocytic astrocytoma // *Nature genetics*. 2013. № 8 (45). С. 927–932.
221. June C. H. [и др.]. CAR T cell immunotherapy for human cancer // *Science (New York, N.Y.)*. 2018. № 6382 (359). С. 1361–1365.
222. Jung J. S. [и др.]. Differentiation between spinal cord diffuse midline glioma with histone H3 K27M mutation and wild type: comparative magnetic resonance imaging // *Neuroradiology*. 2019. № 3 (61). С. 313–322.

223. Juratli T. A. [и др.]. TERT Promoter Mutation Detection in Cell-Free Tumor-Derived DNA in Patients with IDH Wild-Type Glioblastomas: A Pilot Prospective Study // *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2018. № 21 (24). С. 5282–5291.
224. Kalapurakal J. A. [и др.]. Fractionated stereotactic radiotherapy for pediatric brain tumors: the Chicago children's experience // *Child's nervous system : ChNS : official journal of the International Society for Pediatric Neurosurgery*. 2000. № 5 (16). С. 296–302.
225. Kaley T. [и др.]. BRAF Inhibition in BRAFV600-Mutant Gliomas: Results From the VE-BASKET Study // *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2018. № 35 (36). С. 3477–3484.
226. Kanemaru Y. [и др.]. Dramatic response of BRAF V600E-mutant epithelioid glioblastoma to combination therapy with BRAF and MEK inhibitor: establishment and xenograft of a cell line to predict clinical efficacy // *Acta neuropathologica communications*. 2019. № 1 (7). С. 119.
227. Kaplan A. M. [и др.]. Brainstem gliomas in children. A Children's Cancer Group review of 119 cases // *Pediatric neurosurgery*. 1996. № 4 (24). С. 185–192.
228. Karschnia P. [и др.]. Evidence-based recommendations on categories for extent of resection in diffuse glioma // *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*. 2021. (149). С. 23–33.
229. Keller A. [и др.]. Identification of novel SNPs in glioblastoma using targeted resequencing // *PloS one*. 2011. № 6 (6).
230. Keskin D. B. [и др.]. Neoantigen vaccine generates intratumoral T cell responses in phase Ib glioblastoma trial // *Nature*. 2019. № 7738 (565). С. 234–239.
231. Khuong-Quang D. A. [и др.]. K27M mutation in histone H3.3 defines clinically and biologically distinct subgroups of pediatric diffuse intrinsic pontine gliomas // *Acta neuropathologica*. 2012. № 3 (124). С. 439–447.

232. Kleinschmidt-DeMasters B. K., Levy J. M. M. H3 K27M-mutant gliomas in adults vs. children share similar histological features and adverse prognosis // *Clinical neuropathology*. 2018. № 2 (37 (2018)). С. 53–63.
233. Klement G. L. [и др.]. Platelets actively sequester angiogenesis regulators // *Blood*. 2009. № 12 (113). С. 2835–2842.
234. Koçak B. [и др.]. Radiomics with artificial intelligence: a practical guide for beginners // *Diagnostic and interventional radiology (Ankara, Turkey)*. 2019. № 6 (25). С. 485–495.
235. Korshunov A. [и др.]. Integrated analysis of pediatric glioblastoma reveals a subset of biologically favorable tumors with associated molecular prognostic markers // *Acta neuropathologica*. 2015. № 5 (129). С. 669–678.
236. Kralik S. F. [и др.]. Radiation Necrosis in Pediatric Patients with Brain Tumors Treated with Proton Radiotherapy // *AJNR. American journal of neuroradiology*. 2015. № 8 (36). С. 1572–1578.
237. Kratz C. P. [и др.]. Predisposition to cancer in children and adolescents // *The Lancet. Child & adolescent health*. 2021. № 2 (5). С. 142–154.
238. Kreth F. W. [и др.]. Interstitial radiosurgery of low-grade gliomas // *Journal of neurosurgery*. 1995. № 3 (82). С. 418–429.
239. Kulkarni A. V. [и др.]. Incidence of silent hemorrhage and delayed deterioration after stereotactic brain biopsy // *Journal of neurosurgery*. 1998. № 1 (89). С. 31–35.
240. Kumar V. [и др.]. Radiomics: the process and the challenges // *Magnetic resonance imaging*. 2012. № 9 (30). С. 1234–1248.
241. Kushnirsky M. [и др.]. Prolonged Complete Response With Combined Dabrafenib and Trametinib After BRAF Inhibitor Failure in BRAF-Mutant Glioblastoma // *JCO precision oncology*. 2020. № 4 (4). С. 44–50.
242. Kwon J. W. [и др.]. Paediatric brain-stem gliomas: MRI, FDG-PET and histological grading correlation // *Pediatric radiology*. 2006. № 9 (36). С. 959–964.

243. Lamsam L. [и др.]. A review of potential applications of MR-guided focused ultrasound for targeting brain tumor therapy // *Neurosurgical focus*. 2018. № 2 (44).
244. Landolfi J. C., Thaler H. T., DeAngelis L. M. Adult brainstem gliomas // *Neurology*. 1998. № 4 (51). С. 1136–1139.
245. Lao J. [и др.]. A Deep Learning-Based Radiomics Model for Prediction of Survival in Glioblastoma Multiforme // *Scientific reports*. 2017. № 1 (7).
246. Leach J. L. [и др.]. MR imaging features of diffuse intrinsic pontine glioma and relationship to overall survival: report from the International DIPG Registry // *Neuro-oncology*. 2020. № 11 (22). С. 1647–1657.
247. Lefranc M. [и др.]. Frameless robotic stereotactic biopsies: a consecutive series of 100 cases // *Journal of neurosurgery*. 2015. № 2 (122). С. 342–352.
248. Lenting K. [и др.]. Glioma: experimental models and reality // *Acta neuropathologica*. 2017. № 2 (133). С. 263–282.
249. Levin V. A. [и др.]. Randomized double-blind placebo-controlled trial of bevacizumab therapy for radiation necrosis of the central nervous system // *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 2011. № 5 (79). С. 1487–1495.
250. Liu H. [и др.]. Epidemiology and Survival of Patients With Brainstem Gliomas: A Population-Based Study Using the SEER Database // *Frontiers in Oncology*. 2021. (11). С. 692097.
251. Liu H. L. [и др.]. Combining microbubbles and ultrasound for drug delivery to brain tumors: current progress and overview // *Theranostics*. 2014. № 4 (4). С. 432–444.
252. Liu Z. [и др.]. The Applications of Radiomics in Precision Diagnosis and Treatment of Oncology: Opportunities and Challenges // *Theranostics*. 2019. № 5 (9). С. 1303–1322.
253. Löbel U. [и др.]. Three-dimensional susceptibility-weighted imaging and two-dimensional T2\*-weighted gradient-echo imaging of intratumoral

