

*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

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

Москва - 2024

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный консультант:**

Академик РАН, доктор медицинских наук,  
профессор.

**Солодкий Владимир Алексеевич**

**Официальные оппоненты:**

- **Баклаушев Владимир Павлович**, доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» Федерального медико-биологического агентства, заведующий отделом разработки клеточных препаратов

- **Поляков Владимир Георгиевич**, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Научно-исследовательский институт детской онкологии и гематологии имени академика Л.А.Дурнова, заведующий хирургическим отделением № 1 опухолей головы и шеи

- **Кадыров Шавкат Умидович**, доктор медицинских наук, Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, старший научный сотрудник 1 нейрохирургического отделения (детская нейрохирургия)

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится « 31 » марта 2025 г. в 13 часов на заседании диссертационного совета 21.1.056.01 при ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России по адресу: 117997, Москва, ул. Профсоюзная, д. 86.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России по адресу: 117997, Москва, ул. Профсоюзная, д. 86. и на сайте: [www.rncrr.ru](http://www.rncrr.ru)

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» февраля 2025 года

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор медицинских наук, профессор

**З.С.Цаллагова**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность исследования

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 (Ostrom et al., 2014).

Радикальное хирургическое удаление ДСГ невозможно ввиду 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 общей выживаемости (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 (Поляков В.Г. и др., 2023). В то же время получение биопсийного материала, зачастую, сопряжено с рядом сложностей или даже невозможно (Щербенко О.И., 2018).

Хирургическое вмешательство не является общепринятой процедурой при обследовании больных с ДСГ. Поэтому отсутствие морфологической верификации опухолевого образования лишает возможности повысить эффективность лечения за счет 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 (Лихтерман Л.Б., 2023; Чернобривцева В.В., 2022).

В ряде исследований отмечается относительная безопасность выполнения в специализированных центрах стереотаксической биопсии (СТБ) ДСГ, но широкого применения этот метод пока не получил (Zhou et al., 2017) (Vex A. et al. 2022). 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. Уровень осложнений при данной манипуляции снизился с 11% в 90-х годах прошлого века (Albright et al., 1993) 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% (Hamisch et al., 2017; Puget et al., 2015; Rajshekhar & Moorthy, 2010). Следует отметить, что, несмотря на высокую информативность данного метода, стереотаксическая биопсия при ДСГ возможна только в небольшом проценте случаев (у 10-15% пациентов) в связи с особенностями анатомического расположения опухолей данной группы.

В связи с этим на сегодняшний день молекулярная диагностика является наиболее перспективным и многообещающим направлением в нейроонкологии, результаты которой способны предоставить клинически полезную информацию и иметь

прогностическое значение, выходящее за рамки возможностей гистологической классификации (Wells & Packer, 2015). При невозможности проведения биопсии, одним из альтернативных способов получения информации о молекулярном статусе опухолей головного мозга (ГМ), в том числе 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 (Suzuki et al., 2022), H3F3A (Andreiulo et al., 2019), ATRX (Ebrahimi et al., 2016), BRAF (Vakiani & Solit, 2011), TERT (Fujimoto et al., 2021), NTRK 1,2,3 (Gambella et al., 2020; Jones et al., 2013), метилированием промотора гена MGMT и эффективностью лечения глиальных опухолей головного мозга полушарных локализаций (Wu et al., 2014).

Необходимо отметить, что в ряде клинических исследований были изучены возможности повышения эффективности ХТ и РТ за счет персонализации тактики лечения на основании учета результатов молекулярного профилирования тканей опухолей, полученные методом жидкостной биопсии. Так, в обзоре Eoghan R. Malone (Malone et al., 2020) для формирования индивидуального плана лечения пациентов с опухолями головного мозга ингибиторами TRK-киназы (ларотректиниб, энтректиниб) были использованы результаты исследования гена BRAF V600E/R/K/D (для назначения дабрафениба в комбинации с траметинибом), генов NTRK1, NTRK2, NTRK3 (для назначения ларотректиниба). Была показана прогностическая ценность молекулярно-генетических характеристик как при подборе терапии, так и в прогнозировании ответа на проведенное лечение.

При неверифицированных ДСГ определение молекулярно-генетических маркеров заболевания методом жидкостной биопсии материала крови и ликвора может являться основой для создания программ уточненной дифференциальной диагностики, прогнозирования и персонализации тактики лечения, в том числе в случаях назначения/определения таргетной терапии (Wolff et al., 2012), особенно в ситуациях, когда получение биопсийного материала невозможно и сопряжено с высоким риском для пациента.

На сегодняшний день основанием для постановки диагноза и определения показаний к проведению курса РТ у пациентов с недифференцированными ДСГ являются данные МР (магнитно-резонансной) - визуализации.

Одним из наиболее актуальных, современных направлений диагностики и прогнозирования онкозаболеваний является - радиомика, наука, совмещающая в себе радиологию, математическое моделирование и глубокое машинное обучение (Chaddad et al., 2019; Gardin et al., 2019). 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» (Ibrahim et al., 2021; Koçak et al., 2019; Ng et al., 2013).

Ghaffari M. и соав. (Ghaffari et al., 2020) 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.

В настоящее время традиционные лучевые и химиолучевые методы лечения больных с глиомами высокой степени злокачественности (ГВСЗ), в том числе с ДСГ имеют неутешительные отдалённые результаты, в связи с чем определены основные задачи, решение которых будут способствовать повышению эффективности лечения: адекватная диагностика опухолевого процесса, которая позволит проводить подбор ХТ и таргетных препаратов и определять тактику РТ; дальнейшие разработки методов РТ с возможностями индивидуализации программ и повышения эффективности лечения; поиск новых таргетных препаратов и способов их доставки.

Необходимость дальнейшей разработки и внедрения новых методов диагностики ДСГ, неинвазивной молекулярно-генетической верификации опухолей, использование данных жидкостной биопсии материала крови и ликвора, БМИ в виде «виртуальной биопсии» для оценки чувствительности к химиолучевой терапии прогнозирования ответа на лечение, общей и безрецидивной выживаемости, а также дальнейшего поиска возможностей улучшить результаты лечения за счет повышения чувствительности опухолей к РТ, раннего применения таргетной терапии у пациентов с ДСГ предопределяют 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.

### **Личный вклад соискателя**

Автором лично проанализирована литература по изучаемой проблеме, сформулированы цель и задачи научной работы, разработаны дизайн исследования и протокол обследования пациентов. Автор лично участвовал в осуществлении всех этапов исследования, в диагностике, курации и мониторинге больных, включенных в исследование, в создании электронной базы данных в соответствии с требованиями примененных методик и программ статистического анализа, в обработке, интерпретации и обсуждении полученных результатов, подготовке научных публикаций и докладов. Автором сформулированы основные положения, выводы и практические рекомендации по выполненной работе, оформлены полученные результаты в законченную диссертационную работу.

