

На правах рукописи

МАЦКО

Марина Витальевна

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
НЕЙРОЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ЕЕ
КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ**

Специальность: 14.01.12 – онкология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Санкт-Петербург

2019

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Минздрава России

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН
доктор медицинских наук

Имянитов Евгений Наумович
Улитин Алексей Юрьевич

Официальные оппоненты:

Корытова Луиза Ибрагимовна – доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник отдела лучевых и комбинированных методов лечения Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский Научный Центр Радиологии и Хирургических Технологий им. Ак. А.М. Гранова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Желудкова Ольга Григорьевна – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник отдела онкологии Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Научно-практический центр специализированной медицинской помощи детям им. В.Ф. Войно-Ясенецкого Департамента здравоохранения города Москвы»

Медяник Игорь Александрович – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник группы микронеурологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

Ведущее научное учреждение:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «_____» 2020г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.052.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Минздрава России (197758, Санкт-Петербург, Песочный, ул. Ленинградская, д.68).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России по адресу 197758, Санкт-Петербург, Песочный, ул. Ленинградская, 68, на сайте <http://www.niioncologii.ru> и на официальном сайте ВАК.

Автореферат разослан «___» _____ 2020 года

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Филатова Лариса Валентиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

На сегодняшний день в России нет всеобъемлющего учета опухолей мозга, в связи с чем целесообразно ориентироваться на данные Регистра опухолей мозга США (Central Brain Tumor Registry of the United States CBTRUS). В нем приведены следующие данные: с 2010 по 2014 гг. зарегистрировано 379 848 новых случаев заболевания первичными опухолями ЦНС среди людей всех возрастов, из них 119 674 случая со злокачественными формами (URL: <http://www.cbtrus.org/>).

Последние годы активно развивается молекулярная биология, совершенствуются стандарты лечения, однако показатели пятилетней продолжительности жизни пациентов с ДА остаются по-прежнему невысокими – 50,1%, с АА – 29,8%, а с первичной ГБ – всего 5,5%. Астроцитомы составляют в совокупности более 50% всех случаев нейроэпителиальных опухолей, поэтому вызывают наибольший интерес. Глиобластома – самая злокачественная опухоль ЦНС у человека. Среди всех опухолей ЦНС первичная ГБ составляет 14,9%, среди злокачественных новообразований нервной системы – 47,1%, а ее доля в «глиальных опухолях» – 56,1%. Вопреки несомненным успехам в лечении, достигнутым за последние 15 лет, только у небольшого числа больных удается достичь 3-х летней продолжительности жизни. При этом частота заболевания первичной ГБ неуклонно растет с возрастом населения, что говорит о постепенном накоплении активирующих мутаций в ключевых генах на протяжении жизни человека. В среднем пациенты с данной патологией при комплексной терапии живут от 9,5 до 16 месяцев (Burton E.C. et al., 2002; Scoccianti S. et al., 2010; Johnson D.R. et al., 2013; Gilbert M.R. et al., 2014).

В течение последних 15 лет серия работ, посвященных молекулярной генетике, выявила новые прогностические и предиктивные биомаркеры, имеющие клиническую значимость (Hegi M.E. et al., 2005; Chinot L. et al., 2007; Watanabe T. et al., 2009; Labussiere M. et al., 2010; Hartmann C. et al., 2011; Hegi M.E. et al., 2019). Это нашло свое отражение в новой классификации опухолей ЦНС (ВОЗ 2016), которая внесла существенные изменения в формулирование диагноза. Впервые за всю историю существования «голубых книг» в основу положено не только гистологическое строение того или иного новообразования, но и его наиболее значимая молекулярно-генетическая характеристика или хромосомная aberrация (Louis D.N. et al., 2016). Проблема неизбежного рецидива нейроэпителиальных опухолей с увеличением степени злокачественности и развитием резистентности к дальнейшей терапии сподвигло к изучению генетических aberrаций в стволовых клетках ГБ, а также поиск новых мишеней для таргетной терапии (Zhou D.X. et al.,

2017; Gussyatiner O. et al., 2018; Hegi M.E. et al., 2018; Romão L. et al., 2018; Neto F.S.L. et al., 2019; Stupp R. et al., 2019). К сожалению, значимого прогресса в этой области для глиом пока нет (Gilbert M.R. et al., 2014; Lesueur P. et al., 2019). В основе индивидуализированной терапии лежит анализ особенностей генома опухоли для определения целесообразности применения конкретных препаратов. Как в мировой, так и в отечественной общей онкологии в последние годы эта задача решается (Волков Н.М. с соавт., 2009; Проценко С.А. с соавт., 2012; Zannoni G.F. et al., 2014; Martinelli E. et al., 2018; Zhu L. et al., 2019). В области нейроонкологии комплексная разработка этой проблемы отсутствует. В современной литературе обсуждается роль прогностических и предиктивных молекулярно-генетических маркеров в глиальных опухолях: мутации в генах IDH1/2, ко-делеция 1p19q, метилирование промотора гена MGMT. Исследований по определению экспрессии мРНК генов VEGF, PDGFR- α , TP, β III-тубулин, ERCC1, MGMT, C-kit, TOP2A мало, а в таких новообразованиях как эмбриональные опухоли ЦНС (нейробластома и ганглионейробластома) или смешанных нейронально-глиальных опухолях (ганглиоглиома и анапластическая ганглиоглиома) они не проводилось вообще. В редких публикациях на эту тему описываются только отдельные клинические наблюдения, порой даже без определения генетической характеристики опухоли (крайне редко – метилирование промотора гена MGMT).

MGMT и ERCC1 – гены репарации ДНК. Их повышенная экспрессия позволяет опухолевой клетке восстанавливаться после воздействия на нее цитостатиков, нейтрализуя таким образом терапевтический эффект, что целесообразно учитывать при назначении соответствующих препаратов. Гены VEGF, PDGFR- α , C-kit, TP с одной стороны позволяют прогнозировать биологическое поведение опухоли, с другой – гены VEGF, PDGFR- α и C-kit могут служить мишенями для таргетной терапии бевацизумабом и иматинибом.

Чрезвычайно важно изучение внутриопухолевой гетерогенности в глиальных опухолях. Морфологическую и молекулярно-генетическую гетерогенность внутри опухоли считают одной из ключевых причин возникновения рецидива заболевания и резистентности на проводимую терапию. Проблема мало освещена в литературе.

Одной из актуальных проблем мировой медицины остается неизбежная злокачественная трансформация доброкачественных глиом (ДА и ОДГ) в АА, АОДГ или вторичную ГБ. Этот вопрос пока не нашел своего решения. Зарубежные публикации единичны.

Таким образом, существующие в нейроонкологии проблемы, изложенные выше, подтверждают актуальность изучения молекулярно-генетических характеристик нейроэпителиальных опухолей с целью поиска путей

персонализированного подхода в лечении нейроонкологических больных с учетом их клинических особенностей и молекулярного портрета опухоли в каждом конкретном случае.

Разработанность темы исследования

С начала 2000-х гг. в современной литературе активно обсуждается роль прогностических и предиктивных молекулярно-генетических маркеров (мутации в генах IDH1/IDH2, ко-делеция 1p19q, метилирование промотора гена MGMT) в глиальных опухолях, к которым относятся первичная глиобластома, анапластическая астроцитома, диффузная астроцитома, олигодендроглиома и анапластическая олигодендроглиома (Hegi M.E. et al., 2005; Prados M.D. et al., 2009; Labussiere M. et al., 2010; Hartmann C. et al., 2011; Sarmiento J.M. et al., 2016; Hegi M.E. et al., 2019; Jiang H. et al., 2019; Mütner M. et al., 2019). Это нашло свое отражение в новой редакции классификации Всемирной Организации Здравоохранения 2016 (ВОЗ 2016): здесь внесены существенные изменения в формулировку диагноза. Стоит отметить, что исследование гена MGMT (O⁶-метилгуанин-ДНК метилтрансфераза) началось в конце 1970-х гг. (Samson L. et al., 1977), однако лишь в 2005 г. было доказано его значение для терапии больных с ГБ (Hegi M.E. et al., 2005). Сколько-нибудь значимые публикации по определению функции гена MGMT в эмбриональных опухолях ЦНС (нейробластома и ганглионейробластома) у больных старше 18 лет, а также у пациентов с анапластической ганглиоглиомой отсутствуют, имеются лишь единичные наблюдения из практики (Oh J. et al., 2009; Mellai M. et al., 2012; Chang I.W. et al., 2013; Liu B. et al., 2016; Wang L. et al., 2017).

Изучение роли генов IDH1/2 в опухолях ЦНС берет свое начало с 2008 г., когда мутации в них впервые были обнаружены в клетках глиобластомы (Parsons D.W. et al., 2008). В дальнейшем было определено позитивное значение данной аберрации, но только для глиальных новообразований. Исследования IDH1/2-мутаций у больных с редкими нейроэпителиальными опухолями, как-то: нейробластомой, ганглионейробластомой ЦНС и анапластической ганглиоглиомой не проводились (van den Bent M.J. et al., 2010; Christensen B.C. et al., 2011; Turcan S. et al., 2012; Sarmiento J.M. et al., 2016).

Научных публикаций по определению экспрессии мРНК генов VEGF, PDGFR- α , TP, β III-тубулин, ERCC1, MGMT, C-kit, TOP2A мало, а в таких новообразованиях как нейробластома, ганглионейробластома, ганглиоглиома и анапластическая ганглиоглиома, экспрессия вышеперечисленных генов вообще не изучалась. Можно назвать отдельные публикации, посвященные изучению

эффективности ингибиторов топоизомеразы на клеточных линиях, и анализу экспрессии TOP2A, TOP2B и β III-тубулина, но и те касаются только стволовых клеток ГБ (Hong Y. et al., 2012; Li W.Q. et al., 2014; Miconi G. et al., 2015; Kenig S. et al., 2016; Aaberg-Jessen C. et al., 2019; Lutz H. et al., 2019; Marampon F. et al., 2019). Эффективность цисплатина при низком уровне экспрессии гена ERCC1 доказана также только на клеточных линиях глиобластомы (Liu Z.G. et al., 2009; Chen H.Y. et al. 2010). Стандартов лечения больных старше 18 лет с нейробластомой и ганглионейробластомой ЦНС, а также пациентов с анапластической ганглиоглиомой нет.

Злокачественная трансформация глиальных опухолей и внутриопухолевая морфологическая и молекулярно-генетическая гетерогенность, судя по немногочисленности публикаций на эти темы, также изучены недостаточно (McGirt M.J. et al., 2008; Smith J.S. et al., 2008; Chaichana K.L. et al., 2010; Sottoriva A. et al., 2013; Meyer M. et al., 2015).

Цель исследования

Определение роли молекулярно-генетических маркеров в индивидуализации лечения пациентов с церебральными нейроэпителиальными опухолями.

Задачи исследования

1. Изучить влияние мутаций в генах IDH1/2 в диффузной астроцитоме и анапластической астроцитоме на безрецидивную и общую продолжительность жизни.
2. Исследовать зависимость безрецидивной и общей продолжительности жизни у больных с первичной глиобластомой от наличия мутации в генах IDH1/2 и экспрессии мРНК генов VEGF и MGMT.
3. Уточнить роль гена MGMT у пациентов с первичной глиобластомой при проведении первой линии лучевой и химиотерапии.
4. Определить клинические, демографические и молекулярно-генетические факторы у больных с первичной глиобластомой, которые способствуют продолжительности жизни три года и более.
5. Оценить влияние на безрецидивную и общую продолжительность жизни мутаций в генах IDH1/2 и экспрессии мРНК генов VEGF, ERCC1, MGMT у пациентов с эмбриональными опухолями ЦНС.
6. Выявить корреляцию уровня экспрессии мРНК гена VEGF с пролиферацией сосудов и эндотелия, а также с накоплением контрастного вещества опухолью по данным дооперационной МРТ у больных с эмбриональными опухолями ЦНС.

7. Исследовать у пациентов с анапластической ганглиоглиомой влияние мутации в генах IDH1/2 и пролиферации сосудов на продолжительность жизни.

8. Изучить явление морфологической и молекулярно-генетической внутриопухолевого гетерогенности у больных с диффузной астроцитомой, анапластической астроцитомой и первичной глиобластомой.

9. Оценить влияние клинических и молекулярно-генетических факторов на скорость злокачественной трансформации диффузной астроцитомы и олигодендроглиомы в анапластическую астроцитому или анапластическую олигодендроглиому и вторичную глиобластому.

10. Определить нозологические группы нейроэпителиальных опухолей или их биологические подтипы, в которых степень циторедукции при первом хирургическом вмешательстве достоверно влияла на продолжительность жизни больных.

Научная новизна

- впервые в мире в редких нейроэпителиальных опухолях: нейробластоме, ганглионейробластоме, ганглиоглиоме, анапластической ганглиоглиоме выявлено наличие мутаций в генах IDH1 и IDH2 и дана оценка их клинического значения;

- впервые в мире проведен сравнительный молекулярно-генетический анализ образцов опухоли, представленных материалами от обеих операций, при злокачественной трансформации диффузной астроцитомы и олигодендроглиомы в анапластическую астроцитому или анапластическую олигодендроглиому и вторичную глиобластому, а также трансформации анапластической астроцитомы и анапластической олигодендроглиомы во вторичную глиобластому;

- впервые в мире у больных с диффузной астроцитомой определены молекулярно-генетические факторы, которые достоверно влияют на скорость рецидива со злокачественной трансформацией;

- впервые в мире в эмбриональных опухолях ЦНС, основываясь на экспрессии мРНК генов ERCC1 и MGMT, изучена чувствительность к препаратам платины, выявленной в нейробластоме и ганглионейробластоме в 53% и в 27% случаев и препаратам алкильной группы, обнаруженной в 60% и в 40% случаев соответственно;

- впервые в России в нейроэпителиальных опухолях определены уровни экспрессии генов β III-тубулин, TP, ERCC1, VEGF, TOP2A;

- впервые в России разработан алгоритм индивидуализированной терапии нейроэпителиальных опухолей в зависимости от их молекулярно-генетического «портрета»;

- впервые в России у больных с первичной глиобластомой проведен сравнительный анализ молекулярно-генетических характеристик материала от первой и повторной операций в связи с рецидивом заболевания после ЛТ и ХТ с оценкой целесообразности назначения темозоломида во второй линии терапии;

- впервые в России у пациентов с диффузной астроцитомой, анапластической астроцитомой и первичной глиобластомой изучена внутриопухолевая морфологическая и молекулярно-генетическая гетерогенность с оценкой уровней экспрессии мРНК генов MGMT, ERCC1, PDGFR- α , VEGF, TOP2A, C-kit и мутаций в генах IDH1/2 в каждом фрагменте опухолевой ткани.

Научная и практическая значимость работы

Индивидуализированный подход в лечении нейроэпителиальных опухолей на основе молекулярно-генетических маркеров обеспечивает увеличение медианы безрецидивной и общей продолжительности жизни в 1,8-3,5 раза по сравнению со стандартным подходом.

Потенциальная чувствительность к препаратам алкильной группы (в т. ч., темозоломиду), объясняемая низким уровнем экспрессии гена MGMT, выявлена у больных с диффузной астроцитомой в 46%, с анапластической астроцитомой – в 44%, с анапластической олигодендроглиомой – в 85%, с анапластической ганглиоглиомой – в 50%, с глиобластомой – в 42%; к платиносодержащим препаратам (низкий уровень экспрессии гена ERCC1): у больных с диффузной астроцитомой – в 20%, с анапластической астроцитомой – в 29%, с анапластической олигодендроглиомой – в 39%, с анапластической ганглиоглиомой – в 22%, с глиобластомой – в 18%.

Самая низкая чувствительность была выявлена к винкристину (низкий уровень экспрессии мРНК гена β III-тубулин) у больных с диффузной астроцитомой в 9%, с анапластической астроцитомой – в 7%, с анапластической олигодендроглиомой – в 0%, с анапластической ганглиоглиомой – в 4%, с глиобластомой – в 6%, с нейробластомой в 8% и ганглионейробластомой – в 15% случаев; и низкая чувствительность определена к доксорубицину (высокий уровень экспрессии мРНК гена TOP2A) у больных с диффузной астроцитомой – 0%, с анапластической астроцитомой – 5% случаев, с анапластической олигодендроглиомой – в 8%, с анапластической ганглиоглиомой – в 23% и у больных с глиобластомой в 21% случаев.

Высокая эффективность ХТ темозоломидом или ПХТ по схеме PCV/CV с хорошей продолжительностью жизни у больных с анапластической олигодендроглиомой объясняется биологической чувствительностью опухоли к

проводимому лечению в связи с самой высокой частотой низкой экспрессии мРНК гена MGMT (85%) и наличия мутации в генах IDH1(R132H) и IDH2(R172K) (86%) среди всех нейроэпителиальных опухолей.

Высокий уровень экспрессии гена VEGF, отмеченный в 74% случаев у больных с первичной глиобластомой, позволяет говорить о потенциальной эффективности лечения таргетным препаратом бевацизумаб уже в первой линии терапии, что особенно важно в случае отсутствия чувствительности к темозоломиду.

Определена чувствительность эмбриональных опухолей ЦНС к темозоломиду по высокой встречаемости низкого уровня экспрессии мРНК гена MGMT, которая была выявлена в нейробластоме в 60% и ганглионейробластоме – в 40% случаев.

У больных с диффузной астроцитомой выявлены клинические и молекулярно-генетические факторы, влияющие на скорость рецидива со злокачественной трансформацией в анапластическую астроцитому и вторичную глиобластому.

Положения, выносимые на защиту

1. Нейроэпителиальные опухоли характеризуются молекулярно-генетической гетерогенностью, а именно – разной экспрессией мРНК генов (MGMT, VEGF, PDGFR, TP, β III-тубулин, ERCC1, c-kit, TOP2A) у разных больных в рамках одной нозологии.
2. Ген MGMT является предиктивным маркером и при низком уровне экспрессии мРНК без проведения ХТ темозоломидом достоверно не увеличивает ни БПЖ, ни ОПЖ у пациентов с первичной глиобластомой.
3. Для увеличения продолжительности жизни больных с первичной глиобластомой более трех лет необходим персонифицированный подход в лечении, который выражается в более интенсивной тактике лечения пациентов в первой линии терапии (ЛТ с темозоломидом и МХТ темозоломидом от 6 до 15 циклов) особенно в группе с низкой активностью гена MGMT и проведении повторной ЛТ и ХТ.
4. В эмбриональных опухолях ЦНС мутация в гене IDH1(R132H) встречалась в 35% случаев (6/17), и она способствовала увеличению медианы БПЖ в нейробластоме в 2,1 раза и ганглионейробластоме в 3 раза, и медианы ОПЖ у больных с ганглионейробластомой в 1,8 раза.
5. В анапластической ганглиоглиоме мутации в генах IDH1/2 встречались в 38% случаев (8/21). Их наличие в опухоли увеличивает медиану БПЖ в 3,5 раза и медиану ОПЖ в 1,9 раза.
6. Астроцитомы разной степени злокачественности характеризуются как морфологической (72,7%), так и молекулярно-генетической внутриопухолевой

гетерогенностью (41,7%), определяемой при анализе экспрессии мРНК генов: MGMT, ERCC1, PDGFR- α , VEGF, TOP2A, C-kit. В первичной глиобластоме морфологическая гетерогенность наблюдалась в 68,8% (11/16), в анапластической астроцитоме – в 80% (4/5) и в единственном случае диффузной астроцитомы.

