

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ИМЕНИ
В. А. АЛМАЗОВА» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

СКЛЯР
СОФЬЯ СЕРГЕЕВНА

ВЛИЯНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ
ХАРАКТЕРИСТИК НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ БОЛЬНЫХ С
ПЕРВИЧНОЙ ГЛИОБЛАСТОМОЙ ДО И ПОСЛЕ РЕЦИДИВА

14.01.18 – нейрохирургия

14.01.12 – онкология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:
доктор медицинских наук, доцент
Улитин Алексей Юрьевич

доктор медицинских наук
Мацко Марина Витальевна

Санкт-Петербург

2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	15
1.1. Первичная глиобластома: молекулярно-генетические и морфологические особенности, и их клиническое значение	15
1.1.1. Значение мутаций в генах IDH1 и IDH2 для пациентов с первичной глиобластомой	16
1.1.2. Значение гена MGMT в комбинированном лечении пациентов с первичной глиобластомой	17
1.1.3. Роль других генов в патогенезе глиобластомы	22
1.1.4. Морфологические особенности первичной глиобластомы и их значение в прогнозе заболевания	25
1.2. Рецидивирование первичной глиобластомы	26
1.2.1. Современное представление о рецидивировании первичной глиобластомы	27
1.2.2. Комбинированное лечение пациентов с рецидивирующей глиобластомой	34
РЕЗЮМЕ	38
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	40
2.1. Общая характеристика исследования и клинических наблюдений	40
2.2. Характеристика методов лечения	43
2.3. Методика патологоанатомического исследования	48
2.4. Методика молекулярно-генетического исследования	49
2.5. Методика статистической обработки данных	52
ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ КАРТИНА ПАЦИЕНТОВ, МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОПУХОЛИ ДО РЕЦИДИВА. ЛЕЧЕНИЕ В ПЕРВОЙ ЛИНИИ	54

3.1. Клинические характеристики пациентов с первичной глиобластомой и их влияние на медиану первого безрецидивного периода.....	54
3.2. Частота уровней экспрессии мРНК генов: MGMT, VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1, TOP2A и мутаций в генах IDH1 и IDH2 в материале от первой операции и их роль в прогнозе заболевания	59
3.3. Морфологические характеристики в материале от первой операции	66
3.4. Влияние проводимого лечения (хирургическое лечение, лучевая терапия и химиотерапия) на медиану первого безрецидивного периода	67
РЕЗЮМЕ.....	75
ГЛАВА 4. КЛИНИЧЕСКАЯ КАРТИНА ПАЦИЕНТОВ, МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОПУХОЛИ	77
ПОСЛЕ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ.	77
ЛЕЧЕНИЕ ВО ВТОРОЙ ЛИНИИ	77
4.1. Клинические характеристики пациентов с первичной глиобластомой после рецидива их влияние на медиану второго безрецидивного периода ...	77
4.2. Частота уровней экспрессии мРНК генов: MGMT, VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1, TOP2A и мутаций в генах IDH1 и IDH2 в материале от второй операции и их роль в прогнозе заболевания. Изменение молекулярно-генетических характеристик опухоли после прогрессирования заболевания	82
4.3. Морфологические особенности опухоли после рецидивирования первичной глиобластомы	95
4.4. Влияние проводимого лечения на медиану второго безрецидивного периода.....	98
РЕЗЮМЕ.....	104
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	124
ВЫВОДЫ	138
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	140
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	141
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	159

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- БРП – безрецидивный период
- ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
- ИГХ – иммуногистохимическое исследование
- ЛТ – лучевая терапия
- МРТ – магнитно-резонансная томография
- ПНЭО – примитивные нейроэктодермальные опухоли
- ПХТ – полихимиотерапия
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- ПЭТ – позитронно-эмиссионная томография
- ХТ – химиотерапия
- ЦНС – центральная нервная система
- β III-тубулин – ген β III-тубулин, субъединица димерного белка тубулина
- CD – кластер дифференцировки
- ERCC1 – ген ERCC1, фермент комплементарной эксцизионной репарации ДНК (Excision Repair Cross-Complementing gene 1)
- G – степень анаплазии (grade)
- GFAP – глиальнофибрилярный кислый белок (Glial Fibrillary Acidic Protein)
- IDH – ген IDH – изоцитрат дегидрогеназа (isocitrate dehydrogenase)
- Ki-67 – ядерный протеин, индекс пролиферативной активности
- MGMT – ген MGMT, O⁶-метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза
- NSE – антитело, нейрон специфическая энолаза
- PDGFR – ген PDGF, рецептор тромбоцитарного фактора роста (Platelet- Derived Growth Factor Receptor)
- Syn – синаптофизин
- TP 53 – ген-супрессор TP 53 (protein p53)
- TOP2A – ген TOP2A, топоизомераза 2-альфа (Topoisomerase-2- α)
- VEGF – ген VEGF, сосудистый эндотелиальный фактор роста (Vascular Endothelial Growth Factor)

wt – аллель дикого типа (wild type)

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

По данным Регистра Опухолей Мозга США 2019 года, глиобластома является самой распространенной злокачественной опухолью центральной нервной системы, составляя 14,6% среди всех интракраниальных образований и 48,3% от первичных злокачественных новообразований головного и спинного мозга (Ostrom Q.T. et al., 2019). Ежегодно выявляется около 3-4 новых случаев на 100 000 населения (Louis D.N. et al., 2016; Ostrom Q.T. et al., 2019). Показатели выживаемости пациентов с глиобластомой до сих пор остаются весьма невысокими: даже при комплексном подходе в лечении менее 7% больных преодолевают рубеж 5-летней выживаемости (Ostrom Q.T. et al., 2019). В среднем безрецидивный период составляет от 6 до 9 месяцев, а общая выживаемость – от 9,5 до 16 месяцев после установления диагноза (Gilbert M.R. et al., 2014; Norohe D.S. et al., 2016).

Согласно клиническим рекомендациям от 2020 года, одобренным научным советом Министерства здравоохранения Российской Федерации, лечение пациентов с глиобластомой включает максимально-радикальное хирургическое удаление, лучевую терапию в комбинации с противоопухолевой лекарственной терапией и дальнейшую химиотерапию препаратом темозоломид. В последние годы в медицинской литературе стали появляться научные работы, демонстрирующие лишь умеренное прогностическое значение тотальной резекции глиобластомы при проведении современного комбинированного лечения (Glas M. et al., 2009; Zhang C. et al., 2010; Amelot A. et al., 2015; Ringel F. et al., 2015; Gessler F. et al., 2018). В это же время ген MGMT продолжает подтверждать позицию единственного предиктивного маркера при лечении данной патологии (Мацко М.В. с соавт., 2019; Yu W. et al., 2019; Lukas R.V. et al., 2019; Schaffl R. et al., 2020). Остается невыясненным влияние степени резекции

на длительность первого безрецидивного периода в зависимости от молекулярных характеристик глиобластомы.

В настоящее время в нейроонкологии выделяют только два молекулярных биомаркера, играющих первостепенную роль в прогнозе и лечении пациентов с первичной глиобластомой – гены IDH1, IDH2 и MGMT. При этом в современной литературе подчеркивается важное значение в патогенезе глиобластомы таких генов как VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1 и TOP2A (Chen D. et al., 2013; Ferguson S.D. et al., 2016; Veganzones S. et al., 2017; Qian T. et al., 2017; Wick A. et al., 2018; Zhou T. et al., 2018). Однако из всех перечисленных генов изучалась роль только VEGF и PDGFRA в прогнозе заболевания. Причем, если некоторые исследователи подтверждают их влияние на выживаемость пациентов с первичной глиобластомой, то другие считают его незначительным (Martinho O. et al., 2009; Sjostrom S. et al., 2011; Chen D. et al., 2013; Veganzones S. et al., 2017). Таким образом, влияние генов VEGF и PDGFRA на прогноз заболевания у пациентов с глиобластомой остается до конца неизученным.

Несмотря на адекватное комплексное лечение, рецидивирование первичной глиобластомы в настоящее время неизбежно. Фундаментальные представления о биологии данного процесса только начинают формироваться. Благодаря небольшому количеству проведенных исследований, уже возникает понимание, что первичная и рецидивирующая глиобластомы обладают различными не только морфологическими, но и молекулярно-генетическими чертами (Andor N. et al., 2014; Marucci G. et al., 2015; Kim H. et al., 2015; Kim J. et al., 2015; Campos B. et al., 2016). Некоторые авторы предполагают возможное влияние химиотерапии на возникновение новых мутаций и изменение уровня активности некоторых генов в рецидивирующей глиобластоме (Kim H. et al., 2015; Kim J. et al., 2015). При этом число работ, посвященных изучению динамики экспрессии гена MGMT на фоне терапии темозоломидом, невелико. Существует предположение, что уровень активности гена должен уменьшаться на фоне терапии, однако убедительного подтверждения этому факту нет (Брюховецкий А.С. с соавт., 2011). Остается нерешенным вопрос о характере изменения уровня экспрессии гена MGMT в

зависимости от количества циклов темозоломида, а также других генов (VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1 и TOP2A), играющих важную роль в патогенезе глиобластомы, при рецидивировании первичной опухоли.

Лечение пациентов с рецидивирующей глиобластомой является сложной проблемой в нейроонкологии. Четкие стандарты терапии после рецидива не определены, а большинство из сравнительно небольшого числа существующих на медицинском рынке препаратов отличаются выраженной токсичностью, что обуславливает необходимость более избирательного назначения их пациентам. Ситуация осложняется тем, что в современной литературе появляются исследования, подчеркивающие потерю предиктивной значимости гена MGMT при рецидивировании первичной глиобластомы (Sadones J. et al., 2009; Quick J. et al., 2014), а роль генов IDH1 и IDH2 после прогрессирования заболевания остается неизвестной.

Таким образом, в настоящее время отсутствуют биомаркеры прогноза при рецидивировании первичной глиобластомы, что делает актуальным определение значения генов VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1 и TOP2A в выживаемости пациентов. Изучение процессов рецидивирования первичной глиобластомы и влияющих на них факторов является актуальной проблемой в нейроонкологии, решение которой будет способствовать лучшему пониманию прогноза заболевания и формированию нового индивидуализированного подхода в лечении пациентов с первичной глиобластомой.

Степень разработанности темы

В современной научной литературе все чаще поднимается вопрос о влиянии степени резекции опухоли на выживаемость пациентов с глиобластомой в условиях комплексной стандартной терапии (Amelot A. et al., 2015; Ringel F. et al., 2015; Kim Y.J. et al., 2019; Lukas R.V. et al., 2019). В то же время многочисленные исследования последних лет подтверждают приоритетную роль биомаркеров в определении прогноза заболевания (Matsko M.V. et al. 2015; Louis D.N. et al., 2016;

Yu W. et al., 2019; Lukas R.V. et al., 2019; SchaffL R. et al., 2020). Во многих публикациях проводится анализ влияния степени резекции опухоли на выживаемость в зависимости от молекулярно-генетического статуса глиобластомы (Gessler F. et al., 2018; Marchi F. et al., 2020), однако данный вопрос остается до конца не изучен.

Подход к лечению пациентов с рецидивирующей глиобластомой разработан недостаточно. Применение имеющихся на сегодняшний день противоопухолевых препаратов не приводит к желаемым результатам вследствие биологической склонности опухоли к рецидивам (Arakawa Y. et al., 2013; Roy S. et al., 2015; Wang Y. et al., 2017; Kim M.M. et al., 2018). Связано это, в первую очередь, с недостаточно полным представлением о патогенезе рецидивирования глиобластомы. Проведенные немногочисленные исследования показали, что при прогрессировании заболевания генетический статус опухоли изменяется (Andor N. et al., 2014; Marucci G. et al., 2015; Kim H. et al., 2015; Kim J. et al., 2015), помимо этого, в некоторых работах прослеживается потеря предиктивной значимости гена MGMT (Sadones J. et al., 2009; Quick J. et al., 2014). Поиск новых биомаркеров прогноза при рецидивировании глиобластомы является актуальной задачей в нейроонкологии.

Недостаточно внимания уделено влиянию таких клинических параметров, как возраст пациента, его функциональный статус и нейровизуализационные характеристики опухоли – её размеры, распространённость опухолевого процесса и локализация рецидива опухоли – на продолжительность жизни больных после прогрессирования (Audureau E. et al., 2018; Seyve A. et al., 2020; Birzu C. et al., 2021).

Цель исследования

Улучшение результатов лечения пациентов с первичной глиобластомой на основе изучения молекулярно-генетических особенностей опухоли

Задачи исследования

1. Исследовать зависимость медианы первого безрецидивного периода от степени резекции опухоли с учетом уровня экспрессии мРНК гена MGMT.
2. Оценить влияние степени резекции опухоли на медиану второго безрецидивного периода.
3. Выявить зависимость первого и второго безрецидивных периодов от функционального статуса по шкале Карновского в послеоперационном периоде.
4. Изучить влияние локализации рецидива опухоли на медиану второго безрецидивного периода
5. Провести анализ изменения уровней экспрессии мРНК генов MGMT, VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1, TOP2A и наличия мутаций в генах IDH1 и IDH2 после рецидива глиобластомы.
6. Определить влияние экспрессии мРНК генов MGMT, VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1, TOP2A и мутаций в генах IDH1 и IDH2 на медиану второго безрецидивного периода.

Научная новизна

Определено влияние степени резекции опухоли, проведения лучевой и химиотерапии на длительность первого безрецидивного периода в зависимости от активности гена MGMT.

Проведена оценка медианы первого и второго безрецидивных периодов в зависимости от послеоперационного функционального статуса по шкале Карновского.

Изучена зависимость первого безрецидивного периода от уровня экспрессии мРНК генов VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1, TOP2A.

Проведен сравнительный анализ уровней экспрессии генов MGMT, VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1, TOP2A до и после рецидива опухоли в зависимости от возраста пациентов.

Выявлены новые молекулярно-генетические маркеры прогноза заболевания после рецидивирования первичной глиобластомы – ген PDGFRA и ген TOP2A.

Оптимизирован алгоритм персонифицированного подхода в лечении пациентов с первичной глиобластомой до и после рецидива.

Теоретическая и практическая значимость

Сохранение высокого функционального статуса по шкале Карновского у пациентов в послеоперационном периоде должно быть одним из определяющих факторов при планировании хирургического лечения.

Анализ результатов проведенного исследования подчеркивает необходимость проведения молекулярно-генетического анализа не только после первой операции, но и после рецидива опухоли. Это позволяет прогнозировать течение заболевания и определить тактику лечения в каждом конкретном случае, поскольку индивидуализированный подход способствует увеличению продолжительности жизни пациентов с первичной глиобластомой.

Для пациентов с неблагоприятным прогнозом при высоком уровне экспрессии гена MGMT в опухоли, проведение тотального удаления новообразования позволяет увеличить первый безрецидивный период более, чем на 4,5 месяца. Потенциальная чувствительность к темозоломиду у больных с низкой экспрессией гена MGMT способствует лучшим показателям выживаемости даже при нерадикальном удалении опухоли ($p=0,05$; 59,5 vs 38,5 недель). Добавление к лучевой терапии темозоломида (75мг/м², внутрь, ежедневно) приводит к увеличению первого безрецидивного периода более, чем на 6,9 месяцев, но только у больных с низкой экспрессией гена MGMT в опухоли.

Низкий уровень экспрессии гена TOP2A и низкий/средний уровни экспрессии гена PDGFRA являются биомаркерами благоприятного прогноза

после рецидива заболевания. Наличие данных молекулярно-генетических характеристик со статистической достоверностью увеличивает второй безрецидивный период на 5,7 и 2 месяца, соответственно.

После рецидива заболевания проведение тотальной циторедукции способствует увеличению второго безрецидивного периода на 1,2 месяца. Также при прогрессировании заболевания возрастает прогностическое значение таких характеристик, как возраст пациента ($p=0,07$) и распространённость опухолевого процесса ($p=0,09$) в отличие от оценки прогноза в первой линии, где ключевая роль принадлежит молекулярно-генетическим характеристикам и интенсивности проводимой терапии.

Методология и методы исследования

Методология исследования базируется на комплексном подходе к лечению пациентов с первичной глиобластомой до и после рецидива с учетом молекулярно-генетических особенностей опухоли.

Проведен анализ клинических проявлений, особенностей нейровизуализационной картины, изменений молекулярно-генетического статуса опухоли при рецидивировании заболевания, а также оценивались результаты лечения с учетом экспрессии некоторых генов.

Объект исследования – пациенты с первичной глиобластомой с подтвержденным рецидивом заболевания.

Предмет исследования – клинические, нейровизуализационные, морфологические, а также молекулярно-генетические особенности опухоли, результаты комплексного лечения пациентов.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Степень резекции первичной глиобластомы влияет на длительность первого безрецидивного периода только у пациентов неблагоприятной прогностической группы – с высоким уровнем экспрессии мРНК гена MGMT.

2. Проведение совместной химиолучевой терапии после хирургического лечения увеличивает медиану первого безрецидивного периода преимущественно у пациентов с низкой экспрессией мРНК гена MGMT.

3. При рецидивировании глиобластомы изменение уровня экспрессии генов VEGF, PDGFRA, ERCC1 и TOP2A связано с возрастом пациентов: у пациентов моложе 50 лет чаще изменяется экспрессия гена TOP2A, а старше 50 лет – экспрессия генов VEGF, PDGFRA и ERCC-1. Гены IDH1 и MGMT теряют свое прогностическое и предиктивное значение, в то время как гены TOP2A и PDGFRA становятся прогностически важными.