- hemorrhages in pediatric diffuse intrinsic pontine glioma // *Neuroradiology*. 2010. № 12 (52). С. 1167–1177.
254. Louis D. N. [и др.]. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary // *Acta neuropathologica*. 2016. № 6 (131). С. 803–820.
255. Louis D. N. [и др.]. cIMPACT-NOW (the consortium to inform molecular and practical approaches to CNS tumor taxonomy): a new initiative in advancing nervous system tumor classification // *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*. 2017. № 6 (27). С. 851–852.
256. Louis D. N. [и др.]. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary // *Neuro-oncology*. 2021. № 8 (23). С. 1231–1251.
257. Louveau A., Harris T. H., Kipnis J. Revisiting the Mechanisms of CNS Immune Privilege // *Trends in immunology*. 2015. № 10 (36). С. 569–577.
258. Lu V. M. [и др.]. Impact of the H3K27M mutation on survival in pediatric high-grade glioma: a systematic review and meta-analysis // *Journal of neurosurgery. Pediatrics*. 2018. № 3 (23). С. 308–316.
259. Lu V. M. [и др.]. Liquid biopsy for diffuse intrinsic pontine glioma: an update // *Journal of neurosurgery. Pediatrics*. 2019. № 5 (24). С. 593–600.
260. Lubner M. G. [и др.]. CT Texture Analysis: Definitions, Applications, Biologic Correlates, and Challenges // *Radiographics : a review publication of the Radiological Society of North America, Inc*. 2017. № 5 (37). С. 1483–1503.
261. Ma X. [и др.]. Pan-cancer genome and transcriptome analyses of 1,699 paediatric leukaemias and solid tumours // *Nature*. 2018. № 7696 (555). С. 371–376.
262. Mackay A. [и др.]. Integrated Molecular Meta-Analysis of 1,000 Pediatric High-Grade and Diffuse Intrinsic Pontine Glioma // *Cancer cell*. 2017. № 4 (32). С. 520-537.e5.
263. Maggs L. [и др.]. CAR T Cell-Based Immunotherapy for the Treatment of Glioblastoma // *Frontiers in neuroscience*. 2021. (15).

264. Main C. [и др.]. The role of high-dose myeloablative chemotherapy with haematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in children with central nervous system (CNS) tumours: protocol for a systematic review and meta-analysis // Systematic reviews. 2015. № 1 (4).
265. Maire C. L. [и др.]. Genome-wide methylation profiling of glioblastoma cell-derived extracellular vesicle DNA allows tumor classification // Neuro-oncology. 2021. № 7 (23). С. 1087–1099.
266. Malone E. R. [и др.]. Molecular profiling for precision cancer therapies // Genome medicine. 2020. № 1 (12).
267. Malone H. [и др.]. Complications Following Stereotactic Needle Biopsy of Intracranial Tumors // World neurosurgery. 2015. № 4 (84). С. 1084–1089.
268. Malouff T. D. [и др.]. Carbon ion radiotherapy in the treatment of gliomas: a review // Journal of neuro-oncology. 2019. № 2 (145). С. 191–199.
269. Mandell L. R. [и др.]. There is no role for hyperfractionated radiotherapy in the management of children with newly diagnosed diffuse intrinsic brainstem tumors: Results of a pediatric oncology group phase III trial comparing conventional vs. hyperfractionated radiotherapy // International Journal of Radiation Oncology Biology Physics. 1999. № 5 (43). С. 959–964.
270. Marcus H. J. [и др.]. Robot-assisted stereotactic brain biopsy: systematic review and bibliometric analysis // Child's nervous system : ChNS : official journal of the International Society for Pediatric Neurosurgery. 2018. № 7 (34). С. 1299–1309.
271. Marks J. E. [и др.]. Cerebral radionecrosis: incidence and risk in relation to dose, time, fractionation and volume // International journal of radiation oncology, biology, physics. 1981. № 2 (7). С. 243–252.
272. Martínez-Ricarte F. [и др.]. Molecular Diagnosis of Diffuse Gliomas through Sequencing of Cell-Free Circulating Tumor DNA from Cerebrospinal Fluid // Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research. 2018. № 12 (24). С. 2812–2819.

273. Martuza R. L. [и др.]. Experimental therapy of human glioma by means of a genetically engineered virus mutant // *Science* (New York, N.Y.). 1991. № 5007 (252). С. 854–856.
274. MASAMITSU NISHIHARA T. S. H. K. E. K. Morbidity of Stereotactic Biopsy for Intracranial Lesions // *Kobe J. Med. Sci.* 2010. № 4 (56). С. E148–E153.
275. Massara M. [и др.]. Neutrophils in Gliomas // *Frontiers in immunology*. 2017. № OCT (8).
276. Mattos-Arruda L. De [и др.]. Cerebrospinal fluid-derived circulating tumour DNA better represents the genomic alterations of brain tumours than plasma // *Nature communications*. 2015. (6).
277. Mazzucchelli R. [и др.]. Prostate tissue and serum markers // *Advances in clinical pathology : the official journal of Adriatic Society of Pathology*. 2000. № 3 (4). С. 111–120.
278. McAbee J. H. [и др.]. Detection of glioblastoma intratumor heterogeneity in radiosensitivity using patient-derived neurosphere cultures // *Journal of neuro-oncology*. 2020. № 3 (149). С. 383.
279. McCrea H. J. [и др.]. Sex, Age, Anatomic Location, and Extent of Resection Influence Outcomes in Children With High-grade Glioma // *Neurosurgery*. 2015. № 3 (77). С. 443–452.
280. McGinn S., Gut I. G. DNA sequencing - spanning the generations // *New biotechnology*. 2013. № 4 (30). С. 366–372.
281. McMahon J. T. [и др.]. Circulating Tumor DNA in Adults With Glioma: A Systematic Review and Meta-Analysis of Biomarker Performance // *Neurosurgery*. 2022. № 2 (91). С. 231–238.
282. Mehrkens J. H. [и др.]. Long term course of WHO grade II astrocytomas of the Insula of Reil after I-125 interstitial irradiation // *Journal of neurology*. 2004. № 12 (251). С. 1455–1464.