7. На скорость злокачественной трансформации диффузной астроцитомы влияют следующие факторы: возраст (старше 45 лет) ($p=0,009$), размер опухоли (более 60 мм. в наибольшем измерении) ($p=0,045$), накопление опухолью контрастного вещества на первом МРТ ($p=0,0014$), «астроцитарная» дифференцировка опухоли (по сравнению с «олигодендроглиальной») ($p=0,017$) и уровень экспрессии мРНК генов MGMT ($p=0,03$), TP ($p=0,023$) и VEGF ($p=0,037$) в материале от первой операции.

Степень достоверности и апробации результатов

Результаты диссертационного исследования были обсуждены 16.10.2019г на расширенном заседании научного отдела биологии опухолевого роста ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России. Результаты работы доложены на Всероссийской научно-практической конференции «Поленовские чтения» (Санкт-Петербург, 2011, 2013, 2015, 2017, 2019); Международном конгрессе «Рациональная фармакотерапия» (Санкт-Петербург, 2012, 2016, 2017); Российском онкологическом конгрессе (Москва, 2012, 2016); Всероссийской конференции с международным участием, посвященные памяти член-корр. РАМН, проф. О.К. Хмельницкого (Санкт-Петербург, 2013, 2015, 2017); Всероссийском съезде патологоанатомов (Белгород, 2013); Отечественной школе онкологов (Санкт-Петербург, 2013); Всероссийском съезде нейрохирургов (Казань, 2015; Санкт-Петербург, 2018); Российском онкологическом научно-образовательном форуме с международным участием «Белые Ночи» (Санкт-Петербург, 2015, 2016, 2017); Юбилейной научной сессии «От трансляционных исследований – к инновациям в медицине» (Санкт-Петербург, 2015); I-м Российско-китайском конгрессе нейрохирургов (Уфа, 2017).

По теме диссертации опубликована 71 печатная работа: 60 – в отечественной и 11 – в зарубежной печати, в том числе 6 глав в монографиях и руководствах (одна из них в издательстве Springer). 15 публикаций напечатано в журналах, реферируемых ВАК, из них 6 работ опубликовано в журналах, входящих в базу данных Scopus.

Внедрение результатов работы в практику

Результаты работы внедрены и используются в практической и научно-исследовательской работе «РНХИ им. проф. А.Л. Поленова» – филиал ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России.

Личный вклад автора

Автор лично принимала участия на всех этапах выполнения работы. Автором самостоятельно изучена и проанализирована отечественная и зарубежная литература по теме диссертации. Все пациенты, которые были включены в исследование, наблюдались лично от момента постановки диагноза. Автор непосредственно принимала участие в проведении морфологического исследования операционного материала. Молекулярно-генетическое исследование с определением экспрессии мРНК генов: TP, ERCC1, βIII-тубулина, PDGFR-α, C-kit, MGMT, VEGF, TOP2A; мутаций в генах IDH1/2; и сочетанной делеции 1p19q, выполнено совместно с сотрудниками научной лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России. Автором самостоятельно разработан «протокол ведения пациентов на дооперационном и послеоперационном периодах», составлена электронная база данных, проведена статистическая обработка материала, обобщены, систематизированы и проанализированы результаты. В соответствии с полученными данными автором сформулированы выводы, практические рекомендации и оформлена диссертация.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа «Молекулярно-генетическая характеристика нейроэпителиальных опухолей головного мозга и ее клиническое значение», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук, соответствует специальности: 14.01.12 – онкология.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 324 страницах машинописного текста, состоит из введения, четырех глав, выводов, практических рекомендаций, приложения и списка литературы. Библиографический указатель включает 359 публикаций, в том числе 15 отечественных и 344 иностранных авторов. Работа иллюстрирована 33 таблицами и 155 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Материалы исследования. Было проведено проспективное исследование, в которое вошли больные с нейроэпителиальными опухолями супратенториальной локализации в возрасте старше 18 лет. В период с 2008 по 2019 гг. проведены молекулярно-генетические исследования опухолевой ткани 277 пациентам в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, наблюдались больные в «РНХИ им. проф. А.Л. Поленова» – филиале ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова»

Минздрава России. Мужчин было 136, женщин 141. Всем больным выполнялось оперативное вмешательство с разным объемом циторедукции – от СТБ до тотального удаления опухоли. Под макроскопически тотальным удалением понималась резекция опухоли 95% и более, под субтотальным – 80–94%, частичным – 79–50% и открытой биопсией – <50%. Диагноз ставился в соответствии с рекомендациями ВОЗ (2016). Параллельно или последовательно с гистологической верификацией диагноза выполнялось молекулярно-генетическое исследование с определением уровня экспрессии мРНК генов: TP, ERCC1, β III-тубулина, PDGFR- α , C-kit, MGMT, VEGF, TOP2A; мутаций в генах IDH1/2; и ко-делеции 1p19q в части случаев. Следующим этапом нашей работы стало изучение корреляций между уровнем экспрессии/наличием мутаций исследуемых генов и эффективностью проводимого лечения, а также показателями выживаемости у пациентов с гистологическими диагнозами: ДА, АА, ОДГ и АОДГ, первичная ГБ, ЦНС-НБ, ЦНС-ГНБ и АГГ (табл. 1).

Таблица 1 – Распределение больных с нейроэпителиальными опухолями в соответствии с гистологическим диагнозом

диагноз/число больных	ДА	АА	ОДГ	АОДГ	ГБ	ЦНС-НБ	ЦНС-ГНБ	ГГ	АГГ
n (%)	29 (10,5)	46 (16,6)	5 (1,8)	14 (5,1)	124 (44,8)	15 (5,4)	16 (5,8)	3 (1)	25 (9)

Комплексный морфо-генетический диагноз больных, включенных в работу в соответствии с классификацией ВОЗ (2016), представлен в таблице 2.

Таблица 2 – Распределение больных с нейроэпителиальными опухолями в соответствии с классификацией ВОЗ (2016)

диагноз/мутация/ко-делеция	ДА	АА	ОДГ	АОДГ	ГБ
мутация в генах IDH (+), n (%)	22 (79%)	21 (60%)	4 (100%)	12 (86%)	6 (5%)
мутация в генах IDH (-), n (%)	6 (21%)	14 (40%)	0 (0%)	2 (14%)	106 (95%)
ко-делеция 1p19q (+)	-	-	3 (100%)	13 (100%)	-
ко-делеция 1p19q (-)	-	-	0 (0%)	0 (0%)	-

Мутации в генах IDH1/2 чаще встречались в ОДГ и АОДГ (100% и 86% соответственно), и реже всего в первичной ГБ – 5% (6/112). Ко-делеция 1p19q была выявлена в 100% случаев в ОДГ и АОДГ.

Для изучения внутриопухолевой морфологической и молекулярно-генетической гетерогенности в исследование были включены пациенты с впервые выявленной супратенториальной опухолью ЦНС. При удалении опухоли (тотальное/субтотальное) проводился интраоперационный забор пяти фрагментов опухолевой ткани из равноудаленных точек с минимальным расстоянием между ними 15 мм. Для выполнения молекулярно-генетического исследования с каждого

блока производился прицельный забор опухолевых клеток с объемом информативного материала в нем не менее 80%.

Клиническая характеристика больных с диффузной астроцитомой, анапластической астроцитомой, первичной глиобластомой

Клиническая характеристика больных с ДА, АА и первичной ГБ с объемом проведенной терапии представлена в таблице 3.

Таблица 3 – Характеристика больных с ДА, АА и первичной ГБ

клинические характеристики	ДА (n=29)	АА (n=46)	ГБ (n=124)
пол			
мужчины	16 (55%)	22 (48%)	54 (44%)
женщины	13 (45%)	24 (52%)	70 (56%)
возраст (среднее значение)	33,5 (95%CI: 29,6-37,5)	37,8 (95%CI: 33,8-41,8)	54 (95%CI: 52-56)
объем поражения			
1 доля	19 (66%)	26 (57%)	68 (55%)
2 доли	4 (14%)	5 (11%)	26 (21%)
3 доли	2 (7%)	3 (6%)	3 (2,4%)
1 доля и базальные отделы	2 (7%)	5 (11%)	14 (11,2%)
2 доли и базальные отделы	1 (3%)	4 (9%)	10 (8%)
базальные отделы	1 (3%)	3 (6%)	3 (2,4%)
локализация			
правое полушарие	13 (45%)	19 (41%)	42 (34%)
левое полушарие	12 (41,3%)	14 (30%)	54 (44%)
оба полушария	0 (0%)	1 (2%)	1 (1%)
базальные структуры	1 (3,4%)	3 (7%)	3 (2%)
базальные структуры + полушария	3 (10,3%)	9 (20%)	24 (19%)
данные МРТ с контрастным усилением			
слабое накопление контраста	5 (19%)	20 (45%)	0 (0%)
интенсивное накопление контраста	0 (0%)	10 (23%)	124 (100%)
опухоль не коптит контраст	21 (81%)	14 (32%)	0 (0%)
нет данных	3	2	0
функциональный статус по шкале Карновского (баллы)			
90-100	13 (45%)	11 (24%)	13 (10%)
60-80	16 (55%)	32 (70%)	100 (81%)
< 60	0 (0%)	3 (6%)	11 (9%)
объем циторедукции			
близко к тотальному	6 (21%)	12 (26%)	26 (21%)
субтотально	5 (17%)	2 (4%)	37 (30%)
частично	10 (34%)	17 (37%)	36 (29%)
биопсия	2 (7%)	11 (24%)	16 (13%)
СТБ	6 (21%)	4 (9%)	8 (7%)
нет данных	0	0	1

Таблица 3 – Продолжение

клинические характеристики	ДА (n=29)	АА (n=46)	ГБ (n=124)
лучевая терапия (1-я линия)			
без темозоломида	19 (66%)	30 (65%)	71 (57%)
с темозоломидом	1 (3%)	12 (26%)	42 (34%)
не проводилась	9 (31%)	4 (9%)	11 (9%)
лекарственная терапия (1-я линия)			
темозоломид			
2-5 циклов	1 (3,5%)	4 (9%)	29 (23,4%)
6-15 циклов	5 (17%)	15 (32%)	50 (40,3%)
PCV/CV	5 (17%)	11 (24%)	9 (7%)
другое	0 (0%)	0 (0%)	7 (6%)
только начата	1 (3,5%)	5 (11%)	5 (4%)
не проводилась	17 (59%)	11 (24%)	24 (19,3%)
ответ на терапию 1-й линии			
полный	4 (14%)	2 (4,3%)	19 (15,3%)
частичный	1 (3,5%)	8 (17,4%)	15 (12,1%)
стабилизация	14 (48%)	18 (39%)	29 (23,4%)
прогрессирование заболевания	3 (10%)	5 (11%)	35 (28%)
нет остатка опухолевой ткани	6 (21%)	11 (24%)	22 (18%)
терапия продолжается	1 (3,5%)	2 (4,3%)	4 (3,2%)
лучевая терапия/радиохирургия (2-я линия)			
ЛТ	13 (45%)	8 (17%)	13 (10%)
Гамма-нож/Кибер-нож	1 (3%)	3 (7%)	7 (6%)
начата/планируется	0 (0%)	0 (0%)	5 (4%)
не достигнут 1-й БРП	11 (38%)	12 (26%)	17 (14%)
не проводилась	4 (14%)	23 (50%)	82 (66%)
лекарственная терапия (2-я линия)			
темозоломид			
до 3-х циклов	0 (0%)	2 (4%)	11 (9%)
более 3-х циклов	8 (27,5%)	6 (13%)	18 (14%)
бевацизумаб+иринотекан/темозоломид	1 (3,5%)	7 (15%)	16 (13%)
схема с цисплатином/карбоплатином	1 (3,5%)	1 (2%)	2 (2%)
PCV/CV	3 (10%)	0 (0%)	7 (5%)
эндоксан+этопозид	0 (0%)	0 (0%)	1 (1%)
только начата	1 (3,5%)	3 (7%)	5 (4%)
не достигнут 1-й БРП	11 (38%)	12 (26%)	17 (14%)
не проводилась	4 (14%)	15 (33%)	47 (38%)
количество операций			
1	15 (52%)	31 (68%)	69 (56%)
2	10 (34%)	13 (28%)	46 (37%)
3	4 (14%)	2 (4%)	9 (7%)

Примечание: PCV – схема химиотерапии; прокарбазин+ломустин+винкристин; CV – схема химиотерапии: ломустин+винкристин.

Обращает на себя внимание постепенное увеличение частоты заболевших женщин и среднего возраста с ростом степени злокачественности, а также отсутствие накопления контрастного вещества у большинства больных с ДА по сравнению с АА и ГБ (19%, 68% и 100%) (табл. 3). По объему циторедукции группы были схожи с некоторым преобладанием СТБ у больных с ДА. Большинству пациентов проводилась ЛТ в первой линии. ХТ в первой линии чаще получали больные с АА и ГБ. Повторная ЛТ/радиохирургия была проведена почти в половине случаев при рецидиве ДА (48%), в 24% случаев у пациентов с АА и 20% – с ГБ. Вторую линию терапии получили 48% пациентов с ДА, 41% – с АА и 48% – с ГБ. Невысокие показатели повторной ЛТ и ХТ связаны с тем, что в части случаев больные продолжают наблюдаться в безрецидивном периоде.

Клиническая характеристика больных с олигодендроглиомой и анапластической олигодендроглиомой

Клиническая характеристика больных с ОДГ, АОДГ с объемом проведенной терапии представлена в таблице 4.

Таблица 4 – Характеристика больных с ОДГ и АОДГ

клинические характеристики	ОДГ (n=5)	АОДГ (n=14)
пол		
мужчины	3 (60%)	4 (29%)
женщины	2 (40%)	10 (71%)
возраст (средний)	47 (95% CI, 39,3-54,7)	45,3 (95% CI, 38-52,6)
объем поражения		
1 доля	3 (60%)	6 (43%)
2 доли	1 (20%)	3 (21,4%)
1 доля и базальные отделы	0 (0%)	2 (14,3%)
2 доли и базальные отделы	0 (0%)	2 (14,3%)
базальные отделы	1 (20%)	1 (7%)
локализация		
правое полушарие	2 (40%)	5 (35%)
левое полушарие	2 (40%)	4 (29%)
билатеральное	0 (0%)	0 (0%)
базальные структуры	1 (20%)	1 (7%)
базальные структуры + полушария	0 (0%)	4 (29%)
данные МРТ с контрастным усилением		
опухоль копит контраст	1 (20%)	10 (71%)
опухоль не копит контраст	4 (80%)	4 (29%)
функциональный статус по шкале Карновского (баллы)		
90-100	1 (20%)	3 (21,4%)
60-80	4 (80%)	10 (71,4%)
< 60	0 (0%)	1 (7,2%)

Таблица 4 – Продолжение

клинические характеристики	ОДГ (n=5)	АОДГ (n=14)
объем циторедукции		
близко к тотальному	2 (40%)	2 (14,3%)
субтотально	1 (20%)	3 (21,4%)
частично	0 (0%)	6 (42,9%)
биопсия	1 (20%)	3 (21,4%)
СТБ	1 (20%)	0 (0%)
лучевая терапия (1-я линия)		
без темозоломида	4 (80%)	6 (42%)
с темозоломидом	0 (0%)	4 (29%)
не проводилась	1 (20%)	4 (29%)
лекарственная терапия (1-я линия)		
темозоломид		
2-5 циклов	0 (0%)	0 (0%)
6-15 циклов	0 (0%)	4 (29%)
PCV/CV	0 (0%)	3 (21%)
схема с цисплатином/карбоплатином	0 (0%)	1 (7%)
только начата	0 (0%)	2 (14%)
не проводилась	5 (100%)	4 (29%)
ответ на терапию 1-й линии		
полный	0 (0%)	0 (0%)
частичный	0 (0%)	3 (23%)
стабилизация	3 (60%)	6 (46,2%)
прогрессирование заболевания	0 (0%)	0 (0%)
нет остатка опухолевой ткани	2 (40%)	2 (15,4%)
терапия только начата	0 (0%)	2 (15,4%)
нет данных	0	1
лучевая терапия/радиохирургия (2-я линия)		
ЛТ	4 (80%)	3 (21,4%)
Гамма-нож/Кибер-нож	1 (20%)	2 (14,3%)
не проводилась	0 (0%)	9 (64,3%)
лекарственная терапия (2-я линия)		
темозоломид		
до 3-х циклов	1 (20%)	0 (0%)
более 3-х циклов	2 (40%)	3 (21,4%)
бевацизумаб+иринотекан/темозоломид	0 (0%)	1 (7%)
PCV/CV	1 (20%)	2 (14,3%)
не достигнут 1-й БРП	0 (0%)	6 (43%)
не проводилась	1 (20%)	2 (14,3%)
количество операций		
1	1 (20%)	8 (57,2%)
2	3 (60%)	3 (21,4%)
3	1 (20%)	2 (14,3%)
нет данных	0 (0%)	1 (7,1%)

Примечание: PCV – схема химиотерапии: прокарбазин+ломустин+винкрестин; CV – схема химиотерапии: ломустин+винкрестин.

Доброкачественной ОДГ преимущественно болели лица мужского пола (60% vs 40%), а АОДГ – женщины (71% vs 29%) (табл. 4). У больных с АОДГ чаще поражались базальные отделы мозга с накоплением опухолью контрастного вещества на МРТ (71%). Большинство пациентов обеих групп получили ЛТ в первой линии. Первая линия ХТ проводилась только больным с АОДГ. Повторная ЛТ/радиохирургия при рецидиве чаще проводилась больным с ОДГ. Вторую линию терапии получили почти все пациенты обеих групп.