4. В первичных глиобластомах с примитивным нейрональным компонентом с каждым последующим рецидивом меняется гистологическая структура опухоли с утратой ее «эмбриональной» порции.

Степень достоверности и апробация результатов

Степень достоверности полученных результатов определяется репрезентативным объемом выборок пациентов и применением современных методов исследования, подтверждена методами статистической и математической обработки полученных данных.

Основные положения и результаты были представлены на III и IV Петербургских Международных онкологических форумах «Белые ночи» (2017, и 2018 г., СПб), XII Международном научном конгрессе «Рациональная фармакотерапия» (2017 г., СПб), I Российско-китайском конгрессе нейрохирургов (2017 г., Уфа), Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Мечниковские чтения» (2018 г., СПб), Всероссийские научно-практические конференции «Поленовские чтения» (2018, 2019, 2020, 2021 гг., СПб), Всероссийские съезды нейрохирургов (2018 г., СПб, 2021 г., Москва).

Достоверность полученных результатов подтверждена современными методами статистического анализа.

Научные публикации

По теме диссертационного исследования опубликовано 12 научных работ, в том числе 2 работы в журналах, рекомендованных перечнем ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации для публикации основных результатов диссертационного исследования.

Внедрение результатов работы в практику

Основные положения диссертации и полученные результаты внедрены в клиническую практику 4 нейрохирургического отделения «РНХИ им. проф. А.Л. Поленова» (филиал ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова»), ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)», ГБУЗ «Ленинградская областная клиническая больница».

Материал и результаты представленной диссертации введены в учебный план кафедры нейрохирургии Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова».

Структура и объем диссертации

Диссертация включает в себя введение, 4 главы исследовательской части, заключение, выводы, практические рекомендации, список литературы (160 источников, из них 11 отечественных и 149 зарубежных) и приложения. Работа изложена на 162 страницах машинописного текста, дополнена 54 рисунками и 35 таблицами.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Первичная глиобластома: молекулярно-генетические и морфологические особенности, и их клиническое значение

Первичная глиобластома занимает третьем месте по частоте встречаемости среди первичных интракраниальных новообразований, уступая лишь менингиоме и аденоме гипофиза (Louis D.N. et al., 2016; Ostrom Q.T. et al., 2019). В группе первичных злокачественных новообразований головного и спинного мозга глиобластома является самой распространенной опухолью, составляя 48,3% (Ostrom Q.T. et al., 2019). В настоящее время диагноз «первичная глиобластома», как для пациента, так и для лечащего врача, является малоперспективным. Несмотря на проводимое комплексное лечение, данная опухоль всегда рецидивирует, и продолжительность жизни редко достигает 3-х лет.

Частота заболеваемости глиобластомой незначительно отличается среди мужчин и женщин: соотношение составляет 1.58/1 (Louis D.N. et al., 2016; Ostrom Q.T. et al., 2019). Количество случаев выявления первичной глиобластомы увеличивается с возрастом населения с пиком заболеваемости 55 до 84 лет (Louis D.N. et al., 2016).

Активное изучение генетических характеристик первичной глиобластомы в последнее время позволило значительно расширить наши знания о биологии этой опухоли. Выявленные за последние полтора десятилетия молекулярные биомаркеры не только внесли определенную ясность в патогенез глиобластомы, но и доказали свое значение в прогнозе и лечении пациентов (Hegi M.E. et al., 2005; Parson D.W. et al., 2008; Yan H. et al., 2009; Matsko M.V. et al. 2015; Louis D.N. et al., 2016).

Значительное внимание по-прежнему уделяется морфологическим особенностям первичной глиобластомы (Joseph N.M. et al., 2013; Louis D.N. et al., 2016; Мацко М.В. с соавт., 2019), продолжают дискуссии о их роли в прогнозе заболевания. Открытие новых гистологических подтипов первичной глиобластомы сводится к необходимости формирования более индивидуализированного

подхода в лечении пациентов, что в результате должно привести к увеличению продолжительности жизни больных (Perry A. et al., 2009; Prelaj A. et al., 2018).

1.1.1. Значение мутаций в генах IDH1 и IDH2 для пациентов с первичной глиобластомой

В настоящее время наличие мутаций в генах IDH1 или IDH2 является единственным прогностическим генетическим маркером для пациентов с первичной глиобластомой (Parson D.W. et al., 2008; Yan H. et al., 2009; Sarmiento J.M. et al., 2016; Мацко М.В. с соавт., 2019). Многочисленные исследования подтвердили, что показатели выживаемости пациентов с глиобластомой без мутаций в генах IDH1 и IDH2, независимо от проводимого лечения, существенно ниже, чем с присутствием указанной альтерации (Amelot A. et al., 2015; Sarmiento J.M. et al., 2016; Louis D.N. et al., 2016; Мацко М.В. с соавт., 2019). Данный факт отразился в классификации ВОЗ опухолей головного и спинного мозга 2016, согласно которой выделяют 2 биологических подтипа первичной глиобластомы: с наличием мутации в генах IDH1 или IDH2 и без мутации в них (дикий тип IDH) (Louis D.N. et al., 2016). Встречаемость этих альтераций среди пациентов с первичной глиобластомой невысока, она составляет 2 – 12% случаев, при этом в большинстве наблюдений определяется повреждение гена IDH1 (Amelot A. et al., 2015; Sarmiento J.M., 2016; Мацко Д.Е. с соавт., 2017; Мацко М.В. с соавт., 2019). При наличии мутаций в генах IDH1 или IDH2 происходит замена только одного азотистого основания, однако это приводит к нарушению функционирования кодируемого белка. В результате в клетке накапливается 2-гидроксиглутаровая кислота, общепризнанный канцерогенный метаболит, вызывающий дезрегуляцию метаболических процессов, проявляющуюся, в первую очередь, бесконтрольным метилированием гистонов и генов (Dang L. et al., 2009). В исследовании M. Gareett с соавт. (2018) подчеркивают, что опухолевые клетки, содержащие мутаций в генах IDH1 или IDH2, имеют активно функционирующую систему эксцизионной репарации ДНК (base excision repair).

Отсутствие aberrаций в генах IDH1 и IDH2 наблюдается примерно в 90% случаев глиобластом (Louis D.N. et al., 2016; Мацко М.В. с соавт., 2019). На сегодняшний день роль этих генов (без мутаций в них) пока остается до конца не изученной. При этом существует мнение, что опухолевые клетки с диким типом генов IDH1 или IDH2 отличаются быстрым синтезом новых нуклеотидов (Garett M. et al., 2018).

Существует мнение, что гены IDH1 или IDH2 оказывают влияние и на распространенность процесса. В научной литературе есть данные, что глиобластомы без мутаций в генах IDH1 и IDH2 наиболее часто поражают несколько долей и базальные структуры головного мозга, в то время как опухоли с мутацией имеют более ограниченную локализацию и в большинстве случаев располагаются в лобной доле головного мозга (Paldor I. et al., 2016; A. Roux et al., 2019). Таким образом, возможность радикального удаления глиобластом при наличии альтерации в генах IDH1 и IDH2 повышается, что также может обуславливать более хороший прогноз. Также отмечается, что глиобластомы без мутаций в генах IDH1 и IDH2 преимущественно встречаются у больных старшего возраста, в то время как опухоли с наличием альтерации в генах IDH1 и IDH2 в большинстве случаев, как правило, регистрируются у более молодых пациентов (Barresi A. et al., 2019).

1.1.2. Значение гена MGMT в комбинированном лечении пациентов с первичной глиобластомой

Изучение роли гена MGMT началось в 70-х годах прошлого века. Первой работой следует считать исследование L. Samson и J. Cairns (1977). Был открыт фермент ada (Об-алкилгуанин-трансфераза) в кишечной палочке, который распознает алкильную группу на основании ДНК и удаляет ее, возвращая, тем самым, нуклеиновую кислоту в исходную форму. Через несколько лет в другом исследовании был описан тот же механизм восстановления структуры ДНК в клетках млекопитающих и дано название ферменту – «Об-метилгуанин-ДНК-

метилтрансфераза» (MGMT) (Olson M. et al. 1980). Указанный фермент переносит алкильную группу из позиции O6-гуанина на свой собственный цистеиновый остаток, после чего необратимо инактивируется. Но, как оказалось позднее, участие гена MGMT в защите нормальной клетки от повреждающего действия алкилирующих мутагенов становится неблагоприятным событием при проведении химиотерапии.

С 2007 года, согласно рекомендациям NICE (National Institute of Health and Care excellence), основным препаратом первой линии химиотерапии пациентов с первичной глиобластомой является «Темозоломид», эффект которого обусловлен алкилированием гуанина в положение O6 и N7 (Stupp R. et al., 2005; Kaina B. et al., 2019). Несмотря на то, что в результате действия темозоломида образуется большое количество N7-метилгуанина (80 – 85%), главным цитотоксическим повреждением является алкилирование гуанина в положении O6 (Beranek D.T. et al., 1990; Kaina B. et al., 2019). Одна из особенностей образовавшегося основания – возможность репарации только прямым деметилированием при участии метилгуанин-ДНК-трансферазы (MGMT). Таким образом, при высокой активности гена MGMT в опухолевой ткани назначение препарата темозоломид является малооправданным или, по меньшей мере, сомнительным (Hegi M.E. et al., 2005; Matsko M.V. et al. 2015). Согласно классификации ВОЗ опухолей ЦНС 2016 года, в настоящее время ген MGMT является единственным предиктивным маркером в лечении пациентов с глиобластомой (Louis D.N. et al., 2016).

В эпоху комбинированного лечения с использованием препарата темозоломид стали появляться исследования, демонстрирующие лишь умеренный благоприятный прогноз в отношении тотальной циторедукции первичной глиобластомы (Glas M. et al., 2009; Zhang C. et al., 2010; Amelot A. et al., 2015; Ringel F. et al., 2015; Kim Y.J. et al., 2019; Gessler F. et al., 2019). Учитывая инфильтративный рост глиобластомы и нередкую локализацию опухоли в функционально значимых зонах головного мозга с высоким риском развития после операции неврологических осложнений и снижение качества жизни, вопрос о влиянии радикальности операции на продолжительность жизни пациентов

особенно актуален. В настоящее время лишь в нескольких исследованиях проводился анализ влияния степени резекции на выживаемость пациентов с учетом оценки гена MGMT в опухоли (Kreth F-W. et al., 2013; Gessler F. et al., 2018; Marchi F. et al., 2020) (Таблица 1).

Таблица 1 – Влияние степени резекции первичной глиобластомы на выживаемость пациентов при оценке активности гена MGMT в опухоли (обзор литературы)

Исследование	ген MGMT	число больных	средний возраст	безрецидивная выживаемость (месяцы)			общая выживаемость (месяцы)		
				степень резекции			степень резекции		
				тотальная	субтотальная и частичная	биопсия	тотальная	субтотальная и частичная	биопсия
F.-W. Kreth et al. 2013	метилирован	83	61	15,0	н/д	12,0	33,2	24,4	26,2
	неметилирован	108		5,7	н/д	н/д	14,4	12,6	9,8
F. Gessler et al. 2018	метилирован	80	61	13,3	8,8	-	27,6	17,4	-
	неметилирован	95		9,0	8,5	-	17,0	12,8	-
F. Marchi et al. 2020	метилирован	41	59	9,0	13,0	5,0	19,0	31,8	21,0
	неметилирован	71		7,0	7,0	3,0	16,0	13,0	9,0

Примечание: н/д – нет данных

Во всех работах с разным объемом резекции опухоли у пациентов с низкой активностью гена MGMT показатели выживаемости выше. Особое внимание привлекает работа F. Marchi (2020), где не выявлено влияния объема удаленной опухоли в группе пациентов с метилированным MGMT, и в тоже время у больных с неметилированным MGMT в глиобластоме прослеживается корреляция между степенью удаления опухоли и продолжительностью жизни. Исследования по этому вопросу продолжаются. Тем не менее, интраоперационные тесты для определения активности MGMT пока не разработаны. Согласно работе I. Paldor с соавт. (2016) наиболее частой локализацией глиобластомы с низкой активностью MGMT является лобная доля головного мозга, тогда как опухоли с высокой активностью гена поражают несколько долей (Paldor I. et al, 2016). С другой стороны, A. Roux с соавт. (2019) в своем исследовании не подтвердили это положение (Roux A. et al, 2019). Таким образом, в настоящее время «золотым стандартом» пока еще остается максимально возможное удаление опухоли.

В современной литературе существует мало информации о влиянии гена MGMT на результаты проведения радиотерапии. В частности, M.E. Hegi с соавт. (2005) в исследовании 2005 года показали, что при низкой активности гена MGMT проведение радиотерапии без сопутствующей или последующей химиотерапии приводит к увеличению выживаемости пациентов (Hegi M.E. et al., 2005).

Учитывая важную роль гена MGMT в определении тактики лечения пациентов с первичной глиобластомой, актуальным в современной нейроонкологии является изучение и совершенствование методов определения его активности. Наиболее распространённый из них – определение метилирования промотора гена – возможно потому, что данный механизм его инактивации изучен наиболее подробно (Esteller M. et al., 1999; Hegi M.E. et al., 2005). Однако, согласно исследованию F. Marchi с соавт. (2020) примерно у 20% всех пациентов с отсутствием метилирования MGMT показывают ответ опухоли на химиотерапию препаратом темозоломид (Marchi F. et al., 2020). Впоследствии было доказано, что метилирование промоторной области является не

единственным механизмом инактивации гена (Стрельников В.В. и соавт., 2011). Кроме того, было установлено, что не все цитозинные основания участвуют в регуляции транскрипции, поэтому многие случаи метилирования могут не быть связаны напрямую со статусом экспрессии гена (Everhard S. et al., 2009; Kreth S. et al., 2011; Shah N. et al., 2011). Таким образом, в настоящее время наиболее достоверным методом диагностики активности MGMT является анализ экспрессии мРНК гена MGMT (Kreth S. et al., 2011; McLendon R. et al., 2013).

По данным литературы, у 40 – 50% пациентов с первичной глиобластомой регистрируется низкая активность гена MGMT, и при их лечении темозоломидом можно ожидать получение объективного ответа на терапию (Louis D.N. et al., 2016). У оставшейся части больных с потенциально неблагоприятным прогнозом возрастает значимость объема циторедукции опухоли в плане повышения их выживаемости. Современная медицина на сегодняшний день предлагает в таких случаях и другие методы лечения, например, протонная терапия и таргетные препараты.

1.1.3. Роль других генов в патогенезе глиобластомы

Сосудистый эндотелиальный фактор роста (Vascular endothelium growth factor – VEGF) и его рецепторы являются ключевыми участниками неоангиогенеза, поддерживающими развитие, рост и прогрессирование любой опухоли, включая и глиобластому (Veganzones S. et al., 2017; Kim M.M. et al., 2018). Ген VEGF, активируясь в условиях гипоксии, приобретает выраженную митогенную активность, активирует механизмы, приводящие к миграции и инвазии клеток эндотелия, повышает сосудистую проницаемость, что приводит к появлению значительного перитуморозного отека (Plate K.H. et al., 1994; Улитин А.Ю. с соавт., 2014). Согласно исследованию A.Wick с соавт. (2018) высокая активность VEGF преимущественно встречается при большом объеме поражения головного мозга и у пациентов пожилого возраста (Wick A. et al., 2018). Несмотря на важную роль гена VEGF в патогенезе глиобластомы, его значение в прогнозе

заболевания при первичной глиобластомой до конца не выяснено. S. Sjöstrom с соавт. в своем исследовании подтверждают влияние гена VEGF на продолжительность жизни пациентов в условиях стандартной терапии (Sjöstrom S. et al., 2011), по мнению же S. Veganzones ген VEGF не играет никакой роли в прогнозе заболевания (Veganzones S. et al., 2017). В современной литературе существуют также исследования, подчеркивающие значимость гена VEGF при лечении рецидивирующей глиобластомы таргетным препаратом бевацизумаб (Tamura R. et al., 2016; Li Y. et al., 2017; Kim M.M. et al., 2018).

Еще одним важным регулятором в патогенезе глиобластом является тромбоцитарный фактор роста (Platelet-derived growth factor receptor – PDGFR), который является мощным митогеном и хемоаттрактантом мезенхимальных клеток и фибробластов, а также принимает участие в неоангиогенезе, стимулируя экспрессию гена VEGF. Для глиобластом характерна сверхэкспрессия гена PDGFR и его рецепторов (Stratmann A. et al. 1998; Улитин А.Ю. с соавт., 2014). Парадоксально, но высокая активность гена PDGFR встречается преимущественно у лиц молодого возраста (Chen D. et al., 2013). Исследований о влиянии гена PDGFR на прогноз заболевания у пациентов с первичной глиобластомой не очень много, но есть сведения о более высокой выживаемости при высокой активности данного гена (Martinho O. et al., 2009; Chen D. et al., 2013). По мнению D. Chen с соавт. это связано с тем, что преимущественно опухоли с высокой экспрессией гена PDGFR имеют мутацию в гене IDH1, которая является благоприятным прогностическим маркером (Chen D. et al., 2013).