### **Апробация работы**

Основные результаты исследования доложены и обсуждены на следующих конференциях: V Всероссийском съезде по детской нейрохирургии, Москва, 3-5 марта 2021 г.; VII Петербургском международном онкологическом форуме, Санкт-Петербург, 21-27 июня 2021; V юбилейном международном форуме онкологии и радиотерапии For

life, Ради жизни, Москва, 20.09.2022 г.; III объединенном Конгрессе НОДГО и РОДО «Актуальные проблемы и перспективы развития детской онкологии и гематологии в Российской Федерации – 2022», Москва. 25.11.2022 г.; Asian Society for pediatric Oncology XV Congress, 2023; II съезде онкологов России, Самара. 19.05.2023 г.; IV объединенном Конгрессе РОДОГ «Актуальные проблемы и перспективы развития детской онкологии и гематологии в Российской Федерации – 2023», Москва. 23.11.2023 г.; Всероссийском конгрессе с международным участием «Инновации в детской гематологии, онкологии и иммунологии: от науки к практике», 23.11.2023 г.; The 3rd International Webinar on Oncology Research and Treatment. December 07-08, 2023; XIX Всероссийской научно-практической конференции «Интерпретация результатов лабораторных исследований», Москва. 01.04.2024 г.; X съезде нейрохирургов России, Нижний Новгород. 13.09.2024 г.; X Российском диагностическом саммите, Москва, 03.10.2024 г.; Биохимия человека #berëzov2024, Москва. 19.10.2024 г.; на V объединенном Конгрессе РОДОГ «Актуальные проблемы и перспективы развития детской онкологии и гематологии в Российской Федерации – 2024», 21–23 11. 2024 г.

Апробация диссертационной работы состоялась 07.10.2024 г. 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. Имеется патент на изобретение № 2780780, свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2023615290.

### **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.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы 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 (табл.1).



**Таблица 1.** Общая характеристика пациентов, включенных в раздел молекулярно-биологического исследования (209 пациентов, в т.ч.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
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

Набор пациентов и основные этапы исследования проведены в условиях стационара. Данное исследование также включало анализ клинических данных и результатов инструментальных исследований, лечебной тактики, ближайших и отдаленных результатов лечения 209 пациентов, катамнез которых был прослежен вплоть до конца 2024 года.

Были сформированы 3 исследовательские группы (рис.1):

1 группа – 96 больных, которым на первом этапе было проведено хирургическое вмешательство различного объёма, которое позволило в дальнейшем провести методом NGS молекулярно-генетическое исследование материала опухоли с целью определения мутационного статуса генов BRAF (мутация V600E), H3F3A (мутация K27M), IDH1(мутация R132H) и IDH2 (мутация R140Q).

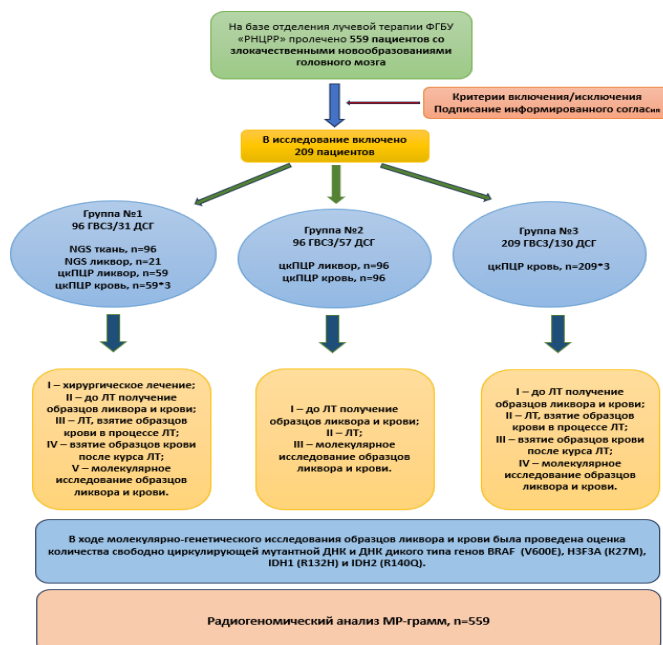
59 пациентам с ГВСЗ из этой группы после проведения молекулярно-генетического исследования материала опухоли было проведено взятие ликвора накануне курса РТ и периферической венозной крови трижды (накануне, в процессе и после проведения курса РТ), с последующей оценкой методом цкПЦР количества свободно циркулирующей мутантной ДНК и ДНК «дикого типа» для генов BRAF

(мутация V600E), H3F3A (мутация K27M), IDH1 (R132H) и IDH2 (R140Q). Диагноз ДСГ был установлен у 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 методом цкПЦР 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 был установлен диагноз ДСГ.

3 группа - 209 пациентов, у которых процедуры взятия образцов периферической венозной 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 методом цкПЦР 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.

Исследование проводили с использованием системы QX100 Droplet Digital PCR для цифровой капельной ПЦР (Bio-Rad Laboratories, США), согласно инструкции производителя, при определении концентрации ДНК, NGS исследование производили на полногеномном секвенаторе MiSeq с использованием наборов фирмы, согласно инструкции производителя. В работе изучен статус мутантной ДНК и ДНК «дикого типа» генов BRAF, H3F3A, IDH1 и IDH2 опухоли в 96 образцах ткани, 96 образцах ликвора и 627 образцах периферической крови методом цкПЦР и 21 образец ликвора методом NGS.



**Рисунок 1.** Дизайн раздела молекулярно-биологического исследования

Всем пациентам перед началом специфической терапии были выполнены следующие исследования:

1) МРТ головного мозга как с контрастным усилением, так и без него (по показаниям) проводилось на томографах «Siemens Aera» и др. 1,5-1,5 Т с использованием головных катушек (HEAD), в положении пациента на спине, головой вперед;

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.

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 очаговой дозы до 54-60 Гр.

В дальнейшем проводилось радиомическое исследование, которое включало несколько этапов. На предварительном этапе были проанализированы все первичные МР-данные головного мозга без/с контрастным усилением 559 пациентов детского возраста перед началом РТ. Из данной выборки была выделена группа из 223 больных с ДСГ. На первом этапе в рамках традиционной экспертной 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 H3F3A по данным молекулярно-генетического исследования ликвора и крови: без мутации (n=23) и с мутацией (n=75) (табл. 2).

Данные МРТ были 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.