Клиническая характеристика больных с нейробластомой и ганглионейробластомой

Все больные с эмбриональными опухолями ЦНС в зависимости от гистологического диагноза были разделены на две группы: 15 пациентов с ЦНС-НБ и 16 с ЦНС-ГНБ. Детальные клинические характеристики больных с объемом проведенной терапии представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Характеристика больных с ЦНС-НБ и ЦНС-ГНБ

клинические характеристики	ЦНС-НБ (n=15)	ЦНС-ГНБ (n=16)	всего (n=31)
пол			
мужчины	11 (73%)	10 (63%)	21 (68%)
женщины	4 (27%)	6 (37%)	10 (32%)
возраст (средний)	36,1 (95% CI, 26,3 – 45,9)	38,9 (95% CI, 32,6 – 45,2)	
объем поражения			
1 доля	9 (60%)	9 (56%)	18 (58%)
2 доли	1 (7%)	4 (25%)	5 (16%)
1 доля и базальные отделы	0 (0%)	2 (13%)	2 (6,5%)
2 доли и базальные отделы	1 (7%)	1 (6%)	2 (6,5%)
базальные отделы	4 (26%)	0 (0%)	4 (13%)
локализация			
правое полушарие	5 (33%)	3 (19%)	8 (26%)
левое полушарие	5 (33%)	7 (44%)	12 (39%)
базальные структуры	4 (27%)	0 (0%)	4 (13%)
базальные структуры + полушария	1 (7%)	2 (12%)	3 (9%)
многоочаговое поражение	0	4 (25%)	4 (13%)
данные МРТ с контрастом			
опухоль не копит контраст	5 (36%)	3 (21%)	8 (28,6%)
опухоль копит контраст слабо	5 (36%)	7 (50%)	12 (42,8%)
опухоль копит контраст активно	4 (28%)	4 (29%)	8 (28,6%)
нет данных	1	2	3

Таблица 5 – Продолжение

клинические характеристики	ЦНС-НБ (n=15)	ЦНС-ГНБ (n=16)	всего (n=31)
функциональный статус по шкале Карновского (баллы)			
90-100	0 (0%)	2 (13%)	2 (6%)
60-80	13 (87%)	12 (75%)	25 (81%)
< 60	2 (13%)	2 (12%)	4 (13%)
объем циторедукции			
близко к тотальному	4 (27%)	3 (19%)	7 (23%)
субтотально	2 (13%)	5 (31%)	7 (23%)
частично	4 (27%)	7 (44%)	11 (35%)
биопсия	5 (33%)	1 (6%)	6 (19%)
ЛТ/радиохирургия (1-я линия)			
ЛТ без темозоломида (головной мозг)	10 (67%)	12 (75%)	22 (71%)
ЛТ с темозоломидом (головной мозг)	1 (7%)	1 (6%)	2 (7%)
ЛТ краниоспинальная	2 (13%)	2 (13%)	4 (13%)
радиохирургия (головной мозг)	2 (13%)	0 (0%)	2 (6%)
не проводилась	0 (0%)	1 (6%)	1 (3%)
лекарственная терапия (1-я линия)			
темозоломид			
2-5 циклов	0 (0%)	1 (6%)	1 (3%)
6-15 циклов	2 (14%)	4 (25%)	6 (20%)
цисплатин+этопозод+эндоксан	2 (14%)	1 (6%)	3 (10%)
цисплатин+этопозид	3 (22%)	3 (19%)	6 (20%)
PCV/CV	3 (22%)	0 (0%)	3 (10%)
винкристин+доксоруб+эндоксан	2 (14%)	1 (6%)	3 (10%)
не проводилась	2 (14%)	6 (38%)	8 (27%)
нет данных	1	0	1
ответ на терапию 1-й линии			
полный	2 (14%)	1 (6%)	3 (10%)
частичный	4 (28,5%)	2 (12%)	6 (20%)
стабилизация	4 (28,5%)	7 (44%)	11 (37%)
прогрессирование заболевания	1 (7%)	3 (19%)	4 (13%)
нет остатка опухолевой ткани	3 (22%)	3 (19%)	6 (20%)
нет данных	1	0	1
ЛТ/радиохирургия (2-я линия)			
ЛТ	2 (17%)	3 (20%)	5 (19%)
Гамма-нож/Кибер-нож	2 (17%)	1 (7%)	3 (11%)
не проводилась	4 (33%)	11 (73%)	15 (55%)
не достигнут 1 БРП	4 (33%)	0 (0%)	4 (15%)
нет данных	3	1	4
лекарственная терапия (2-я линия)			
темозоломид	3 (25%)	1 (7%)	4 (14,8%)
винкристин+доксоруб+эндоксан	0 (0%)	1 (7%)	1 (3,7%)
схема с цисплатином/карбоплатином	1 (8,3%)	3 (20%)	4 (14,8%)
PCV(CV)	1 (8,3%)	0 (0%)	1 (3,7%)

Таблица 5 – Продолжение

клинические характеристики		ЦНС-НБ (n=15)	ЦНС-ГНБ (n=16)	всего (n=31)
не проводилась		3 (25%)	10 (66%)	13 (48,2%)
не достигнут 1 БРП		4 (33,4%)	0 (0%)	4 (14,8%)
нет данных		3	1	4
количество операций				
1		12 (80%)	11 (69%)	23 (74%)
2		3 (20%)	2 (12%)	5 (16%)
более 2-х		0 (0%)	3 (19%)	3 (10%)
частота отсевов в спинной мозг	да	1 (8%)	2 (14%)	3 (11%)
	нет	12 (92%)	12 (86%)	24 (89%)
	нет данных	2	2	4
наличие доброкачественных опухолей ранее на том же месте		0 (0%)	3 (19%)	3 (10%)

Примечание: PCV – схема химиотерапии: прокарбазин+ломустин+винкристилин; CV – схема химиотерапии: ломустин+винкристилин.

Распределение по полу и возрасту было схожим в обеих группах (табл. 5). Более чем в половине случаев (58%) была поражена только одна доля. Обращает на себя внимание преимущественно слабое накопление контраста опухолью или отсутствие его накопления на МРТ (71,4%) и многоочаговое поражение головного мозга на момент диагностики только у пациентов с ЦНС-ГНБ. Как правило все больные получили ЛТ и ХТ. Частота отсевов в спинной мозг составила 11% (3/27) среди всех пациентов, однако в группе больных с ЦНС-ГНБ этот процесс встречался чаще, по сравнению с ЦНС-НБ (14% vs 8%).

Клиническая характеристика больных с ганглиоглиомой и анапластической ганглиоглиомой

Проведен анализ клинических характеристик и проводимой терапии у 28 пациентов с ГГ и АГГ (табл. 6)

Таблица 6 – Характеристика больных с ГГ и АГГ

клинические характеристики	ГГ (n=3)	АГГ(n=25)	всего (n=28)
пол			
мужчины	1 (33,3%)	15 (60%)	16 (57%)
женщины	2 (66,7%)	10 (40%)	12 (43%)
возраст (средний)	43,8 (95% CI: 37,6-50,1)		
объем поражения			
1 доля	2 (66,7%)	12 (48%)	14 (50%)
2 доли	1 (33,3%)	9 (36%)	10 (35%)
1 доля и базальные отделы	0 (0%)	1 (4%)	1 (4%)
2 доли и базальные отделы	0 (0%)	3 (12%)	3 (11%)
локализация			
правое полушарие	2 (66,7%)	14 (56%)	17 (61%)

Таблица 6 – Продолжение

клинические характеристики	ГГ (n=3)	АГГ(n=25)	всего (n=28)
левое полушарие	1 (33,3%)	7 (28%)	8 (28%)
базальные структуры + полушария	0 (0%)	4 (16%)	3 (11%)
данные МРТ с контрастным усилением			
опухоль копит контраст	1 (33,3%)	22 (92%)	23 (85%)
опухоль не копит контраст	2 (66,7%)	2 (8%)	4 (15%)
нет данных	0	1	1
функциональный статус по шкале Карновского (баллы)			
90-100	0 (0%)	1 (4%)	1 (4%)
60-80	3 (100%)	22 (88%)	25 (89%)
< 60	0 (0%)	2 (8%)	2 (7%)
объем циторедукции			
близко к тотальному	1 (33,33%)	4 (16%)	5 (18%)
субтотально	0 (0%)	6 (24%)	6 (21%)
частично	1 (33,33%)	9 (36%)	10 (36%)
биопсия	1 (33,33%)	5 (20%)	6 (21%)
СТБ	0 (0%)	1 (4%)	1 (4%)
лучевая терапия (1-я линия)			
без темозоломида	3 (100%)	17 (68%)	20 (71%)
с темозоломидом	0 (0%)	5 (20%)	5 (18%)
не проводилась	0 (0%)	3 (12%)	3 (11%)
лекарственная терапия (1-я линия)			
темозоломид			
2-5 циклов	0 (0%)	1 (4%)	1 (4%)
6-15 циклов	0 (0%)	9 (36%)	9 (32%)
PCV	1 (33,3%)	5 (20%)	6 (21%)
схема с препаратами платины	0 (0%)	1 (4%)	1 (4%)
только начата	0 (0%)	2 (8%)	2 (7%)
не проводилась	2 (66,7%)	7 (28%)	9 (32%)
ответ на терапию 1-й линии			
полный	0 (0%)	1 (4%)	1 (4%)
частичный	0 (0%)	5 (20%)	5 (18%)
стабилизация	2 (66,7%)	9 (36%)	11 (39%)
прогрессирование заболевания	0 (0%)	4 (16%)	4 (14%)
нет остатка опухолевой ткани	1 (33,3%)	4 (16%)	5 (18%)
терапия только начата	0 (0%)	2 (8%)	2 (7%)
лучевая терапия/радиохирургия (2-я линия)			
ЛТ	2 (66,7%)	7 (28%)	9 (32%)
Гамма-нож/Кибер-нож	0 (0%)	2 (8%)	2 (7%)
не проводилась	0 (0%)	11 (44%)	11 (39%)
не достигнут первый БРП	1 (33,3%)	5 (20%)	6 (22%)
лекарственная терапия (2-я линия)			
темозоломид			
до 3-х циклов	0 (0%)	3 (12%)	3 (11%)

Таблица 6 – Продолжение

клинические характеристики	ГГ (n=3)	АГГ(n=25)	всего (n=28)
более 3-х циклов	1 (33,33%)	2 (8%)	3 (11%)
бевацизумаб+иринотекан/темозолomid	0 (0%)	3 (12%)	3 (11%)
схема с препаратами платины	1 (33,33%)	1 (4%)	2 (7%)
PCV	0 (0%)	2 (8%)	2 (7%)
другая ХТ	0 (0%)	1 (4%)	1 (3%)
не проводилась	0 (0%)	8 (32%)	8 (28%)
не достигнут первый БРП	1 (33,33%)	5 (20%)	6 (22%)
ответ на терапию 2-й линии			
полный	1 (33,33%)	1 (4%)	2 (7%)
частичный	0 (0%)	2 (8%)	2 (7%)
стабилизация	1 (33,33%)	8 (32%)	9 (32%)
прогрессирование заболевания	0 (0%)	9 (36%)	9 (32%)
не достигнут первый БРП	1 (33,33%)	5 (20%)	6 (22%)
количество операций			
1	1 (33,3%)	12 (48%)	13 (46%)
2	2 (66,7%)	11 (44%)	13 (46%)
3	0 (0%)	1 (4%)	1 (4%)
4	0 (0%)	1 (4%)	1 (4%)

Примечание: PCV – схема химиотерапии: прокарбазин+ломустин+винкристин; CV – схема химиотерапии: ломустин+винкристин.

Женщины чаще болели ГГ, а мужчины – АГГ. В обеих группах опухоль преимущественно была ограничена одной долей, с наиболее частой локализацией в правом полушарии. Практически у всех больных с АГГ наблюдалось накопление контрастного вещества на дооперационном МРТ. Большинство пациентов обеих групп получили ЛТ в первой линии. ХТ в 1-й линии проводилась как правило больным с АГГ. Невысокие показатели повторной ЛТ и ХТ связаны с тем, что в части случаев больные продолжают наблюдаться в безрецидивном периоде.

Методы исследования

Патологоанатомический метод. В первую очередь был выполнен пересмотр всех гистологических препаратов в материалах от всех операций под руководством д.м.н. профессора Д.Е. Мацко. Материалом для морфологического исследования служила опухолевая ткань, которая забиралась интраоперационно. Число фрагментов составило от 3 до 5 кусочков из каждого опухолевого узла. Гистологические препараты изготавливались отработанным в лаборатории способом. ИГХ исследование проводилось после анализа обзорных препаратов с отбором наиболее информативных блоков для исследования. Использовался непрямой ИГХ метод по общепринятой методике согласно протоколам фирм-производителей. Морфологический диагноз ставился в соответствии с

рекомендациями ВОЗ 2016 года. Окончательный диагноз устанавливался после получения результатов молекулярно-генетического исследования.

Молекулярно-генетический метод.

Методика проведения количественной ПЦР в реальном времени.

Экспрессия мРНК генов: TP, ERCC1, βIII-тубулина, PDGFR-α, C-kit, MGMT, VEGF, TOP2A определялась с помощью ПЦР в режиме реального времени на оборудовании CFX96 Real-Time PCR Detection System (BioRad Laboratories, США). Источником мРНК служили подвергнутые микродиссекции патоморфологические образцы опухолевой ткани. Основным требованием к исследуемому материалу было наличие в образце как минимум 80% опухолевых клеток.

Выделение РНК и ДНК из архивных патоморфологических образцов.

Нуклеиновые кислоты выделялись после микродиссекции с целью обогащения материала опухолевыми клетками из архивных патоморфологических блоков при помощи опубликованных ранее методик (Mitiushkina et al., 2013). Основные этапы выделения включали депарафинизацию образца в ксилоле, инкубацию в специальном буфере (1xTE (10 ммоль Tris-HCl (pH=8,0), 0,1 ммоль ЭДТА; pH=8,0), 2% натрия додецилсульфат) с ферментом протеиназой К до полного лизиса ткани (в течение 6-12 часов), органическую экстракцию с использованием реактива TRIzol (Life Technologies), преципитацию нуклеиновых кислот в присутствии изопропанола, 3M ацетата натрия (pH=4,0) и гликогена в качестве коосадителя.

Проведение реакции обратной транскрипции. Часть полученного раствора нуклеиновых кислот использовали для синтеза комплементарной ДНК (кДНК) на матрице мРНК в реакции обратной транскрипции. Для реакции обратной транскрипции использовали фермент обратную транскриптазу M-MLV (Promega) в количестве 50 единиц. Реакция проходила в объеме 20 мкл. и включала, помимо M-MLV, 4 мкл. 5-кратного буфера, 1 мкл. праймеров – случайных гексануклеотидов (10 ое/мл.), 1 мкл. смеси дНТФ (содержащей по 10 мМ. каждого), 8 единиц ингибитора РНКаз и 10 мкл. раствора РНК. Температурный режим обратной транскрипции: 20°C – 5 мин, 38°C – 30 мин, 95°C – 5 мин.

Анализ экспрессии мРНК с помощью ПЦР в режиме реального времени

Последовательности кДНК гена-мишени и гена-рефери (SDHA) амплифицировали при помощи специфических праймеров в присутствии TaqMan-зондов. ПЦР в режиме реального времени проводилась на оборудовании BioRad CFX96 Real-time PCR Detection System. ПЦР ставилась в объеме 20 мкл., где содержалось 1 мкл. раствора кДНК, 2.0 ед. акт. фермента ДНК-полимеразы ThermoStar, 1-кратный ПЦР-буфер, 2,5 мМ. MgCl₂, по 200 мкМ. каждого из нуклеотидтрифосфатов, по 300 нМ. прямого и обратного праймеров и TaqMan-

зонда. Использовались следующие условия ПЦР-амплификации: денатурация в течение 20 сек. при 95°C, отжиг и синтез в течение 1 мин. при 60°C, 45 циклов. Относительная экспрессия каждого гена в каждом образце рассчитывалась как разность между пороговыми циклами амплификации гена-мишени и гена-рефери: ΔCt (где Ct – Cycle threshold (пороговый цикл), $\Delta Ct = Ct$ (ген-мишень) – Ct (ген-рефери, SDHA)).

Метод определения уровней экспрессии генов: TP, MGMT, ERCC1, PDGFR- α , VEGF, TOP2A, C-kit, β III-тубулин. Разделение экспрессии мРНК на низкий, высокий и средний уровень производилось на основании анализа выборки из 50 образцов солидных опухолей, выполненного ранее в лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России. Для оценки уровня экспрессии вычислялось соотношение относительных количеств копий кДНК гена-мишени и гена-рефери; данные значения определялись при помощи построения стандартных кривых. Границами для разделения уровней экспрессии служили 20 и 80 процентиля вариации экспрессии каждого гена в исследованных образцах (Mitiushkina N.V. et al., 2013).

Метод определения мутаций в генах IDH1/2. Мутации в генах IDH1 (экзон 4) и IDH2 (экзон 4) в опухолевой ткани определяли при помощи методики анализа кривых плавления ПЦР-продуктов с высоким разрешением (HRMA) с последующим секвенированием ДНК. Последовательности 4 экзона генов IDH1 и IDH2 амплифицировали с использованием пар праймеров IDH1ex4F 5'-GTCTTCAGAGAAGCCATTATC-3' и IDH1ex4R 5'-CACATACAAGTTGGAAATTTCTAG-3', IDH2opt1F 5'-AGTTC AAGCTGAAGAAGATGTG-3' и IDH2opt1R 5'-TCTCCAACCTGGCCTACCT-3', соответственно. ПЦР в режиме реального времени и анализ кривых плавления проводились на оборудовании CFX96 Real-Time PCR Detection System (BioRad). ПЦР-смесь объемом 20 мкл. включала 1 μ л ДНК, 1 ед. акт. ДНК-полимераза, 1x ПЦР-буфер, (pH 8.3), 2.0 mM MgCl₂, 200 μ M dNTPs, 0.3 μ M прямого и обратного праймеров, 1x Eva Green. Режим амплификации: 95°C, 10 мин. и 45 циклов (95°C, 15 сек.; 60°C, 20 сек., 72°C, 30 сек.). Секвенирование ПЦР-продуктов, имеющих отклонения в кривых плавления, проводилось на секвенаторе SEQ8000 (Beckman Coulter).

Метод определения сочетанной делеции 1p19q. Сочетанная делеция 1p19q определялась также методом ПЦР. На участках хромосом 1p36 и 19q13 были выбраны по 6 однонуклотидных замен, популяционная частота которых, по данным dbSNP (URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>), для европейской популяции составляет 40-50%. Присутствие ко-делеции 1p19q устанавливалось в случае потери

гетерозиготности по всем информативным (гетерозиготным) маркерам в образце ДНК, выделенной из опухолевого материала, при наличии не менее одного информативного маркера на каждой хромосоме. Информативность маркеров оценивалась в образце ДНК, выделенной из лимфоцитов периферической крови. Генотипирование проводилось методом дискриминации аллелей при помощи TaqMan-зондов, условия ПЦР: (95 С 15" – 60 С 55") 45 циклов.

Обследование больных с оценкой эффективности лечения. Клинико-визуализационный метод.

Общее состояние больных оценивалось по шкале Карновского на всех этапах лечения (каждые 2-3 месяца) и наблюдения (каждые 4-6-12 месяцев) от момента диагностики до смерти (в большей части случаев). В комплекс обследования больных были включены: физикальный осмотр, лабораторные исследования крови и мочи, МРТ с контрастом – каждые 2-3 месяца на фоне проводимой терапии и каждые 4-6-12 мес. в период наблюдения; ПЭТ с метионином – для верификации продолженного роста, лучевого некроза и контроля эффективности лечения; по показаниям – ультразвуковое исследование, рентгенография, ЭКГ, ФГДС.

Контроль терапии осуществлялся на основании данных МРТ с контрастным усилением при сравнении всех исследований в динамике. МРТ выполнялось перед началом лечения или новой линии терапии, затем каждые 2 цикла лечения вовремя ХТ и каждые 2-4 месяца после ее окончания (в случае злокачественной опухоли), а также каждые 6-12 месяцев, если опухоль имела grade II. Оценка эффективности терапии проводилась в соответствии с критериями RANO (Wen P.Y. et al., 2010):

- полный ответ – исчезновение всех опухолевых очагов по данным МРТ с контрастом с подтверждением эффекта на следующем обследовании, при стабильной или положительной динамике в режиме T2/FLAIR (при той же или более низкой дозе стероидов от исходного уровня);
- частичный ответ – уменьшение опухоли на 50% и более с подтверждением на следующем обследовании, отсутствие прогрессирования заболевания и новых поражений, при стабильной или положительной динамике в режиме T2/FLAIR (при той же или более низкой дозе стероидов от исходного уровня);
- стабилизация – отсутствие прогрессирования заболевания и новых поражений, при стабильной динамике в режиме T2/FLAIR (при той же или более низкой дозе стероидов от исходного уровня);
- прогрессирование – увеличение опухоли на 25%, появление новых поражений, при увеличении поражения в режиме T2/FLAIR, ухудшение неврологического статуса (при той же или более высокой дозе стероидов).

Статистический анализ. Предварительно была создана электронная база данных, в которую вносились анализируемые показатели. Обработка данных проводилась с использованием пакетов survival и survminer программной среды статистических вычислений с открытым исходным кодом R версии 3.5.2. Значимость различий качественных признаков в сравниваемых группах оценивалась с использованием точного теста Фишера (функция fisher.test) и с использованием χ^2 Пирсона. Различия количественных признаков между группами определялись при помощи критерия суммы рангов Уилкоксона (функция wilcox.test). БПЖ и ОПЖ в группах анализировались методом Каплан-Мейера (функция survfit). Влияние количественных признаков на выживаемость определялись по модели пропорциональных рисков Кокса (функция coxph). Все различия считались достоверными при доверительной вероятности не менее 95% (уровень значимости $p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Частота уровней экспрессии генов: TP, MGMT, ERCC1, PDGFR- α , VEGF, TOP2A, C-kit, β III-тубулин, мутаций в генах IDH1/2 и ко-делеции 1p19q в диффузной астроцитоме, олигодендроглиоме, анапластической астроцитоме, анапластической олигодендроглиоме, первичной глиобластоме, а также в редких нейроэпителиальных опухолях – ганглиоглиоме, анапластической ганглиоглиоме, ЦНС-нейробластоме и ЦНС-ганглионейробластоме

Проведен анализ частоты уровней экспрессий мРНК генов TP, MGMT, ERCC1, PDGFR- α , VEGF, TOP2A, C-kit, β III-тубулин; мутаций в генах IDH1/2 и ко-делеции 1p19q в материалах от первой операции.