Бета-тубулины – семейство белков, входящих в состав микротрубочек, которые формируют цитоскелет клетки. На сегодняшний день из всей группы наиболее изучен бета-тубулин класса III (β -tubulin III), причем именно в клинико-прикладном аспекте, поскольку этот белок регистрируется в широком спектре опухолей разной локализации. При высокой активности белка β -tubulin III, кодируемого одноименным геном, «сборка» и «разборка» микротрубочек происходит вдвое быстрее, что делает эти клетки более «подвижными»,

способствуя быстрой инвазии и ускорению митозов (Мамичев И.А. с соавт., 2018). Согласно исследованию C.D. Katsetos с соавторами для глиальных опухолей имеется прямая пропорциональная зависимость между высоким уровнем экспрессии β -tubulin III и индексом пролиферативной активности (Katsetos C.D. et al., 2001). В другой работе отметили, что высокая активность β -tubulin III регистрируется преимущественно у пациентов с первичными глиобластомами молодого возраста (Ferguson S.D. et al., 2016). Исследования о влиянии гена β -tubulin III на прогноз и характер течения глиобластомы в доступной литературе нами не найдено.

Еще один важный ген, участвующий в поддержание структуры ДНК – ERCC1, белок эксцизионной репарации нуклеотидов (nucleotide excision repair, NER). Эксцизионная репарация нуклеотидов исправляет крупные повреждения ДНК, такие как пиримидиновые димеры, химические производные и поперечные сшивки. Важно, что удаление поврежденных нуклеотидов из цепи ДНК происходит только после присоединения белка ERCC1, кодируемого одноименным геном. Было отмечено, что альтерации в гене ERCC1 увеличивают риск возникновения злокачественных глиом головного мозга, однако оценка его влияния на прогноз заболевания не проводилась (Xin Y. et al., 2014; Qian T. et al., 2017).

Топоизомеразы представляют собой класс ферментов, отвечающих за поддержание динамической структуры хроматина в интерфазу. Альфа-топоизомераза II (TOP2A) – один из главных регуляторов клеточного цикла – он обеспечивает декатенацию хроматина, которая является ключевым механизмом, необходимым для осуществления фаз G2 и M. В настоящее время уже известно, что аберрации в гене TOP2A влияют на прогноз заболевания при таких опухолях, как рак молочной железы, рак легкого, аденокарцинома поджелудочной железы, колоректальный рак (Yang F.D. et al., 2010; Wang T.L. et al., 2017; Dimas-gonzález J. et al., 2017; Zhou Z. et al., 2017). Несколько лет назад были опубликованы результаты исследования, в котором отмечено прогностическое значение гена TOP2A в выживаемости больных с глиомами (Zhou T. et al., 2018). Недостатком

этой работы является гетерогенность новообразований (авторы не разделяли случаи по степеням злокачественности опухоли). Таким образом, значение TOP2A для пациентов с первичными глиобластомами остается до конца невыясненным.

1.1.4. Морфологические особенности первичной глиобластомы и их значение в прогнозе заболевания

Глиобластома представляет собой плотноклеточную опухоль астроцитарного ряда с диффузным ростом, состоящую из низкодифференцированных, часто плеоморфных клеток с ядерной атипией, выраженной митотической активностью и некрозами. Немногие злокачественные опухоли столь же гетерогенны по своему строению, как глиобластома: в ее составе наряду с веретенообразными, круглыми или плеоморфными клетками встречаются области с высокодифференцированными астроцитами (Burger P.C. et al., 1989; Louis D.N. et al., 2016). Переходы между этими зонами могут быть и резкими, и плавными.

Согласно классификации ВОЗ 2016 опухолей ЦНС выделяют несколько гистологических типов, исходя из клеточного состава новообразований: мелкоклеточная, гигантоклеточная, с примитивным нейрональным (ПНЭО), олигодендроглиальным и гемистоцитарным компонентом и глиосаркома. В одной опухоли нередко встречается несколько типов опухолевых клеток. Наиболее редко встречаются глиобластомы с ПНЭО компонентом (0,5%) и гранулярно-клеточная форма (1%) (Joseph N.M. et al., 2013). Не было выявлено влияния наличия того или иного клеточного компонента на выживаемость пациентов (Perry A. et al., 2009; Joseph N.M. et al., 2013). Однако в нескольких научных публикациях при использовании в лечении пациентов с глиобластомой, содержащей ПНЭО-компонент, платиносодержащих препаратов был получен объективный ответ на терапию с увеличением продолжительности жизни пациентов до 40 месяцев (Perry A. et al., 2009; Lee A.P. et al., 2012; Prelaj A. et al., 2018).

Высокий индекс пролиферативной активности (Ki-67) является характерной чертой глиобластомы, составляя обычно около 15 – 20%, однако в некоторых опухолях в отдельных очагах этот показатель может быть более 50% (в таком случае необходимо исключить примитивный нейрональный компонент посредством ИГХ-окрасок антигенами Syn, NSE, CD99). Некоторые авторы в своих работах подтверждают прогностическую роль индекса пролиферативной активности у пациентов с глиобластомами (Zeng A. et al., 2015; Cheng P. et al., 2018), но в тоже время есть работы, опровергающие его значимость в выживаемости больных (Moskowitz S.I. et al., 2006; Stoyanov G.S. et al., 2017).

Сосудистая пролиферация и некрозы являются важными диагностическими признаками. Под воздействием синтезируемого новообразованием белка – ангиогенина – образуется собственная капиллярная сеть опухоли. Формирующиеся сосуды характеризуются широким просветом и с тонкими стенками, представленными одним слоем эндотелия или состоящими из клеток самой опухоли, что способствует формированию вторичных изменений – тромбозов, кровоизлияний, некрозов и кист. В некоторых исследованиях отмечено, что наличие большого количества фокусов некроза ассоциируется с худшим прогнозом (Pierallini A. et al., 1998; Gutman D.A. et al., 2013).

В настоящее время продолжают дискуссии о роли гистологических характеристик в прогнозе заболевания пациентов с первичной глиобластомой.

1.2. Рецидивирование первичной глиобластомы

Поднимая вопрос о рецидивировании первичной глиобластомы, следует внести определенную ясность в терминологию. Под рецидивом в онкологии понимается возобновление роста опухоли через какой-либо срок после радикального оперативного, лучевого или другого лечения, то есть условного «выздоровления» пациента, подтвержденного отсутствием опухоли при проведении нейровизуализационных методов исследования (МРТ, ПЭТ, КТ). Продолженный рост – это возобновление роста опухоли после нерадикальной операции, а также после

частичного ответа на терапию или стабилизации размеров опухоли, т.е. в том случае, когда остается опухолевый узел, несмотря на применение различных видов лечения. В современной нейроонкологии разделение этих понятий весьма условно и зависит от многих параметров: от биологического поведения опухолей различной гистологической структуры до достоверности оценки медицинской информации (протокол операции, описание методов нейровизуализации). В зарубежной медицинской литературе все случаи прогрессирования глиобластомы называют «recurrence» (рецидивирование), не разграничивая рассматриваемые выше понятия.

1.2.1. Современное представление о рецидивировании первичной глиобластомы

На сегодняшний момент исследований, посвященных изучению процессов рецидивирования первичной глиобластомы на молекулярно-генетическом уровне, в медицинской литературе немного. Существует несколько причин, которые объясняют сложившуюся ситуацию. Во-первых, отсутствуют четкие показания к проведению хирургического лечения рецидива глиобластомы. Кроме того, в большинстве случаев, глиобластомы при рецидивировании распространяются в функционально значимые зоны головного мозга, тем самым, исключая возможность повторного хирургического удаления. M. Weller с соавт. отметили, что только 20 – 30% рецидивирующих опухолей доступны хирургическому удалению (Weller M. et al., 2013). Также необходимо помнить о том, что после рецидива значительный объем представлен некротическими массами (следствие лучевой и химиотерапии – лечебный патоморфоз) с малым содержанием опухолевых клеток (Marucci G. et al., 2015). Это затрудняет проведение молекулярно-генетических тестов ввиду дефицита опухолевого материала.

Согласно исследованию P. De Bonis с соавт. в 70 – 88% случаев рецидивы глиобластомы возникают в месте удаленной первичной опухоли, а именно – в зоне, находящейся в пределах 2 см от края резекции, и только у 20% пациентов обнаруживаются очаги опухолевой ткани в соседней доле головного мозга или даже в противоположном полушарии (De Bonis P. et al., 2013). Предполагается,

что место возникновения рецидива опухоли зависит от степени резекции первичной опухоли. При удалении глиобластомы с резекцией двухсантиметровой зоны, отступя от края опухоли, наиболее часто развиваются отдаленные рецидивы, а при неполном удалении – локальные. В целом, до недавнего времени возможность возникновения дистантного рецидива глиобластомы подвергалась большим сомнениям, такие случаи рассматривали как первичные опухоли, развивающиеся последовательно и независимо (Reis R.M. et al., 2001; Martinez R. et al., 2003). Другими словами, было неясным – в какой момент времени опухолевые клетки мигрируют от первичного очага. Как недавно было продемонстрировано в одной из работ первичная и рецидивирующая глиобластомы имеют общие мутации (Kim J. et al., 2015), причем количество одинаковых альтераций различается в зависимости от локализации рецидива. При локальных рецидивах (в зоне первичного опухолевого узла) выявляется около 70% мутаций от общего количества, установленного в первичной глиобластоме, а в дистантных – только около 25%. Таким образом, появилось предположение, что опухолевые клетки, которые в дальнейшем становятся дистантными рецидивами, еще на ранних стадиях заболевания распространяются в паренхиме головного мозга.

Пока остается неясным – какие альтерации являются ключевыми в процессе рецидивирования глиобластомы. В исследовании M.J. Van den Bent с соавторами обнаружили, что мутации в генах TP53, EGFR и CDKN2A являются наиболее стабильными и сохраняются в случае рецидивирования опухоли (Van den Bent M.J. et al., 2015), однако в других работах данное предположение подверглось сомнению (Kim H. et al., 2015; Kim J. et al., 2015).

В настоящее время описываются две модели рецидивирования глиобластомы (Kim H. et al., 2015; Campos V. et al., 2016). Согласно первой, в процессе лечения все доминантные клоны первичной опухоли, чувствительные к терапии, уничтожаются, но сохраняются резистентные к терапии клетки-предшественники, которые накапливают новые мутации и, делясь, образуют опухолевую массу, которая и будет составлять рецидивирующую опухоль. В

итоге генотип первичной опухоли будет значительно отличаться от рецидивирующей. Вторая модель предполагает, что проводимая терапия уничтожает большинство клеток, но основные клоны выживают и, накапливая дополнительные мутации, преобразуются в рецидивирующую опухоль. Таким образом, молекулярно-генетические статусы первичной и рецидивирующей глиобластомы будут схожими. Вполне вероятно, что обе упомянутые модели рецидивирования глиобластомы могут быть задействованы одновременно в каждом конкретном случае рецидива.

При изучении числа мутаций в рецидивирующей глиобластоме в одном исследовании было отмечено, что пациенты, у которых очаг рецидива отличался большим разнообразием клонов, имели более длительный период безрецидивной выживаемости (Kim H. et al., 2015). Авторы приводят несколько объяснений этому феномену. Во-первых, для того, чтобы опухоль отличалась большим разнообразием субклональных мутаций, их нужно накопить, а для этого нужно время. И, кроме того, отсутствие доминантного агрессивного клона при наличии нескольких клонов, «соревнующихся за ресурсы и место для роста», может привести к замедлению развития рецидива. Впрочем, пока это лишь предположения.

Пока четко не определена роль опухолевых стволовых клеток в возникновении рецидива. При исследовании белка CD133 в опухоли (считается, что именно он является маркером стволовой опухолевой клетки) было обнаружено увеличение CD133-позитивных клеток после ее рецидивирования (Tamura K. et al., 2013). При этом, в другой работе выявлено увеличение содержания CD133-негативных клеток в рецидивирующей глиобластоме (Qazi M.A. et al., 2016). Таким образом, отрицать роль стволовых опухолевых клеток в рецидивировании опухоли нельзя, однако ее подтверждение требует дальнейшего и тщательного изучения.

Поднимая вопрос рецидивирования глиобластомы, необходимо понимать, как влияет на данный процесс химиотерапия. В процессе изучения механизмов действия MGMT сформировалось предположение, что терапия темозоломидом

может приводить к снижению активности гена MGMT и, следовательно, к повышению чувствительности опухоли к проводимому лечению. Однако, по результатам некоторых исследований, при рецидивировании глиобластомы снижение активности гена MGMT наблюдается крайне редко: чаще всего она остается на прежнем уровне или повышается (Таблица 2).

Таблица 2 – Изменение активности гена MGMT при рецидивировании глиобластомы после лечения первичной опухоли
(обзор литературы)

исследование	число больных	средний возраст	пол (м/ж)	метод исследования	лечение первичной опухоли	активность гена MGMT		
						без изменений	повышен ие	снижен ие
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Parkinson J. F. et al. 2008	8	56,5	7/1	МС-ПЦР	ЛТ с Тем (2 случая+Прокарбазин, 1 случай+Целекаксіб)	6 (75%)	-	2 (25%)
	7	55,2	6/1	ИГХ	ЛТ, МХТ Тем	1 (14,4%)	3 (42,8%)	3 (42,8%)
Metellus P. et al. 2009	18	59	м>ж	МС-ПЦР	ЛТ с Тем (75 мг/м ² /сут)+МХТ Тем	18 (100%)	-	-
Christmann M. et al. 2010	9	-	-	МС-ПЦР	ЛТ+МХТ Тем	1 (11,1%)	6 (66,7%)	2 (22,2%)
Jung Tae-Young et al. 2010	16	52,06	7/9	МС-ПЦР	ЛТ/ЛТ с Тем (75 мг/м ² /сут)+МХТ Тем (150-200 мг/м ² , 5/28)	12 (75%)	3 (18,75%)	1 (6,25%)
				ИГХ		2 (12,5%)	14 (87,5%)	-
Felsberg J. et al. 2011	64	57,4	м>ж	МС-ПЦР	ЛТ с Тем+МХТ Тем/ЛТ с Тем	57 (89%)	5 (7,9%)	2 (3,1%)
	48			пиросеквениро- вание		43 (89,6%)	5 (10,4%)	-
	29			ИГХ		8 (27,6%)	12 (41,4%)	9 (31%)

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Park Chul-Kee et al. 2012	24	60,1	15/9	МС-ПЦР	протокол Stupp/ЛТ с Тем/ЛТ+МХТ Тем	22 (91,6%)	1 (4,2%)	1 (4,2%)
				ИГХ		19 (79,2%)	4 (16,7%)	1 (4,1%)
Brandes A. A. et al. 2010	38	49	28/10	МС-ПЦР	протокол Stupp	24 (63,2%)	8 (21%)	6 (15,8%)
Brandes A. A. et al. 2017	108	50,8	69/39	МС-ПЦР	протокол Stupp	81 (75%)	16 (14,9%)	11 (10,1%)
O'Regan C.J. et al. 2017	22	49,5	12/10	пиросеквениро- вание	протокол Stupp	14 (63%)	5 (23%)	3 (14%)
Hudson A.M. et al. 2018	19	60	12/7	МС-ПЦР	протокол Stupp/ЛТ+МХТ Тем	17 (89,5%)	2 (10,5%)	-
Draaisma K. et al. 2019	105	54,2	-	МС-ПЦР	протокол Stupp	81 (77,1%)	10 (9,5%)	14 (13,4%)

Примечание: м – мужчины, ж – женщины, МС-ПЦР – метилспецифическая ПЦР, ИГХ – Иммуногистохимия, ЛТ – лучевая терапия, Тем – темозоломид, МХТ – монокимиотерапия, протокол Stupp – ЛТ с Тем (75 мг/м²/ежедневно), 6 циклов МХТ Тем (150-200 мг/м², 5/28 дней)

Таким образом, глиобластома обладает способностью «приспосабливаться» к воздействию химиотерапевтического агента, самостоятельно продуцируя новые порции фермента *mgmt*, «защищающего ее от гибели».

Помимо изменений в работе *MGMT*, после проведения химиотерапии 1 линии в рецидивирующей глиобластоме возникают новые мутации в генах, в том числе, задействованных в системах репарации ДНК и, в первую очередь, в системе mismatch repair – гены *MSH2*, *MSH6*, *MLH1*, *MLH3* и *PMS2*. Это приводит к нарушению их работы и сопровождается появлением еще большего количества альтераций в геноме опухоли (Andor N. et al., 2014; Kim H. et al., 2015; Campos V. et al., 2016). Кроме того, в одной из работ была выявлена прямая зависимость между количеством циклов ХТ темозоломидом в 1 линии и числом мутаций в опухоли после рецидива (Kim J. et al., 2015). Автор подчеркивает, что на возникновение новых альтераций при прогрессировании заболевания косвенно может влиять и наличие мутации в гене *IDH1(R132H)*. Присутствие этой аберрации способствует более длительному безрецидивному периоду и, как следствие, постепенному накоплению все большего числа мутаций (Kim J. et al., 2015; Campos V. et al., 2016). Другими исследователями установлено, что присутствие мутации в генах *IDH1* и *IDH2* вызывает гиперметилирование фенотипа опухоли, в том числе гена *MGMT*, что, приводит к снижению его активности, и таким образом, может способствовать возникновению темозоломид-индуцированных мутаций (Dang L. et al., 2009).

В результате проведения, пока еще немногочисленных, но полноценных исследований, становится ясно, что глиобластома в процессе рецидивирования изменяет свой молекулярно-генетический статус, приобретая новый генотип. Возникновение новых мутаций сопряжено не только с естественным течением онкологического процесса, но также обусловлено воздействием лучевой и лекарственной терапии.