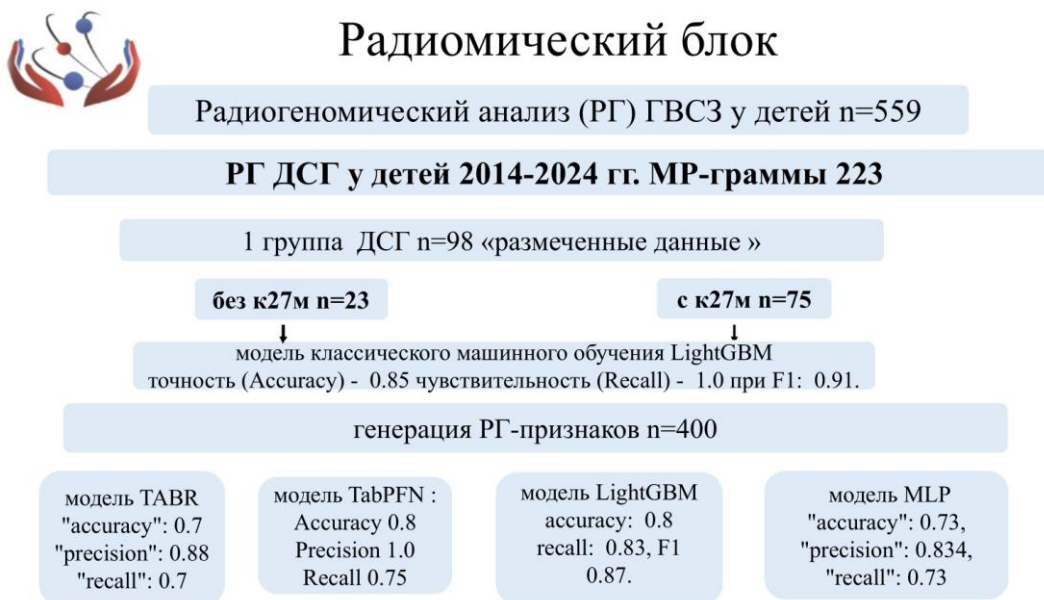
**Таблица 2.** Общие характеристики пациентов подгруппы анализируемых МР-грамм головного мозга, n=98

Характеристика	Показатель	
Пол	Мужской	41,8% (n=41)
	Женский	58,2% (n=57)
Возраст, Ме [Q25%;Q75%] лет	8.0 [6.0; 11.0]	
Возраст	До 18 лет	100% (n=98)
Объем опухоли по данным МРТ, Ме [Q25%;Q75%] см <sup>3</sup>	44.0 [26.0; 78.3]	
	C71.7 (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)

На втором этапе проводилась ручная сегментация («разметка») данных на МР-граммах 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.

На третьем этапе из базы данных извлекались радиомические признаки (рис.2). Для извлечения из МР-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 были дополнительно проанализированы 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.



**Рисунок 2.** Дизайн исследования – радиомический блок

Следующий этап исследования – это постпроцессинг данных текстурного анализа и обучение моделей машинного обучения с последующей валидацией. Для машинного обучения были выбраны как классические модели машинного обучения, так и модели глубокого машинного обучения (нейросети). В исследовании были применены генеративные модели для создания синтетически сгенерированных радиометрических данных: TAB-DDPM. Таким образом, в работе были проанализированы дополнительно данные 400 виртуальных пациентов.

### Результаты исследования и их обсуждение

#### Результаты молекулярно-биологического исследования ДСГ головного мозга у детей и взрослых

#### Анализ мутационного статуса ДНК опухоли в периферической крови и ликворе у пациентов с ДСГ в сравнении с аналогичными данными в ткани опухоли

У 128 пациентов, которым проводилось хирургическое лечение, была проведена гистологическая оценка операционного материала.

При гистологическом исследовании ткани опухоли высокая степень злокачественности опухоли мозга (Gr 3-4) была установлена в 92,2% случаев.

Молекулярно-генетическое исследование ткани опухоли с целью определения мутационного статуса генов BRAF (мутация V600E), H3F3A (мутация K27M), IDH1(мутация R132H) и IDH2 (мутация R140Q) было проведено методом NGS.

В опухолевой ткани были выявлены следующие мутации: мутация K27M гена

*H3F3A* – у 22 пациентов; мутация *V600E* гена *BRAF*– у 9 пациентов; мутация *R132H* гена *IDH1* – у 15 пациентов; мутация *R140Q* гена *IDH2* – не выявлена.

В рамках решения задачи по изучению и оценке мутационного статуса ДНК опухоли в плазме периферической крови и ликворе у пациентов с ДСГ в сравнении с аналогичными данными в опухолевой ткани у больных с верифицированными опухолями головного мозга в составе пациентов 1-ой исследовательской группы была сформирована выборка из 59 пациентов с ГВСЗ (1-ая подгруппа), у которых имелась гистологическая верификация ткани опухоли. Характеристика пациентов, включенных в данную выборку представлена в таблице 3.

**Таблица 3.** Общая характеристика пациентов, включенных в состав 1-ой подгруппы (59 пациентов, в т.ч.28 пациентов с ДСГ)

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	S71.0 (большой мозг, кроме долей и желудочков)	1,69% (n=1)
	S71.1 (лобная доля)	16,95% (n=10)
	S71.2 (височная доля)	10,17% (n=6)
	S71.3 (теменная доля)	3,39% (n=2)
	S71.6 (мозжечок)	3,39% (n=2)
	S71.7 (ствол мозга)	13,56% (n=8)
	S71.8 (поражение головного мозга более одной локализации)	49,15% (n=29)
	S72.0 (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

В исследованных гистологических образцах наибольшая частота выявляемости была у мутации *R132H* гена *IDH1* (18,64%), мутация *K27M* в гене *H3F3A* была выявлена в 10,2% случаев, мутация *R140Q* в гене *IDH2* обнаружена не была.

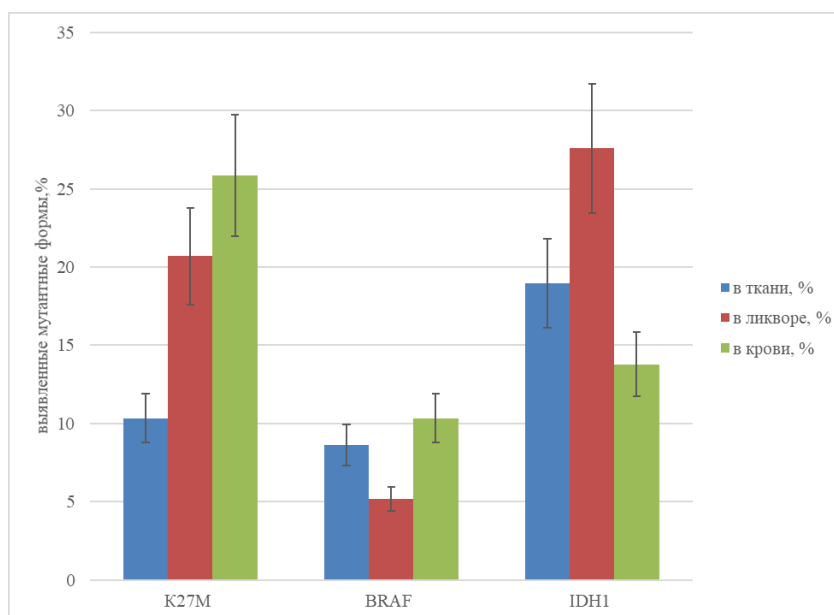
Были установлены достоверные отличия в частоте выявляемости в ткани, ликворе и плазме периферической крови пациентов с ГВСЗ (в том числе, с ДСГ) мутантных форм свободно циркулирующей опухолевой ДНК: *K27M* для гена *H3F3A*, *R132H* для гена *IDH1*, *V600E* для гена *BRAF*.

Частота выявляемости мутантных форм генов *IDH1*, *IDH2*, *H3F3A*, *BRAF* в ткани, ликворе и крови представлена в таблице 4.