283. Melean G. [и др.]. Genetic insights into familial tumors of the nervous system // American journal of medical genetics. Part C, Seminars in medical genetics. 2004. № 1 (129C). С. 74–84.
284. Melincovici C. S. [и др.]. Vascular endothelial growth factor (VEGF) - key factor in normal and pathological angiogenesis // Romanian journal of morphology and embryology = Revue roumaine de morphologie et embryologie. 2018. № 2 (59). С. 455–467.
285. Meshkini A. [и др.]. Role of stereotactic biopsy in histological diagnosis of multiple brain lesions // Asian journal of neurosurgery. 2013. № 2 (8). С. 69–73.
286. Meyronet D. [и др.]. Characteristics of H3 K27M-mutant gliomas in adults // Neuro-oncology. 2017. № 8 (19). С. 1127–1134.
287. Michalski A. [и др.]. The addition of high-dose tamoxifen to standard radiotherapy does not improve the survival of patients with diffuse intrinsic pontine glioma // Journal of neuro-oncology. 2010. № 1 (100). С. 81–88.
288. Michaud L. [и др.]. 18F-Fluciclovine (18F-FACBC) PET imaging of recurrent brain tumors // European journal of nuclear medicine and molecular imaging. 2020. № 6 (47). С. 1353–1367.
289. Michelson N. [и др.]. Exploring the role of inflammation in the malignant transformation of low-grade gliomas // Journal of neuroimmunology. 2016. (297). С. 132–140.
290. Migliorini D. [и др.]. CAR T-Cell Therapies in Glioblastoma: A First Look // Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research. 2018. № 3 (24). С. 535–540.
291. Milbury C. A. [и др.]. Clinical and analytical validation of FoundationOne®CDx, a comprehensive genomic profiling assay for solid tumors // PloS one. 2022. № 3 (17).
292. Miller B. A. [и др.]. Applications of a robotic stereotactic arm for pediatric epilepsy and neurooncology surgery // Journal of neurosurgery. Pediatrics. 2017. № 4 (20). С. 364–370.

293. Miller J. J. Targeting IDH-Mutant Glioma // *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*. 2022. № 6 (19). С. 1724–1732.
294. Miotke L. [и др.]. High sensitivity detection and quantitation of DNA copy number and single nucleotide variants with single color droplet digital PCR // *Analytical chemistry*. 2014. № 5 (86). С. 2618–2624.
295. Mirestean C. C. [и др.]. Radiomic Machine Learning and Texture Analysis - New Horizons for Head and Neck Oncology // *Maedica*. 2019. № 2 (14). С. 126–130.
296. Monje M., Fisher P. G. Neurological complications following treatment of children with brain tumors // *Journal of pediatric rehabilitation medicine*. 2011. № 1 (4). С. 31–36.
297. Morad G. [и др.]. Tumor-Derived Extracellular Vesicles Breach the Intact Blood-Brain Barrier via Transcytosis // *ACS nano*. 2019. № 12 (13). С. 13853–13865.
298. Mosaab A. [и др.]. Histone H3K27M Mutation Overrides Histological Grading in Pediatric Gliomas // *Scientific reports*. 2020. № 1 (10).
299. Mouliere F. [и др.]. Enhanced detection of circulating tumor DNA by fragment size analysis // *Science translational medicine*. 2018. № 466 (10).
300. Mount C. W. [и др.]. Potent antitumor efficacy of anti-GD2 CAR T cells in H3-K27M+ diffuse midline gliomas // *Nature medicine*. 2018. № 5 (24). С. 572–579.
301. Mueller S. [и др.]. A pilot precision medicine trial for children with diffuse intrinsic pontine glioma-PNOC003: A report from the Pacific Pediatric Neuro-Oncology Consortium // *International journal of cancer*. 2019. № 7 (145). С. 1889–1901.
302. Mulhern R. K. [и др.]. Late neurocognitive sequelae in survivors of brain tumours in childhood // *Lancet Oncology*. 2004. № 7 (5). С. 399–408.
303. Mullard A. FDA approves first CAR T therapy // *Nature reviews. Drug discovery*. 2017. № 10 (16). С. 669.

304. Muroi A. [и др.]. Proton therapy for newly diagnosed pediatric diffuse intrinsic pontine glioma // *Child's nervous system : ChNS : official journal of the International Society for Pediatric Neurosurgery*. 2020. № 3 (36). С. 507–512.
305. Murthy V. H., Krumholz H. M., Gross C. P. Participation in cancer clinical trials: race-, sex-, and age-based disparities // *JAMA*. 2004. № 22 (291). С. 2720–2726.
306. Narayana A. [и др.]. Antiangiogenic therapy using bevacizumab in recurrent high-grade glioma: impact on local control and patient survival // *Journal of neurosurgery*. 2009. № 1 (110). С. 173–180.
307. Nassiri F. [и др.]. Detection and discrimination of intracranial tumors using plasma cell-free DNA methylomes // *Nature medicine*. 2020. № 7 (26). С. 1044–1047.
308. Neglia J. P. [и др.]. New primary neoplasms of the central nervous system in survivors of childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study // *Journal of the National Cancer Institute*. 2006. № 21 (98). С. 1528–1537.
309. Negretti L. [и др.]. Hypofractionated radiotherapy in the treatment of diffuse intrinsic pontine glioma in children: a single institution's experience // *Journal of neuro-oncology*. 2011. № 3 (104). С. 773–777.
310. Neugut A. I. [и др.]. Magnetic Resonance Imaging-Based Screening for Asymptomatic Brain Tumors: A Review // *The oncologist*. 2019. № 3 (24). С. 375–384.
311. Newick K. [и др.]. CAR T Cell Therapy for Solid Tumors // *Annual review of medicine*. 2017. (68). С. 139–152.
312. Ng F. [и др.]. Assessment of tumor heterogeneity by CT texture analysis: can the largest cross-sectional area be used as an alternative to whole tumor analysis? // *European journal of radiology*. 2013. № 2 (82). С. 342–348.
313. Nghiemphu P. L. [и др.]. Bevacizumab and chemotherapy for recurrent glioblastoma: a single-institution experience // *Neurology*. 2009. № 14 (72). С. 1217–1222.