1.2.2. Комбинированное лечение пациентов с рецидивирующей глиобластомой

Тактика лечения пациентов при рецидивировании первичной глиобластомы окончательно не стандартизирована. Лечение таких пациентов остается индивидуализированным и во многом ориентированным на опыт лечащего врача.

Единого мнения в литературе о необходимости выполнения повторного хирургического лечения при рецидивировании глиобластомы нет. Некоторые исследователи считают, что повторное оперативное вмешательство связано с высокой частотой неврологических нарушений, ухудшением качества жизни пациентов, и подвергают сомнению его влияние на продолжительность жизни (Mandl E.S. et al., 2008; Brandes A.A. et al., 2013; Linde M.E. et al., 2017). Кроме того, повторное хирургическое вмешательство отличается определенными трудностями по сравнению с первичным, что связано с наличием выраженных атрофических и кистозных изменений мозговой ткани, осложняющих манипуляции хирурга и анатомическую ориентировку (Улитин А.Ю. с соавт., 2014). М.Е. Oppenlander с соавт. считают, что проведение хирургического вмешательства целесообразно для пациентов молодого возраста, при индексе по шкале Карновского более 80 баллов и при размерах опухоли менее 50 см³, а также при локализации очага рецидива вне функциональной зоны головного мозга (Oppenlander M.E. et al., 2014). По мнению некоторых исследований, при наличии грубой неврологической симптоматики, отсутствии симптомов внутричерепной гипертензии, возрасте пациентов более 40 лет, коротком первом безрецидивном периоде от повторной резекции рекомендуется воздержаться (Helseth R. et al., 2010; Brandes A.A. et al., 2013).

Более однозначное мнение сформировалось в отношении влияния степени резекции рецидива глиобластомы на продолжительность жизни пациентов. По данным литературных источников, при прогрессировании заболевания именно тотальное удаление опухоли способствует более длительной продолжительности жизни (до 13,4 мес.) (Quick J. et al., 2014; Ringel F. et al., 2015; Lu V.M. et al., 2018).

В литературе работ о значимости повторной лучевой терапии при рецидивировании глиобластомы не очень много. Тем не менее, все исследователи сходятся во мнении, что проведение повторной радиотерапии улучшает прогноз заболевания (Ryu S. et al., 2014; Taunk N.K. et al., 2016; Zwirner K. et al., 2017; Chun S.J. et al., 2018). Однако назначение данного вида лечения имеет существенное ограничение: повторное проведение не рекомендуется ранее, чем через 1 год после последнего сеанса терапии первичной опухоли. Учитывая, что первый безрецидивный период только у незначительного числа пациентов превышает 6 – 9 месяцев, и у большинства из них размеры объема поражения при рецидиве достигают больших размеров, лучевые методы лечения имеют серьезные ограничения и играют менее важную роль в терапии пациентов с продолженным ростом глиобластомы. В настоящее время появляется все больше исследований по эффективности использования стереотаксической радиохирургии, однако однозначного мнения пока нет.

Вслед за многими исследователями и клиницистами следует признать, что наиболее перспективным методом в лечении пациентов с рецидивирующей глиобластомой в настоящее время является лекарственная терапия, включая таргетную (Brada M. et al., 2010; Roy S. et al., 2015; Wang Y. et al., 2017; Franceschi E. et al., 2018; Kim M.M. et al., 2018). Увеличение продолжительности жизни при использовании темозоломида в первой линии терапии поставило перед нейроонкологами вопрос о возможности повторного его назначения после рецидива заболевания. E. Franceschi с соавт. в исследовании по лечению пациентов темозоломидом получили весьма высокие показатели выживаемости (медиана общей выживаемости – 15,3 месяца, вторая безрецидивная выживаемость – 7,2 месяца) (Franceschi E. et al., 2018). Однако, авторы подчеркивают, что при повторном назначении темозоломида необходимо учитывать ответ на химиотерапию в первой линии и длительность первого безрецидивного периода. Остается неизвестным – сохраняет ли ген MGMT за собой статус предиктивного маркера в случае, если экспрессия гена остается на прежнем уровне или снижается? Исследований по приведенному вопросу очень мало, и единого

мнения пока нет. В одних работах подтверждается предиктивная роль гена MGMT после рецидивирования ГБ (Gutenberg A. et al., 2013; Weller M. et al., 2015), а в других исследованиях – нет (Sadones J. et al., 2009; Quick J. et al., 2014).

До внедрения темозоломида в клиническую практику лечения пациентов с первичной глиобластомой активно использовалась схема PCV (прокарбазин+ломустин (CCNU)+винкристин). Прокарбазин и ломустин являются алкилирующими препаратами, действие винкрестина обусловлено связыванием его с тубулином, что приводит к торможению образования митозного веретена (Мамичев И.А. с соавт., 2018). Эффективность винкрестина, по всей видимости, может быть связана с уровнем экспрессии бета-тубулин класса III, однако данный вопрос требует дальнейшего изучения. Остается также неясным как меняется активность β -tubulin III при рецидивировании опухоли. Пока схема PCV назначается пациентам во 2 линии «вслепую», несмотря на выраженную токсичность и весьма невысокие показатели выживаемости (6,7 мес.) (Brada M. et al., 2010; Roy S. et al., 2015).

В нейроонкологическом сообществе обсуждается возможность назначения при рецидиве препаратов платины (Capdevila L. et al., 2014; Field K. et al., 2015; Wang Y. et al., 2017). В одном исследовании получили увеличение общей продолжительности жизни пациентов до 11 месяцев при использовании цисплатина во второй линии химиотерапии (Wang Y. et al., 2017). Однако, учитывая высокую токсичность этой группы препаратов, назначение цисплатина весьма ограничено. На сегодняшний день для определения индивидуальной чувствительности к препаратам платины (цисплатин и карбоплатин) при лечении рака легкого, яичников, пищевода и желудка оценивается активность фермента ERCC1, белка эксцизионной репарации нуклеотидов (nucleotide excision repair, NER) (Liu J. et al., 2017; Han J.Y. et al., 2017; Iqbal S. et al., 2020). Учитывая, что при рецидивировании опухоли происходит перестройка многих систем внутри клетки, вероятно, что изменяется и активность ERCC1. Однако, в литературе работы по этому вопросу отсутствуют.

Препарат этопозид применяется в лечении рецидивов нейроэпителиальных опухолей довольно часто – и самостоятельно, и в комбинации с другими противоопухолевыми лекарствами. По результатам некоторых работ на фоне терапии этопозидом лишь небольшому количеству пациентов (35%) удается преодолеть безрецидивный рубеж в 6 месяцев (Aoki T. et al., 2010; Arakawa Y. et al., 2013). По всей видимости, на такую избирательность в эффективности лечения влияет молекулярный статус опухоли. Действие этопозида направлено на ингибирование активности топоизомеразы II. Однако, в литературе имеются лишь редкие публикации по изучению эффективности ингибиторов топоизомераз на клеточных линиях (Kenig S. et al., 2016; Lutz H. et al., 2019; Aaberg-Jessen C. et al., 2019). Помимо этого, остаётся неясным, как меняется активность TOP2A при рецидивировании глиобластомы.

Стали появляться новые подходы к терапии пациентов при рецидивировании глиобластомы, в частности, антиангиогенная терапия. На основании полученных результатов большого количества исследований, проводимых с 2009 года препарат бевацизумаб (авастин) занимает первое место в списке рекомендуемых схем 2 линии терапии пациентов с глиобластомой (Vredenburgh J.J. et al., 2007; Friedman H.S. et al., 2009; Batchelor T.T. et al., 2014; Kim M.M. et al., 2018; Коновалов Н.А. с соавт., 2020). Являясь моноклональным антителом, препарат бевацизумаб селективно связывается и ингибирует биологическую активность фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) препятствуя, таким образом, образованию новых кровеносных сосудов в глиобластоме и вызывая гипоксию опухолевых клеток. Согласно результатам некоторых исследований, применение бевацизумаба позволило увеличить период выживаемости пациентов после рецидивирования до 10 месяцев (Field K.M. et al., 2015; Kim M.M. et al., 2018). Другие авторы полагают, что высокая экспрессия гена VEGF коррелирует с высокой вероятностью достижения ответа на терапию бевацизумабом (Sathornsumetee S. et al., 2008; Reardon D.A. et al., 2009). Впрочем, существуют работы, где данная связь не подтверждается (Hasselbalch B. et al., 2010; Wang N. et al., 2017).

В литературе имеется информация об успешной терапии, рецидивирующей глиобластомы таргетным препаратом иматиниб (гливек) при высокой активности гена PDGFR – безрецидивный интервал 6 месяцев наблюдался в 52% случаев (Viola F. et al., 2007; Hassler M.R. et al., 2014). Вполне вероятно, по аналогии с геном MGMT, при рецидивировании в опухоли происходит перестройка системы, обеспечивающей кровоснабжение, но пока остается неизвестным, как меняется активность VEGF и PDGF при рецидивировании глиобластомы после проведения первой линии химиотерапии.

Таким образом, в настоящее время только радикальность резекции глиобластомы после рецидива может достоверно увеличить продолжительность жизни пациентов. В значительной степени это связано с отсутствием четких стандартов в проведении адъюватной терапии при рецидивировании глиобластомы.

РЕЗЮМЕ

Благодаря выявлению новых гистологически подтипов первичной глиобластомы, открытию генетических маркеров и определению их роли в патогенезе и прогнозе заболевания наше представление о биологическом поведении данной опухоли становится все более полным. Формируется понимание в необходимости более персонифицированного подхода к лечению пациентов. В то же время фундаментальные знания о рецидивирующей глиобластоме и рецидивировании в целом, остаются пока на начальном уровне.

В настоящее время подходы к лечению пациентов с рецидивирующей глиобластомой только начинают формироваться. Связано это, в первую очередь, с ограниченным представлением о патогенезе прогрессирования заболевания и изменениях, происходящих в молекулярно-генетическом статусе опухоли. Положение усугубляется еще и тем, что, единственный на сегодняшний день предиктивный маркер ген MGMT может терять свою функцию при прогрессировании заболевания. Таким образом, возникает необходимость в

активном изучении изменений экспрессии ведущих молекулярных маркеров при рецидивировании глиобластомы с определением их роли в лечении и в прогнозе заболевания.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая характеристика исследования и клинических наблюдений

Проведено проспективное исследование, в которое вошли больные с первичной глиобластомой GIV супратенториальной локализации в возрасте старше 18 лет с рецидивом заболевания. Работа основана на исследовании 34 случаев. Критерии включения пациентов в исследование: гистологический диагноз «первичная глиобластома» с подтвержденным рецидивом заболевания, возраст больных старше 18 лет, супратенториальная локализация опухоли и наличие информированного согласия на участие в данном исследовании. Диагноз устанавливался в соответствии с классификацией опухолей центральной нервной системы ВОЗ (2016).

В период с 2009 по 2020 гг. больные лечились и наблюдались в «РНХИ им. проф. А.Л. Поленова» (с 2015 года – филиал ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России). Средний возраст пациентов составил $49,38 \pm 11,52$ г. Мужчин было 14, женщин – 20. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

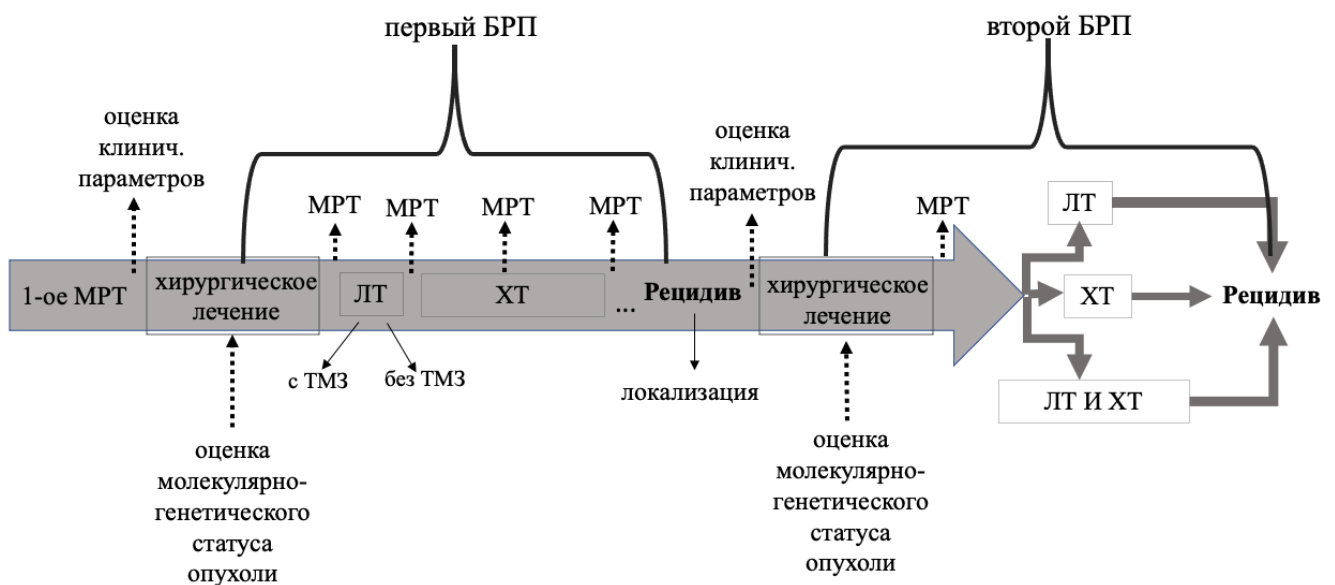


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Примечание: гм – головной мозг, ТМЗ – темозоломид, БРП – безрецидивный период, ЛТ – лучевая терапия, ХТ – химиотерапия

Исследование основано на анализе первого и второго безрецидивных периодов и влияющих на них факторов. Первый безрецидивный период оценивался от момента проведения первого хирургического лечения до возникновения первого рецидива заболевания, подтвержденного МРТ головного мозга или, при необходимости исключения псевдопрогрессии, ПЭТ-КТ с метионином. Второй безрецидивный период рассчитывался с момента повторной операции до верификации повторной прогрессии опухоли (Мацко М.В. с соавт., 2021).

В каждом наблюдении изучались особенности клинической картины, гистологические (в том числе, иммуногистохимические) и молекулярно-генетические характеристики до и после рецидива с определением уровня экспрессии мРНК генов: MGMT, VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1, TOP2A и мутаций в генах IDH1 и IDH2.

Диагностическая информация о размерах, локализации и особенности роста опухоли была получена при помощи магнитно-резонансной томографии (МРТ) головного мозга. Исследование проводилось с контрастным усилением, включая режимы T1, T2, FLAIR, DWI, с напряженностью магнитного поля от 1,5 до 3,0 Тесла. МРТ выполнялось перед началом любого вида лечения или новой линии терапии и каждые 2 – 3 мес. на фоне проводимой химиотерапии. Объем опухолевого образования определялся по ранее описанной формуле, единица изменения – кубический сантиметр (см³) (патент РФ № 2533968 от 27.11.2014).

Перед и после каждого хирургического вмешательства, а также до и во время проведения радио- и химиотерапии всем больным проводился стандартный комплекс обследования нейроонкологического пациента (осмотр неврологом, офтальмологом, отоларингологом, терапевтом) с оценкой функционального статуса по шкале Карновского (Karnofsky Perfomance Scale), а также необходимый спектр лабораторных исследований, зависящий от сопутствующих соматических заболеваний в каждом конкретном случае. Стоит отметить, что функциональный статус по шкале Карновского после операции оценивался на

момент выписки пациента после проведенного хирургического лечения (на 10-15 сутки от момента операции).

Для решения поставленных задач была разработана карта пациента, в которой содержались все сведения о начале и течении заболевания, результаты проводимых диагностических исследований (МРТ, ПЭТ, КТ, морфологические и молекулярно-генетические анализы), а также проводимые больным этапы лечения (хирургическое удаление опухоли, лучевая терапия и химиотерапия) и их результаты.

Клиническая характеристика пациентов представлена в таблице 3.

Таблица 3 – Клинико-демографическая и нейровизуализационная характеристика больных до и после рецидива

Характеристики	первичная опухоль	рецидив
1	2	3
34 пациент		
Пол		
Мужчины	14 (41,2%)	
Женщины	20 (58,8%)	
медиана возраста на момент постановки первичного диагноза (года)	47,5	
объем поражения		
1 доля	24 (70,6%)	22 (64,7%)
более 1 доли, но без базальных структур	6 (17,6%)	4 (11,8%)
поражение базальных структур	4 (11,8%)	8 (23,5%)
локализация		
правое полушарие	12 (35,3%)	14 (41,2%)
левое полушарие	17 (50%)	13 (38,2%)
оба полушария	1 (2,9%)	1 (3%)
полушария+базальные структуры	4 (11,8%)	6 (17,6%)
объем опухоли (см ³)		
до 20 см ³	10 (29,5%)	18 (52,8%)
от 21-50 см ³	14 (41%)	8 (23,6%)

1	2	3
более 51 см ³	10 (29,5%)	8 (23,6%)
функциональный статус по шкале Карновского перед операцией (баллы)		
≤60	2 (5,9%)	9 (26,5%)
70-80	28 (82,4%)	25 (73,5%)
90-100	4 (11,7%)	0
функциональный статус по шкале Карновского после операции (баллы)		
60-70	15 (44,1%)	18 (52,9%)
≥80	19 (55,9%)	16 (47,1%)

2.2. Характеристика методов лечения

Лечение, проводимое пациентам до и после рецидива с ответом на терапию, представлено в таблице 4.