**Таблица 4.** Распределение выявленных случаев мутантных форм исследуемых генов в разном биологическом материале среди пациентов 1-ой подгруппы

	Количество случаев выявленной мутантной формы, %	Медиана возраста пациентов с выявленной мутантной формой, лет	Среднее значение объема опухоли, мм <sup>3</sup>	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

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) (рис.3).

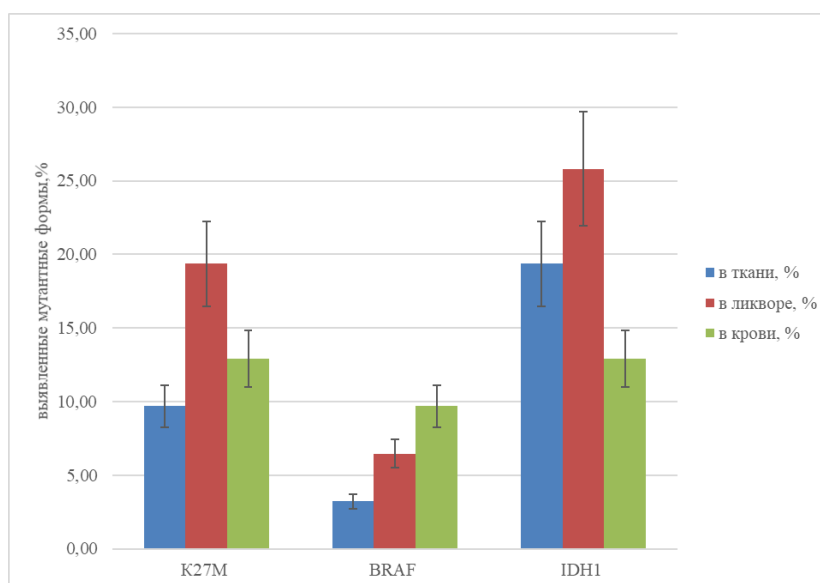


**Рисунок 3.** Частота выявления мутантных форм сцдНК генов *H3F3A* (*K27M*), *BRAF* (*V600E*) и *IDH1* (*R132H*) в образцах тканей, ликвора и плазмы крови пациентов 1-ой подгруппы с ГВСЗ, n=59

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).

Среди всей подгруппы наибольшую информативную значимость в определении мутантных форм *H3F3A* (*K27M*) и *BRAF* (*V600E*) имел материал периферической крови, для *IDH1* (*R132H*) чаще определялся в ликворе (рис 3).

Для больных с ДСГ наибольшую информативную значимость в определении мутантных форм *H3F3A* (*K27M*) и *IDH1* (*R132H*) имел материал ликвора, в то время как *BRAF* (*V600E*) с большей частотой определялась в периферической крови (рис. 4).



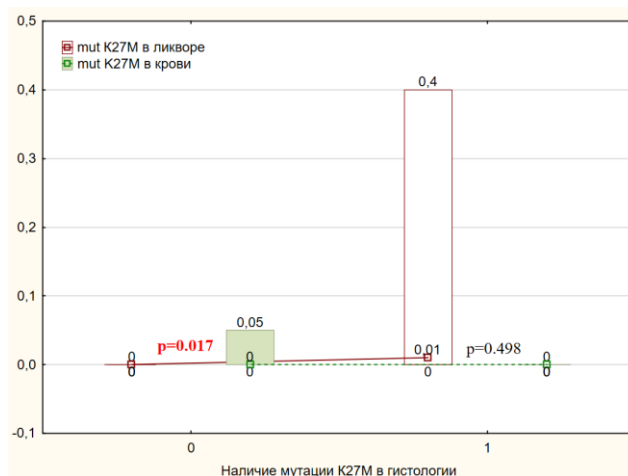
**Рисунок 4.** Частота обнаруженных мутантных форм сцДНК генов *H3F3A* (*K27M*), *BRAF* (*V600E*) и *IDH1* (*R132H*) в образцах тканей, ликвора и плазмы крови пациентов 1-ой подгруппы при диффузных срединных глиомах, n=28

С высокой частотой (34,48%) выявлялись сочетания мутантных форм генов *IDH1*, *IDH2*, *H3F3A*, *BRAF*. Наиболее часто определялись двойные мутации (18 случаев из 20, 90%), мутации *H3F3A* (*K27M*)/*IDH 2* (*R140Q*) выявлены у 7 пациентов (35% установленных сочетанных мутаций), мутации *H3F3A* (*K27M*) /*IDH1* (*R132H*) – у 6 пациентов (30%) (табл. 5).

**Таблица 5.** Обнаруженные сочетания мутаций среди пациентов 1-ой подгруппы с ГВСЗ, n=59

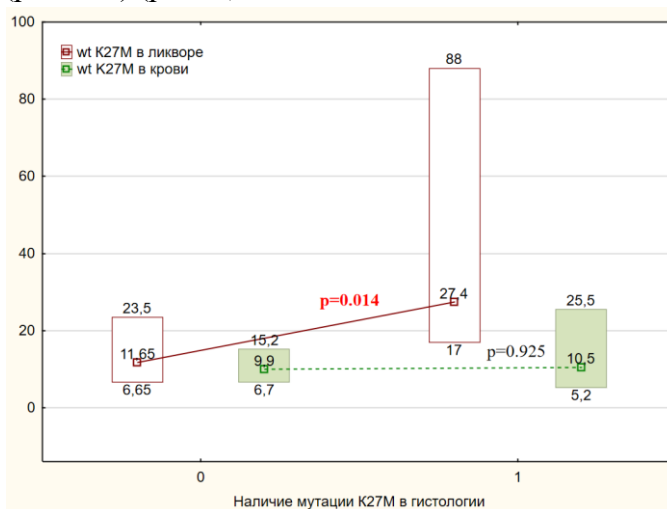
1. <i>H3F3A</i> ( <i>K27M</i> ) / <i>IDH1</i> ( <i>R132H</i> )	10,34% (n=6)
2. <i>H3F3A</i> ( <i>K27M</i> ) / <i>IDH 2</i> ( <i>R140Q</i> )	12,07% (n=7)
3. <i>H3F3A</i> ( <i>K27M</i> ) / <i>BRAF</i> ( <i>V600E</i> )	1,72% (n=1)
4. <i>BRAF</i> ( <i>V600E</i> )/ <i>IDH1</i> ( <i>R132H</i> )	1,72%(n=1)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

Мутация *K27M* в гене *H3F3A* характерна для большинства ДСГ. При сравнении (рис. 5) показателей относительной концентрации мутантной ДНК гена *H3F3A* (*K27M*) в плазме периферической крови/ликворе у пациентов с подтвержденной мутацией *K27M* в гистологическом материале отмечено статистически значимое увеличение показателей относительной концентрации *H3F3A* (*K27M*) в ликворе ( $p=0.017$ ), тогда как в крови данный показатель не проявил себя статистически значимо ( $p=0.498$ ).



**Рисунок 5.** Отличия медиан показателей концентрации мутантной ДНК гена *H3F3A* (*K27M*) в образцах ликвора и плазмы периферической крови от образцов тканей опухолей в 1-ой подгруппе,  $n=59$ . 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 значения 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. 6).