У больных с ДА и АА высокий уровень экспрессии наблюдался только в гене β III-тубулин (с частотой 62% и 66% соответственно); низкий уровень экспрессии был в гене TP (62%, 13/21 и 50%, 21/43), гене TOP2A (81%, 17/21 и 62%, 24/39) соответственно и в гене C-kit (65%, 13/20) только в ДА. Уровни экспрессии генов TP, PDGFR- α и VEGF в группах с ДА и АА как правило были низкими или средними, и высокий уровень их экспрессии не превышал 10% в ДА и 27% в АА. В ОДГ уровни экспрессии всех генов преимущественно были низкими или средними. В АОДГ также уровни экспрессии всех генов были низкими или средними, кроме гена β III-тубулин, где высокий уровень экспрессии наблюдался в 69% случаев (9/13). Ни в одном случае ОДГ и АОДГ уровень экспрессии гена VEGF не был высоким. Низкий уровень экспрессии гена MGMT в АОДГ имел наивысшую частоту среди всех анализируемых в исследовании нозологий – 85% (11/13). У пациентов с первичной ГБ высокий уровень экспрессии наблюдался только в генах

βIII-тубулин и VEGF (с частотой 75%, 84/112 и 74%, 86/116 соответственно), в остальных – преимущественно низкими/средними. В опухолевой ткани первичной ГБ низкие уровни экспрессии генов, которые отвечают за неоангиогенез TP, PDGFR-α и VEGF встречались существенно реже, чем в материалах от ДА и АА. Особенно выраженное нарастание частоты высокого уровня экспрессии гена VEGF наблюдалось по мере увеличения злокачественности опухоли от ДА и АА к ГБ (0%, 10%, 74% соответственно). У больных с ГГ высокий уровень экспрессии наблюдался в генах ERCC1 (50%, 1/2), MGMT (50%, 1/2), βIII-тубулин (50%, 1/2), TOP2A (50%, 1/2). Уровни экспрессии генов TP, PDGFR-α, VEGF были низкими или средними. В группе АГГ только ген βIII-тубулин имел высокий уровень экспрессии (65%, 15/23). В ЦНС-НБ высокий уровень экспрессии более, чем в половине случаев, наблюдалась только в гене βIII-тубулин 54% (7/13), экспрессия остальных генов была как правило низкой или средней. В отличие от ЦНС-ГНБ, где преимущественно высокие уровни экспрессии выявлены в трех генах: PDGFR- α (54%, 7/13), VEGF (54%, 7/13), βIII-тубулин (85%, 11/13).

Мутация в генах IDH1/2 определялась у 28 пациентов с ДА, в 35 случаях с АА и в 112 случаях с первичной ГБ (табл. 7).

Таблица 7 – Встречаемость мутаций в генах IDH1/2 в ДА, АА и ГБ

мутация / диагноз		ДА	АА	ГБ	всего
мутация в генах IDH1/2	(+)	22 (79%)	21 (60%)	6 (5%)	49
	(-)	6 (21%)	14 (40%)	106 (95%)	126
	нет данных	1	11	12	24
всего		29	46	124	199

В ДА и АА была обнаружена только мутация в гене IDH1(R132H). В первичной ГБ были определены разные варианты мутаций: в четырех случаях – IDH1(R132H) и по одному случаю – мутации IDH1(R132L) и IDH2(R156G).

Частота ко-делеции 1p19q и мутаций в генах IDH1/2 определялась у 5 больных с ОДГ. В трех случаях из пяти одновременно в опухоли наблюдалась и сочетанная делеция 1p19q, и мутация в генах IDH1/2, в двух других наблюдениях данных по одной из аберраций получены не были. Таким образом, в тех случаях, где определялась ко-делеция 1p19q и мутация в генах IDH1/2, они были выявлены в 100% случаях. Сочетанная делеция 1p19q и мутаций в генах IDH1/2 определялась у 14 больных с АОДГ. Ко-делеция 1p19q встречалась в 100% (13/13), мутация в генах IDH1/2 была выявлена в 86% случаях (12/14).

У пациентов с ГГ в 67% (2/3) была обнаружена мутация в гене IDH1(R132H), у больных с АГГ – в 38% (8/21) случаев; в шести случаях была определена мутация IDH1(R132H), а в двух других – IDH1(R132S) и IDH1(R132T).

Наличие мутаций в генах IDH1/2 определялось у 17 больных с ЦНС-НБ и ЦНС-ГНБ и она была выявлена в 6 образцах в гене IDH1(R132H), что составило 35% в общей массе и в 33% (3/9) и 38% (3/8) случаев у пациентов с ЦНС-НБ и ЦНС-ГНБ соответственно.

Влияние молекулярно-генетических aberrаций и клинических характеристик на безрецидивную и общую продолжительность жизни больных с диффузной астроцитомой

Из всех изучаемых молекулярно-генетических маркеров достоверное влияние на БПЖ оказала только мутация в гене IDH1(R132H). Ее наличие увеличило БПЖ на 19,4 мес. (178 vs 93,5 нед.) ($p=0,051$), а ОПЖ на 47,4 мес. (>558 vs 352 нед.) ($p=0,063$) (рис. 1 а, б).

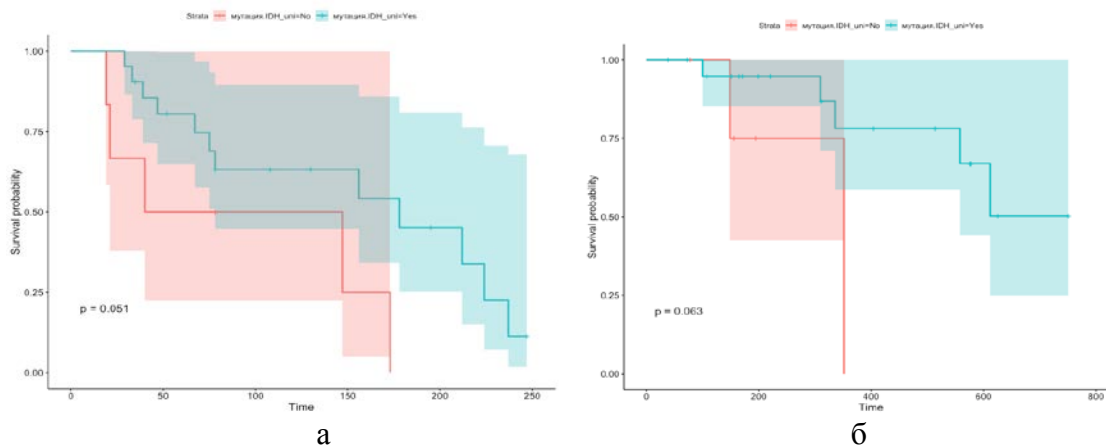


Рисунок 1 – Продолжительность жизни больных с ДА в зависимости от наличия мутации в гене IDH1(R132H). а – безрецидивная, б – общая продолжительность жизни. (красная линия – нет мутации, зеленая линия – есть мутация)

Более половины больных с мутацией в гене IDH1(R132H) продолжают жить (>558 нед.).

При анализе клинических характеристик и проводимого лечения (оперативное лечение, ЛТ и ХТ) на БПЖ со статистической достоверностью влияли: тотальное удаление опухоли ($p=0,039$), проведение ЛТ ($p=0,0058$), наличие объективного ответа опухоли на терапию ($p=0,027$). На ОПЖ влияли: тотальная и субтотальная циторедукция (при 1-й операции) по сравнению со СТБ ($p=0,016$), наличие объективного ответа и стабилизации заболевания после 1-й линии терапии ($p=0,039$). Не оказали статистически значимого влияния на БПЖ проведение ХТ ($p=0,99$), на ОПЖ – проведение ХТ в первой линии ($p=0,39$), объем поражения головного мозга (1 доля vs 2 доли и более, $p=0,64$) и число проведенных операций (2 и более циторедукций vs 1 операция, $p=0,16$).

Влияние молекулярно-генетических aberrаций и клинических характеристик на безрецидивную и общую продолжительность жизни больных с анапластической астроцитомой

Из всех изучаемых молекулярно-генетических маркеров статистически значимое влияние на БПЖ оказала только мутация в гене IDH1(R132H). Присутствие мутации увеличивало ОПЖ и БПЖ на 12,4 мес. (147 vs 93 нед.) ($p < 0,0001$) и 57,7 мес. (356 vs 105 нед.) ($p = 0,056$) соответственно (рис. 2 а, б).

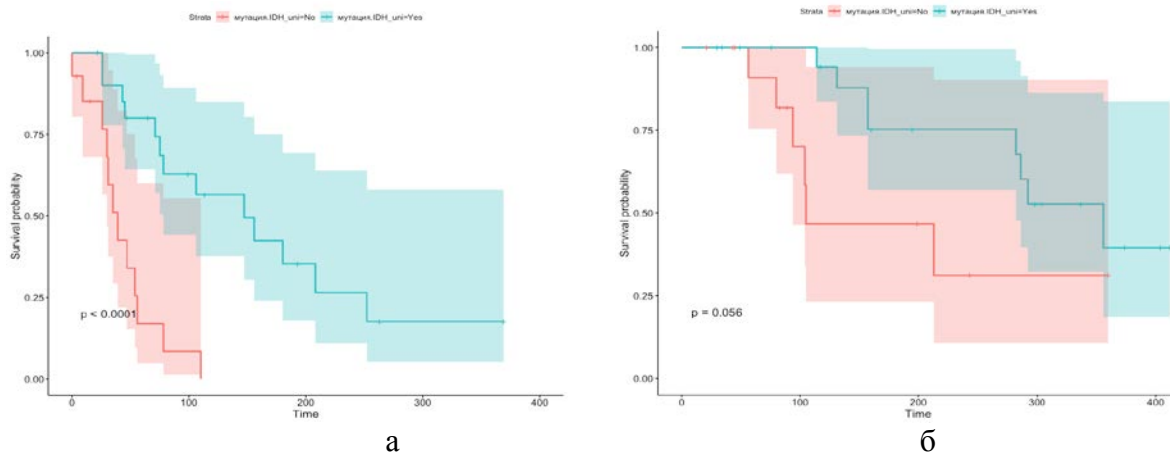


Рисунок 2 – Продолжительность жизни больных с АА в зависимости от наличия мутации в гене IDH1(R132H). а – безрецидивная, б – общая продолжительность жизни. (красная линия – нет мутаций, зеленая линия – есть мутации)

Химиотерапия, проведенная в первой линии больным, в опухоли которых имелись мутации в гене IDH1(R132H), увеличивала БПЖ на 5 нед. (147 vs 142 нед.), а тем, у кого не было мутаций – на 9 недель (39 vs 30 нед.).

При анализе клинических характеристик и проводимого лечения (оперативное лечение, ЛТ и ХТ) на БПЖ со статистической достоверностью влияли: удаление опухоли (тотальное/субтотальное vs другой объем) ($p = 0,0048$), проведение ЛТ ($p < 0,0001$), ХТ темозоломидом 6 циклов и более ($p = 0,022$), наличие объективного ответа опухоли на терапию ($p = 0,018$). На ОПЖ с достоверностью влияли: удаление опухоли (тотальное/субтотальное vs другой объем) ($p = 0,00064$), наличие объективного ответа и стабилизации заболевания после 1-й линии терапии ($p = 0,0075$) и меньший объем поражения головного мозга (1 и 2 доли vs 3 доли и с распространением на базальные отделы) ($p = 0,006$). Не оказали статистически значимого влияния на ОПЖ: проведение ХТ в первой линии (кроме ХТ темозоломидом 6 циклов и более) ($p = 0,72$) и число проведенных операций (2 и более операций vs 1 операция, $p = 0,13$).

При оценке прогностической роли влияния уровней экспрессии генов (TP, MGMT, ERCC1, PDGFR- α , VEGF, TOP2A, C-kit, β III-тубулин) на медиану БПЖ и ОПЖ у больных с ДА и АА статистической значимости получено не было ($p > 0,05$).

Влияние молекулярно-генетических aberrаций и клинических характеристик на безрецидивную и общую продолжительность жизни больных с первичной глиобластомой

Мутации в генах IDH1/2 являются прогностически важными для первичной ГБ. Наличие мутаций в генах IDH1/2 увеличило БПЖ на 12 мес. (88,5 vs 36 нед.) ($p = 0,029$), а ОПЖ – на 14,2 мес. (143 vs 81 нед.) ($p = 0,07$) (рис. 3 а, б).

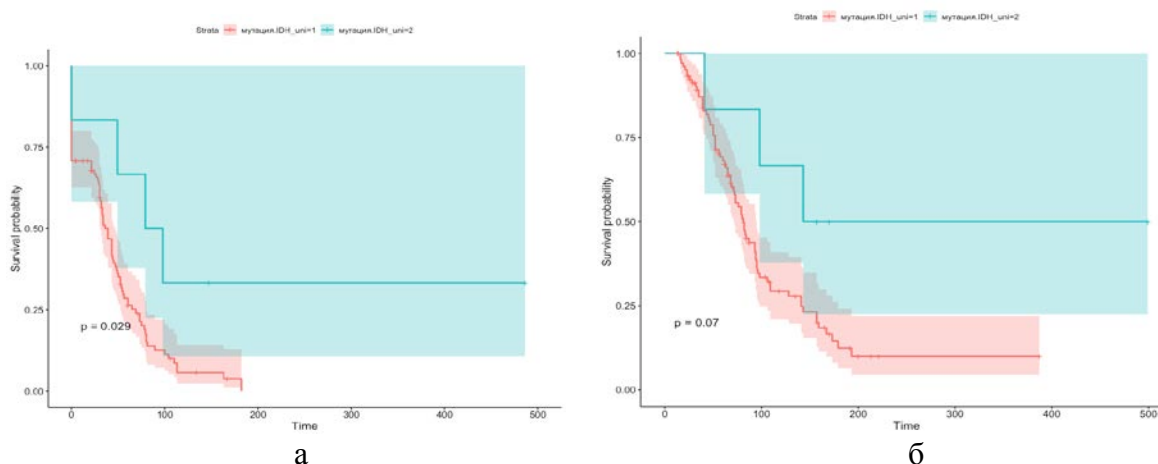


Рисунок 3 – Продолжительность жизни больных с ГБ в зависимости от наличия мутаций в генах IDH1/2. а – безрецидивная, б – общая продолжительность жизни. (красная линия – нет мутаций, зеленая линия – есть мутации)

Отсутствие достоверных различий при анализе ОПЖ объясняется малым числом больных с данным повреждением в первичной ГБ.

При оценке прогностического влияния экспрессии генов TP, Ercc1, PDGFR- α , C-kit, β III-тубулин и TOP2A на медиану БПЖ и ОПЖ статистически значимых различий получено не было. Ген VEGF оказал достоверное влияние на ОПЖ ($p = 0,045$), ген MGMT на БПЖ ($p = 0,006$) и ОПЖ ($p = 0,05$).

В зависимости от активности гена MGMT в опухоли проведен анализ БПЖ и ОПЖ при разной степени циторедукции, ЛТ и ХТ (табл. 8, 9). Предварительно всех больных с первичной ГБ, исходя из клинического течения заболевания, разделили на два биологических подтипа по уровню экспрессии мРНК гена MGMT – на первую группу из 87 больных с Δ Ct равное 2 и выше (низкая активность гена), вторую группу из 32 больных с Δ Ct равное 1,9 и ниже (высокая активность гена).

Таблица 8 – Продолжительность жизни больных с первичной ГБ в зависимости от активности гена MGMT и степени циторедукции

экспрессия гена MGMT	медиана продолжительности жизни (мес)	СТБ	биопсия	частичное	субтотальное	тотальное
ΔСt равное 2,0 и выше (n=87)	БПЖ	46,9	9,8	7,8	14,9	9,8
	ОПЖ	49	14,9	16,5	21,6	21,6
ΔСt равное 1,9 и ниже (n=32)	БПЖ	-	-	4,8	6,4	
	ОПЖ	10,3	8,9	18,1	19,1	15,6

Проведение радикальной операции не привело к достоверному увеличению БПЖ и ОПЖ у пациентов с низкой активностью гена MGMT. Обращает внимание более высокая продолжительность жизни у больных с низкой активностью гена MGMT, которым была выполнена только СТБ ($p=0,022$), при этом пациенты получили интенсивную ХТ в первой линии и последующих линиях с объективным ответом на терапию (рис. 4, а). При высокой активности гена MGMT БПЖ и ОПЖ были выше в случае удаления опухоли более, чем на 50% по сравнению с биопсией и СТБ, но достоверные различия, в данном биологическом подтипе ГБ, наблюдались только между СТБ и тотальной циторедукцией ($p=0,00016$) (рис. 4, б).

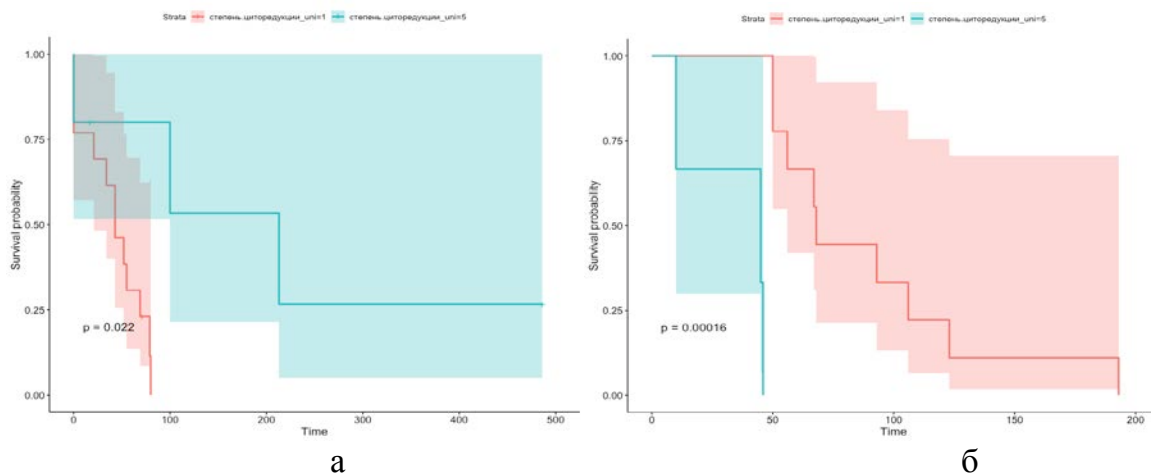


Рисунок 4 – Общая продолжительность жизни больных с ГБ в зависимости от степени циторедукции и активности гена MGMT. а – низкая активность гена MGMT, б – высокая активность гена MGMT. (красная линия – тотальное удаление, зеленая линия – СТБ).

При низкой экспрессии мРНК гена MGMT прием темозоломида с ЛТ увеличивает безрецидивную и общую продолжительность жизни на 8,5 мес. ($p=0,00037$) и 8,2 мес. ($p=0,026$) соответственно (рис. 5 а, б), (табл. 9).