Таблица 4 – Комплекс лечебных мероприятий до и после рецидива

методика лечения		1-я операция/1-я линия терапии	2-я операция/2-я линия терапии
степень резекции опухоли			
близко к тотальному		13 (38,2%)	15 (44,1%)
субтотально		13 (38,2%)	10 (29,5%)
Частично		8 (23,6%)	7 (20,4%)
Биопсия		0 (0%)	2 (6%)
лучевая терапия/радиохирургия			
лучевая терапия	без темозоломида	13 (38,2%)	10 (29,4%)
	с темозоломидом	21 (61,8%)	0 (0%)
гамма-нож/кибер-нож		0 (0%)	3 (8,8%)
не получали лучевую терапию		0 (0%)	21 (61,8%)
лекарственная терапия			
Темозоломид			
2-5 циклов		6 (17,6%)	9 (26,5%)
6-18 циклов		28 (82,4%)	2 (5,9%)
другая терапия	PCV/CV	0 (0%)	7 (20,6%)
	бевацизумаб+иринотекан		9 (26,4%)
не получали терапию		0 (0%)	7 (20,6%)

1	2	3
ответ на терапию		
полный	9 (26,5%)	0
частичный	3 (8,8%)	0
стабилизация	7 (20,6%)	6 (22,2%)
прогрессирование заболевания	2 (5,9%)	8 (29,6%)
нет остатка опухолевой ткани	13 (38,2%)	13 (48,2%)

Хирургическое лечение

Всем больным после диагностирования рецидива заболевания выполнялось повторное оперативное вмешательство с разным объемом степени резекции: макроскопически тотальное удаление, субтотальное, частичное и биопсия. Степень резекции опухоли зависела от локализации новообразования и наличия факторов риска ухудшения состояния пациента после хирургического лечения. В соответствии с рекомендациями NCCN (Guidelines Version 1.2018, Central Nervous System Cancers) под макроскопически тотальным удалением понималась резекция опухоли 95% и более, под субтотальным – 80 – 94%, частичным – 79 – 50% и под открытой биопсией – <50%.

В ходе проведения хирургических пособий использовалось оборудование: бинокулярные нейрохирургические лупы (ЛБВО (Россия), «Karl Storz» (Германия)), операционные микроскопы (OPMI Pentero 700, Carl Zeiss Meditec AG (Германия); Leica M500N OHS-1, Leica M720 OH5 (Германия); Möller-Wedel VM900, (Германия)), ультразвуковые дезинтеграторы (Söring, (Германия); CUSA Excel (США)). Для определения оптимального подхода к опухоли, границ и размеров образования, а также для контроля максимальной резекции новообразования в ходе хирургического вмешательства применялась УЗ-навигация с использованием ультразвукового сканера (Sonoline Siemens (Германия) (Рисунок 2) и в ряде случаев использовалась флюоресцентная навигация с 5-аминолевуленовой кислотой (Рисунок 3).

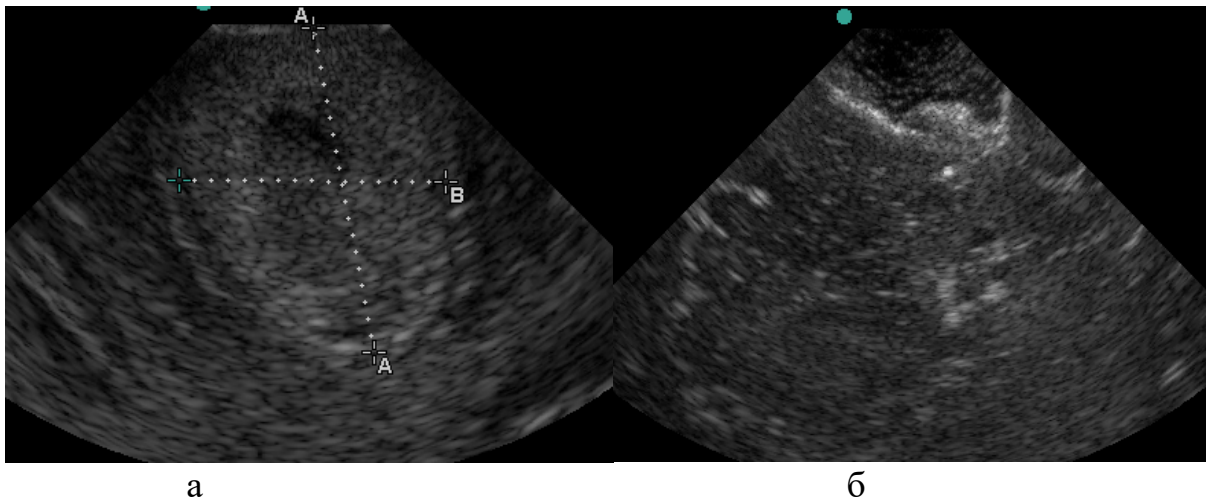


Рисунок 2 – Итраоперационная УЗ-навигация (И/б № 4679/С2019): а – до начала удаления опухоли; б – после удаления опухоли (опухоль удалена тотально)

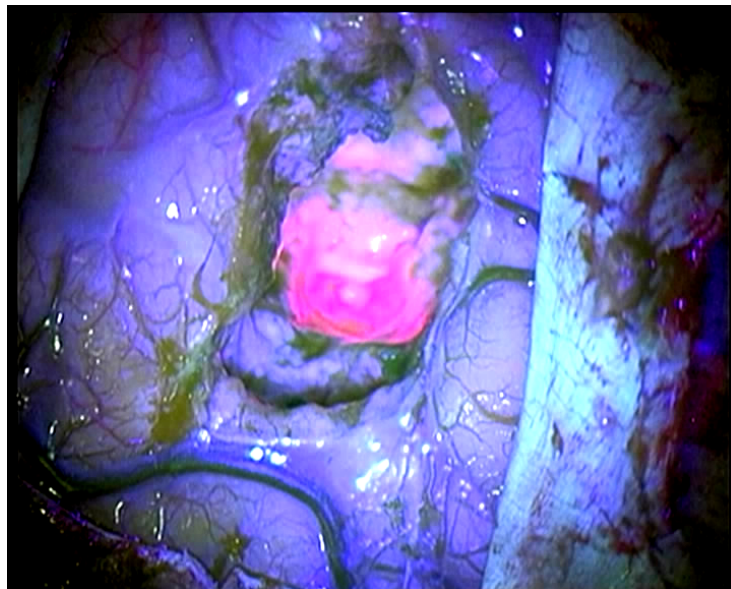


Рисунок 3 – Проведение флуоресцентной навигации с 5-амино-левуленовой кислотой (флуоресценция опухолевой ткани в ложе) (И/б № 20166)

С целью снижения рисков возникновения неврологического дефицита при локализации опухоли в функциональных зонах головного мозга в ходе удаления опухоли дополнительно применялся нейрофизиологический мониторинг – картирование коры и трактов, электрокортикография и электроэнцефалография (аппараты NicoletOne (США), Inomed (Германия)).

Степень радикальности удаления опухоли оценивали по результатам МРТ/КТ головного мозга с контрастным усилением, которое выполнялось через 12 – 72 часа после хирургического вмешательства.

Полученные интраоперационно образцы опухолевой ткани фиксировались в 10% нейтральном забуференном формалине с дальнейшим проведением патологоанатомического (в том числе иммуногистохимическое) и молекулярно-генетического исследований.

Лучевая терапия

После первой операции все пациенты получили лучевую терапию (ЛТ), в некоторых случаях – на фоне ежедневного приема темозоломида. Доза лучевой терапии варьировала от 50 до 62 Гр. Темозоломид в составе химиолучевой терапии назначался в стандартной дозировке – 75 мг/м² ежедневно или в дни проведения лучевой терапии на протяжении всего курса.

С наступлением рецидива заболевания после проведения повторного оперативного лечения ЛТ или радиохимиотерапии получили 13 пациентов (10 – ЛТ, 3 – гамма-нож/кибер-нож). Возможность назначения повторной ЛТ или радиохимиотерапии определялась временем проведения последнего сеанса терапии после первой операции, локализацией рецидива, объемом остаточной ткани опухоли и состоянием пациента.

Химиотерапия

В качестве первой линии химиотерапии все пациенты получили темозоломид в адьюватном режиме от 2-х до 18 циклов. При рецидивировании первичной глиобластомы 11 пациентов продолжили получать препарат

темозоломид. Доза препарата рассчитывалась согласно общепринятому протоколу (5/23: 150–200 мг/м² – дни 1–5; цикл лечения составлял 28 дней). В 9 случаях в качестве 2-ой линии химиотерапии были назначены препараты бевацизумаб и иринотекан (бевацизумаб 10 мг/кг, в/в, дни 1, 15 + иринотекан 125–200 мг/м², в/в, дни 1, 15; цикл 28 дней). Количество циклов варьировало от 4 до 13. 7 больных во второй линии химиотерапии получили PCV/CV (ломустин 100 мг/м², внутрь, день 1 + винкристин 1,5 мг/м², в/в, дни 1, 8 ± прокарбазин 70 мг/м², внутрь, дни 8–21; каждые 6 нед). При данной схеме количество циклов варьировало от 2 до 6.

Число циклов зависело от эффективности лечения, переносимости ХТ.

Методика оценки эффективности лечения

Оценка эффективности терапии осуществлялась по результатам МРТ с контрастным усилением каждые два цикла химиотерапии и каждые 2 – 4 месяца после ее окончания по критериям международной группы RANO (Response Assessment in Neuro-Oncology Working Group), согласно которой выделяют:

- полный ответ – регресс всех контрастных опухолевых очагов, стабильные или уменьшающиеся неконтрастируемые очаги в T2/FLAIR режимах при отсутствии терапии кортикостероидами и улучшении или стабилизации неврологического состояния;

- частичный ответ – уменьшение суммы перпендикулярных диаметров всех очагов на 50% и более, отсутствие прогрессии и появления новых очагов, стабильные или уменьшающиеся очаги в T2/FLAIR режимах при стабильной или уменьшающейся дозе кортикостероидов и улучшении или стабилизации неврологического состояния;

- стабилизация – отсутствие новых очагов и прогрессирования заболевания, стабильная картина в T2/FLAIR режимах при той же или более низкой дозе кортикостероидов;

- прогрессирование – увеличение более, чем на 25% суммы перпендикулярных диаметров всех измеряемых очагов, появление новых очагов, увеличение зоны поражения в T2/FLAIR режимах при стабильной или увеличивающейся дозе кортикостероидов, а также нарастание неврологической симптоматики.

Случаи, в которых наблюдался полный или частичный ответ, регистрировались как объективный ответ на лечение.

В ряде наблюдений для исключения псевдопрогрессии опухоли и с целью оценки эффективности лечения проводилось ПЭТ-КТ с метионином.

2.3 Методика патологоанатомического исследования

Материалом для морфологического (в том числе, иммуногистохимического) исследования являлась опухолевая ткань, полученная во время выполнения хирургического вмешательства. В первую очередь проводился тщательный макроскопический осмотр биопсийного материала, исключались образцы с признаками коагуляционного некроза, глиомезодермальные рубцы, ткань опухоли с массивным кровоизлиянием. Опухолевые кусочки погружались в раствор формалина (10%) для фиксации при комнатной температуре и отправлялись в патоморфологическую лабораторию. В дальнейшем образцы промывались в дистиллированной воде в течение двух часов, после этого обрабатывались в спиртах восходящей крепости и в конце фиксировались в парафине с изготовлением блоков. При помощи микротомы фирмы «Leica» производились срезы толщиной не более 4-5 мкм, которые наносились на предметные стекла. Далее проводилась обработка тонкого среза с целью депарафинизации с помощью ксилола, после чего следовала промывка 96% этиловым спиртом, а затем дистиллированной водой. Для проведения микроскопического исследования опухоли проводилось окрашивание гематоксилином и эозином.

Для проведения иммуногистохимического исследования (ИГХ) использовались уже готовые парафиновые блоки. Срезы толщиной не более 4 мкм,

изготовленные при помощи микротомы, помещались на предметные стекла с дальнейшей обработкой в растворе ксилола и дегидратацией в спиртовых растворах восходящей крепости. Проводилось не прямое иммуногистохимическое исследование по общепринятым протоколам, согласно рекомендациям фирм-производителей, прилагаясь к антителам. Окончательный морфологический диагноз ставился после иммуногистохимического исследования (ИГХ) с использованием антител: GFAP (poly, DakoCytomation), IDH1(R132H) (H09, Dianova), Ki-67 (MIB-1, DakoCytomation), Syn (27G12, DakoCytomation), CD99 (12E7, DakoCytomation), NSE (BBS/NC/VI-H14, DakoCytomation). Интенсивность иммуногистохимического окрашивания оценивалась следующим образом: отсутствие, слабая реакция, умеренная и выраженная экспрессия. При оценке цитоплазматического окрашивания (антитела GRA, Vimentin, Syn) использовался полуколичественный метод: 0 – окрашивания нет, 1+ – слабое окрашивание (менее 25% клеток), 2+ – умеренное окрашивание (25-50% клеток), 3+ – интенсивное окрашивание (более 50% клеток). Ядерное окрашивание (антитело Ki-67) оценивалось как процентное отношение окрашенных клеток к общему числу клеток.

Просмотр приготовленных препаратов проводился с использованием микроскопа LEICA DM2500.

2.4. Методика молекулярно-генетического исследования

У всех пациентов проводилась оценка экспрессии мРНК генов MGMT, VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1, TOP2A с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на оборудовании CFX96 Real-Time PCR DetectionSystem (BioRadLaboratories, США). Матричная РНК выделялась из образцов опухолевой ткани после микродиссекции с обязательным наличием как минимум 80% опухолевых клеток. Выделение нуклеиновых кислот из патоморфологических блоков проводилось по ранее описанной методике (Mitiushkina N.V. et al., 2013). В реакции обратной транскрипции для синтеза

комплиментарной ДНК на матрице мРНК использовали часть полученного раствора нуклеиновых кислот, фермент-обратную транскриптазу M-MLV (Promega) в количестве 50 единиц, 1мкл праймеров (случайных гексонуклеотидов), 1мкл смеси дНТФ, 8 единиц ингибитора РНКаз. Реакция проходила при следующем температурном режиме: первые 5 минут – 20°C, следующие полчаса при 38°C и 95°C – последние 5 минут. Далее выполнялась полимеразная цепная реакция в режиме реального времени на оборудовании BioRad CFX96 Real-time PCR DetectionSystem. ПЦР проводилась в объеме: 1 мкл. раствора кДНК, 2.0 ед. акт. фермента ДНК-полимеразы ThermoStar, по 0.3 мкМ прямого и обратного праймеров SDHA, по 200 мкМ каждого из нуклеотидтрифосфатов, 2.0 мМ MgCl₂, 1-кратный ПЦР-буфер, TaqMan-метки для соответствующего гена-мишени и 0.3 мкМ Taqman пробы SDHA-P (Таблица 5). С целью амплификации использовались следующие условия: денатурация в течение 20 секунд при 95°C, 45 циклов отжига и синтеза по 1 минуте при 60°C.

Таблица 5 – Последовательности праймеров, используемых для определения экспрессии изучаемых генов

Ген	Последовательность олигонуклеотида
1	2
SDHA-F	CCACTCGCTATTGCACACC
SDHA-R	CACTCCCCGTTCTCCATCA
SDHA-P	HEX-ACGGTCTCTGCGATATGATACCA-BHQ
MGMT-F	TGAAATGAAACGCACCACACT
MGMT-R	TGGGACCTCCACGGCATC
MGMT-P	FAM-CAGACCCTGCTCACAACCAGAC-BHQ
TP-F	CGGACGGAATCCTATATGC
TP-R	TCCACGAGTTTCTTACTGAGA
TP-P	FAM-CAGAGATGTGACAGCCACCGTG-BHQ
PDGFRA-F	TAGTGCTTGGTCGGGTCTTG
PDGFRA-R	CTGGATCTGGCCGTGGGT
PDGFRA-P	FAM- CGTTTGGGAAGGTGGTTGAAGGA-BHQ

Продолжение таблицы 5

1	2
ERCC1-F	CCTGCTTGTCCAGGTGGAT
ERCC1-R	GCTCCAGGCGAGGATCAAT
ERCC1-P	FAM-CTGGCTAAGATGTGTATCCTGGC-BHQ
TUBB3-F	CTTTGGACATCTCTTCAGGC
TUBB3-R	ACCACATCCAGGACCGAATC
TUBB3-P	FAM-ACAATTTTCATCTTTGGTCAGAGTGG-BHQ
Ckit-F	GCAAATACACGTGCACCAAC
Ckit-R	CCATACAAGGAGCGGTCAAC
Ckit-P	FAM-GAAAAGCTTGGCAGGATCTCTAAC-BHQ
Top-F	TCACAATTGATCCGGAAAACAA
Top-R	CTAGAAGTTAGGAGCTGTCCA
Top-P	FAM-GCTGGGACATACATCTTTTCAACT-BHQ
VEGF-F	AGGAGAGATGAGCTTCCTAC
VEGF-R	GCTTTCTCCGCTCTGAGCA
VEGF-P	FAM- TGCAGACCAAAGAAAGATAGAGCA-BHQ

Экспрессия каждого гена рассчитывалась как разность между количеством кДНК гена-мишени и гена-рефери: ΔCt (где Ct – Cyclethreshold (относительная экспрессия гена) = Ct (ген-мишень) – Ct (ген-рефери, SDHA). Разделение на низкий, средний и высокий уровни экспрессии каждого гена определялись ранее на основании анализа выборки из 50 образцов солидных опухолей. Порогами для разделения уровней экспрессии использовали 20 и 80 перцентили значений экспрессии каждого гена (Mitiushkina N.V. et al., 2013).