314. Nikiforova M. N., Hamilton R. L. Molecular diagnostics of gliomas // Archives of pathology & laboratory medicine. 2011. № 5 (135). С. 558–568.
315. Niu X. [и др.]. Surgical treatment and survival outcome of patients with adult thalamic glioma: a single institution experience of 8 years // Journal of neuro-oncology. 2020. № 2 (147). С. 377–386.
316. Niu X. [и др.]. Pineal Region Glioblastomas: Clinical Characteristics, Treatment, and Survival Outcome // World neurosurgery. 2021. (146). С. e799–e810.
317. Norden A. D. [и др.]. Bevacizumab for recurrent malignant gliomas: efficacy, toxicity, and patterns of recurrence // Neurology. 2008. № 10 (70). С. 779–787.
318. Norden A. D., Drappatz J., Wen P. Y. Antiangiogenic therapies for high-grade glioma // Nature reviews. Neurology. 2009. № 11 (5). С. 610–620.
319. O'Connor J. P. B. [и др.]. Imaging intratumor heterogeneity: role in therapy response, resistance, and clinical outcome // Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research. 2015. № 2 (21). С. 249–257.
320. O'Connor J. P. B. [и др.]. Imaging biomarker roadmap for cancer studies // Nature reviews. Clinical oncology. 2017. № 3 (14). С. 169–186.
321. Omuro A., DeAngelis L. M. Glioblastoma and other malignant gliomas: a clinical review // JAMA. 2013. № 17 (310). С. 1842–1850.
322. O'Rourke D. M. [и др.]. A single dose of peripherally infused EGFRvIII-directed CAR T cells mediates antigen loss and induces adaptive resistance in patients with recurrent glioblastoma // Science translational medicine. 2017. № 399 (9).
323. Ostrom Q. T. [и др.]. CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2007-2011 // Neuro-oncology. 2014. № Suppl 4 (16 Suppl 4). С. iv1–iv63.
324. Ostrom Q. T. [и др.]. American Brain Tumor Association Adolescent and Young Adult Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the

United States in 2008-2012 // *Neuro-oncology*. 2016. № Suppl 1 (18 Suppl 1). С. i1–i50.

325. Ostrom Q. T. [и др.]. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2012-2016 // *Neuro-oncology*. 2019. № Suppl 5 (21). С. V1–V100.

326. Oxnard G. R. [и др.]. Noninvasive detection of response and resistance in EGFR-mutant lung cancer using quantitative next-generation genotyping of cell-free plasma DNA // *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2014. № 6 (20). С. 1698–1705.

327. Pack G. T. Note on the experimental use of rabies vaccine for melanomatosis // *A.M.A. archives of dermatology and syphilology*. 1950. № 5 (62). С. 694–695.

328. Panditharatna E. [и др.]. Clinically Relevant and Minimally Invasive Tumor Surveillance of Pediatric Diffuse Midline Gliomas Using Patient-Derived Liquid Biopsy // *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2018. № 23 (24). С. 5850–5859.

329. Papanicolau-Sengos A., Aldape K. DNA Methylation Profiling: An Emerging Paradigm for Cancer Diagnosis // *Annual review of pathology*. 2022. (17). С. 295–321.

330. Paret C. [и др.]. Personalized therapy: CNS HGNET-BCOR responsiveness to arsenic trioxide combined with radiotherapy // *Oncotarget*. 2017. № 69 (8). С. 114210–114225.

331. Park C. K. [и др.]. Usefulness of MS-MLPA for detection of MGMT promoter methylation in the evaluation of pseudoprogression in glioblastoma patients // *Neuro-oncology*. 2011. № 2 (13). С. 195–202.

332. Park J. [и др.]. The kinetics of blood brain barrier permeability and targeted doxorubicin delivery into brain induced by focused ultrasound // *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*. 2012. № 1 (162). С. 134–142.

333. Parsons D. W. [и др.]. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme // *Science (New York, N.Y.)*. 2008. № 5897 (321). С. 1807–1812.

334. Patel P., Balamurugan M. Transcerebellar stereotactic biopsy for brainstem lesions in children // *Journal of pediatric neurosciences*. 2009. № 1 (4). С. 17–19.
335. Patil N. [и др.]. Epidemiology of brainstem high-grade gliomas in children and adolescents in the United States, 2000-2017 // *Neuro-Oncology*. 2021. № 6 (23). С. 990.
336. Pentsova E. I. [и др.]. Evaluating Cancer of the Central Nervous System Through Next-Generation Sequencing of Cerebrospinal Fluid // *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2016. № 20 (34). С. 2404–2415.
337. Perreault S. [и др.]. MRI surrogates for molecular subgroups of medulloblastoma // *AJNR. American journal of neuroradiology*. 2014. № 7 (35). С. 1263–1269.
338. Petzold A. Glial fibrillary acidic protein is a body fluid biomarker for glial pathology in human disease // *Brain research*. 2015. (1600). С. 17–31.
339. Pinheiro L. B. [и др.]. Evaluation of a droplet digital polymerase chain reaction format for DNA copy number quantification // *Analytical chemistry*. 2012. № 2 (84). С. 1003–1011.
340. Plimpton S. R. [и др.]. Cerebral radiation necrosis in pediatric patients // *Pediatric hematology and oncology*. 2015. № 1 (32). С. 78–83.
341. Pogosbekian E. L. [и др.]. Feasibility of generalised diffusion kurtosis imaging approach for brain glioma grading // *Neuroradiology*. 2021. № 8 (63). С. 1241–1251.
342. Pope W. B. [и др.]. MRI in patients with high-grade gliomas treated with bevacizumab and chemotherapy // *Neurology*. 2006. № 8 (66). С. 1258–1260.
343. Pope W. B. [и др.]. Relationship between gene expression and enhancement in glioblastoma multiforme: exploratory DNA microarray analysis // *Radiology*. 2008. № 1 (249). С. 268–277.
344. Postel M. [и др.]. Droplet-based digital PCR and next generation sequencing for monitoring circulating tumor DNA: a cancer diagnostic perspective // *Expert review of molecular diagnostics*. 2018. № 1 (18). С. 7–17.