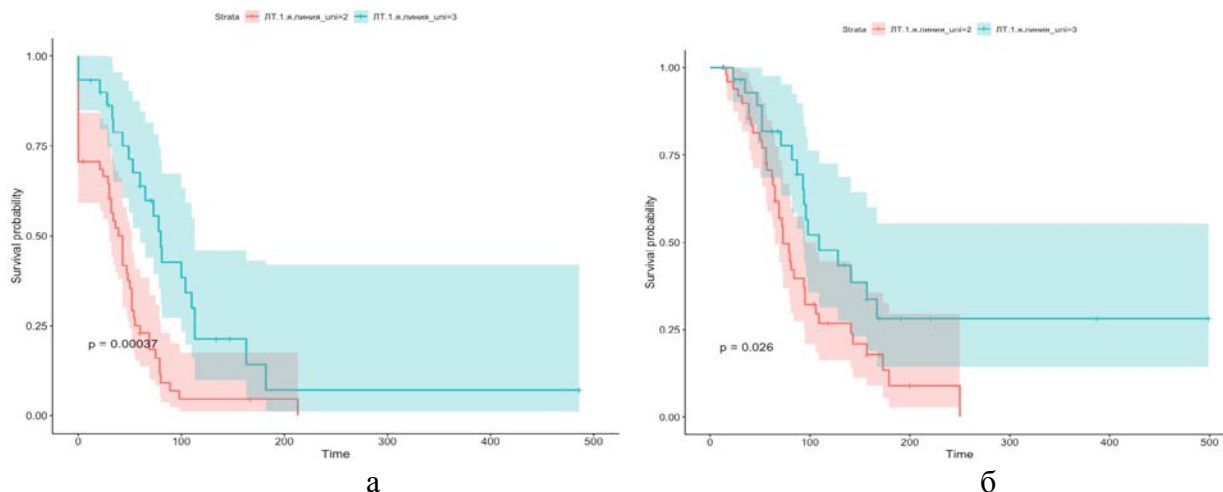


Рисунок 5 – Продолжительность жизни больных с ГБ и низкой активностью гена MGMT в зависимости от проведения ЛТ. а – безрецидивная, б – общая продолжительность жизни. (красная линия – ЛТ без темозоломида, зеленая линия – ЛТ с темозоломидом).

Таблица 9 – Продолжительность жизни больных с первичной ГБ в зависимости от активности гена MGMT и тактики проведения ЛТ в первой линии

экспрессия гена MGMT	медиана продолжительности жизни (мес)	без ЛТ	ЛТ без темозоломида	ЛТ с темозоломидом
ΔCt равное 2,0 и выше (n=87)	БПЖ	0	9,9	18,4
	ОПЖ	7,6	16,8	25
ΔCt равное 1,9 и ниже (n=32)	БПЖ	0	4,7	5,2
	ОПЖ	7,5	15,6	19,7

При высокой экспрессии мРНК гена MGMT достоверные различия в медианах БПЖ и ОПЖ при разных режимах проведения ЛТ отсутствовали: (p=0,69) и (p=0,3) (табл. 9). Медиана БПЖ у больных без ЛТ в первой линии терапии вне зависимости от активности гена MGMT составила 0 недель.

При оценке выживаемости больных в зависимости от активности гена MGMT и режимов ХТ были получены следующие результаты. Проведение интенсивной ХТ темозоломидом от 6 до 15 циклов в первой линии больным с первичной ГБ при низкой активности гена MGMT по сравнению с менее интенсивным режимом (2-5 циклов) увеличило БПЖ на 10,5 мес. (78 vs 32 нед.) (p<0,0001) (рис. 6 а), по сравнению с ХТ по схеме PCV/CV – на 17,9 мес. (78 vs 0 нед.) (p<0,0001) (рис. 6 б).

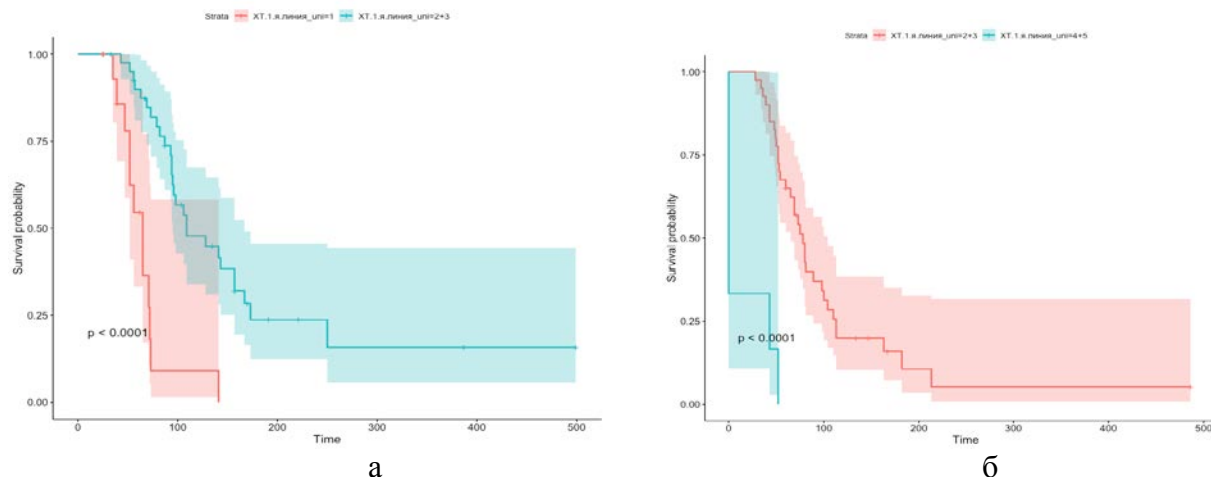


Рисунок 6 – Безрецидивная продолжительность жизни больных с ГБ и низкой активностью гена MGMT в зависимости от ХТ в первой линии. а – ХТ темозоломидом 6 циклов и более (зеленая линия) vs ХТ темозоломидом от 2 до 5 циклов (красная линия), б – ХТ темозоломидом 6 циклов и более (красная линия) vs ХТ по схеме PCV/CV (зеленая линия).

В случае высокой активности гена MGMT в опухоли, достоверные различия отсутствовали при сравнении режимов ХТ: темозоломид (от 6 до 15 циклов) vs PCV/CV ($p=0,95$), но они сохранились при сравнении разных режимов ХТ темозоломидом в пользу интенсивного ($p=0,01$) (табл. 10).

Таблица 10 – Продолжительность жизни больных с первичной ГБ в зависимости от активности гена MGMT и тактики проведения ХТ в первой линии

экспрессия гена MGMT	медиана продолжительности жизни (мес)	без ХТ	PCV/CV	темозоломид 2-5 циклов	темозоломид 6-15 циклов
ΔCt равное 2,0 и выше (n=87)	БПЖ	0	0	7,3	17,9
	ОПЖ	8,9	18,8	14,9	25
ΔCt равное 1,9 и ниже (n=87)	БПЖ	0	7,1	0	7,2
	ОПЖ	6,4	15,6	15,4	21,4

На ОПЖ при низкой активности гена MGMT статистически влиял только интенсивный режим ХТ (6 циклов и более) по сравнению с менее интенсивным (2 – 5 циклов), увеличивая ее на 10,1 месяцев (109 vs 65 нед.) ($p < 0,0001$) (рис. 7 а); при высокой активности гена – лишь на 5,9 месяцев (93 vs 67 нед.) без достоверных различий между группами ($p=0,19$) (рис. 7 б).

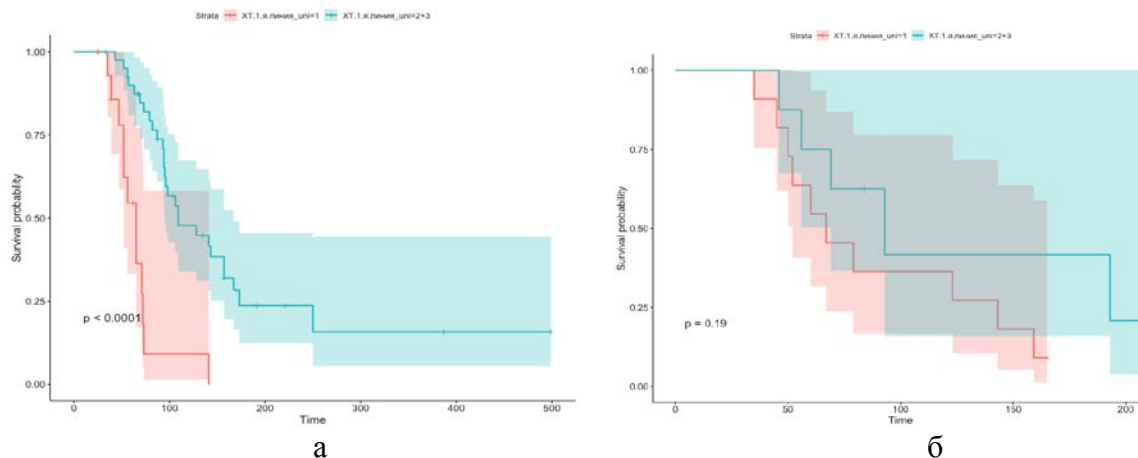


Рисунок 7 – Общая продолжительность жизни больных с ГБ в зависимости от активности гена MGMT. а – низкая активность гена MGMT, б – высокая активность гена MGMT. (зеленая линия – ХТ темозоломидом 6 циклов и более, красная линия – ХТ темозоломидом от 2-х до 5 циклов).

При анализе клинических характеристик и проводимого лечения (оперативное лечение, ЛТ и ХТ), на всем массиве данных без учета генетических характеристик опухоли, на БПЖ достоверно влияли: молодой возраст ($p=0,0072$), функциональный статус больного по шкале Карновского (90-100 баллов) ($p=0,014$), проведение ЛТ (без темозоломида, $p=0,0012$; с темозоломидом, $p=0,0041$), ХТ темозоломидом 6 циклов и более по сравнению с меньшим числом циклов ($p<0,0001$) и по сравнению с ХТ по схеме PCV/CV ($p<0,0001$). На ОПЖ со статистически значимо влияли: молодой возраст ($p<0,0001$), функциональный статус больного по шкале Карновского (80-100 баллов) ($p=0,005$), проведение ЛТ с темозоломидом ($p=0,018$), ХТ темозоломидом 6 циклов и более по сравнению с меньшим числом циклов ХТ темозоломидом ($p<0,0001$), наличие объективного ответа на терапию 1-й линии терапии ($p<0,0001$). Не оказали статистически значимого влияния на БПЖ: тотальное удаление опухоли (по сравнению с биопсией) ($p=0,93$), а на ОПЖ: тотальное удаление опухоли (по сравнению с биопсией) ($p=0,98$), ХТ темозоломидом 6 циклов и более по сравнению с ХТ по схеме PCV/CV ($p=0,5$), объем поражения головного мозга (1 доля vs 2 доли и более, $p=0,89$) и числа проведенных операций (2 и более операции vs 1 операция, $p=0,17$).

Феномен долгоживущих больных с первичной глиобластомой (3 года и более)

Продолжительность жизни 3 года и более наблюдалась у 20 пациентов, которые сформировали группу долгоживущих больных с первичной ГБ, что составило 19,6% от общего числа больных ($n=102$), которые достигли трех летней выживаемости или смерти.

Таблица 11 – Сравнительная характеристика пациентов с первичной ГБ с продолжительностью жизни до 3-х лет и с выживаемостью 3 года и более

клинические характеристики	выживаемость менее 3 лет, (n=82)	выживаемость 3 года и более, (n=20)	p
пол			0,260
мужчины	36 (43,9%)	11 (55%)	
женщины	46 (56,1%)	9 (45%)	
возраст (средний)	56,1 (95% CI, 53,8-58,3)	43,5 (95% CI, 38,6-48,5)	0,0001
функциональный статус по шкале Карновского (баллы)			
90-100	7 (8,5%)	5 (25%)	
70-80	56 (68,3%)	12 (60%)	0,113
< = 60	19 (23,2%)	3 (15%)	0,084
объем циторедукции (1 опер)			0,549
тотально	18 (22,2%)	4 (20%)	
субтотально	22 (27,2%)	4 (20%)	
частично	27 (33,3%)	5 (25%)	
биопсия	10 (12,4%)	4 (20%)	
СТБ	4 (4,9%)	3 (15%)	
нет данных	1	0	
наличие резидуальной опухоли (1 опер)			
нет	18 (22,2%)	4 (20%)	0,864
да	63 (77,8%)	16 (80%)	
нет данных	1	0	
наличие резидуальной опухоли (2 опер)			
нет	3 (7,3%)	4 (33,3%)	0,034
да	38 (92,7%)	8 (66,7%)	
2-й операции не было	41	8	

Примечание: мес – месяц.

Из всех признаков, анализируемых в таблице 11, на продолжительность жизни более трех лет оказали влияние молодой возраст ($p=0,0001$) и отсутствие резидуальной опухоли после второй операции (тотальная циторедукция) ($p=0,034$).

Лечебная тактика у пациентов с продолжительностью жизни 3 года и более отличалась интенсивностью терапии и частотой объективного ответа (табл. 12).

Таблица 12 – Сравнительная характеристика лечебной тактики у пациентов с первичной ГБ с продолжительностью жизни до 3-х лет и с выживаемостью 3 года и более

проводимое лечение (ЛТ и ХТ), ответ на терапию	выживаемость менее 3 лет, (n=82)	выживаемость 3 года и более, (n=20)	p
1 линия ЛТ			
проводилась с темозоломидом	24 (29,3%)	11 (55%)	0,052
проводилась без темозоломида	49 (59,7%)	9 (45%)	
не проводилась	9 (11%)	0 (0%)	

Таблица 12 – Продолжение

проводимое лечение (ЛТ и ХТ), ответ на терапию	выживаемость менее 3 лет, (n=82)	выживаемость 3 года и более, (n=20)	p
1 линия ХТ			
темозоломид 2-5 циклов	23 (28%)	2 (10%)	
темозоломид 6 циклов	11 (13,4%)	4 (20%)	
темозоломид 7-15 циклов	17 (20,7%)	11 (55%)	0,006
PCV/CV 2-5 циклов	6 (7,3%)	1 (5%)	
PCV/CV 6 циклов	1 (1,2%)	0 (0%)	
другая	2 (2,4%)	2 (10%)	
не проводилась	22 (27%)	0 (0%)	
ответ на терапию 1 линии			
полный	9 (11%)	10 (50%)	<0,0001
частичный	4 (4,9%)	3 (15%)	
стабилизация	24 (29,2%)	1 (5%)	
продолженный рост	30 (36,6%)	2 (10%)	
нет остаточной опухоли	15 (18,3%)	4 (20%)	
2 линия ЛТ			
ЛТ	6 (7,3%)	7 (35%)	<0,0001
радиохирургия	3 (3,7%)	3 (15%)	<0,0001
начата	1 (1,2%)	1 (5%)	
не достигнут 1 БРП	0 (0%)	4 (20%)	
не проводилась	72 (87,8%)	5 (25%)	
2 линия лекарственной терапии			<0,0001
темозоломид < 3 циклов	9 (11%)	1 (5%)	
темозоломид 3 цикла и более	10 (12,2%)	7 (35%)	
бевацизумаб+ири/тем 1-2 цикла	1 (1,2%)	0 (0%)	
бевацизумаб+ири/тем 3 цикла и более	9 (11%)	5 (25%)	
PCV/CV 6 циклов	6 (7,3%)	1 (5%)	
другая	3 (3,6%)	0 (0%)	
начата	0 (0%)	2 (10%)	
не достигнут 1 БРП	0 (0%)	4 (20%)	
не проводилась	44 (53,7%)	0 (0%)	
ответ на терапию 2 линии			<0,0001
полный	1 (1,2%)	1 (5%)	
частичный	3 (3,7%)	5 (25%)	
стабилизация	17 (20,7%)	5 (25%)	
продолженный рост	20 (24,4%)	0 (0%)	
нет остаточной опухоли	2 (2,4%)	3 (15%)	
начата	0 (0%)	1 (5%)	
не было 2 операции	0 (0%)	5 (25%)	
не проводилась	39 (47,6%)	0 (0%)	
число операций			0,141
1 операция	41 (50%)	8 (40%)	
2 операции	36 (43,9%)	8 (40%)	
3 операции	5 (6,1%)	4 (20%)	

Примечание: мес – месяц; PCV – схема химиотерапии: прокарбазин+ломустин+винкристин; CV – схема химиотерапии: ломустин+винкристин; БРП – безрецидивный период.

Из признаков, анализируемых в таблице 12, на продолжительность жизни более трех лет оказали влияние проведение ХТ темозоломидом более 6 циклов ($p=0,006$), проведение повторной ЛТ/радиохирургии ($p<0,0001$) и ХТ ($p<0,0001$), и наличие объективного ответа на терапию в первой и второй линиях ($p<0,0001$).

Такие изучаемые показатели, как уровень экспрессии генов VEGF, PDGFR- α , TP, TOP2A, β III-тубулин, C-kit и наличие мутации в гене IDH1, а также маркер пролиферативной активности Ki-67, не были достоверно связаны с продолжительностью жизни свыше трех лет, хотя мутации в гене IDH1(R132H) в группе пациентов с длительной выживаемостью наблюдалась втрое чаще, чем в группе сравнения (15,8%, 3/19 vs 4,2%, 3/71). Среднее значение экспрессии мРНК гена MGMT в группе больных с продолжительностью жизни 3 года и более составило 3,6, а в группе сравнения оно было 2,7, что соответствует низкому и среднему уровню экспрессии мРНК гена MGMT соответственно, при этом различия не оказались статистически значимы ($p=0,09$).

Влияние молекулярно-генетических aberrаций и клинических характеристик на безрецидивную и общую продолжительность жизни больных с анапластической ганглиogliомой

Из всех изучаемых молекулярно-генетических маркеров достоверное влияние на БРП и ОПЖ оказала только мутация в гене IDH1. Ее присутствие в опухоли увеличивает БРП и ОПЖ на 25,7 мес. (156 vs 44 нед.) ($p=0,00061$) и 29,6 мес. (271 vs 142 нед.) ($p=0,0085$) соответственно (рис. 8 а, б).

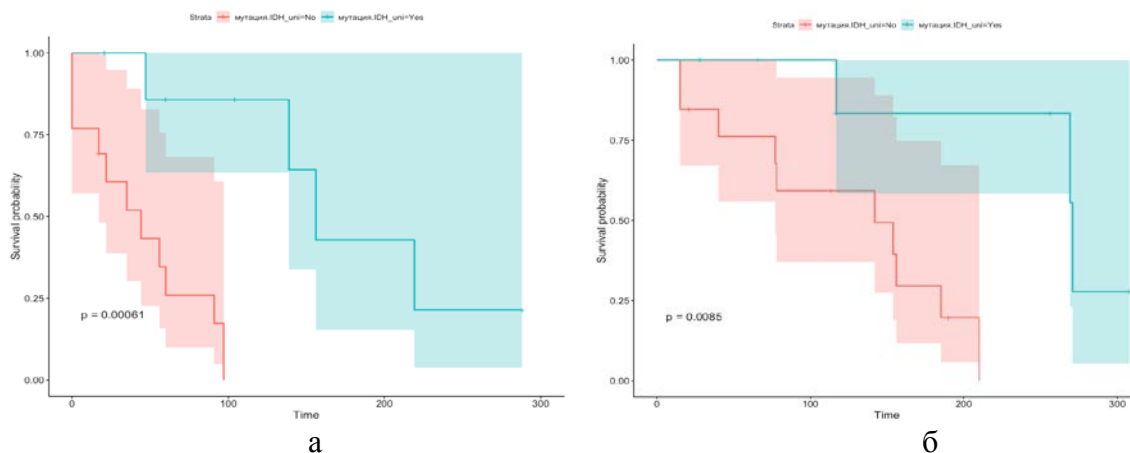


Рисунок 8 – Продолжительность жизни больных с АГГ в зависимости от наличия мутаций в гене IDH1. а – безрецидивная, б – общая продолжительность жизни. (красная линия – нет мутаций, зеленая линия – есть мутации).