При помощи методики анализа кривых плавления ПЦР-продуктов с высоким разрешением с последующим секвенированием ДНК оценивались мутации в генах IDH1 (экзон 4) и IDH2 (экзон 4) в образцах опухоли. Увеличение копийности участков генов IDH1 и IDH2 проводилась с помощью пар праймеров IDH1ex4F 5'- GTCTTCAGAGAAGCCATTATC-3' и IDH1ex4R 5'- CACATACAAGTTGGAAATTTCTAG-3', IDH2optIF 5'-

AGTTCAAGCTGAAGAAGA TGTG-3' и IDH2optIF 5'-TCTCCAACCTGGCCTACCT-3'. Анализ проводился на оборудовании CFX96 Real-Time PCR DetectionSystem (BioRad) с определённым режимом: 95°C, 10 минут и 45 циклов (95°C, 15 секунд; 60°C, 20 секунд, 72°C, 30 секунд). ПЦР-смесь, объемом 20 мкл, включала 1 µl ДНК, 1 ед. акт. ДНК-полимеразы, 1x ПЦР-буфер, (pH 8.3), 2.0 mM MgCl₂, 200 µM dNTPs, 0.3 µM прямого и обратного праймеров, 1x EvaGreen. Секвенирование ПЦР-продуктов, при наличии отклонений в кривых плавления, проводилось на секвенаторе CEQ8000 (BeckmanCoulter).

2.5. Методика статистической обработки данных

Полученные клинические результаты анализировались средствами программной системы STATISTICAforWindows (версия 10 Лиц. ВХХR310F964808FA-V). Количественные показатели рассчитывались по всему стандартному набору характеристик: минимум, максимум, медиана, среднее значение и квартили. При оценке качественных параметров определяли процентные доли в соответствующих подгруппах и абсолютные значения. Сопоставление частотных характеристик качественных показателей проводилось с помощью непараметрических методов χ^2 , χ^2 , с поправкой Йетса (для малых групп), критерия Фишера. Сравнение количественных параметров в исследуемых группах осуществлялось с использованием критериев Манна-Уитни, медианного хи-квадрат и модуля ANOVA.

Для определения влияния на длительность безрецидивных периодов различных параметров использовался модуль «анализ выживаемости» (Cox'sF-test и Gehan'sWilcoxontest). В соответствии с руководством к модулю выживаемости в разделе статистика выбиралось большее значение «p» из результатов этих двух тестов. Оценка функции выживания проводилась с помощью метода Каплана-Мейера на основе исследования цензурированных данных с определением ее медианы.

Визуализацию структуры полученных результатов проводили с помощью графических возможностей системы STATISTICA for Windows. Для полноты описания и удобства восприятия частотные характеристики представлены столбиковыми и круговыми диаграммами.

Все различия считались достоверными при доверительной вероятности не менее 95% (уровень значимости $p < 0,05$).

ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ КАРТИНА ПАЦИЕНТОВ, МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОПУХОЛИ ДО РЕЦИДИВА. ЛЕЧЕНИЕ В ПЕРВОЙ ЛИНИИ

3.1. Клинические характеристики пациентов с первичной глиобластомой и их влияние на медиану первого безрецидивного периода

Проводилась оценка влияния на медиану первого БРП возраста пациентов и функционального статуса на шкале Карновского, определяемого как на дохирургическом этапе, так и после операции.

Разделение пациентов на группы согласно возрастной классификации, разработанной ВОЗ (2017): молодой возраст – 18 – 44 года, средний возраст – 45 – 59 лет, пожилой возраст – 60 – 74 года, старческий – 75 – 90 лет, признано нецелесообразно, ввиду ограниченной выборки пациентов крайних возрастных групп, поэтому все пациенты разделены на 2 возрастные группы: до 50 и старше 50 лет. Из 34 пациентов на момент установления диагноза 20 больных были в возрасте до 50 лет и 14 – старше 50 лет. В проведенном исследовании не было получено статистически значимого влияния возраста пациентов на длительность первого БРП ($p=0,98$) (Рисунок 4).

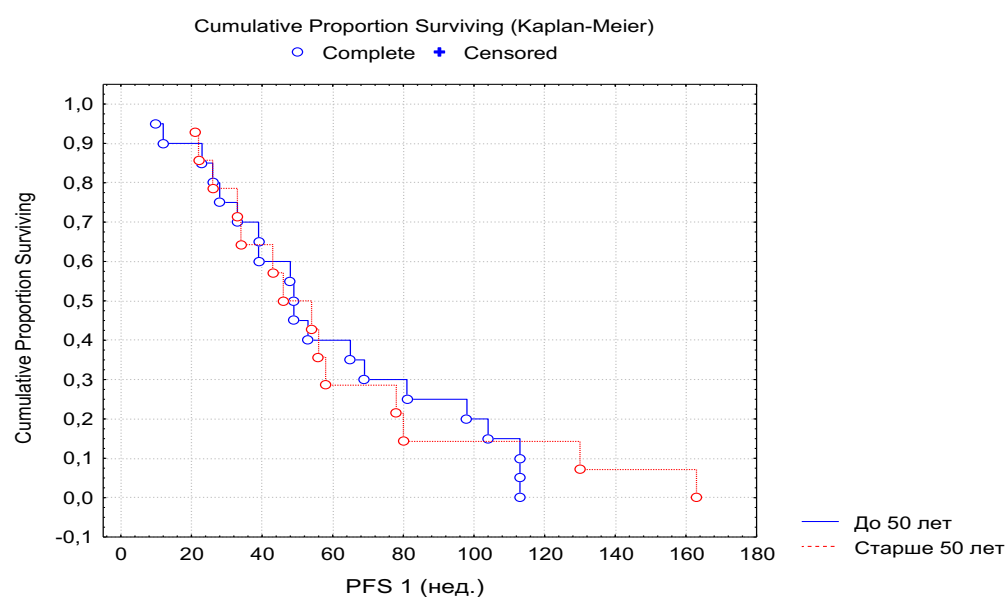


Рисунок 4 – Первый безрецидивный период в зависимости от возраста пациентов ($p=0,98$)

Медиана первого БРП в группе больных в возрасте до 50 лет составила 49 нед, старше 50 лет – 50 недель.

Оценка функционального статуса по шкале Карновского до хирургического лечения позволила разделить всех пациентов на 3 группы: первая – 90 – 100 баллов, вторая – 70 – 80 баллов и третья – менее 60 баллов. Следует отметить, что во всей когорте больных превалировал средний балл по шкале Карновского – 82,4% (Таблица 3).

При анализе влияния функционального статуса пациента по шкале Карновского на длительность первого БРП, определяемого перед 1-й операцией, была получена пропорциональная зависимость, хотя и без статистической достоверности (Рисунок 5).

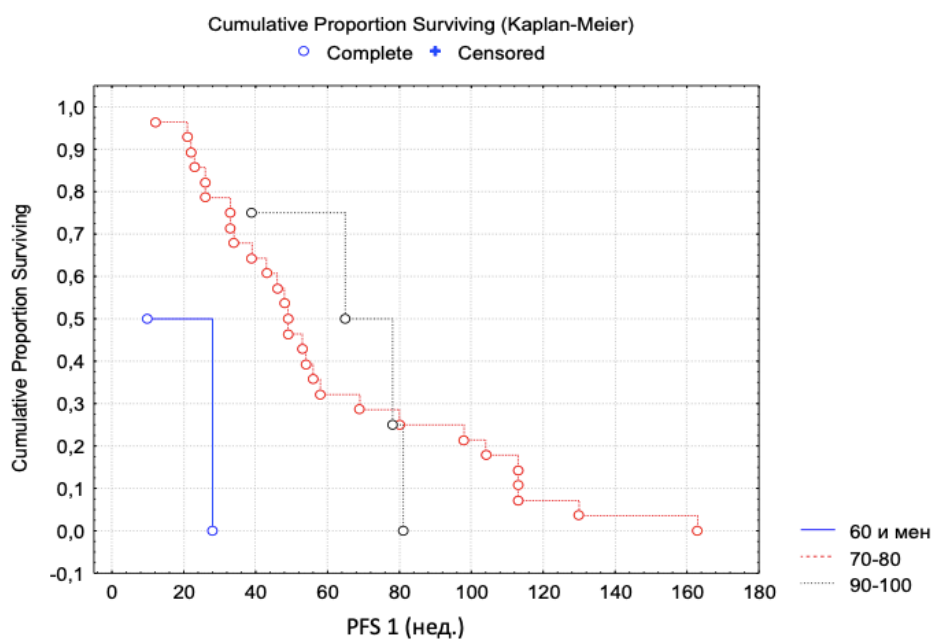


Рисунок 5 – Первый безрецидивный период в зависимости от функционального статуса по шкале Карновского, определяемого перед 1-й операцией ($p=0,12$)

Медиана первого БРП у пациентов с функциональным статусом в 60 баллов составила 19 недель, в 70 – 80 баллов – 49 недель и в 90 – 100 баллов – 71,5 недели. Отсутствие статических различий можно объяснить недостаточным числом наблюдений в группах с низкими и высокими показателями.

Частота встречаемости клинических симптомов у пациентов при постановке первичного клинического диагноза представлено в таблице 6.

Таблица 6 – Клиническая картина на момент постановки первичного диагноза

клинический симптом	число наблюдений (n=34)
головная боль	30 (88,2%)
тошнота/рвота	9 (26,5%)
судорожный синдром	21 (61,7%)
когнитивные нарушения	15 (44,1%)
речевые нарушения	10 (29,4%)
центральные парезы/параличи	17 (50%)
нарушения чувствительности	8 (23,4%)

Наиболее частыми клиническими симптомами были головная боль (88,2%, 30/34) и судорожный синдром (61,7%, 21/34), что можно объяснить диффузным ростом опухоли и наличием перифокального отека. Проявление других клинических симптомов зависело от локализации опухоли.

Распределение пациентов после операции по ранее заданным группам в зависимости от функционального статуса по шкале Карновского (первая группа – 90 – 100 баллов, вторая – 70 – 80 баллов и третья – менее 60 баллов) нецелесообразно, ввиду ограниченной выборки пациентов в группе с низким функциональным статусом (n=1). В связи с этим вся когорта больных была разделена на две группы: первая – 60 – 70 баллов, вторая – более 80 баллов (таблица 3). Проводилась оценка влияния функционального статуса пациентов по шкале Карновского, определяемого после 1-й операции, на медиану первого БРП (Рисунок 6).

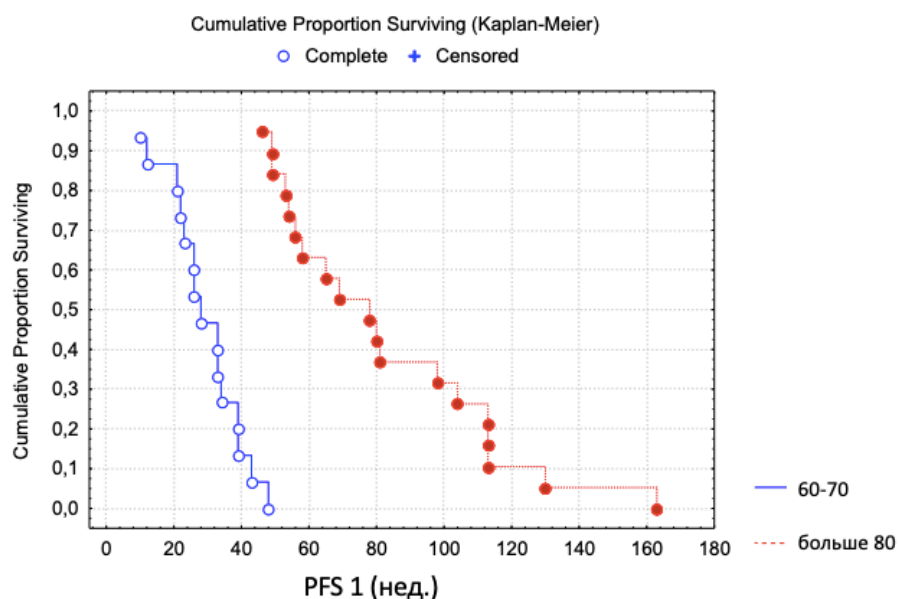


Рисунок 6 – Первый безрецидивный период в зависимости от функционального статуса по шкале Карновского, определяемого после 1-й операции ($p=0,001$)

Сохранение высокого функционального статуса или его повышение (≥ 80 баллов) привело к увеличению медианы первого БРП на 50 недель (79 vs 29 недель).

Проводилась оценка влияния на медиану первого БРП различных рентгенологических характеристик первичной опухоли (вовлечение в опухолевый процесс базальных структур, сторона поражения головного мозга, распространение опухолевого процесса, объем поражения головного мозга).

На медиану первого БРП не повлияли вовлечение в опухолевый процесс базальных структур головного мозга ($p=0,9$) и сторона поражения ($p=0,67$). Статистически достоверного влияния на первый БРП не оказала и распространенность опухолевого процесса (одна доля vs за пределы одной доли) (51 vs 44 нед, $p=0,6$) (Рисунок 7).

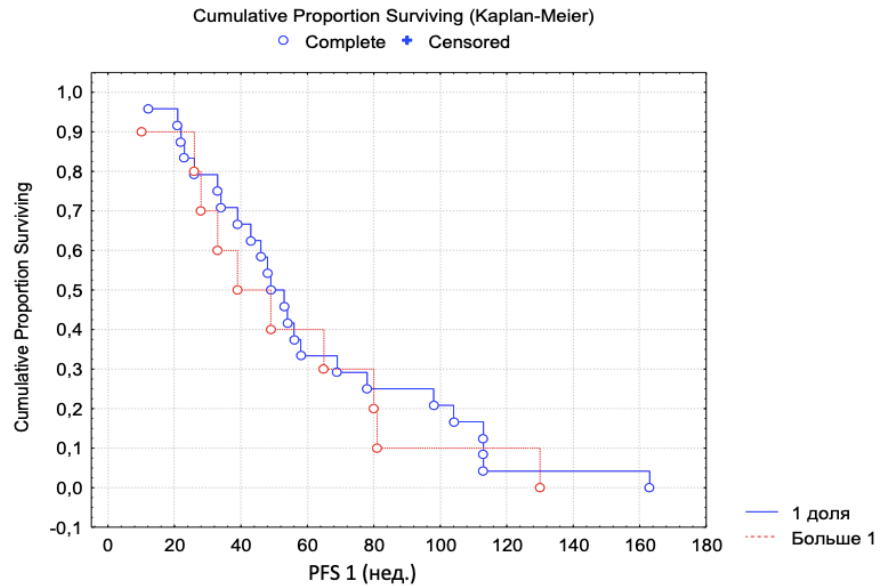


Рисунок 7 – Первый безрецидивный период в зависимости от распространенности опухолевого процесса ($p=0,6$)

Также не было выявлено влияния на длительность первого БРП объема поражения ($p=0,52$) (Рисунок 8).

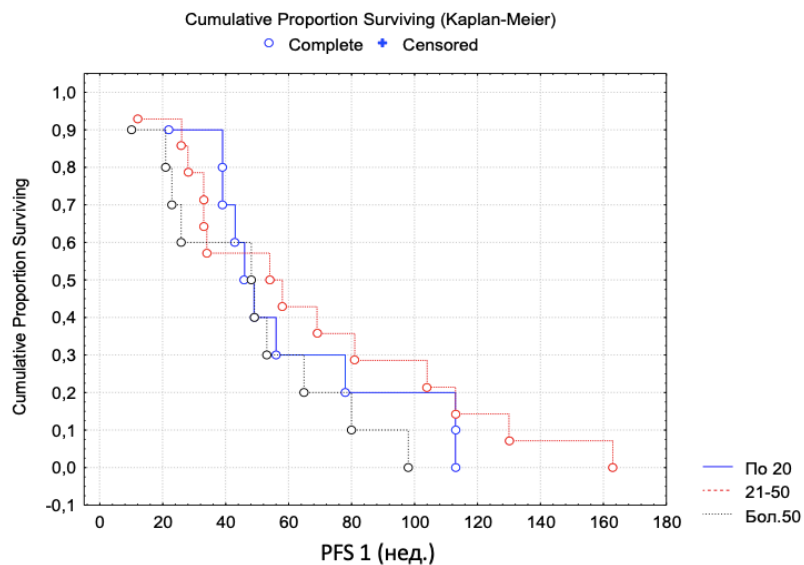


Рисунок 8 – Первый безрецидивный период в зависимости от объема поражения ($p=0,52$)

Медиана БРП у больных с объемом поражения менее 20 см² составила 49 недель, с объемом от 21-50 см² – 56 недель, с объемом более 50 см² – 48,5 недели.

3.2. Частота уровней экспрессии мРНК генов: MGMT, VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1, TOP2A и мутаций в генах IDH1 и IDH2 в материале от первой операции и их роль в прогнозе заболевания

Определение мутации в генах IDH1(R132H) и IDH2 (R172H) было проведено в 33 случаях в материалах от первой операции (97%, 33/34). Повреждение в гене IDH2 не было выявлено ни в одном случае. Мутация в гене IDH1(R132H) наблюдалась только у 3 пациентов (9,1%) (Таблица 7).