345. Pratt E. D. [и др.]. Rare Cell Capture in Microfluidic Devices // *Chemical engineering science*. 2011. № 7 (66). С. 1508–1522.
346. Puget S. [и др.]. Biopsy in a series of 130 pediatric diffuse intrinsic Pontine gliomas // *Child's nervous system: ChNS: official journal of the International Society for Pediatric Neurosurgery*. 2015. № 10 (31). С. 1773–1780.
347. Pujals C. [и др.]. Estudio epidemiológico comparativo sobre lesiones deportivas en una muestra española de 25 distintos deportes/Comparative sport injury epidemiological study on // [search.proquest.com](http://search.proquest.com)C Pujals, VJ Rubio, MO Márquez, IS Iglesias, R Ruiz-Barquín *Revista de Psicología del Deporte*, 2016•[search.proquest.com](http://search.proquest.com).
348. Puthenpura V. [и др.]. Radiation Necrosis with Proton Therapy in a Patient with Aarskog-Scott Syndrome and Medulloblastoma // *International journal of particle therapy*. 2021. № 3 (8). С. 58–65.
349. Qin C. [и др.]. Multidisciplinary Therapy Managed Recurrent Glioblastoma in a BRAF-V600E Mutant Pregnant Female: A Case Report and Review of the Literature // *Frontiers in oncology*. 2020. (10).
350. Qiu T. [и др.]. Imaging characteristics of adult H3 K27M-mutant gliomas // *Journal of neurosurgery*. 2019. № 6 (133). С. 1662–1670.
351. Quick-Weller J. [и др.]. Biopsies of pediatric brainstem lesions display low morbidity but strong impact on further treatment decisions // *Journal of clinical neuroscience: official journal of the Neurosurgical Society of Australasia*. 2017. (44). С. 254–259.
352. Rackwitz T., Debus J. Clinical applications of proton and carbon ion therapy // *Seminars in oncology*. 2019. № 3 (46). С. 226–232.
353. Rajshekhar V., Moorthy R. K. Status of stereotactic biopsy in children with brain stem masses: insights from a series of 106 patients // *Stereotactic and functional neurosurgery*. 2010. № 6 (88). С. 360–366.
354. Reardon D. A. [и др.]. Rindopepimut with Bevacizumab for Patients with Relapsed EGFRvIII-Expressing Glioblastoma (ReACT): Results of a Double-

- Blind Randomized Phase II Trial // *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2020. № 7 (26). С. 1586–1594.
355. Reddy A. T. [и др.]. Efficacy of High-Dose Chemotherapy and Three-Dimensional Conformal Radiation for Atypical Teratoid/Rhabdoid Tumor: A Report From the Children’s Oncology Group Trial ACNS0333 // *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2020. № 11 (38). С. 1175–1185.
356. Remon J., Majem M. EGFR mutation heterogeneity and mixed response to EGFR tyrosine kinase inhibitors of non small cell lung cancer: a clue to overcoming resistance // *Translational lung cancer research*. 2013. № 6 (2). С. 445–448.
357. Rhun E. Le [и др.]. Molecular targeted therapy of glioblastoma // *Cancer treatment reviews*. 2019. (80).
358. Ringel F. [и др.]. Clinical benefit from resection of recurrent glioblastomas: results of a multicenter study including 503 patients with recurrent glioblastomas undergoing surgical resection // *Neuro-oncology*. 2016. № 1 (18). С. 96–104.
359. Roberts J. W. [и др.]. Focused ultrasound for the treatment of glioblastoma // *Journal of neuro-oncology*. 2022. № 2 (157). С. 237–247.
360. Robison N. J., Kieran M. W. Diffuse intrinsic pontine glioma: a reassessment // *Journal of neuro-oncology*. 2014. № 1 (119). С. 7–15.
361. Rodriguez F. J., Vizcaino M. A., Lin M. T. Recent Advances on the Molecular Pathology of Glial Neoplasms in Children and Adults // *The Journal of molecular diagnostics : JMD*. 2016. № 5 (18). С. 620–634.
362. Rong L., Li N., Zhang Z. Emerging therapies for glioblastoma: current state and future directions // *Journal of experimental & clinical cancer research : CR*. 2022. № 1 (41).
363. Roujeau T. [и др.]. Stereotactic biopsy of diffuse pontine lesions in children // *Journal of neurosurgery*. 2007. № 1 Suppl (107). С. 1–4.

364. Ruben J. D. [и др.]. Cerebral radiation necrosis: incidence, outcomes, and risk factors with emphasis on radiation parameters and chemotherapy // International journal of radiation oncology, biology, physics. 2006. № 2 (65). С. 499–508.
365. Ruibal Morell A. CEA serum levels in non-neoplastic disease // The International journal of biological markers. 1992. № 3 (7). С. 160–166.
366. S. Hersh D. [и др.]. Evolving Drug Delivery Strategies to Overcome the Blood Brain Barrier // Current pharmaceutical design. 2016. № 9 (22). С. 1177–1193.
367. Sadelain M., Rivière I., Riddell S. Therapeutic T cell engineering // Nature. 2017. № 7655 (545). С. 423–431.
368. Sahm F. [и др.]. Next-generation sequencing in routine brain tumor diagnostics enables an integrated diagnosis and identifies actionable targets // Acta neuropathologica. 2016. № 6 (131). С. 903–910.
369. Salloum R. [и др.]. A molecular biology and phase II study of imetelstat (GRN163L) in children with recurrent or refractory central nervous system malignancies: a pediatric brain tumor consortium study // Journal of neuro-oncology. 2016. № 3 (129). С. 443–451.
370. Sampson J. H. [и др.]. Immunologic escape after prolonged progression-free survival with epidermal growth factor receptor variant III peptide vaccination in patients with newly diagnosed glioblastoma // Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology. 2010. № 31 (28). С. 4722–4729.
371. Sant M. [и др.]. EURO CARE-4. Survival of cancer patients diagnosed in 1995-1999. Results and commentary // European journal of cancer (Oxford, England : 1990). 2009. № 6 (45). С. 931–991.
372. Santiago-Díeppa D. R. [и др.]. Extracellular Vesicles as a Platform for Glioma Therapeutic Development // Progress in neurological surgery. 2018. (32). С. 172–179.