При оценке прогностического влияния экспрессии генов TP, MGMT, ERCC1, PDGFR- α , TOP2A, C-kit, β III-тубулина на БПЖ и ОПЖ статистически значимых различий получено не было ($p > 0,05$). Только значение экспрессии гена VEGF и его действие на БПЖ было близко к достоверному ($p = 0,064$), без сохранения этой тенденции на ОПЖ ($p = 0,579$). Анализируя влияние морфологических критериев неоангиогенеза на БПЖ обнаружено статистически значимое снижение БПЖ на 23,1 месяца при наличии пролиферации сосудов ($p = 0,018$) и близко к достоверным было присутствие пролиферации эндотелия сосудов ($p = 0,056$).

При анализе клинических характеристик и проводимого лечения (оперативное лечение, ЛТ и ХТ) со статистической достоверностью на БПЖ влияли: проведение ЛТ (без темозоломида, $p = 0,0056$; с темозоломидом, $p = 0,0062$). На ОПЖ достоверно повлияли: наличие объективного ответа и стабилизации заболевания после 1-й линии терапии ($p = 0,0018$ и $p = 0,011$ соответственно). Не оказали статистически значимого влияния на БПЖ: степень циторедукции ($p = 0,054$, хотя различия и были близки к достоверному при тотальном удалении по сравнению с биопсией+СТБ – 158 vs 91 нед.); проведение ХТ ($p = 0,63$, при том, что медиана БПЖ при ХТ темозоломидом была 60 нед., без ХТ – 35 нед.). На ОПЖ достоверно не влияли: степень циторедукции ($p = 0,65$, при этом медиана ОПЖ при тотальном удалении составила 271 нед., а при биопсии+СТБ – и 142 нед.); проведение ХТ в первой линии ($p = 0,67$, хотя медиана ОПЖ при ХТ темозоломидом была 169 нед., а без ХТ – 78 нед.); число проведенных операций ($p = 0,35$, 2 и более vs 1 операция) и меньший объем поражения ($p = 0,8$, 1 доля vs 2 доли и более).

Влияние молекулярно-генетических aberrаций и клинических характеристик на безрецидивную и общую продолжительность жизни больных с нейробластомой и ганглионейробластомой

Статистически достоверного влияния мутации в гене IDH1(R132H) на медиану БПЖ и ОПЖ не наблюдалось. Однако, присутствие мутации в опухоли увеличивало БПЖ у больных с ЦНС-НБ на 18,8 месяцев (156 vs 74 нед.) ($p = 0,47$) (рис. 9).

При оценке прогностической роли уровней экспрессии генов на медиану БПЖ и ОПЖ были получены следующие результаты. Статистически значимое влияние на БПЖ больных с эмбриональными опухолями оказал ген VEGF ($p = 0,006$), и был близок к достоверным различиям ген ERCC1 ($p = 0,059$), а на ОПЖ оказали влияние три гена: ERCC1 ($p = 0,03$), MGMT ($p = 0,029$) и VEGF ($p = 0,002$).

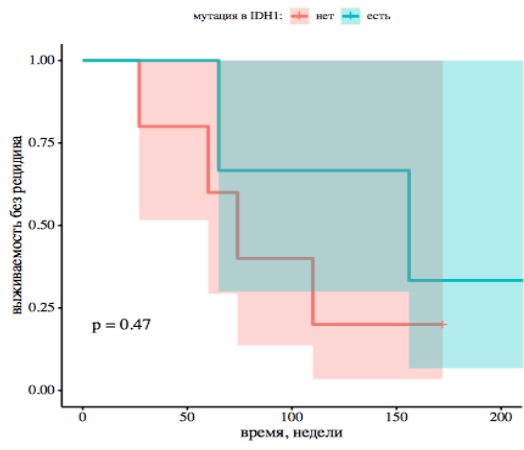


Рисунок 9 – Безрецидивная продолжительность жизни больных с ЦНС-НБ в зависимости от наличия мутации в гене IDH1. (зеленая линия – есть мутация, красная линия – нет мутации).

Стабильным влиянием на выживаемость, как в общей группе, так и в группе с ЦНС-ГНБ, обладал только ген VEGF, причем медиана ОПЖ больных с ЦНС-ГНБ резко отличалась при значениях $\Delta Ct < -1,0$ и $> -1,0$, и составила 44 нед. (10,1 мес.) и 140 нед. (32,2 мес.) соответственно ($p=0,014$) (рис. 10 а). При анализе морфологических критериев оценки неангиогенеза была установлена связь между пролиферацией сосудов и экспрессией гена VEGF среди всех больных с эмбриональными опухолями ЦНС ($p=0,0008$) (рис. 10 б).

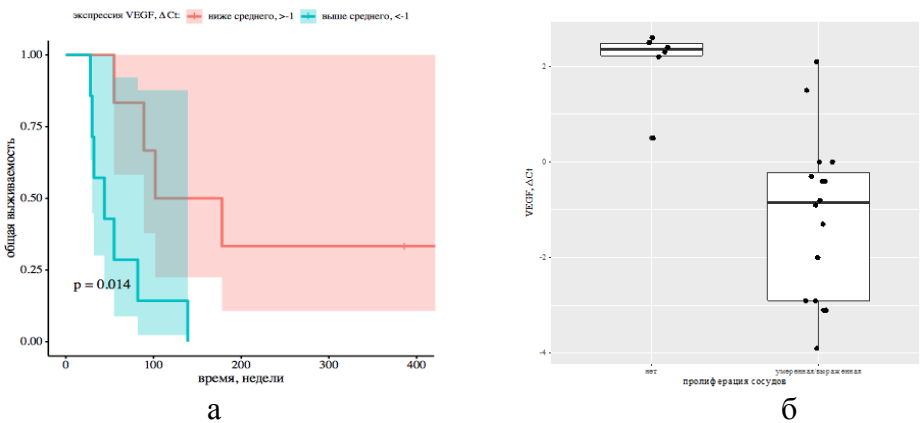


Рисунок 10 – а – общая продолжительность жизни больных с ЦНС-ГНБ в зависимости от уровня экспрессии мРНК гена VEGF (красная линия – $\Delta Ct > -1,0$, зеленая линия – $\Delta Ct < -1,0$), б – графики зависимости экспрессии мРНК гена VEGF от наличия пролиферации сосудов у больных с эмбриональными опухолями ЦНС. Слева – нет пролиферации сосудов, справа – есть пролиферация сосудов.

При разделении пациентов по уровню экспрессии гена VEGF $\Delta Ct < 1,8$ и $> 1,8$ (высокий+средний vs низкий) выявили связь низкой экспрессии с отсутствием

пролиферации сосудов в опухоли, а также пролиферации эндотелия на всем массиве данных ($p=0,0013$ и $p=0,01$ соответственно) а также с отсутствием или слабым накоплением контрастного вещества опухолью, по данным МРТ ($p=0,008$).

Морфологический тип опухоли – фактор, который серьезно влияет на выживаемость. БПЖ и ОПЖ у пациентов с ЦНС-НБ оказались выше, чем у больных с ЦНС-ГНБ ($p=0,022$ и $p=0,00045$ соответственно) (рис. 11 а, б). Медиана БПЖ у больных с ЦНС-НБ и ЦНС-ГНБ составила 156 и 46 недель, а медиана ОПЖ – 541 и 82 недели соответственно.

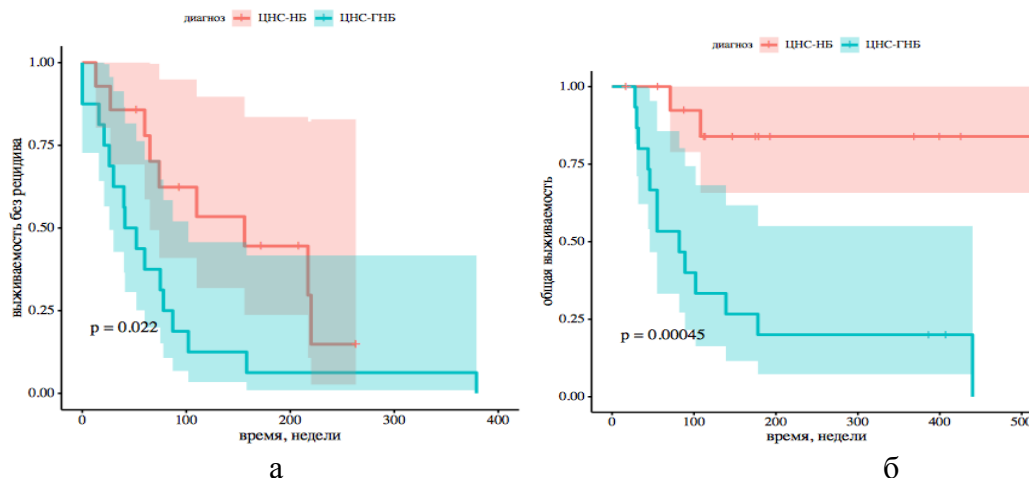


Рисунок 11 – Продолжительность жизни больных с эмбриональными опухолями в зависимости от морфологического диагноза. а – безрецидивная, б – общая продолжительность жизни. (красная линия – ЦНС-НБ, зеленая линия – ЦНС-ГНБ)

При анализе клинических характеристик и проводимого лечения (оперативное лечение, ЛТ и ХТ) получены следующие данные. На БПЖ и ОПЖ со статистической достоверностью влияли: отсутствие распространения опухоли на базальные отделы мозга (ЦНС-НБ: $p=0,0013$, $p=0,012$; ЦНС-ГНБ: $p=0,017$, $p=0,0071$ соответственно), тотальное удаление при ЦНС-ГНБ ($p=0,014$, $p=0,017$); проведение ХТ темозоломидом 6 циклов (ЦНС-ГНБ: $p=0,026$, $p=0,025$); наличие объективного ответа на первую линию терапии (ЦНС-ГНБ: $p=0,0057$, $p=0,0065$). Не оказали статистически значимого влияния на БПЖ у больных с ЦНС-НБ: степень циторедукции более 50% ($p=0,31$, хотя медиана составила 217 нед. по сравнению с биопсией – 60 нед.); наличие объективного ответа на терапию ($p=0,27$, при этом медиана БПЖ составила 217 нед. по сравнению со стабилизацией – 65 нед.) и число проведенных операций (2 и более vs 1 операция) как для ЦНС-ГНБ ($p=0,51$), так и для ЦНС-НБ ($p=0,63$). На ОПЖ у пациентов с ЦНС-ГНБ достоверно не повлияло число проведенных операций (2 и более vs 1 операция) ($p=0,16$, хотя ОПЖ при проведении одной операции составила 55 нед., а при проведении 2-х и более – 271

нед.). У части пациентов с ЦНС-НБ не достигнут 50% порог выживаемости, поэтому влияние ряда факторов на ОПЖ пока определить невозможно.

Анапластическая трансформация нейроэпителиальных опухолей. Анализ экспрессии генов TP, MGMT, ERCC1, PDGFR- α , VEGF, C-kit, β III-тубулин, TPO2A и мутаций в генах IDH1/2 до и после трансформации опухоли. Морфо-молекулярные аспекты.

Рецидив заболевания диагностирован у 20 больных с ДА (из 29) и у 16 пациентов с АА (из 46). Частота злокачественной трансформации ДА в АА или вторичную ГБ наблюдалась в 95%, а трансформация АА во вторичную ГБ имела место в 69% случаев (табл. 13).

Таблица 13 – Частота анапластической трансформации больных с ДА и АА

клинические характеристики	ДА (n=29)	АА (n=46)
пол		
мужчины	16 (55%)	22 (48%)
женщины	13 (45%)	24 (52%)
возраст (среднее значение)	33,5 (95% CI, 29,6-37,5)	37,8 (95% CI, 33,8-41,8)
злокачественная трансформация		
по данным МРТ/ПЭТ	6 (30%)	2 (13%)
по результатам повторной гистологии в АА	11 (55%)	-
по результатам повторной гистологии во вторичную ГБ	2 (10%)	9 (56%)
без изменений после 2-й операции	1 (5%)	5 (31%)

Только в одном случае (5%) при рецидиве ДА и у 5 больных (31%) при рецидиве АА гистологический диагноз остался прежним.

Была изучена частота анапластической трансформации ОДГ (5 больных) в АОДГ/вторичную ГБ, а также АОДГ (5 больных) во вторичную ГБ. Злокачественная трансформация ОДГ наблюдалась в 100% (5/5), из них по данным повторного гистологического исследования – в 80% (4/5), по данным МРТ/ПЭТ – 20%. Трансформация АОДГ во вторичную ГБ имела место только в одном случае по данным повторной гистологии (20%) и в 80% (4/5) гистологический диагноз остался без изменений. На скорость трансформации влияли: дифференцировка опухоли «олигодендроглиальная» по сравнению с «астроцитарной» ($p=0,017$), медиана времени без трансформации от момента выполнения первой МРТ составили 98,9 vs 25 мес. соответственно; размер опухоли более 60 мм в наибольшем измерении ($p=0,045$) и накопление опухолью контраста ($p=0,0014$) на первой МРТ-томограмме. При многофакторном анализе на скорость

трансформации ДА оказали влияние: возраст ($p=0,009$), уровень экспрессии мРНК генов MGMT ($p=0,03$), TP ($p=0,023$), и VEGF ($p=0,037$).

Сравнительный анализ уровней экспрессии генов TP, MGMT, ERCC1, PDGFR- α , VEGF, C-kit, β III-тубулин, TOP2A был проведен у восьми больных с ДА и ОДГ при трансформации их в АА, АОДГ или во вторичную ГБ и у шести больных с АА и АОДГ при трансформации их во вторичную ГБ. Уровни экспрессии генов обеих групп после трансформации изменились от 20 до 80% случаев. Увеличение уровней экспрессии генов при трансформации АА и АОДГ во вторичную ГБ подтверждает неблагоприятный прогноз заболевания, снижение чувствительности опухоли к терапии темозоломидом во 2-й линии терапии и целесообразности назначения бевацизумаба при трансформации опухоли во вторичную ГБ, что подтверждается высоким уровнем экспрессии мРНК гена VEGF в материале от второй операции в 80% случаев (4/5). Самыми стабильными молекулярно-генетическими признаками оказалась мутация в гене IDH1(R132H) и ко-делеция 1p19q, наличие или отсутствие которых не изменялось с ростом анаплазии опухоли.

Внутриопухолевая гетерогенность в диффузной астроцитоме, анапластической астроцитоме и первичной глиобластоме. Морфо-молекулярные аспекты.

Внутриопухолевая морфологическая гетерогенность была изучена у 22 больных с впервые выявленной опухолью, локализованной супратенториально (16 больных с первичной ГБ, 5 – с АА и один пациент – с ДА). При субтотальном или тотальном удалении из каждого опухолевого узла производился забор 5 равноудаленных фрагментов опухолевой ткани. В 16 случаях из 22 (72,7%) была выявлена внутриопухолевая морфологическая гетерогенность, которая в первичной ГБ присутствовала в 68,8% (11/16), в АА – в 80% (4/5) и в единственном случае ДА. В половине случаев опухоль была гетерогенна в трех и более фрагментах из пяти.

Внутриопухолевая молекулярно-генетическая гетерогенность была изучена в 8 случаях. Всего проанализировали 40 фрагментов опухолевой ткани (по 5 фрагментов в каждом случае) (табл. 14). Из 40 кусочков опухоли мРНК удалось выделить в 33 фрагментах, с последующим определением мутации в генах IDH1/2 и уровней экспрессии мРНК генов MGMT, ERCC1, PDGFR- α , VEGF, TOP2A, C-kit в каждом из них.

Таблица 14 – Внутриопухолевая гетерогенность

Случай 1 (ГБ)	MGMT	TOP2A	c-kit	PDGFRA	VEGF	ERCC1	IDH1/IDH2	Ki-67 (%)
передний полюс (АА-ГБ)	4.7 (н)	3.8 (н)	3.3 (сп)	1.1 (сп)	-2.7 (в)	-1.1 (в)	WT	10-18
центр (некрот-ГБ)	3.9 (н)	3.7 (сп)	2.7 (сп)	0.0 (сп)	-1.9 (в)	-1.3 (в)	WT	22
левый полюс (АА-ГБ)	5.8 (н)	4.5 (н)	3.9 (н)	- 0.3 (сп)	-3.9 (в)	-1.1 (в)	WT	8-20
правый полюс (АА-ГБ)	3.7 (н)	2.5 (сп)	3.0 (сп)	0.3 (сп)	-2.2 (в)	-1.5 (в)	WT	8-25
задний полюс (ГБ)	3.8 (н)	3.9 (н)	2.8 (сп)	0.4 (сп)	-1.9 (в)	-0.9 (в)	WT	20