Таблица 7 – Частота мутации в генах IDH1 и IDH2 в материале от первой операции

мутация	количество случаев (n=33)
мутация в гене IDH1 (+),	3 (9,1%)
мутация в гене IDH1 (-) и IDH2 (-)	30 (90,9%)
мутация в гене IDH2 (+),	0 (0%)

В материале от первой операции удалось определить уровни экспрессии генов β -tubulin III, ERCC-1 и TOP2A – у 91,2% пациентов (31/34) и PDGFRA в 85,3% случаев (29/34). Экспрессии генов MGMT и VEGF были определены у всех пациентов (n=34) (Таблица 8).

Таблица 8 – Уровни экспрессии мРНК генов MGMT, VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1, TOP2A в материале от первой операции

ген/число пациентов	уровень экспрессии	частота встречаемости
1	2	3
MGMT (n=34)	низкий	26 (76,5%)
	высокий	8 (23,5%)
VEGF (n=34)	низкий	2 (5,8%)
	средний	11 (32,4%)
	высокий	21 (61,8%)

Продолжение таблицы 8

1	2	3
PDGFRA (n=29)	низкий	4 (13,8%)
	средний	19 (65,5%)
	высокий	6 (20,7%)
β -tubulin III (n=31)	низкий	2 (6,5%)
	средний	9 (29%)
	высокий	20 (64,5%)
ERCC-1 (n=31)	низкий	5 (16,1%)
	средний	12 (38,7%)
	высокий	14 (45,2%)
TOP2A (n=31)	низкий	3 (9,7%)
	средний	20 (64,5%)
	высокий	8 (25,8%)

Обращает на себя внимание большое количество случаев с низким уровнем экспрессии гена MGMT (76,5%, 26/34). Уровень экспрессии гена VEGF преимущественно был высоким (61,8%, 21/34), низкая экспрессия гена VEGF зарегистрирована только у 2 больных (5,8%, 2/34). В большинстве случаев наблюдалась высокая экспрессии гена β -tubulin III (64,5%, 20/31). Экспрессии гена ERCC1 преимущественно была на высоком или среднем уровне (45,2%, 14/31 и 38,7% 12/31). Уровни экспрессии генов PDGFRA и TOP2A, как правило, имели среднее значение (65,5%, 19/29 и 64,5%, 20/31). Следует отметить, что низкая экспрессия генов PDGFRA и TOP2A регистрировалась не часто (PDGFRA: 13,8%, 4/29 и TOP2A 9,7%, 3/31).

Отдельно проанализирован молекулярно-генетический статус с определением уровня экспрессии мРНК генов MGMT, VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1, TOP2A у 3 пациентов с наличием мутации в гене IDH1 (Таблица 9).

Таблица 9 – Уровни экспрессии мРНК генов MGMT, VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1, TOP2A в материале от первой операции с наличием мутации в гене IDH1 (R132H)

случай	уровень экспрессии					
	MGMT	VEGF	PDGFRA	β -tubulin III	ERCC-1	TOP2A
1	низкий	средний	средний	высокий	высокий	низкий
2	низкий	средний	средний	высокий	высокий	низкий
3	низкий	средний	высокий	высокий	средний	высокий

У всех 3 пациентов с наличием мутации в гене IDH1(R132H) выявлялся низкий уровень экспрессии гена MGMT, уровень экспрессии гена VEGF был средним, что косвенно говорит о меньшей агрессивности опухоли.

Дополнительно проведена оценка клинических характеристик пациентов с учетом молекулярно-генетических особенностей опухоли.

В обеих возрастных группах у всех больных проведена оценка экспрессии генов MGMT и VEGF. У пациентов в возрасте до 50 лет уровень экспрессии гена β -tubulin III был известен в 100% случаев (20/20), PDGFRA - в 85% (17/20), ERCC-1 и TOP2A – в 95% (19/20). В группе старшего возраста экспрессия гена β -tubulin III была определена у 78,5% пациентов (11/14), PDGFRA, ERCC-1 и TOP2A – 85,7% (12/14) (Таблица 10).

Таблица 10 – Уровни экспрессии мРНК генов MGMT, VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1, TOP2A в материале от первой операции в двух возрастных группах

мутация в гене IDH 1	младше 50 лет	старше 50 лет
1	2	3
наличие мутации	3 (15%)	0
отсутствие мутации	17 (85%)	14 (100%)
уровень экспрессии гена (число больных: младше 50 лет/старше 50 лет)	младше 50 лет	старше 50 лет

1		2	3
MGMT (n=20/14)	низкий	14 (70%)	12 (85,7%)
	высокий	6 (30%)	2 (14,3%)
VEGF (n=20/14)	низкий	1 (5%)	1 (7,2%)
	Средний	8 (40%)	3 (21,4%)
	высокий	11 (55%)	10 (71,4%)
PDGFRA (n=17/12)	низкий	2 (11,8%)	2 (16,7%)
	Средний	10 (58,8%)	9 (75%)
	высокий	5 (29,4%)	1 (8,3%)
β -tubulin III (n=20/11)	низкий	2 (10%)	0 (0%)
	Средний	4 (20%)	5 (45,5 %)
	высокий	14 (70%)	6 (54,5%)
ERCC-1 (n=19/12)	низкий	2 (10,5%)	3 (25%)
	Средний	6 (31,6%)	6 (50%)
	высокий	11 (57,9%)	3 (25%)
TOP2A (n=19/12)	низкий	2 (10,5%)	1 (8,3%)
	Средний	12 (63,2%)	8 (66,7%)
	высокий	5 (26,3%)	3 (25%)

Уровень экспрессии гена VEGF в группе пациентов старшего возраста был преимущественно высоким (71,4%, 10/14). В 83,3% случаев высокого уровня экспрессии гена PDGFRA (5/6) был зарегистрирован у пациентов в возрасте младше 50 лет. Экспрессия гена β -tubulin III у пациентов моложе 50 лет в большинстве случаев была высокой (70% 14/20), у больных в возрасте старше 50 лет частота встречаемости среднего и высокого уровней экспрессии гена β -tubulin III были практически одинаковыми (45,5%, 5/11 и 54,5%, 6/11). Для пациентов моложе 50 лет характерно наличие высокого уровня активности гена ERCC1 (57,9%, 11/19), в группе же больных старше 50 лет экспрессия гена ERCC1 преимущественно была средней (50% 6/12). При анализе уровней экспрессии MGMT и TOP2A различий в частоте встречаемости в двух возрастных группах не выявлено.

Для оценки молекулярно-генетического статуса при разном объеме поражения головного мозга случаи с распространением опухоли за пределы одной доли головного мозга объединены в одну группу (Таблица 11).

Таблица 11 – Объем поражения головного мозга и молекулярно-генетические характеристики в материале от первой операции

Параметры		объем поражения головного мозга	
		одна доля	более одной доли
наличие мутации IDH 1		2	1
отсутствие мутации IDH 1		22	9
уровень экспрессии гена (число больных: одна доля/более одной доли)		одна доля	более одной доли
MGMT (n=24/10)	низкий	18 (75%)	8 (80%)
	высокий	6 (25%)	2 (20%)
VEGF (n=24/10)	низкий	1 (4,2%)	1 (10%)
	средний	9 (37,5%)	2 (20%)
	высокий	14 (58,3%)	7 (70%)
PDGFRA (n=21/8)	низкий	3 (14,3%)	1 (12,5%)
	средний	15 (71,5%)	4 (50%)
	высокий	3 (14,2%)	3 (37,5%)
β -tubulin III (n=23/8)	низкий	2 (8,7%)	0 (0%)
	средний	7 (30,4%)	2 (25%)
	высокий	14 (60,9%)	6 (75%)
ERCC-1 (n=24/7)	низкий	5 (20,8%)	0 (0%)
	средний	9 (37,5%)	3 (42,8%)
	высокий	10 (41,7%)	4 (57,2%)
TOP2A (n=22/9)	низкий	3 (13,6%)	0 (0%)
	средний	13 (59,1%)	7 (77,8%)
	высокий	6 (27,3%)	2 (22,2%)

Высокий уровень экспрессии гена VEGF преимущественно регистрировался при распространении опухоли за пределы одной доли головного мозга (70%, 7/10). Все 5 случаев с низкой активностью гена ERCC1 были зарегистрированы при локализации опухоли в пределах одной доли головного мозга. Только у пациентов с поражением одной доли наблюдался низкий уровень экспрессии β -tubulin III (2/31). Не выявлено влияния уровней экспрессии остальных генов (MGMT, PDGFRA, TOP2A) на объем поражения головного мозга.

Достоверных различий экспрессии исследуемых генов и индекса пролиферативной активности в опухоли при разной распространенности опухолевого процесса не выявлено.

Отдельно оценивался уровень экспрессия мРНК гена MGMT в зависимости от локализации опухоли (Таблица 12).

Таблица 12 – Уровень экспрессии мРНК гена MGMT в материале от первой операции в зависимости от локализации опухоли

уровень экспрессии гена MGMT	1 доля головного мозга (n=24)				более 1 доли головного мозга (n=10)	
	ВД (n=11)	ТД (n=6)	ЛД (n=6)	ЗД (n=1)	с вовлечением базальных структур (n=6)	без вовлечения базальных структур (n=4)
низкий (n=26)	10	5	3	0	5	3
высокий (n=8)	1	1	3	1	1	1

Примечание: ВД – височная доля; ТД – теменная доля; ЛД – лобная доля; ЗД – затылочная доля

При локализации опухоли в височной и теменной долях уровень экспрессии гена MGMT преимущественно был низкий (91% и 83,3%, соответственно).

Влияние экспрессии генов MGMT, VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1, TOP2A и мутации в гене IDH1, на медиану первого безрецидивного периода

Наличие мутаций в генах IDH1 и IDH2 является основным прогностическим генетическим маркером для пациентов с первичной глиобластомой. В нашем исследовании мутация в гене IDH1(R132H) была выявлена в 9,1% случаев (3/33), а мутации в гене IDH2 не были обнаружены ни в одном случае. Медиана первого БРП при наличии мутации в гене IDH1(R132H) была значительно выше (98 недель), чем при отсутствии данной аберрации (48,5 недель), хотя и без статистической значимости ($p=0,5$) (Рисунок 9).

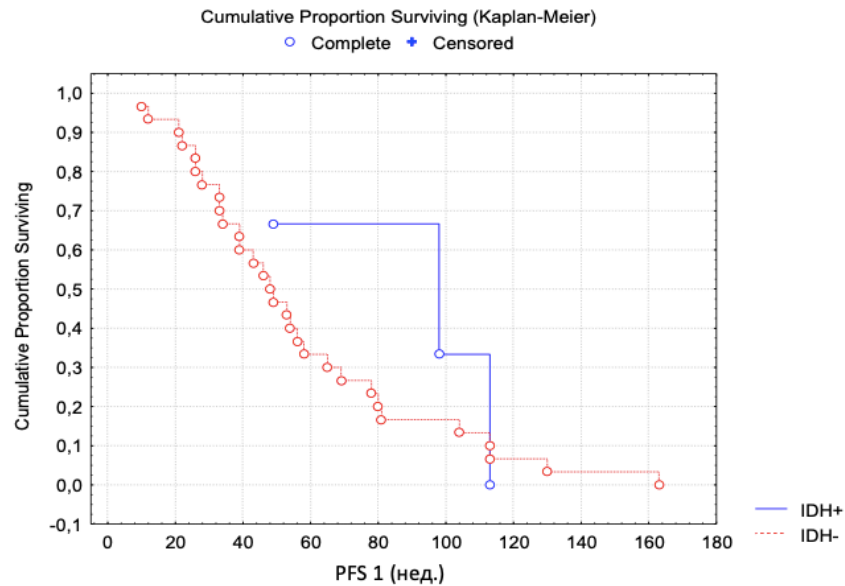


Рисунок 9 – Первый безрецидивный период в зависимости от наличия мутации в гене IDH1 ($p=0,5$)

Отсутствие статистической достоверности можно объяснить редкой встречаемостью мутаций в генах IDH1 и IDH2 в первичных глиобластомах в целом и недостаточным числом случаев в нашем исследовании.

Статистически достоверное влияние на продолжительность первого БРП оказал ген MGMT ($p=0,036$) (Рисунок 10).

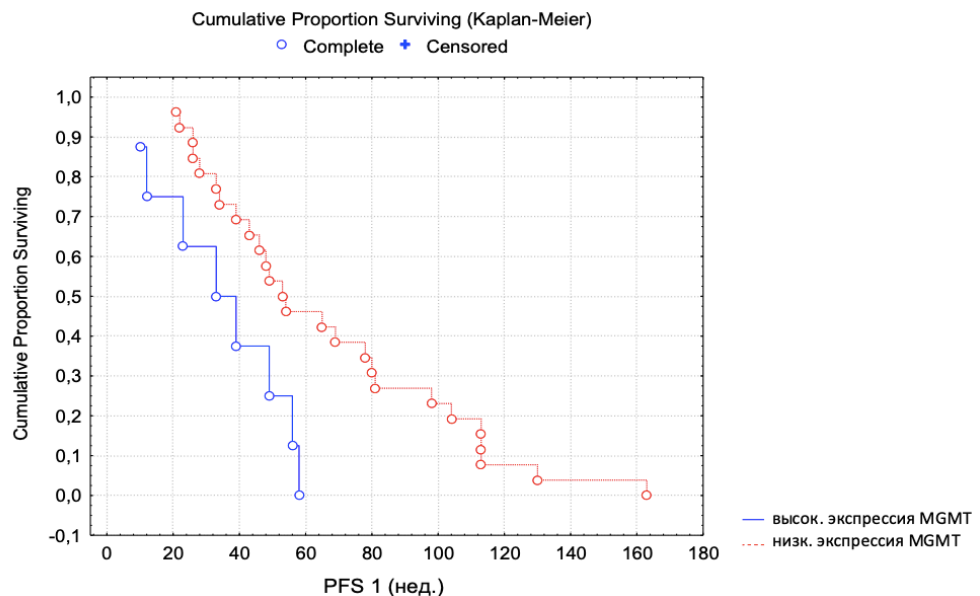


Рисунок 10 – Первый безрецидивный период в зависимости от уровня экспрессии гена MGMT ($p=0,036$)

При низкой экспрессии гена MGMT ($\Delta Ct \geq 2$) медиана первого БРП составила 53,5 нед, тогда как при высокой ($\Delta Ct \leq 1,9$) – 36 недель.

При оценке влияния уровней экспрессии остальных исследуемых генов (VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, TOP2A, ERCC-1) на медиану первого БРП статистической значимости выявлено не было ($p=0,19$, $p=0,2$, $p=0,15$, $p=0,61$, $p=0,52$, соответственно).

3.3. Морфологические характеристики в материале от первой операции

В материалах от первой операции проводилась оценка уровня пролиферативной активности Ki-67, пролиферации сосудов и эндотелия, наличие клеточно-ядерного полиморфизма и некрозов (Таблица 13).

Таблица 13 – Морфологические критерии злокачественности опухоли в материале от первой операции

критерий/число пациентов	уровень	частота встречаемости
Ki-67 (n=32)	до 20%	13(40,6%)
	более 21%	19 (59,4%)
пролиферация сосудов (n=31)	отсутствует	0 (0%)
	Умеренная	1 (3,3%)
	выраженная	30 (96,7%)
пролиферация эндотелия сосудов (n=30)	отсутствует	0 (0%)
	Умеренная	3 (10%)
	выраженная	27 (90%)
клеточно-ядерный полиморфизм (n=31)	отсутствует	0 (0%)
	Умеренная	4 (12,9%)
	выраженная	27 (87,1%)
некрозы (n=31)	отсутствуют	1 (3,3%)
	есть	30 (96,7%)

Индекс пролиферативной активности в большинстве случаев был более 21% (59,4%, 19/32). Остальные морфологические характеристики, такие как пролиферация сосудов и эндотелия, клеточно-ядерный полиморфизм, имели

преимущественно выраженную степень (96,7%, 30/31; 90%, 27/30; 87,1%, 27/31, соответственно). Некрозы отсутствовали только в 1 случае (3,3%, 1/31).

У 3 пациентов из 34 (8,8%, 3/34) опухоль оказалась бикомпонентной. Она сочетала в себе фокусы «первичной глиобластомы» (позитивная окраска опухолевых клеток антителом GFAP) и «примитивный нейрональный компонент» (позитивная окраска опухолевых нейрональных клеток Syn и NSE).

Из всех исследуемых морфологических параметров была проведена оценка влияния на медиану первого БРП индекса пролиферативной активности (Ki-67). При сравнении показателей выживаемости в группах больных с Ki-67 менее 20% и более 21% статистически достоверных различий выявлено не было (53 vs 46 нед, $p=0,67$).

Не установлено влияния на длительность первого БРП наличия примитивного нейронального компонента у трех пациентов ($p=0,9$). Показатели продолжительности жизни до рецидива с наличием или отсутствием примитивного нейронального компонента оказались одинаковыми и составили 49 недель.

3.4. Влияние проводимого лечения (хирургическое лечение, лучевая терапия и химиотерапия) на медиану первого безрецидивного периода

В первую очередь была проведена оценка влияния степени резекции опухоли на длительность первого БРП. Медиана первого БРП со статистической достоверностью оказалась самой высокой у пациентов при субтотальном удалении опухоли (65 недель) (субтот. vs тотальн. $p=0,038$; субтот. vs частично $p=0,05$) (Рисунок 11).