**Рисунок 6.** Выявляемость ДНК дикого типа гена *H3F3A* (*K27M*) в ликворе и плазме периферической крови в сравнении с материалом опухолевой ткани в 1-ой подгруппе,  $n=59$ . Примечание: данные результаты представлены в виде Me [Q25%;Q75%]. wtK27M - ДНК дикого типа гена *H3F3A* (*K27M*)



Ввиду срединного расположения опухоли и непосредственной близости ликворопроводящих путей, в ликвор поступает большее количество сцДНК с мутацией в гене *N3F3A*. Определение данного показателя в ликворе является более информативным, чем в материале опухолевой ткани и плазме периферической крови. Высокий уровень относительной концентрации ДНК дикого типа гена *N3F3A (K27M)* также имеет диагностическое значение.

Мутация *V600E* в гене *BRAF* также является одной из самых распространенных у пациентов с опухолями ЦНС (Solodky V.A., 2021; Регентова О.С., 2020). При сравнении медиан относительной концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *BRAF (V600E)* в крови и ликворе отмечено статистически значимое увеличение у пациентов с наличием этой мутации в гистологическом материале как в ликворе ( $p=0.045$ ), так и в крови ( $p=0.024$ ). При этом, анализ медиан относительной 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.

При сравнении медиан относительной концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *IDH1 (R132H)* в ликворе ( $p=0.498$ ) и в крови ( $p=0.767$ ) не выявлено значимых отличий между пациентами с/без выявленной мутации *R132H* гена *IDH1* в гистологическом материале.

Схожие результаты были получены при сравнении медиан относительной 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.

При сравнительной оценке медиан относительной концентрации ДНК «дикого типа» и мутантной ДНК в ликворе и плазме периферической крови получены следующие результаты.

В отношении мутантного и «дикого» типов гена *N3F3A* в ликворе и крови не было выявлено статистически значимых отличий ( $p=0.985$ ), что вероятно, обусловлено высокой концентрацией в обеих средах.

Между ликвором и кровью не было выявлено статистически значимой разницы медиан относительной концентрации мутантной ДНК гена *BRAF (V600E)* ( $p=0.060$ ) и ДНК дикого типа гена *BRAF (V600E)* ( $p=0.476$ ).

Анализ медиан показателей относительной концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК гена *IDH1 (R132H)* не показал статистически значимых различий между ликвором и кровью, хотя при этом, показатели относительной концентрации свободно циркулирующего ДНК дикого типа гена *IDH1(R132H)* в крови имели статистически более высокие значения (16.2 [8.3; 27.4]), чем в ликворе (9.45 [5.7; 24.4],  $p=0.046$ ).

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.

Плазма крови и ликвор являются субстратами исследования, интегрирующими в себе информацию обо всей опухолевой ткани пациента. Именно по причине опухолевой гетерогенности оптимально осуществлять анализ молекулярной картины цоДНК в плазме периферической крови и ликворе наряду с исследованием первичной опухолевой ткани, что в группе пациентов с ДСГ далеко не всегда осуществимо;

В то же время, комплексное молекулярно-генетическое исследование плазмы крови и ликвора у больных с ДСГ позволяет получить необходимую информацию для индивидуализации противоопухолевой терапии и своевременного противорецидивного РТ лечения в условиях отсутствия возможности получить биопсийный материал (либо нецелесообразности биопсии) для молекулярно-генетического исследования.

Исследование соматических мутаций в плазме периферической крови методом цкПЦР также информативно отражает мутационный спектр опухолевой ткани, как и ликвор. Кроме того, этот метод незаменим в случаях, когда получение материала ликвора связано с большими рисками для пациента (как это часто имеет место при ДСГ мозга у детей).

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

Для решения задачи по изучению сопоставимости результатов NGS и цкПЦР при исследовании цоДНК в ликворе, в образцах материала ликвора пациентов случайно были отобраны 23 образца выделенной ДНК, по которым был проведен анализ 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 данных, 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 6.

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.

**Таблица 6.** 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	STK11	chr19:1226662G>T	splice_region_variant,3_prime_UTR_variant
	TP53	chr17:7577121G>A	missense_variant
	<b>H3F3</b>	chr1:226252135A>T	missense_variant
30S9	<b>BRAF</b>	chr7:140453136A>T	missense_variant
	KRAS	chr12:25398284C>G	missense_variant
10S10	<b>H3F3</b>	chr1:226252135A>T	missense_variant
	<b>BRAF</b>	chr7:140453136A>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

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* – 10,0% и 12,5%, соответственно (табл.7).

**Таблица 7.** 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

Таким образом, полученные результаты оценки молекулярно-генетического профиля опухоли по материалу периферической крови и ликвора методом цкПЦР дают основания для рекомендации дальнейшего его использования в получении объективных данных молекулярного статуса опухоли.

#### **Сравнительная оценка мутационного статуса в ликворе и крови *H3F3A (K27M)*, *BRAF (V600E)*, *IDH1 (R132H)*, *IDH2 (R140Q)* на этапе до начала химиолучевого лечения**

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) 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.

В образцах плазмы периферической крови (n-96) и образцах ликвора (n-96) с высокой 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 у пациентов второй исследовательской группы (n-96) было установлено, что мутантные формы цоДНК 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 варианты 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 было *IDH1 (R132H)/H3F3A (K27M)*, выявленное в 5 случаях (41,67%) (табл.8).

**Таблица 8.** Выявленные сочетания мутаций в исследуемых генах в материале ликвора у пациентов 2-ой исследовательской группы (всего 96 пациентов, из них 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 плазме периферической крови в 20 случаях были выявлены различные варианты двойных мутаций и в 5 случаях – тройное сочетание мутаций. Наиболее частым сочетанием мутаций явилось *IDH2 (R132H)/H3F3A (K27M)*, проявленные в 7 случаях (табл.9).

**Таблица 9.** Выявленные сочетания мутаций в исследуемых генах в материале плазме периферической крови пациентов 2-ой исследовательской группы (всего 96 пациентов, из них 57 пациентов с ДСГ)

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

Также было установлено, что не всегда наблюдается одновременное обнаружение мутантных форм в ликворе и крови, особенно выражены отличия были установлены для *BRAF (V600E)* и *IDH1 (R132H)* (табл. 10).

**Таблица 10.** Сравнение частоты выявляемости исследуемых мутантных форм в материале крови и ликвора у пациентов 2-ой исследовательской группы (всего 96 пациентов, из них 57 пациентов с ДСГ)

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

При одновременном проявлении *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)*. При сравнении частоты определенных мутаций по локализации процесса было установлено, что мутантная форма *H3F3A (K27M)* с высокой частотой встречалась при локализации опухоли в области больших полушарий, лобных долей и ствола мозга, причем и в материале ликвора и крови (табл.11).