Таблица 14 – Продолжение

Случай 2 (ГБ)	MGMT	TOP2A	c-kit	PDGFRA	VEGF	ERCC1	IDH1/IDH2	Ki-67
правый полюс (ДА-АА)	2.9 (ср)	8.6 (н)	2.4 (ср)	2.6 (н)	-0.4 (ср)	-2.5 (в)	IDH1 R132H	н.д.
левый полюс (АА-ГБ)	2.2 (ср)	4.9 (н)	1.3 (ср)	4.5 (н)	-3.9 (в)	-1.0 (в)	IDH1 R132H	7-20
задний полюс (мозг-ДА)	2.3 (ср)	8.5 (н)	2.6 (ср)	- 1.8 (ср)	1.1 (ср)	-0.7 (в)	IDH1 R132H	0-1-5
передний полюс (ДА-АА)	2.2 (ср)	9.8 (н)	3.4 (ср)	- 0.2 (ср)	-0.5 (ср)	-2.1 (в)	IDH1 R132H	н.д.
центр (некроз-АА)	1.7 (ср)	4.7 (н)	1.4 (ср)	3.6 (н)	-2.4 (в)	-1.3 (в)	IDH1 R132H	8
Случай 3 (ГБ)	MGMT	TOP2A	c-kit	PDGFRA	VEGF	ERCC1	IDH1/IDH2	Ki-67
центр (ГБ)	3.0 (н)	1.8 (ср)	2.5 (ср)	0.8 (ср)	-0.1 (ср)	-1.0 (в)	WT	18
правый полюс (некроз-ГБ)	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	14
левый полюс (некроз-ГБ)	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	20
задний полюс (ГБ)	2.0 (ср)	4.5 (н)	3.5 (ср)	0.3 (ср)	-1.7 (в)	-1.1 (в)	WT	16
передний полюс (ГБ)	3.6 (н)	1.0 (ср)	5.3 (н)	1.1 (ср)	0.2 (ср)	-0.5 (в)	WT	30
Случай 4 (АА)	MGMT	TOP2A	c-kit	PDGFRA	VEGF	ERCC1	IDH1/IDH2	Ki-67
центр (ДА-АА)	3.7 (н)	4.7 (н)	1.6 (ср)	-0.9 (ср)	3.0 (н)	1.8 (н)	IDH1 R132H	3-10
правый полюс (АА)	10.0 (н)	3.6 (ср)	2.8 (ср)	-0.1 (ср)	3.1 (н)	1.6 (н)	IDH1 R132H	8
левый полюс (мозг-ДА)	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	0-1-6
задний полюс (АА)	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	12
передний полюс (АА)	10.0 (н)	9.0 (н)	2.3 (ср)	-1.6 (ср)	2.4 (н)	10.0 (н)	IDH1 R132H	8
Случай 5 (ГБ)	MGMT	TOP2A	c-kit	PDGFRA	VEGF	ERCC1	IDH1/IDH2	Ki-67
центр (некроз)	2.0 (ср)	3.2 (ср)	7.6 (н)	0.9 (ср)	-4.7 (в)	-3.0 (в)	WT	-
правый полюс (ГБ)	2.6 (ср)	1.8 (ср)	10.0 (н)	1.4 (н)	-4.3 (в)	-1.3 (в)	WT	16
левый полюс (некроз)	2.0 (ср)	2.7 (ср)	5.6 (н)	0.9 (ср)	-4.3 (в)	-1.9 (в)	WT	-
задний полюс (ГБ)	2.7 (ср)	1.5 (ср)	8.5 (н)	0.5 (ср)	-4.2 (в)	-2.1 (в)	WT	20
передний полюс (ГБ)	3.1 (н)	1.7 (ср)	5.3 (н)	1.7 (н)	-3.0 (в)	-1.0 (в)	WT	25
Случай 6 (ГБ)	MGMT	TOP2A	c-kit	PDGFRA	VEGF	ERCC1	IDH1/IDH2	Ki-67
центр (ГБ)	3.9 (н)	2.6 (ср)	5.9 (н)	-0.4 (ср)	-3.1 (в)	-0.9 (в)	WT	12
передний полюс (ГБ)	4.1 (н)	1.4 (ср)	7.0 (н)	-1.6 (ср)	-2.0 (в)	-0.7 (в)	WT	18
левый полюс (ГБ)	4.0 (н)	0.7 (в)	7.0 (н)	-2.4 (в)	-2.2 (в)	-0.7 (в)	WT	25
правый полюс (некроз-ГБ)	8.0 (н)	1.0 (ср)	6.2 (н)	-0.4 (ср)	-1.4 (в)	3.7 (н)	WT	12
задний полюс (некроз-ГБ)	2.8 (ср)	1.8 (ср)	7.1 (н)	-0.2 (ср)	-2.9 (в)	-1.2 (в)	WT	20
Случай 7 (ГБ)	MGMT	TOP2A	c-kit	PDGFRA	VEGF	ERCC1	IDH1/IDH2	Ki-67
центр (ДА-ГБ)	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	5-14
правый полюс (мозг-ДА)	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	0-1-4
задний полюс (ГБ)	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	25
левый полюс (ГБ)	4.1 (н)	2.2 (ср)	3.6 (н)	-2.4 (в)	-2.5 (в)	-1.6 (в)	IDH1 R132H	16
передний полюс (ДА-ГБ)	2.7 (ср)	2.8 (ср)	4.9 (н)	-1.8 (ср)	0.2 (ср)	-1.6 (в)	IDH1 R132H	4-14
Случай 8 (АА)	MGMT	TOP2A	c-kit	PDGFRA	VEGF	ERCC1	IDH1/IDH2	Ki-67
центр (АА)	3.0 (н)	4.0 (н)	4.1 (н)	0.2 (ср)	1.4 (ср)	-0.7 (в)	IDH1 R132H	8
правый полюс (ДА-АА)	4.0 (н)	3.8 (н)	5.6 (н)	0.1 (ср)	2.8 (н)	-0.4 (в)	IDH1 R132H	3-10
задний полюс (ДА-АА)	3.0 (н)	3.0 (н)	3.1 (ср)	-0.1 (ср)	1.7 (ср)	-0.7 (в)	IDH1 R132H	5-10
левый полюс (мозг-АА)	3.6 (н)	4.6 (н)	2.9 (ср)	-0.3 (ср)	2.5 (н)	-0.2 (в)	IDH1 R132H	0-1-10
передний полюс (АА)	3.1 (н)	3.4 (н)	3.3 (ср)	0.0 (ср)	2.2 (н)	-1.1 (в)	IDH1 R132H	8

Изменение уровней экспрессии шести генов изучено в 48 экспрессионных анализах. Уровни экспрессии мРНК большинства исследованных генов (PDGFR- α ,

VEGF, TOP2A, MGMT) в разных фрагментах одного опухолевого узла в 50% (4/8) остались прежними. В двух других генах уровни экспрессии мРНК оказались еще более стабильны: C-kit – в 62,5% (5/8), в гене ERCC1 – в 87,5% (7/8). В общей сложности, уровни экспрессии мРНК всех изучаемых генов изменились в 41,7% (20/48) (в табл. 14 выделены цветом). Генетическая гетерогенность в опухоли отсутствовала при определении мутаций в генах IDH1/2, которая была выявлена в 50% случаев в гене IDH1(R132H). В 5 из 8 исследуемых случаев имела место морфологическая гетерогенность.

Рецидив первичной глиобластомы. Изменения морфологической и молекулярно-генетической характеристик опухоли

Выполнен анализ клинических и молекулярно-генетических характеристик у 21 пациента с первичной ГБ до и после рецидива заболевания с определением активности гена MGMT в материалах от обеих операции. С наступлением рецидива после проведенной ЛТ и ХТ в первой линии экспрессия мРНК гена MGMT осталась прежней в 66,7% (14/21), ее повышение наблюдалось в 23,8% (5/21), а снижение – в 9,5 % (2/21). После второй операции 33,4% (7/21) больных получили повторную ЛТ/радиохирургию и 81% (17/21) – вторую линию терапии, причем 8 из них – темозоломид. Влияния активности гена MGMT на БПЖ при проведении 2-й линии терапии обнаружено не было. Только в одном случае при повторной терапии темозоломидом наблюдался частичный ответ на лечение. В пяти случаях с низкой активностью гена MGMT (ΔC_t равно 2 и выше) вместо ожидаемого положительного ответа на терапию на первом МРТ исследовании зафиксирован продолженный рост.

Таким образом, результаты нашей работы с использованием индивидуализированного подхода на этапах диагностики, лечения и динамического наблюдения способствовали увеличению безрецидивной и общей продолжительности жизни больных с нейроэпителиальными опухолями. Планируется продолжить исследование для выявления новых корреляций в тех группах, где не достигнут 50% порог выживаемости и у пациентов с редкими нейроэпителиальными новообразованиями (нейробластома, ганглионейробластома, ганглиоглиома и анапластическая ганглиоглиома).

Выводы

1) Присутствие мутации в гене IDH1(R132H) у больных с диффузной астроцитомой (79%) увеличивало безрецидивную и общую продолжительность

жизни на 19,4 мес. ($p=0,051$) и 47,4 мес. ($p=0,063$) и у пациентов с анапластической астроцитомой (60%) – на 12,4 ($p<0,0001$) и 57,7 месяцев ($p=0,056$) соответственно.

2) У больных с первичной глиобластомой наличие мутаций в генах IDH1/2 (5%) коррелировало с повышением безрецидивной и общей продолжительности жизни на 12 ($p=0,029$) и 14,2 месяцев ($p=0,07$) соответственно. Ген VEGF оказал достоверное влияние на общую продолжительность жизни ($p=0,045$), ген MGMT на безрецидивную ($p=0,006$) и общую продолжительность жизни ($p=0,05$).

3) Ген MGMT является ключевым предиктивным маркером у пациентов с первичной глиобластомой. При низкой экспрессии мРНК (ΔCt равное 2,0 и выше) прием темозоломида с лучевой терапией увеличивает безрецидивную и общую продолжительность жизни на 8,5 ($p=0,00037$) и 8,2 месяцев ($p=0,026$). При высокой экспрессии мРНК гена MGMT (ΔCt равное 1,9 и ниже) статистически значимые различия в безрецидивной и общей продолжительности жизни не наблюдались – ($p=0,69$) и ($p=0,3$) соответственно.

4) Проведение интенсивной ХТ темозоломидом от 6 до 15 циклов в первой линии больным с первичной глиобластомой при низкой активности гена MGMT по сравнению с менее интенсивным режимом (2-5 циклов) увеличило безрецидивный период на 10,5 мес. ($p<0,0001$), по сравнению с ХТ по схеме PCV/CV – на 17,9 месяцев ($p<0,0001$). Если активность гена MGMT в опухоли была высокой, достоверные различия отсутствовали при сравнении режимов ХТ: темозоломид (от 6 до 15 циклов) vs PCV/CV ($p=0,95$), но они сохранились при сравнении разных режимов ХТ темозоломидом в пользу интенсивного ($p=0,01$). На общую продолжительность жизни при низкой активности гена MGMT статистически влиял только интенсивный режим ХТ по сравнению с менее интенсивным ($p<0,0001$); при высокой активности гена MGMT такой зависимости не было ($p=0,19$).

5) Пациенты с первичной глиобластомой с продолжительностью жизни 3 года и более составили 19,6% (20/102). Этому способствовали: молодой возраст на момент диагностики ($p=0,0001$), ХТ темозоломидом 6 циклов и более в первой линии ($p=0,006$), наличие объективного ответа на терапию первой линии ($p<0,0001$), отсутствие резидуальной опухоли после второй операции (тотальная циторедукция) ($p=0,034$), проведение повторной ЛТ ($p<0,0001$) и ХТ ($p<0,0001$), наличие объективного ответа на терапию второй линии ($p<0,0001$) и низкий уровень экспрессии гена MGMT (среднее значение ΔCt равное 3,6, $p=0,09$).

6) Присутствие мутации в гене IDH1(R132H) у больных с нейробластомой (33%) увеличивало безрецидивный интервал на 18,8 месяцев ($p=0,47$). У пациентов с ганглионейробластомой (38%) безрецидивная и общая продолжительность жизни была выше на 11,9 ($p=0,91$) и 10,8 месяцев ($p=0,59$) соответственно.

7) Ключевым прогностическим маркером у больных с эмбриональными опухолями ЦНС является ген VEGF. У пациентов с ганглионейробластомой медиана общей продолжительность жизни при ΔCt гена VEGF $< -1,0$ составила 32,2 мес., при ΔCt гена VEGF $> -1,0$ – 10,1 месяцев ($p=0,014$). На безрецидивный период статистически значимое влияние оказал ген VEGF ($p=0,006$), и был близок к статистически значимым различиям ген ERCC1 ($p=0,059$), на общую продолжительность жизни оказали влияние три гена: ERCC1 ($p=0,03$), MGMT ($p=0,029$) и VEGF ($p=0,002$).

8) Установлена достоверная связь низкой экспрессии гена VEGF с отсутствием пролиферации сосудов и пролиферацией эндотелия у больных с эмбриональными опухолями ЦНС ($p=0,0013$ и $p=0,01$ соответственно), а также с отсутствием накопления контрастного вещества опухолью, или его слабому накоплению по данным МРТ ($p=0,008$).

9) Мутации в гене IDH1 у больных с ганглиоглиомой встречались в 67% и с анапластической ганглиоглиомой – в 38% случаев. Присутствие мутации в гене IDH1 у пациентов с анапластической ганглиоглиомой достоверно увеличивает безрецидивную и общую продолжительность жизни на 25,7 ($p=0,00061$) и 29,6 месяцев ($p=0,0085$) соответственно. Наличие пролиферации сосудов в опухоли статистически значимо снижало безрецидивный период на 23,1 месяца ($p=0,018$).

10) Морфологическая внутриопухолевая гетерогенность была выявлена у больных с диффузной астроцитомой, анапластической астроцитомой и первичной глиобластомой в 72,7% случаев. Экспрессия мРНК генов MGMT, ERCC1, PDGFR- α , VEGF, TOP2A, C-kit отличались в разных фрагментах опухолевой ткани в 41,7% случаев. Генетическая гетерогенность в опухоли отсутствовала только при определении мутаций в генах IDH1/2.

11) Злокачественная трансформация при рецидиве диффузной астроцитомы наблюдалась в 95%, олигодендроглиомы – в 100%. На скорость трансформации влияли: «олигодендроглиальная» дифференцировка опухоли по сравнению с «астроцитарной» ($p=0,017$), медиана времени без трансформации от первой МРТ составили 98,9 vs 25 мес. соответственно; размер опухоли более 60 мм в наибольшем измерении ($p=0,045$) и накопление опухолью контрастного вещества ($p=0,0014$) на первой МРТ. При многофакторном анализе на скорость трансформации диффузной астроцитомы оказали влияние: возраст ($p=0,009$), уровень экспрессии мРНК генов MGMT ($p=0,03$), TP ($p=0,023$), и VEGF ($p=0,037$).

12) Степень циторедукции при первичном удалении опухоли (тотальная/субтотальная vs другой объем) достоверно увеличивает безрецидивный период у пациентов с диффузной астроцитомой ($p=0,039$) и анапластической

астроцитомой ($p=0,0048$), общую продолжительность жизни – у больных с диффузной астроцитомой ($p=0,016$), анапластической астроцитомой ($p=0,00064$) и у пациентов с биологическим подтипом первичной глиобластомы при высокой экспрессии мРНК гена MGMT ($p=0,00016$).

Практические рекомендации

Выбор терапевтической тактики у пациентов с первичной глиобластомой должен основываться на данных молекулярно-генетического исследования. При низкой активности гена MGMT необходимо проводить максимально интенсивное лечение в первой линии, которое подразумевает проведение ЛТ с темозоломидом (75 мг/м^2 ежедневно) и МХТ темозоломидом 6 циклов и более, т.к. достижение объективного ответа на терапию первой линии достоверно увеличивают медиану общей продолжительности жизни.

У пациентов с эмбриональными опухолями ЦНС необходимо определять молекулярно-генетический статус. Наличие мутации в генах IDH1/2 и низкий/средний уровни экспрессии гена VEGF положительно влияют на прогноз заболевания, а гены MGMT и ERCC1 являются предиктивными маркерами в лечении данных опухолей, позволяющими прогнозировать объективный ответ на терапию темозоломидом и препаратами платины.

Больным с ганглионейробластомой предпочтительно проводить краниоспинальное облучение с учетом биологических особенностей данной опухоли и повышенным риском отсевов по ликворопроводящим путям в отличие от нейробластомы.

С целью повышения точности гистологического диагноза у больных с глиальными опухолями, учитывая высокую частоту внутриопухолевой гетерогенности в них, необходимо во время оперативного вмешательства забирать от трех до пяти фрагментов опухоли.

У пациентов с диффузной астроцитомой и олигодендроглиомой необходимо выявлять группу повышенного риска развития раннего рецидива со злокачественной трансформацией для своевременной коррекции лечебной тактики и особого режима динамического наблюдения. Следует оценивать следующие факторы: возраст, размер опухоли, накопление контрастного вещества на первом МРТ исследовании, ее морфологическую дифференцировку и уровень экспрессии генов MGMT, TP и VEGF в материале от первой операции. При наличии двух факторов риска и более больному после проведения ЛТ необходимо назначать ХТ препаратами алкильной группы.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Мацко, М.В. От адекватного гистологического диагноза и определения молекулярно-генетического статуса опухоли к индивидуальному лечению нейроэктодермальных бластом / М.В. Мацко, А.Г. Иевлева, Е.Н. Имянитов // Российский нейрохир. журнал. – Т. III. – Спец. выпуск. – Мат. X юбилейной Всероссийской научн.-практ. конференции «Поленовские чтения». СПб. – 2011. – С. 321–322.
2. **Мацко, М.В. Значимый регресс глиобластомы с низкой экспрессией гена MGMT при химиолучевой терапии / М.В. Мацко, Е.И. Лучин, А.Г. Иевлева // **Вопр. Онкол.** – 2011. – № 2. – С. 245–249.**
3. **Мацко, М.В. Морфо-молекулярные основы индивидуализированной терапии опухолей головного мозга / Д.Е. Мацко, Е.Н. Имянитов, М.В. Мацко // **Вопр. онкологии.** – 2012. – Т. 58. – № 2. – С. 292–296.**
4. Мацко, М.В. Результаты различных методов лечения примитивных нейроэктодермальных опухолей головного мозга у взрослых / А.А. Пальцев, А.Ю. Улитин, Д.М. Ростовцев // Российский нейрохир. журнал. – Т. IV. – Спец. выпуск. – Мат. XI юбилейной Всероссийской научн.-практ. конференции «Поленовские чтения». – СПб., 2012. – С. 263.
5. **Мацко, М.В. Темодал – цитостатик алкилирующего действия. Эффективность у больных со злокачественными глиомами / М.В. Мацко // **Вопр. онкологии.** – 2012. – Т. 58. – № 3. – С. 425–428.**
6. Мацко, М.В. Перспективы лекарственной терапии примитивных нейроэктодермальных опухолей / М.В. Мацко, А.Ю. Улитин, Д.Е. Мацко // Мат. конференции нейрохирургов Украины «Достижения нейрохирургии последнего десятилетия». – Киев. – 2012. – С.15.
7. Мацко, М.В. Редкая эмбриональная опухоль головного мозга у больной 27 лет / Мацко Д.Е., Желбунова Е.А., Мацко М.В. // Педиатр. – 2012. – Т. III. – № 4. – С.88–91.
8. Мацко, М.В. Молекулярный патогенез / Мацко М.В., Улитин А.Ю., Имянитов Е.Н. // Нейрохирургическая патология. – СПб., 2012. – С. 203–210.
9. Мацко, М.В. Роль морфо-молекулярной диагностики для выбора лекарственной терапии опухолей головного мозга / М.В. Мацко, Д.Е. Мацко, Е.Н. Имянитов // Злокачественные опухоли. – 2012 – Т. II. – № 2. – С. 99–102.
10. Мацко, М.В. Рецидивирующие примитивные нейроэктодермальные опухоли / А.А. Пальцев, А.Ю. Улитин, М.В. Мацко // Сибирский международный нейрохирургический форум: Сб. науч. материалов. – Новосибирск. – 2012. – С. 244.

11. **Мацко, М.В. Глиосаркома: морфология, молекулярная генетика, лечение, обзор литературы / Д.Е. Мацко, М.В. Мацко, Д.В. Свистов // Российский нейрохирургический журнал – 2013 – Т. V. – № 2. – С. 52–58.**
12. Мацко, М.В. Зависимость мутации в гене IDH1 от уровня экспрессии гена MGMT у больных с нейроэпителиальными опухолями головного мозга / М.В. Мацко, Д.Е. Мацко, А.Г. Иевлева // Нейроонкология. – Мат. II Российского нейрохирургического форума. – Екатеринбург. – 2013. – С.57–58.
13. Мацко, М.В. IDH1/2 (изоцитратдегидрогеназа) – важный прогностический маркер в нейроонкологии / М.В. Мацко, Д.Е. Мацко, Е.Н. Имянитов // Российский нейрохир. журнал. – Т. V. – Спец. выпуск. – Мат. 12 Всероссийской научн.-практ. конференции «Поленовские чтения». – СПб. – 2013. – С. 200–201.
14. Мацко, М.В. Морфо-молекулярный анализ долгоживущих «глиобластом» / Д.Е. Мацко, М.В. Мацко, А.Ю. Улитин // Российский нейрохир. журнал. – Т. V. – Спец. выпуск. – Мат. 12 Всероссийской научн.-практ. конференции «Поленовские чтения». – СПб. – 2013. – С. 200.
15. Мацко, М.В. Иммуногистохимическое и молекулярно-генетическое определение предиктивных и прогностических маркеров в опухолях центральной нервной системы / Д.Е. Мацко, М.В. Мацко // Мат. 4 Всероссийского съезда патологоанатомов. – Белгород. – 2013. – С. 88.
16. Мацко, М.В. Лекарственная терапия первичных опухолей центральной нервной системы / М.В. Мацко // Практическая онкология. – 2013 – Т. 14. – № 3. – С. 166–174.
17. Мацко, М.В. Прогностические и предиктивные маркеры в нейроонкологии значение различных методов исследования / Д.Е. Мацко, М.В. Мацко, А.Г. Иевлева // Современные подходы в клинко-морфологической диагностике и лечении заболеваний человека. Сборник научных трудов всероссийской конференции с международным участием. 3-е научные чтения, посвященные памяти член-корр. РАМН, проф. О.К. Хмельницкого. – СПб. – 2013. – С. 219–221.
18. Matsko, M.V. A case of exceptionally long progression-free survival after radiation and chemotherapy in the patient with glioblastoma with very low MGMT expression / M.V. Matsko, D.E. Matsko, E.N. Imyanitov // Virchows Arch. – 2014. – Suppl. 465. – S. 255.
19. Matsko, M.V. Expression of some genes in adult supratentorial primitive neuroectodermal tumors / D.E. Matsko, M.V. Matsko, E.N. Imyanitov // Virchows Arch. – 2014. – Suppl. 465. – S.324.
20. Мацко, М.В. Результаты лечения эмбриональных опухолей у взрослых / А.А. Пальцев, А.Ю. Улитин, Д.Е. Мацко // Российский нейрохир. журнал. – Т. VI. –

Спец. выпуск. – Мат. XIII Всероссийской научн.-практ. конференции «Поленовские чтения». – СПб. – 2014. – С. 161–162.