373. Saratsis A. M. [и др.]. Comparative multidimensional molecular analyses of pediatric diffuse intrinsic pontine glioma reveals distinct molecular subtypes // *Acta neuropathologica*. 2014. № 6 (127). С. 881–895.
374. Sawin P. D. [и др.]. Computed imaging-assisted stereotactic brain biopsy: A risk analysis of 225 consecutive cases // *Surgical Neurology*. 1998. № 6 (49). С. 640–649.
375. Saxena M. [и др.]. Therapeutic cancer vaccines // *Nature reviews. Cancer*. 2021. № 6 (21). С. 360–378.
376. Schätz C. R. [и др.]. Interstitial 125-iodine radiosurgery of low-grade gliomas of the insula of Reil // *Acta neurochirurgica*. 1994. № 1–4 (130). С. 80–89.
377. Schiffer D. [и др.]. Radio- and chemotherapy of malignant gliomas. Pathological changes in the normal nervous tissue // *Acta Neurochirurgica*. 1981. № 1–2 (58). С. 37–58.
378. Schillaci O. [и др.]. Single-photon emission computed tomography/computed tomography in brain tumors // *Seminars in nuclear medicine*. 2007. № 1 (37). С. 34–47.
379. Schindler G. [и др.]. Analysis of BRAF V600E mutation in 1,320 nervous system tumors reveals high mutation frequencies in pleomorphic xanthoastrocytoma, ganglioglioma and extra-cerebellar pilocytic astrocytoma // *Acta neuropathologica*. 2011. № 3 (121). С. 397–405.
380. Schreck K. C. [и др.]. Concurrent BRAF/MEK Inhibitors in BRAF V600-Mutant High-Grade Primary Brain Tumors // *Journal of the National Comprehensive Cancer Network : JNCCN*. 2018. № 4 (16). С. 343–347.
381. Schwartzenuber J. [и др.]. Driver mutations in histone H3.3 and chromatin remodelling genes in paediatric glioblastoma // *Nature*. 2012. № 7384 (482). С. 226–231.
382. Seoane J. [и др.]. Cerebrospinal fluid cell-free tumour DNA as a liquid biopsy for primary brain tumours and central nervous system metastases // *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*. 2019. № 2 (30). С. 211–218.

383. Shen S. Y. [и др.]. Sensitive tumour detection and classification using plasma cell-free DNA methylomes // *Nature*. 2018. № 7732 (563). С. 579–583.
384. Shen S. Y. [и др.]. Preparation of cfMeDIP-seq libraries for methylome profiling of plasma cell-free DNA // *Nature protocols*. 2019. № 10 (14). С. 2749–2780.
385. Shinn R. L. [и др.]. Risk factors for adverse events occurring after recovery from stereotactic brain biopsy in dogs with primary intracranial neoplasia // *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2020. № 5 (34). С. 2021–2028.
386. Skog J. [и др.]. Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers // *Nature cell biology*. 2008. № 12 (10). С. 1470–1476.
387. Solodky V.A. R. O. S. , B. V. K. , S. O. I. , A. F. F. , P. R. A. , A. E. V. , Z. N. I. , K. A. M. , S. A. I. MUTANT BRAF GENE IN BLOOD PLASMA IN CHILDREN WITH BRAIN GLIOMAS DURING RADIOTHERAPY AND ITS ROLE IN THE PROGNOSIS. // *Cancer*. 2021. № S5 (68). С. 446.
388. Solomon D. A. [и др.]. Diffuse Midline Gliomas with Histone H3-K27M Mutation: A Series of 47 Cases Assessing the Spectrum of Morphologic Variation and Associated Genetic Alterations // *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*. 2016. № 5 (26). С. 569–580.
389. Soo T. M. [и др.]. Failed stereotactic biopsy in a series of 518 cases // *Stereotactic and functional neurosurgery*. 1995. № 4 (64). С. 183–196.
390. Sorensen B. S. [и др.]. Monitoring of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor-sensitizing and resistance mutations in the plasma DNA of patients with advanced non-small cell lung cancer during treatment with erlotinib // *Cancer*. 2014. № 24 (120). С. 3896–3901.
391. SOUTHAM C. M. Present status of oncolytic virus studies // *Transactions of the New York Academy of Sciences*. 1960. (22). С. 657–673.
392. Souweidane M. M. [и др.]. Convection-enhanced delivery for diffuse intrinsic pontine glioma: a single-centre, dose-escalation, phase 1 trial // *The Lancet. Oncology*. 2018. № 8 (19). С. 1040–1050.

393. Spence A. M., Mankoff D. A., Muzi M. Positron emission tomography imaging of brain tumors // *Neuroimaging clinics of North America*. 2003. № 4 (13). С. 717–739.
394. Steffen-Smith E. A. [и др.]. Proton magnetic resonance spectroscopy predicts survival in children with diffuse intrinsic pontine glioma // *Journal of neuro-oncology*. 2011. № 2 (105). С. 365–373.
395. Stichel D. [и др.]. Distribution of EGFR amplification, combined chromosome 7 gain and chromosome 10 loss, and TERT promoter mutation in brain tumors and their potential for the reclassification of IDHwt astrocytoma to glioblastoma // *Acta neuropathologica*. 2018. № 5 (136). С. 793–803.
396. Stroun M. [и др.]. Neoplastic characteristics of the DNA found in the plasma of cancer patients // *Oncology*. 1989. № 5 (46). С. 318–322.
397. Sturm D. [и др.]. Hotspot mutations in H3F3A and IDH1 define distinct epigenetic and biological subgroups of glioblastoma // *Cancer cell*. 2012. № 4 (22). С. 425–437.
398. Su J. M. [и др.]. Phase I/II trial of vorinostat and radiation and maintenance vorinostat in children with diffuse intrinsic pontine glioma: A Children’s Oncology Group report // *Neuro-oncology*. 2022. № 4 (24). С. 655–664.
399. Su J. M. F. [и др.]. A phase 2 study of valproic acid and radiation, followed by maintenance valproic acid and bevacizumab in children with newly diagnosed diffuse intrinsic pontine glioma or high-grade glioma // *Pediatric blood & cancer*. 2020. № 6 (67).
400. Su X. [и др.]. Automated machine learning based on radiomics features predicts H3 K27M mutation in midline gliomas of the brain // *Neuro-oncology*. 2020. № 3 (22). С. 393–401.
401. Summers R. M. Texture analysis in radiology: Does the emperor have no clothes? // *Abdominal radiology (New York)*. 2017. № 2 (42). С. 342–345.
402. Suzuki H. [и др.]. Clinical, histopathological, and molecular features of IDH-wildtype indolent diffuse glioma: comparison with typical glioblastoma // *Journal of neuro-oncology*. 2022. № 2 (159). С. 397–408.