**Таблица 11.** 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><i>H3F3 (K27M)</i> ликвор</b>				
S71.0 (большой мозг, кроме долей и желудочков)	2	2,08	5,89	50,00
S71.1 (лобная доля)	4	4,17	11,76	40,00
S71.7 (ствол мозга)	25	26,04	73,53	53,19
S71.8 (поражение головного мозга более одной локализации)	3	3,12	8,82	13,64
Всего	34	35,51	100	
<b><i>H3F3 (K27M)</i> кровь</b>				
S71.0 (большой мозг, кроме долей и желудочков)	3	3,12	10,00	75,00
S71.1 (лобная доля)	7	7,29	23,33	60,00
S71.2 (височная доля)	1	1,04	3,33	16,67
S71.3 (теменная доля)	1	1,04	3,33	33,33
S71.7 (ствол мозга)	16	16,67	53,34	34,04
S71.8 (поражение головного мозга более одной локализации)	2	2,08	6,67	9,09
Всего	30	31,24	100	

Также были показаны различия по информативности биоматериала. В случаях регистрации мутации *K27M* только в материале ликвора, опухоль локализовалась в лобных долях, стволе или имело место обширное поражение, более одной локализации. При наличии *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 зафиксированы в крови пациентов.

При изучении цоДНК гена *IDH1* с мутацией *R132H* были установлены похожие закономерности, когда больший процент случаев был характерен для пациентов, у которых патологический процесс анатомически локализовался в стволе мозга или лобных долях (табл.12).

**Таблица 12.** Частота выявляемости мутантных форм цоДНК *IDH1 (R132H)*, 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)

<b>IDH1 (R132H) ликвор</b>	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
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	

В ликворе и крови у больных с опухолями ствола удельный вес 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 встречаемости 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 (табл. 13).

**Таблица 13.** Частота выявляемости мутантных форм цоДНК *IDH2 (R140Q)* 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)

<b>IDH2 (R140Q) ликвор</b>	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
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	

Результаты доказывают высокую эффективность определения относительной концентрации цоДНК мутантного типа в периферической крови и в ликворе.

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 превалировали 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 показателей относительной концентрации мутантной формы гена *H3F3A (K27M)* и ДНК «дикого типа» гена *H3F3A (K27M)* в ликворе и крови не было установлено 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 зафиксированы 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 ( $p=0,009$ ).

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

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.

До начала химиолучевого лечения уровни концентрации мутантного типа гена *IDH1* ( $p=0.039$ ) и «дикого типа» *IDH1* ( $p=0.014$ ) в крови у пациентов с ГВСЗ; уровень концентрации мутантного типа *IDH1* ( $p=0.006$ ) в крови у пациентов с ДСГ имели прямую связь с вероятностью возникновения прогрессирования заболевания (табл.14)

**Таблица 14.** Результаты бинарного логистического регрессионного анализа переменных-предикторов молекулярных маркеров возможной связи с вероятностью прогрессирования заболевания (образцы №1 - до начала лечения у пациентов с ДСГ)

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

После проведения лечения у больных с ДСГ уровни концентрации в крови мутации *K27M* в гене *H3F3A* ( $p=0.008$ ), «дикого типа» гена *H3F3A* ( $p=0.017$ ) и «дикого

типа» гена *IDH1* ( $p=0.048$ ) были связаны с вероятностью возникновения прогрессирования заболевания (табл.15).

**Таблица 15.** Результаты бинарного логистического регрессионного анализа переменных-предикторов молекулярных маркеров возможной связи с вероятностью прогрессирования заболевания (образцы №3 – после проведения лечения у пациентов с ДСГ)

Показатели	Коэффициент регрессии ( $B_i$ )	Отношение шансов	95% Доверительный интервал		p
			Нижняя граница	Верхняя граница	
Показатели, вошедшие в прогностическую модель					
Константа	0.324	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	134603405752257 830000000.000	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

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

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 до начала и после проведения химиолучевого лечения показал наличие переменных предикторов, связанных с вероятностью возникновения летального исхода. До начала химиолучевого лечения уровни концентрации ДНК «дикого типа» генов *H3F3A(K27M)* ( $p = 0.044$ ), *IDH1(R132H)* ( $p=0.013$ ) у пациентов с ДСГ имели прямую связь с вероятностью возникновения летального исхода (табл. 16).

**Таблица 16.** Результаты бинарного логистического регрессионного анализа переменных-предикторов молекулярных маркеров возможной связи с вероятностью возникновения летального исхода (образцы №1 – до начала лечения у пациентов с ДСГ)

Показатели	Коэффициент регрессии ( $B_i$ )	Отношение шансов	95% Доверительный интервал		p
			Нижняя граница	Верхняя граница	
Показатели, вошедшие в прогностическую модель					
Константа	1.088	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

После проведения химиолучевого лечения уровни относительной концентрации в крови мутантного варианта *H3F3A (K27M)* ( $p=0.019$ ) для больных с ГВСЗ ( $p=0.029$  для больных с ДСГ) имеют прямую связь с вероятностью возникновения летального исхода (табл.17).

**Таблица 17.** Результаты бинарного логистического регрессионного анализа переменных-предикторов молекулярных маркеров возможной связи с вероятностью возникновения летального исхода (образцы №3 - после проведения лечения у пациентов с ДСГ)

Показатели	Коэффициент регрессии ( $B_i$ )	Отношение шансов	95% Доверительный интервал		p
			Нижняя граница	Верхняя граница	
Показатели, вошедшие в прогностическую модель					
Константа	0.831	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

Полученные нами результаты подтверждают информативность мониторинга в динамике изменений концентрации сцДНК (как мутантных форм, так и «дикого типа» маркерных генов глиом) в плазме периферической крови пациентов с ДСГ. Изменения показателей концентрации сцДНК в крови пациентов до начала химиолучевого лечения информативны в части прогнозирования вероятности прогрессирования заболевания и летального исхода, а анализ динамики изменений концентрации сцДНК в крови пациентов после завершения химиолучевого лечения дополнительно к прогнозированию течения и исхода заболевания позволяет оценить эффективность проведенного химиолучевого лечения.

### Радиогеномические характеристики диффузных срединных глиом

В отличие от традиционных рентгенологических методов, радиогеномный анализ данных МР-визуализации диффузных срединных глиом у детей открывает возможности поиска, так называемых, «биомаркеров изображения», связанных с наличием фенотипических признаков положительного статуса *H3K27M* мутации, что позволит определить прогноз заболевания, не прибегая к инвазивным методам верификации.

Проведенный нами сравнительный анализ структуры опухолей по результатам экспертной оценки данных МРТ с использованием 16 условных визуальных признаков, характеризующих строение ДСГ, не выявил достоверных отличий между опухолями с/без наличием мутации в гене *H3F3A (K27M)*, что не позволило на основании

традиционной оценки МРТ-изображений делать выводы о наличии либо отсутствии данного типа мутации в ДСГ у детей.

В последующем проводился радиогеномный анализ, включавший 4 этапа, где суммарно было получено и проанализировано 120 рабочих признаков, из которых для обучения моделей классического машинного обучения было отобрано 16 наиболее информативных. 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 и другие.

В таблице 18 представлено описание радиомических признаков, количественно отражающих фенотипический статус опухоли и учитывающих её гетерогенность.

**Таблица 18.** 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.

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) (ассурасу 0,79; recall 0,7).