21. Мацко, М.В. Астроцитарные опухоли / А.Ю. Улитин, Д.Е. Мацко, М.В. Мацко // Нейроэпителиальные опухоли головного мозга. – СПб. – 2014. – С. 19–160.

22. Мацко, М.В. Астроцитарные опухоли низкой степени злокачественности (low-grade) / А.Ю. Улитин, Д.Е. Мацко, М.В. Мацко // Нейроэпителиальные опухоли головного мозга. – СПб. – 2014. – С. 161–221.

23. Мацко, М.В. Олигодендроглиальные и астроцитарные опухоли / А.Ю. Улитин, Д.Е. Мацко, М.В. Мацко // Нейроэпителиальные опухоли головного мозга. – СПб. – 2014. – С. 222–252.

24. Мацко, М.В. Эмбриональные опухоли / А.Ю. Улитин, Д.Е. Мацко, М.В. Мацко // Нейроэпителиальные опухоли головного мозга. – СПб. – 2014. – С. 367–423.

25. Matsko, M.V. Expression of some genes in anaplastic gangliogliomas / M.V. Matsko, D.E. Matsko, N.M. Volkov // Journal of Carcinogenesis. – 2015. – V International Conference «Molecular Pathways to Therapeutics: Paradigms and Challenges in Oncology». – P. 19–20.

26. Matsko, M.V. Predictive role of O^6 -methylguanine DNA methyltransferase status for the treatment of brain tumors / M.V. Matsko, E.N. Imyanitov // Epigenetics Territory and Cancer. – Springer – 2015. – pp. 251–279.

27. Мацко, М.В. Изменения молекулярно-генетического профиля у пациентов с глиобластомой после химио- и лучевой терапии / Д.Е. Мацко, М.В. Мацко, А.Ю. Улитин // Российский нейрохир. журнал. – Т. V – Спец. выпуск. – Мат. 14 Всероссийской научн.-практ. конференции «Поленовские чтения». – СПб. – 2015. – С. 137.

28. Мацко, М.В. Изменения молекулярно-генетического профиля в нейроэпителиальных новообразованиях головного мозга после их злокачественной трансформации / Д.Е. Мацко, М.В. Мацко, А.Ю. Улитин // Российский нейрохир. журнал. – Т. V – Спец. выпуск. – Мат. 14 Всероссийской научн.-практ. конференции «Поленовские чтения». – СПб. – 2015. – С. 127.

29. Мацко, М.В. Молекулярно-генетические особенности супратенториальных примитивных нейроэктодермальных опухолей у больных старше 18 лет / Д.Е. Мацко, М.В. Мацко, А.Ю. Улитин // Российский нейрохир. журнал. – Т. V – Спец. выпуск. – Мат. 14 Всероссийской научн.-практ. конференции «Поленовские чтения». – СПб. – 2015. – С. 137.

30. Мацко, М.В. Молекулярно-генетические особенности анапластических ганглиоглиом / М.В. Мацко, Д.Е. Мацко, А.Ю. Улитин // Материалы 7-го Всероссийского съезда нейрохирургов. – Казань – 2015 – С.125.

31. Мацко, М.В. Внутриопухолева гетерогенность в нейроэпителиальных новообразованиях / М.В. Мацко, Д.Е. Мацко, А.Ю. Улитин // Сборник тезисов. 1-й Российский онкологический научно-образовательный форум с международным участием «Белые Ночи». – СПб. – 2015. – С. 249–250.
32. Мацко, М.В. Мультидисциплинарный подход индивидуализация лечения и внутриопухолева гетерогенность в нейроонкологии / М.В. Мацко, К.В. Шелехова, Е.А. Желбунова // Сборник научных трудов всероссийской конференции с международным участием. 5-е научные чтения, посвященные памяти член-корр. РАМН, проф. О.К. Хмельницкого. – СПб. – 2015. – С. 169–171.
33. Matsko, M.V. Changes of a molecular genetic profile in the neuroepithelial tumors in the brain after their malignant transformation / M.V. Matsko, D.E. Matsko, A.Yu. Ulitin // European Journal of Cancer – 2015. – Vol. 51. – Suppl. S3. – S.587.
34. Matsko, M.V. Changes of a molecular genetic profile of patients with a glioblastoma after radiotherapy and chemotherapy / M.V. Matsko, D.E. Matsko, A.Yu. Ulitin // European Journal of Cancer – 2015. – Vol. 51. – Suppl. S3. – S.591.
35. Matsko, M. Immunohistochemical and molecular genetic characterization of multicentric gliomas / M. Matsko // European Journal of Cancer – 2015. – Vol. 51. – Suppl. S3. – S.590.
36. Matsko, M. Intratumor heterogeneity in adult anaplastic gliomas / M. Matsko // European Journal of Cancer – 2015. – Vol. 51. – Suppl. S3. – S.590.
37. Matsko, M.V. Peculiar small blue cell tumor of the brain with prevailing sarcomatous component in a 79-year old man / D.E. Matsko, K.V. Shelekhova, M.V. Matsko // Virchows Archiv. – 2015. – Vol. 467. – Suppl 1. – S.211.
38. Мацко, М.В. Мультидисциплинарный подход в нейронкологии / М.В. Мацко, Д.Е. Мацко, А.Ю. Улитин // Трансляционная медицина – 2015 – прил. 2 – С.73.
39. Мацко, М.В. Иммуногистохимическое и молекулярно-генетическое исследование пациентов с множественными церебральными глиомами / С.А. Мельченко, А.Ю. Улитин, Д.Е. Мацко // Российский нейрохир. журнал. – Т. VII. – Спец. выпуск. – Мат. 15 Всероссийской научн.-практ. конференции «Поленовские чтения». – СПб. – 2016. – С. 146.
40. Matsko, M.V. Transformation of the histological type of diffuse astrocytoma with IDH-mutation in a patient with Gilber's syndrome / D.E. Matsko, M.V. Matsko, A.Yu. Ulitin // Virchows Archiv. – 2016. – Vol. 469. – Suppl 1. – S.175.
41. Мацко, М.В. Предиктивная роль гена MGMT при лечении Темозоломидом больных с глиобластомой / М.В. Мацко, Д.Е. Мацко, В.М. Моисеенко // Мат. XI международного научного конгресса «Рациональная фармакотерапия». – СПб. – 2016. – С. 97–98.

42. **Мацко, М.В. Новая классификация ВОЗ опухолей центральной нервной системы (2016) — вызов нейрохирургам, нейроморфологам и нейроонкологам / Д.Е. Мацко, М.В. Мацко, А.Ю. Улитин // Российский нейрохирургический журнал – 2016 – Т. VIII. – № 3. – С. 5–9.**
43. **Мацко, М.В. К вопросу о так называемых долгоживущих глиобластомах / Д.Е. Мацко, М.В. Мацко, А.Ю. Улитин // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2016. – № 4. – С. 21–25.**
44. **Мацко, М.В. Молекулярная генетика нейроэпителиальных опухолей в свете новой классификации опухолей ЦНС ВОЗ (2016) / М.В. Мацко, Д.Е. Мацко, В.М. Моисеенко // Злокачественные опухоли – 2016 – Т. 21 – № 4, спец. выпуск 1 – С. 297–298.**
45. **Мацко, М.В. Классификация опухолей центральной нервной системы ВОЗ (2016) – текст / Д.Е. Мацко, М.В. Мацко, Е.Н. Имянитов // Российский нейрохирургический журнал. – 2016. – Т. VIII. – № 4. – С. 5–11.**
46. **Мацко, М.В. Нейроонкология / Д.Е. Мацко, М.В. Мацко, Е.Н. Имянитов // Практическая онкология. 2017. – Т. 18. – № 1. – С. 103–114.**
47. **Мацко, М.В. Оптимизация комплексного лечения гемистоцитарных астроцитом / А.А. Зрелов, А.Ю. Улитин, М.В. Мацко // Сборник материалов 5-й научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Трансляционная медицина: от теории к практике». – 2017. – С. 38–39.**
48. **Мацко, М.В. Гемистоцитарные астроцитомы: являются ли они доброкачественными астроцитомами (Grade II)? / А.А. Зрелов, А.Ю. Улитин, М.В. Мацко // Российский нейрохирургический журнал имени проф. А.Л. Поленова. – Том IX (спец. выпуск). – СПб. – 2017. – С. 89.**
49. **Мацко, М.В. Долгоживущие глиобластомы / Д.Е. Мацко, М.В. Мацко, А.Ю. Улитин // Сборник тезисов. 3-й Российский онкологический научно-образовательный форум с международным участием «Белые Ночи». – СПб. – 2017. – С.239–240.**
50. **Мацко, М.В. Реперные точки морфологических аспектов новой классификация опухолей ЦНС (ВОЗ 2016) / Д.Е. Мацко, М.В. Мацко, Е.Н. Имянитов // Сборник тезисов. 3-й Российский онкологический научно-образовательный форум с международным участием «Белые Ночи». – СПб. – 2017. – С. 236.**
51. **Мацко, М.В. Морфологические и молекулярно-генетические особенности гемистоцитарных астроцитом / А.А. Зрелов, А.Ю. Улитин, М.В. Мацко // Сборник тезисов. 3-й Российский онкологический научно-образовательный форум с международным участием «Белые Ночи». – СПб. – 2017. – С. 237.**

52. Мацко, М.В. Клиническое значение изменений морфологических и молекулярно-генетических характеристик у больных с первичной глиобластомой после адьювантной химиолучевой терапии / М.В. Мацко, Д.Е. Мацко, А.Ю. Улитин // Сборник тезисов. 3-й Российский онкологический научно-образовательный форум с международным участием «Белые Ночи». – СПб. – 2017. – С. 239.
53. Matsko, M.V. Proliferative activity (Ki-67) and level of VEGF gene expression in gemistocytic astrocytomas / D.E. Matsko, M.V. Matsko, A.Yu. Ulitin // Virchows Arch. – 2017. – Vol. 471. (Suppl. 1). – S.221.
54. Мацко, М.В. Морфо-молекулярные изменения в первичных глиобластомах после лучевой и химиотерапии / М.В. Мацко, Д.Е. Мацко, А.Ю. Улитин // Сборник тезисов I российско-китайского конгресса нейрохирургов. – Уфа. – 2017. – С. 95.
55. Мацко, М.В. Морфо-молекулярная характеристика гемистоцитарных астроцитом и ее клиническое значение / А.А. Зрелов, М.В. Мацко, Д.Е. Мацко // Сборник тезисов I российско-китайского конгресса нейрохирургов. – Уфа. – 2017. – С. 57.
56. Мацко, М.В. Проблема внутриопухолевой гетерогенности у пациентов с первичными нейроэпителиальными опухолями / А.О. Бакшеева, М.В. Мацко, Д.Е. Мацко // Сборник тезисов I российско-китайского конгресса нейрохирургов. – Уфа. – 2017. – С. 19.
57. Мацко, М.В. Гемистоцитарные астроцитомы: нужна ли комплексная терапия? / М.В. Мацко, Д.Е. Мацко, А.А. Зрелов // Сборник научных материалов XII международного конгресса «Рациональная фармакотерапия». – СПб. – 2017. – С. 110–111.
58. Мацко, М.В. Современные возможности нейроонкоморфологии / Д.Е. Мацко, М.В. Мацко, А.Ю. Улитин // Сборник научных трудов всероссийской конференции с международным участием. 7-е научные чтения, посвященные памяти член-корр. РАМН, проф. О.К. Хмельницкого. – СПб. – 2017 – С. 101–103.
59. **Мацко, М.В. Влияние клинических характеристик и объема циторедукции у больных с первичной глиобластомой на выживаемость свыше 3-х лет / М.В. Мацко, Д.Е. Мацко, Н.М. Волков // *Вопр. онкологии.* – 2017. – Т. 63. – № 6. – С. 907–914.**
60. **Мацко, М.В. Гемистоцитарные астроцитомы: случай из практики и обзор литературы / Д.Е. Мацко, А.А. Зрелов, А.Ю. Улитин // *Архив патологии* – 2018. – № 4. – С. 27–38.**
61. **Мацко, М.В. Проллиферативная активность (Ki-67) и уровень экспрессии гена сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF) в гемистоцитарных**

астроцитомах / А.А. Зрелов, М.В. Мацко, Д.Е. Мацко // Трансляционная медицина. – 2018. – Т. 5. – № 1. – С. 44–52.

62. Мацко, М.В. Клиническое значение морфо-молекулярных характеристик в гемистоцитарных астроцитомах / А.А. Зрелов, М.В. Мацко, Д.Е. Мацко // Российский нейрохирургический журнал имени проф. А.Л. Поленова. – 2018. – Т. 10. – № 1. – С. 17–26.

63. Мацко, М.В. Проблема внутриопухолевой гетерогенности у пациентов с первичными нейроэпителиальными опухолями головного мозга / А.О. Бакшеева, М.В. Мацко, Д.Е. Мацко // Сборник тезисов «Мечниковские чтения». – СПб. – 2018. – С. 199–200.

64. Мацко, М.В. Злокачественная трансформация G1-II глиом головного мозга и зависящие факторы / А.А. Исаев, А.С. Асеева, М.В. Мацко // Сборник тезисов «Мечниковские чтения». – СПб. – 2018. – С. 303.

65. Мацко, М.В. Проблема внутриопухолевой гетерогенности у пациентов со злокачественными астроцитарными опухолями / А.О. Бакшеева, М.В. Мацко, Д.Е. Мацко // Российский нейрохир. журнал. Спец. выпуск. – Мат. 17 Всероссийской научн.-практ. конференции «Поленовские чтения». – СПб. – 2018. – С. 25–26.

66. Мацко, М.В. Клиническое значение морфологических и молекулярно-генетических особенностей гемистоцитарных астроцитом / А.А. Зрелов, А.Ю. Улитин, М.В. Мацко // Российский нейрохир. журнал. Спец. выпуск. – Мат. 17 Всероссийской научн.-практ. конференции «Поленовские чтения». – СПб. – 2018. – С. 94.

67. Мацко, М.В. Морфологические и молекулярно-генетические особенности первичных глиобластом у пациентов с необычно высокой продолжительностью жизни / М.В. Мацко, Д.Е. Мацко, Н.М. Волков // Сибирский онкологический журнал. – 2019. – Т.18. – №3. – С. 34–44.

68. Мацко, М.В. Супратенториальные эмбриональные опухоли у взрослых / М.В. Мацко, Д.Е. Мацко, Е.Н. Имянитов // Российский нейрохир. журнал. Спец. выпуск. – Мат. 18 Всероссийской научн.-практ. конференции «Поленовские чтения». – СПб. – 2019. – С. 290-291.

69. Мацко, М.В. Отличия клинических, нейровизуализационных и морфо-молекулярных характеристик гемистоцитарных астроцитом от диффузных астроцитом и анапластических астроцитом / А.А. Зрелов, А.Ю. Улитин, М.В. Мацко // Российский нейрохир. журнал. Спец. выпуск. – Мат. 18 Всероссийской научн.-практ. конференции «Поленовские чтения». – СПб. – 2019. – С. 139.

70. Мацко, М.В. Особенности лечения пациентов с глиобластомой с учетом молекулярной генетики опухоли / М.В. Мацко, Д.Е. Мацко, А.Ю. Улитин //

Российский нейрохир. журнал. Спец. выпуск. – Мат. 18 Всероссийской научн.-практ. конференции «Поленовские чтения». – СПб. – 2019. – С. 145.

71. Мацко, М.В. Случай длительной продолжительности жизни (более 10 лет) у пациента с первичной глиобластомой с мутацией в гене IDH1(R132H) после лучевой и химиотерапии без хирургического удаления опухоли / М.В. Мацко, Д.Е. Мацко, Е.Н. Имянитов // Российский нейрохирургический журнал имени проф. А.Л. Поленова. – 2019. – Т. 11. №3. С. 67-72.

Список сокращений

АА – анапластическая астроцитома (grade III)
АГГ – анапластическая ганглиоглиома (grade III)
АОДГ – анапластическая олигодендроглиома (grade III)
БПЖ – безрецидивная продолжительность жизни
ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
ГБ – глиобластома (grade IV)
ГГ – ганглиоглиома (grade I)
ДА – диффузная астроцитома (grade II)
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
ИГХ – иммуногистохимия
ЛТ – лучевая терапия
МРТ – магнитно-резонансная томография
ОДГ – олигодендроглиома (grade II)
ОПЖ – общая продолжительность жизни
ПЦР – полимеразная цепная реакция
ПЭТ – позитронно-эмиссионная томография
РНК – рибонуклеиновая кислота
СТБ – стереотаксическая биопсия
ХТ – химиотерапия
ЦНС – центральная нервная система
ЦНС-ГНБ – ганглионейробластома центральной нервной системы (grade IV)
ЦНС-НБ – нейробластома центральной нервной системы (grade IV)
βIII-тубулин – ген βIII-тубулин, субъединица димерного белка тубулина
C-kit – ген C-kit, рецептор активации фактора роста стволовых клеток
EGF – ген EGF, эпидермальный фактор роста
ERCC1 – ген ERCC1, фермент комплементарной эксцизионной репарации ДНК
IDH – ген IDH, изоцитрат дегидрогеназа
Ki-67 – ядерный протеин, индекс пролиферативной активности

MGMT – ген MGMT, метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза
PDGFR- α – ген PDGF, рецептор тромбоцитарного фактора роста α
RANO – Response Assessment in Neuro-Oncology Working Group
TP – ген TP, тимидин-фосфорилаза
TOP2A – ген TOP2A, топоизомераза 2-альфа
VEGF – ген VEGF, сосудистый эндотелиальный фактор роста
WT – отсутствие мутации (wild type)

Благодарность

Выражаю глубокую благодарность научным консультантам диссертационной работы член-корреспонденту РАН, доктору медицинских наук, профессору Имянитову Евгению Наумовичу и доктору медицинских наук Улитину Алексею Юрьевичу.

Отдельная благодарность доктору медицинских наук, профессору Мацко Дмитрию Евгеньевичу за совместный научный труд и оказанную поддержку.

Приношу глубокую признательность сотрудникам научного отдела биологии опухолевого роста ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России и сотрудникам нейрохирургического отделения №4 «РНХИ им. проф. А.Л. Поленова» – филиала ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, и лично доктору медицинских наук, профессору Ивановой Наталье Евгеньевне.

Искренне признательна кандидату медицинских наук Желбуновой Елене Алексеевне и кандидату медицинских наук Иевлевой Аглае Геннадиевне за совместную работу.

Выражаю благодарность Кнорринг Вере и Лудзскому Сергею за неоценимую помощь в подготовке рукописи к печати.

Подписано в печать «26» ноября 2019г. Формат 60x84/16

Бумага офсетная. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 2,8. Тираж 100 экз. Заказ № 1423

Отпечатано в ООО «Дизайн-Плюс»,

ул. Кронверская, д.21