403. Svec D. [и др.]. How good is a PCR efficiency estimate: Recommendations for precise and robust qPCR efficiency assessments // *Biomolecular detection and quantification*. 2015. (3). С. 9–16.
404. Szychot E. [и др.]. New trial of convection enhanced drug delivery (CED) in DIPG- applying the SIOPe DIPG survival prediction model for power calculation. // *Neuro-Oncology*. 2019. № Supplement\_4 (21). С. iv11–iv11.
405. Tang L. [Radiological evaluation of advanced gastric cancer: from image to big data radiomics] // *Zhonghua wei chang wai ke za zhi = Chinese journal of gastrointestinal surgery*. 2018. № 10 (21). С. 1106–1112.
406. Templeton A. J. [и др.]. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: a systematic review and meta-analysis // *Journal of the National Cancer Institute*. 2014. № 6 (106).
407. Theeler B. J. [и др.]. Adult brainstem gliomas: Correlation of clinical and molecular features // *Journal of the neurological sciences*. 2015. № 1–2 (353). С. 92–97.
408. Tinkle C. L. [и др.]. Evaluation of 11C-Methionine PET and Anatomic MRI Associations in Diffuse Intrinsic Pontine Glioma // *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 2019. № 3 (60). С. 312–319.
409. Tisnado J. [и др.]. Conventional and Advanced Imaging of Diffuse Intrinsic Pontine Glioma // *Journal of child neurology*. 2016. № 12 (31). С. 1386–1393.
410. Toll S. A. [и др.]. Sustained response of three pediatric BRAFV600E mutated high-grade gliomas to combined BRAF and MEK inhibitor therapy // *Oncotarget*. 2019. № 4 (10). С. 551–557.
411. Treat L. H. [и др.]. Targeted delivery of doxorubicin to the rat brain at therapeutic levels using MRI-guided focused ultrasound // *International journal of cancer*. 2007. № 4 (121). С. 901–907.
412. Underhill H. R. [и др.]. Fragment Length of Circulating Tumor DNA // *PLoS genetics*. 2016. № 7 (12).
413. Vakiani E., Solit D. B. KRAS and BRAF: drug targets and predictive biomarkers // *The Journal of pathology*. 2011. № 2 (223). С. 220–230.

414. Vanan M. I., Eisenstat D. D. DIPG in Children - What Can We Learn from the Past? // *Frontiers in oncology*. 2015. № OCT (5).
415. Varley J. M. Germline TP53 mutations and Li-Fraumeni syndrome // *Human mutation*. 2003. № 3 (21). С. 313–320.
416. Veldhuijzen van Zanten S. E. M. [и др.]. Development of the SIOPE DIPG network, registry and imaging repository: a collaborative effort to optimize research into a rare and lethal disease // *Journal of neuro-oncology*. 2017. № 2 (132). С. 255–266.
417. Veldhuijzen van Zanten S. E. M. [и др.]. Development of the SIOPE DIPG network, registry and imaging repository: a collaborative effort to optimize research into a rare and lethal disease // *Journal of neuro-oncology*. 2017. № 2 (132). С. 255–266.
418. Verma V. [и др.]. The Rise of Radiomics and Implications for Oncologic Management // *Journal of the National Cancer Institute*. 2017. № 7 (109).
419. Vettermann F. J. [и др.]. K27M midline gliomas display malignant progression by imaging and histology // *Neuropathology and applied neurobiology*. 2017. № 5 (43). С. 458–462.
420. Vijayakrishnan J. [и др.]. Genome-wide association study identifies susceptibility loci for B-cell childhood acute lymphoblastic leukemia // *Nature communications*. 2018. № 1 (9).
421. Vos T. [и др.]. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015 // *The Lancet*. 2016. № 10053 (388). С. 1545–1602.
422. Vuong H. G. [и др.]. Prognostic significance of genetic biomarkers in isocitrate dehydrogenase-wild-type lower-grade glioma: the need to further stratify this tumor entity - a meta-analysis // *European journal of neurology*. 2019. № 3 (26). С. 379–387.
423. Walter A. W. [и др.]. Secondary brain tumors in children treated for acute lymphoblastic leukemia at St Jude Children’s Research Hospital // *Journal of*

- clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. 1998. № 12 (16). С. 3761–3767.
424. Wan J. C. M. [и др.]. Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA // Nature reviews. Cancer. 2017. № 4 (17). С. 223–238.
425. Wang D. J. J. [и др.]. Noncontrast Pediatric Brain Perfusion: Arterial Spin Labeling and Intravoxel Incoherent Motion // Magnetic resonance imaging clinics of North America. 2021. № 4 (29). С. 493–513.
426. Wang J., Bettgowda C. Applications of DNA-Based Liquid Biopsy for Central Nervous System Neoplasms // The Journal of molecular diagnostics : JMD. 2017. № 1 (19). С. 24–34.
427. Wang Y. [и др.]. Detection of tumor-derived DNA in cerebrospinal fluid of patients with primary tumors of the brain and spinal cord // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2015. № 31 (112). С. 9704–9709.
428. Ward B. A., Gutmann D. H. Neurofibromatosis 1: from lab bench to clinic // Pediatric neurology. 2005. № 4 (32). С. 221–228.
429. Warren K. [и др.]. A phase 2 study of pegylated interferon  $\alpha$ -2b (PEG-Intron®) in children with diffuse intrinsic pontine glioma // Cancer. 2012. № 14 (118). С. 3607–3613.
430. Watkins S., Sontheimer H. Unique biology of gliomas: challenges and opportunities // Trends in neurosciences. 2012. № 9 (35). С. 546–556.
431. Weller M. [и др.]. Rindopepimut with temozolomide for patients with newly diagnosed, EGFRvIII-expressing glioblastoma (ACT IV): a randomised, double-blind, international phase 3 trial // The Lancet. Oncology. 2017. № 10 (18). С. 1373–1385.
432. Weller M. [и др.]. EANO guidelines on the diagnosis and treatment of diffuse gliomas of adulthood // Nature reviews. Clinical oncology. 2021. № 3 (18). С. 170–186.