Учитывая ограниченное количество данных в исследовании, для улучшения показателей радиогеномики была произведена генерация радиомических данных современной моделью TAB-DDPM, разработанная в Яндекс.

Проведенное исследование с применением моделей классического машинного обучения для анализа радиогеномных признаков ДСГ (оригинальных «размеченных» данных из обучающей выборки с синтетически сгенерированными радиомическими данными) показало, 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: accuracy - 0,8, precision - 0,86, recall - 0,8. Для TabPFN: 0,87, 0,95, 0,88, соответственно. В таблице 19 представлены результаты 1 и 2 подходов - экспериментов.

**Таблица 19.** 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>

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.

#### **Анализ общей и безрецидивной выживаемости при глиомах высокой степени злокачественности у детей и взрослых**

Следующим этапом нашей работы был сравнительный анализ общей (ОВ) и безрецидивной (БВ) между пациентами, у которых были выявлены мутантные формы цоДНК и пациентами без наличия мутантных форм (табл. 20).

**Таблица 20.** Общая и безрецидивная выживаемость больных с ГВСЗ, п-209.

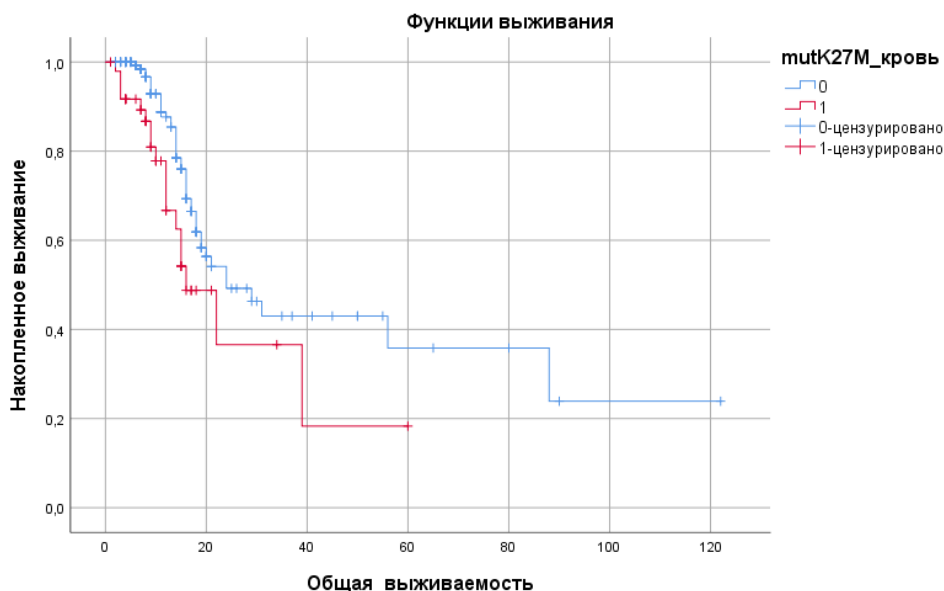
Выживаемость	Максимальный срок наблюдения, мес	Медиана [95%ДИ], мес	1-летняя, % ± станд. ошибка	3-летняя, % ± станд. ошибка	5-летняя, % ± станд. ошибка
Общая	122	24 [14.5; 33.5]	82.6 ± 3.2	41.2 ± 6.0	32.6 ± 7.4
Безрецидивная	117	21 [13.1; 28.9]	59.4 ± 4.0	40.4 ± 5.9	26.1 ± 8.0

Сравнительный анализ общей и безрецидивной выживаемости 209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 пациентов с ДСГ, показал, что у пациентов с ДСГ в целом прослеживается тенденция к наличию более низких показателей как общей, так и безрецидивной выживаемости (рис.7 и рис.8).

Медиана общей выживаемости для ГВСЗ составила 24 месяца, безрецидивной выживаемости - 21 месяц. Для ДСГ - 16 месяцев и 10 месяцев, соответственно.

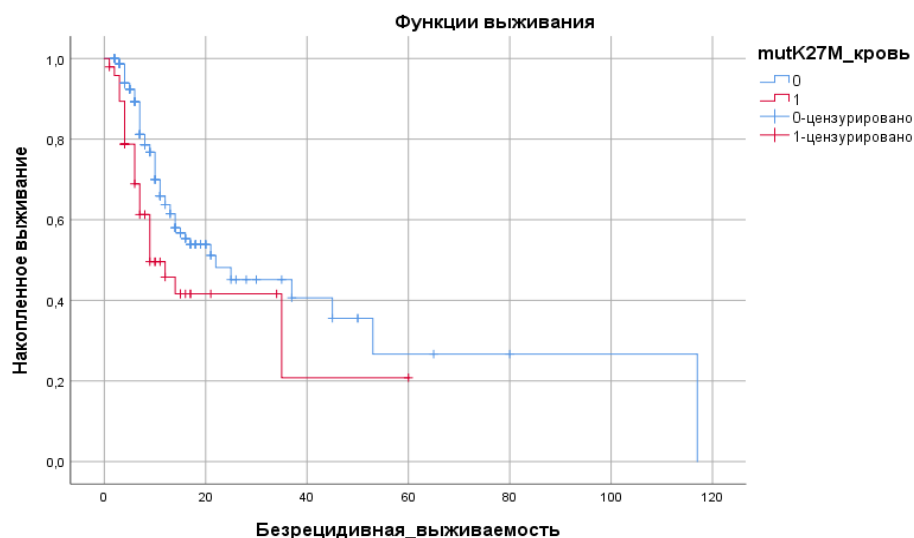
Анализ общей и безрецидивной выживаемости пациентов с ГВСЗ в зависимости от данных мутационного статуса цоДНК в крови показал, что общая ( $p=0.109$ ) выживаемость с наличием и без мутации K27M в гене H3F3A в крови у пациентов с ГВСЗ не имела статистически значимого различия между группами, а безрецидивная ( $p=0.005$ ) 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.

При оценке общей и безрецидивной выживаемости пациентов с ДСГ в зависимости от данных мутационного статуса цоДНК в крови было установлено, что для пациентов, у которых были выявлены в крови мутантные формы цоДНК в генах *N3F3A*, *IDH1*, *IDH2* характерны более низкие показатели как общей, так и безрецидивной выживаемости в сравнении с пациентами, у которых указанные мутантные формы цоДНК не были выявлены.



**Рисунок 7.** Общая выживаемость больных с/без наличия мутации *K27M* гена *N3F3A* (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

Самые низкие показатели общей и безрецидивной выживаемости наблюдались у пациентов с ДСГ с выявленной в крови после завершения лечения мутацией *N3F3A(K27M)* (15 и 9 месяцев, соответственно). В группе пациентов без наличия мутации *N3F3A(K27M)* медиана общей и безрецидивной выживаемости составила 17 и 11 месяцев, соответственно.



**Рисунок 8.** Безрецидивная выживаемость больных с/без наличия мутация *K27M* гена *N3F3A* (209 пациентов с ГВСЗ, из которых 130 с ДСГ)

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 в группе с наличием мутации *K27M* в гене *H3F3A* она была ниже.