433. Wells E. M., Packer R. J. Pediatric brain tumors // Continuum (Minneapolis, Minn.). 2015. № 2 Neuro-oncology (21). С. 373–396.
434. Wen P. Y. [и др.]. Dabrafenib plus trametinib in patients with BRAFV600E-mutant low-grade and high-grade glioma (ROAR): a multicentre, open-label, single-arm, phase 2, basket trial // The Lancet. Oncology. 2022. № 1 (23). С. 53–64.
435. Westphal M., Lamszus K. Circulating biomarkers for gliomas // Nature reviews. Neurology. 2015. № 10 (11). С. 556–566.
436. Whale A. S. [и др.]. Methods for applying accurate digital PCR analysis on low copy DNA samples // PloS one. 2013. № 3 (8).
437. Wienke J. [и др.]. The immune landscape of neuroblastoma: Challenges and opportunities for novel therapeutic strategies in pediatric oncology // European journal of cancer (Oxford, England : 1990). 2021. (144). С. 123–150.
438. Wilcox P. [и др.]. Oligoastrocytomas: throwing the baby out with the bathwater? // Acta neuropathologica. 2015. № 1 (129). С. 147–149.
439. Wolff J. E. [и др.]. Treatment of recurrent diffuse intrinsic pontine glioma: the MD Anderson Cancer Center experience // Journal of neuro-oncology. 2012. № 2 (106). С. 391–397.
440. Wollmann G., Ozduman K., Pol A. N. Van Den Oncolytic virus therapy for glioblastoma multiforme: concepts and candidates // Cancer journal (Sudbury, Mass.). 2012. № 1 (18). С. 69–81.
441. Wrensch M. [и др.]. Epidemiology of primary brain tumors: current concepts and review of the literature // Neuro-oncology. 2002. № 4 (4). С. 278–299.
442. Wu C. C. [и др.]. MR imaging phenotype correlates with extent of genome-wide copy number abundance in IDH mutant gliomas // Neuroradiology. 2019. № 9 (61). С. 1023–1031.
443. Wu C. C. [и др.]. Immuno-genomic landscape of osteosarcoma // Nature communications. 2020. № 1 (11).

444. Wu G. [и др.]. The genomic landscape of diffuse intrinsic pontine glioma and pediatric non-brainstem high-grade glioma // *Nature genetics*. 2014. № 5 (46). С. 444–450.
445. Wu G. [и др.]. The genomic landscape of diffuse intrinsic pontine glioma and pediatric non-brainstem high-grade glioma // *Nature genetics*. 2014. № 5 (46). С. 444–450.
446. Wu Y. [и др.]. A Novel Scoring System Based on Peripheral Blood Test in Predicting Grade and Prognosis of Patients with Glioma // *OncoTargets and therapy*. 2019. (12). С. 11413.
447. Yamaguchi T. [и др.]. Involvement of interleukin-6 in the elevation of plasma fibrinogen levels in lung cancer patients // *Japanese journal of clinical oncology*. 1998. № 12 (28). С. 740–744.
448. Yi S. [и др.]. Impact of H3.3 K27M Mutation on Prognosis and Survival of Grade IV Spinal Cord Glioma on the Basis of New 2016 World Health Organization Classification of the Central Nervous System // *Neurosurgery*. 2019. № 5 (84). С. 1072–1081.
449. Yoshimura J. [и др.]. Clinicopathological study of diffuse type brainstem gliomas: analysis of 40 autopsy cases // *Neurologia medico-chirurgica*. 2003. № 8 (43). С. 375–382.
450. Zacher A. [и др.]. Molecular Diagnostics of Gliomas Using Next Generation Sequencing of a Glioma- Tailored Gene Panel // *Brain Pathology*. 2017. № 2 (27). С. 146.
451. Zaghoul M. S. [и др.]. Hypofractionated conformal radiotherapy for pediatric diffuse intrinsic pontine glioma (DIPG): a randomized controlled trial // *Radiotherapy and oncology: journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology*. 2014. № 1 (111). С. 35–40.
452. Zhang K. L. X. , L. G. , C. X. , L. S. , C. J. , Z. Z. , W. J. , J. T. , C. R. Clinical management and survival outcomes of patients with different molecular subtypes of diffuse gliomas in China (2011–2017): a multicenter retrospective study from CGGA // *Cancer Biol Med*. 2022. № 10 (19). С. 1460–1476.

453. Zhao C., Zhang Y., Wang J. A meta-analysis on the diagnostic performance of (18)F-FDG and (11)C-methionine PET for differentiating brain tumors // *AJNR. American journal of neuroradiology*. 2014. № 6 (35). С. 1058–1065.
454. Zhou B. [и др.]. Computational study on novel natural compound inhibitor targeting IDH1\_R132H // *Aging*. 2022. № 13 (14). С. 5478–5492.
455. Zhou Z., Singh R., Souweidane M. M. Convection-Enhanced Delivery for Diffuse Intrinsic Pontine Glioma Treatment // *Current neuropharmacology*. 2017. № 1 (15). С. 116–128.
456. Zhu X. [и др.]. A pilot radiogenomic study of DIPG reveals distinct subgroups with unique clinical trajectories and therapeutic targets // *Acta Neuropathologica Communications*. 2021. № 1 (9).
457. Zhu Y., Song Z., Wang Z. A Prediction Model for Deciphering Intratumoral Heterogeneity Derived from the Microglia/Macrophages of Glioma Using Non-Invasive Radiogenomics // *Brain Sciences*. 2023. № 12 (13). С. 1667.