Если медиана общей и безрецидивной выживаемости пациентов с наличием мутации в гене *IDH1* составила 16 и 11 месяцев, соответственно, то в группе пациентов с отсутствием мутации *IDH1* – 16 и 10 месяцев, соответственно.

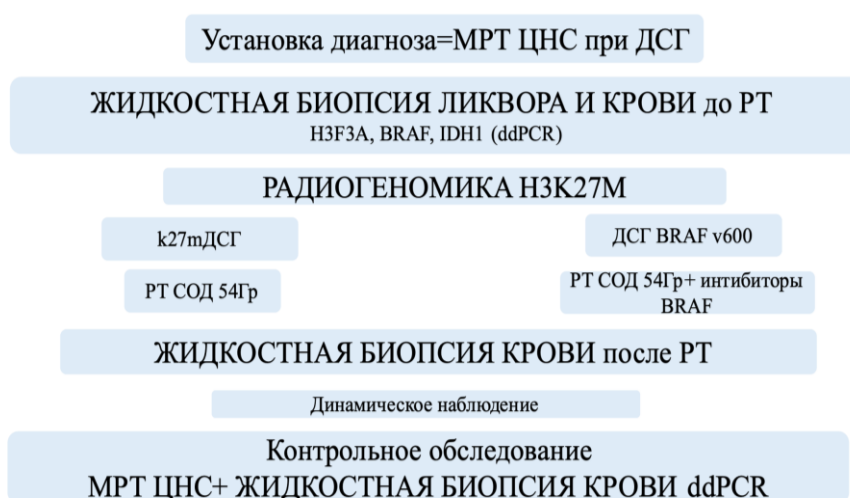
Медиана общей и безрецидивной выживаемости пациентов с наличием мутации в гене *IDH2* составила 18 и 10 месяцев, соответственно, а в группе пациентов без наличия мутации в гене *IDH2* – соответственно 17 и 11 месяцев.

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* отсутствовала. 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, если наличие мутации *K27M* гена *H3F3A* достоверно снижает общую и безрецидивную выживаемости, то наличие мутаций генов *IDH1* (R132H), *BRAF* (V600E) и *IDH2* (R140Q) достоверно не влияет на ОВ и БВ. У пациентов с ДСГ как в целом, так и в случаях наличия мутантных форм цоДНК: *H3F3A*, *IDH1* и *IDH2* прослеживается тенденция более низких показателей как общей, так и безрецидивной выживаемости в сравнении со значениями этих показателей у пациентов с ГВСЗ других локализаций.

### Алгоритм обследования и выбора тактики лечения пациентов с ДСГ

В рамках исследования на основании полученных данных был создан алгоритм обследования и выбора тактики лечения пациентов с ДСГ на основании результатов анализа цоДНК и МР-изображений с использованием разработанной модели анализа радиогеномных признаков (рис.9).



**Рисунок 9.** Алгоритм диагностики и лечения пациентов с ДСГ

Данный алгоритм позволяет исключить нейрохирургический этап, сохраняя при этом качество жизни пациенту и исключая, в последующем, диссеминацию опухолевого процесса по ЦНС. Тем самым данный алгоритм, отвечающий задачам медико-экономической эффективности, позволяет своевременно начать РТ, изучить молекулярно-генетический профиль глиомы, своевременно назначать персонализированную таргетную терапию пациентам с мутацией гена BRAF.

Созданный нами алгоритм предусматривает возможность в процессе РТ осуществить динамическую оценку относительной концентрации цоДНК как мутантных, так и генов «дикого типа» для прогнозирования эффективности терапии и вероятного исхода заболевания, что позволит при необходимости своевременно проводить противорецидивное лечение, способствуя увеличению общей выживаемости пациентов и повышению качества их 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**

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»

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.

#### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Регентова О.С., Щербенко О.И. Современное состояние проблемы диагностики и лечения диффузно растущих глиом ствола мозга у детей и подростков // Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии. 2019. Т. 19. №1. С. 95-130.
2. Солодкий В.А., Измайлов Т.Р., Паньшин Г.А., Цаллагова З.С., Регентова О.С. Роль неoadъювантного хирургического вмешательства при первичном и повторном лечении злокачественных опухолей ствола головного мозга у детей и подростков // Вестник рентгенологии и радиологии. 2019. Т. 100. №3. С. 130-135.
3. 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.
4. Solodky V.A., Regentova O.S., Bozhenko V.K., Shcherbenko O.I., Antonenko F.F., Parkhomenko R.A., Abbasova E.V., Zelinskaya N.I., Kryanev A.M., Shevtsov A.I. Mutant BRAF gene in blood plasma in children with brain gliomas during radiotherapy and its role in the prognosis // Pediatric Blood and Cancer. 2021. Т. 68. № S5. С. 446.
5. Патент на изобретение № 2780780 Российская Федерация, МПК С2, Прогнозирование эффективности применения лучевой терапии /Боженко В.К., Кулинич Т.М., Джикия Е.Л., Регентова О.С., Щербенко О.И./ Заявка 2020143489, 28.12.2020, опубликовано 30.09.2022. Бюл. № 28.; заявитель ФГБУ «РНЦРР» Минздрава России
6. Щербенко О.И., Кумирова Э.В., Регентова О.С. Радиационный некроз головного мозга // Российский журнал детской гематологии и онкологии (РЖДГиО). 2022;9(3):83-89.
7. Мухутдинова Г.З., Сергеев Н.И., Регентова О.С., Сидибе Н., Ребрикова В.А., Цаллагова З.С., Лагкуева И.Д., Котляров П.М. Образование в мостомозжечковом

- углу головного мозга - что за ним скрывается? клиническое наблюдение // Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии. 2023. Т. 23. № 3. С. 81-89.
8. 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.
  9. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2023615290 Российская Федерация. Программный комплекс для оценки эффективности лечения первичных опухолей центральной нервной системы на основе технологий искусственного интеллекта /Регентова О.С., Гурова А. С./ Заяв. № 2023613827/69 01.03.2023; опубл. 13.03.2023. Заявитель ФГБУ «РНЦРР» Минздрава России. Язык программирования: VBA (Visual Basic).
  10. 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 рентгенорадиологии. 2024. № 2 (24). С. 78–93.
  11. Регентова О.С., Солодкий В. А., Боженко В. К. и др. Радиомический анализ данных в нейроонкологии // Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии. 2024. № 2 (24). С. 69–77.
  12. 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.
  13. Регентова О.С., Пархоменко Р.А., Антоненко Ф.Ф. и др. Конвекционно-усиленная доставка препаратов при диффузных внутренних глиомах моста головного мозга у детей и подростков // Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии (вестник РНЦРР). 2024. № 3 (2024). С. 83–93.
  14. 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 рентгенорадиологии. 2024. № 2 (24). С. 94–106.
  15. Регентова О.С., Пархоменко Р. А. Сергеев Н.И. и др. Перспективы применения радиомики при опухолях головного мозга // Digital Diagnostics. 2024. № 3 (5). С. 1–14.
  16. 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.
  17. 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.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- БВ – безрецидивная выживаемость  
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 рентгенорадиологии»  
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