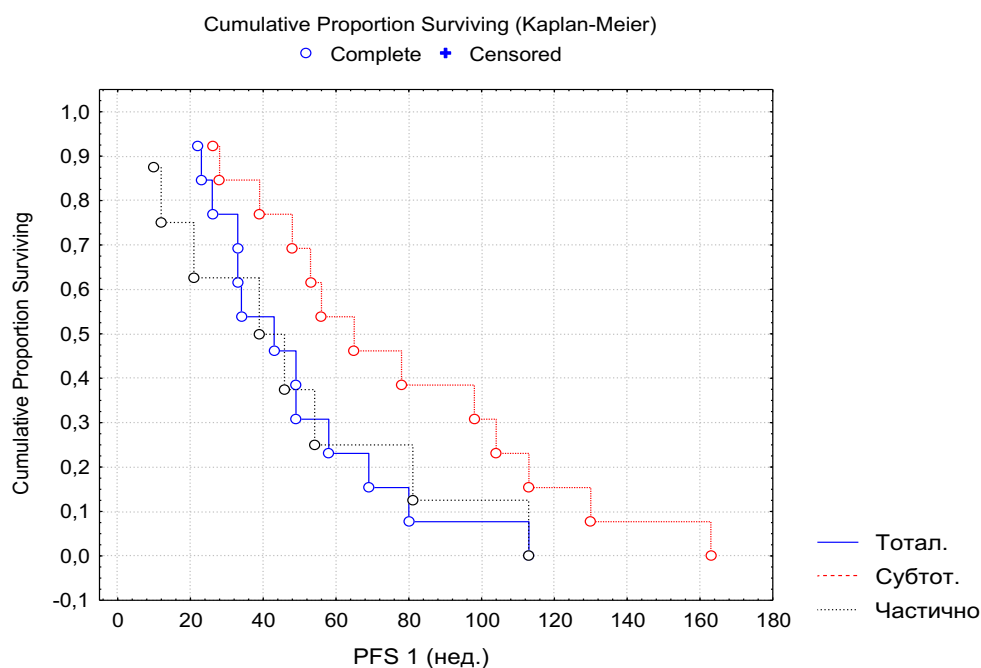


Рисунок 11 – Первый безрецидивный период в зависимости от степени резекции (субтотальное vs тотальное удаление $p=0,038$; субтотальное vs частичное удаление $p=0,05$)

Медиана первого БРП при тотальной степени резекции и частичном удалении опухоли были схожи (43 и 42,5 нед, соответственно).

Дополнительно была проведена оценка влияния использования дополнительных интраоперационных методик на степень резекции опухоли (Таблица 14).

Таблица 14 – Степень резекции опухоли при первой операции при использовании дополнительных интраоперационных методик

интраоперационная методика	степень резекции опухоли (1 операция)		
	близко к тотальному (n=13)	субтотальная (n=13)	частичная (n=8)
1	2	3	4
УЗ-навигация (n=19)	9	7	3
флюоресцентная навигация (n=2)	1	-	1
нейрофизиологический мониторинг (n=11)	3	3	5

Продолжение таблицы 14

1	2	3	4
- картирование коры и трактов	1	2	5
- электрокортикография	2	1	0
комбинация методик (нейрофизиологический мониторинг и УЗ-навигация/ флюоресцентная навигация) (n=8)	3	3	2
не использовались (n=11)	3	6	2

Применение интраоперационной УЗ-навигации способствовало большему объему резекции опухоли. При нерадикальном удалении опухоли наиболее часто используемой методикой был нейрофизиологический мониторинг (13/21), применение которого позволило избежать снижение функционального статуса пациентов после операции (Таблица 15).

Таблица 15 – Изменение функционального статуса после операции при использовании нейрофизиологического мониторинга

изменение функционального статуса по шкале Карновского после операции	количество случаев
остался на прежнем уровне	3 (23,1%)
снизился	2 (15,4%)
Повысился	8 (61,5%)

После хирургического лечения всем пациентам проводилась лучевая терапия (ЛТ), в 61,8% случаев (21/34) с ежедневным приемом темозоломида (Рисунок 12).

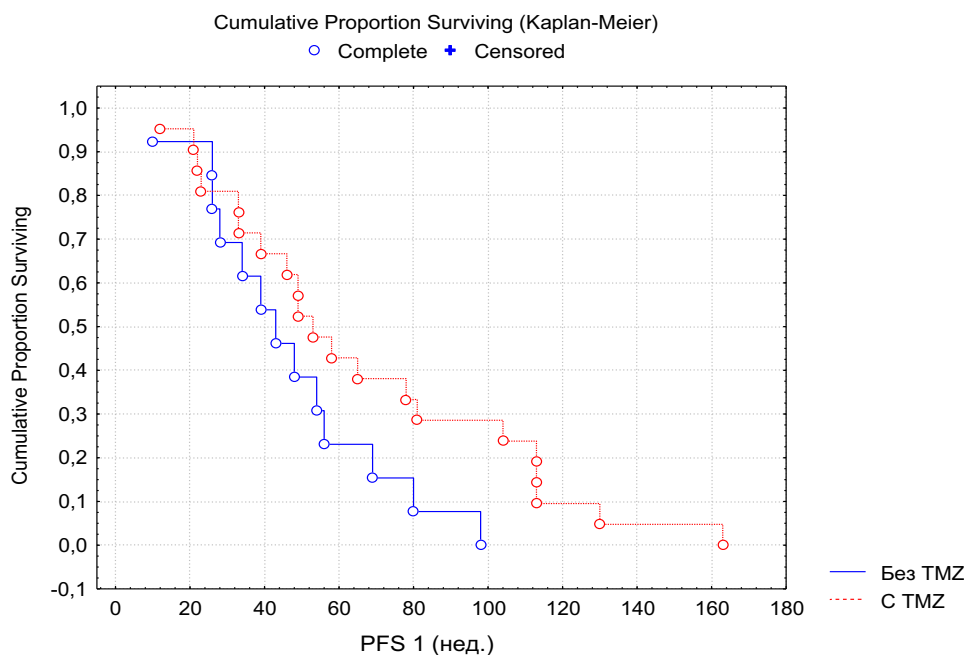


Рисунок 12 – Первый безрецидивный период в зависимости от проведения лучевой терапии с и без темозоломида ($p=0,08$)

Было отмечено, что медиана первого БРП в группе пациентов, которые при проведении ЛТ ежедневно получали темозоломид, оказалась выше на 10 недель (более чем 3 месяца), по сравнению с больными, которые не получали химиотерапию (ХТ) вовремя ЛТ (53 vs 43 нед), и статистические различия были близки к достоверным ($p=0,08$).

Проведен анализ влияния радикальности удаления опухоли, а также ЛТ с или без ХТ на продолжительность первого БРП в зависимости от экспрессии мРНК гена MGMT. Все пациенты были разделены на 2 биологических подтипа: 1 группа – с низкой экспрессией мРНК гена MGMT и 2 группа – с высокой.

Тотальное удаление было выполнено у 9 пациентов (69,23%, 9/13) с низкой активностью гена MGMT и у 4 (30,77%, 4/13) – с высокой. Резидуальная опухоль на послеоперационном МРТ-исследовании головного мозга была зарегистрирована у 17 пациентов (80,9%, 17/21) с низкой экспрессией исследуемого гена и у 4 (19,1%, 4/21) – с высокой. Данные по медиане первого БРП представлены в таблице 16.

Таблица 16 – Медиана первого безрецидивного периода в зависимости от степени резекции и биологического подтипа опухоли

экспрессия гена MGMT	медиана первого БРП (нед.) (число случаев)	
	тотальное удаление опухоли	нерадикальное удаление опухоли (частичное и субтотальное)
низкая (1 подтип)	38,5 (n=9)	59,5 (n=17)
высокая (2 подтип)	33 (n=4)	12 (n=4)

Statistical significance values (p-values) shown in the diagram:
 - Comparison between low and high MGMT expression for total removal: $p=0,9$ (dashed arrow)
 - Comparison between low and high MGMT expression for non-radical removal: $p=0,038$ (solid arrow)
 - Comparison between low and high MGMT expression for total removal vs non-radical removal: $p=0,049$ (solid arrow)
 - Comparison between low and high MGMT expression for non-radical removal vs total removal: $p=0,6$ (dashed arrow)
 - Comparison between low and high MGMT expression for non-radical removal vs total removal (low MGMT): $p=0,05$ (solid arrow)

Самый длительный со статистической достоверностью первый БРП был у пациентов с низкой экспрессией гена MGMT при нерадикальном удалении опухоли (59,5 нед (13,7 мес); $p \geq 0,05$). Самые низкие показатели выживаемости были зарегистрированы при высокой экспрессии гена MGMT (33 (7,6 мес) и 12 недель (2,7 мес)). У пациентов с высокой экспрессией гена MGMT медиана первого БРП при тотальном удалении опухоли была выше более, чем в 2,5 раза по сравнению с выживаемостью при нерадикальной циторедукции (33 (7,6 мес) vs 12 недель (2,7 мес); $p=0,6$), хотя статистической достоверности получено не было (Рисунок 13).

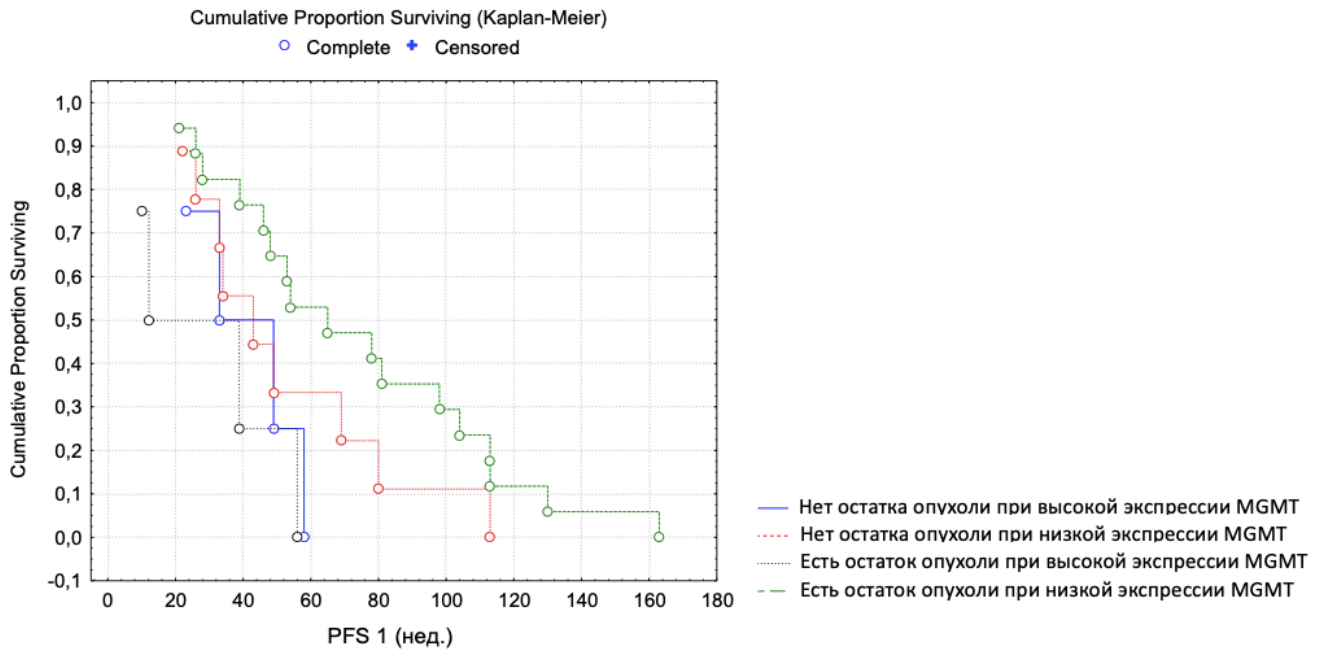


Рисунок 13 – Первый безрецидивный период в зависимости от степени резекции и биологического подтипа опухоли

При тотальном удалении опухоли не было выявлено достоверного различия в выживаемости между двумя биологическими подтипами (38,5 (8,8 мес) vs 33 недели (7,6 мес); $p=0,9$). При нерадикальной циторедукции группа с низкой экспрессией гена MGMT имела статистически значимое преимущество в выживаемости над пациентами с высокой активностью MGMT (59,5 (13,7 мес) vs 12 недель (2,7 мес); $p=0,038$).

ЛТ с ежедневным прием темозоломида получили 15 пациентов (71,4%, 15/21) с низкой активностью гена MGMT и 6 (28,6%, 6/21) – с высокой. 11 больным (84,6%, 11/13) с низкой активностью и 2 (15,4%, 2/13) с высокой экспрессией исследуемого гена ЛТ проводилась без темозоломида. Данные по медиане первого БРП представлены в таблице 17.

Таблица 17 – Медиана первого безрецидивного периода в зависимости от проводимой лучевой терапии и биологического подтипа опухоли

экспрессия гена MGMT	медиана первого БРП (нед.) (число случаев)	
	лучевая терапия с темозоломидом	лучевая терапия без темозоломида
низкая (1 подтип)	71,5 (n=15)	41 (n=11) p=0,07
высокая (2 подтип)	33 (n=6) p=0,039	33 (n=2) p=0,7

При совместной химиолучевой терапии у пациентов с низкой экспрессией гена MGMT длительность первого БРП со статистической достоверностью оказалась выше на 8,8 мес, по сравнению со вторым биологическим подтипом (71,5 (16,4 мес) vs 33 недели (7,6 мес); p=0,039) (Рисунок 14).

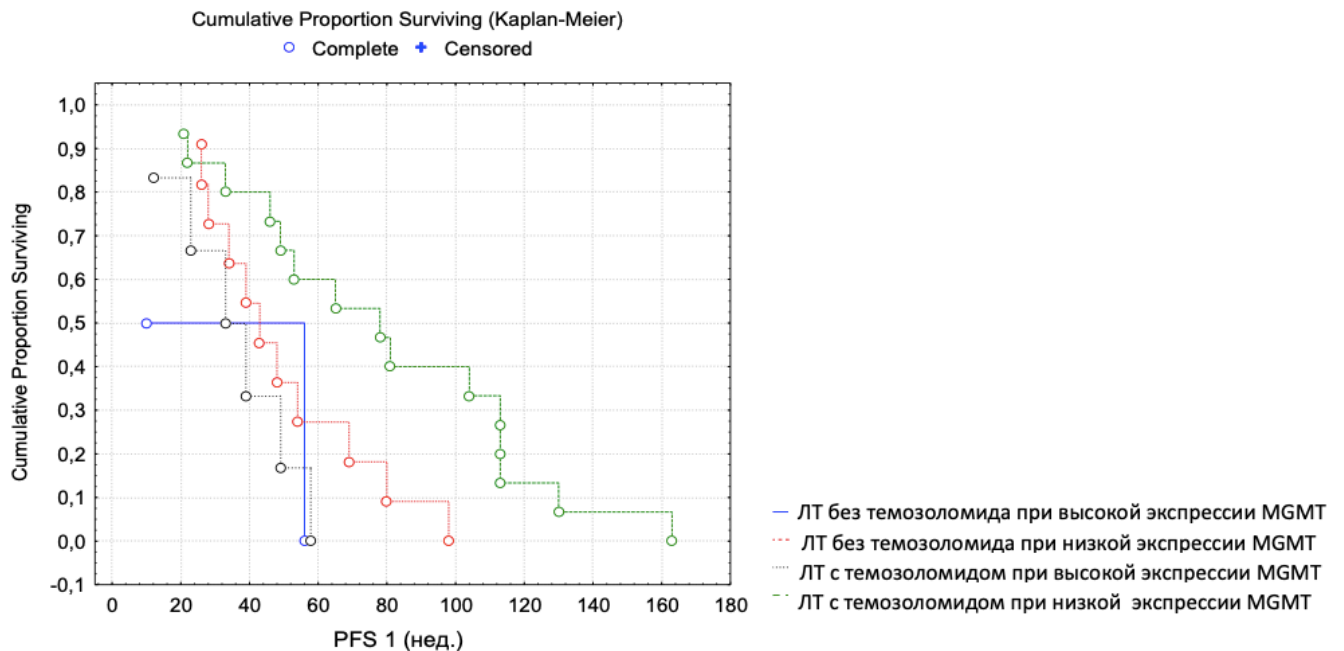


Рисунок 14 – Первый безрецидивный период в зависимости от биологического подтипа опухоли и тактики проведения лучевой терапии (с темозоломидом и без него)

При проведении лучевой терапии без ежедневного приема темозоломида не было выявлено статистически значимого влияния уровня экспрессии гена MGMT на медиану первого БРП (41 (9,4 мес) vs 33 недели (7,6 мес); $p=0,7$). В случае низкой экспрессии гена MGMT добавление химиотерапии к лучевой терапии увеличило медиану первого БРП на 30,5 недель (7 месяцев) с тенденцией к статистической достоверности (71,5 (16,4 мес) vs 41 неделя (9,4 мес); $p=0,07$). При высокой экспрессии гена MGMT не выявлено преимуществ в выживаемости при проведении лучевой терапии с темозоломидом или без (33 (7,6 мес) vs 33 недели (7,6 мес); $p=0,9$).

Медиана первого БРП со статистической достоверностью зависела от интенсивности ХТ первой линии ($p=0,00059$) (Рисунок 15).

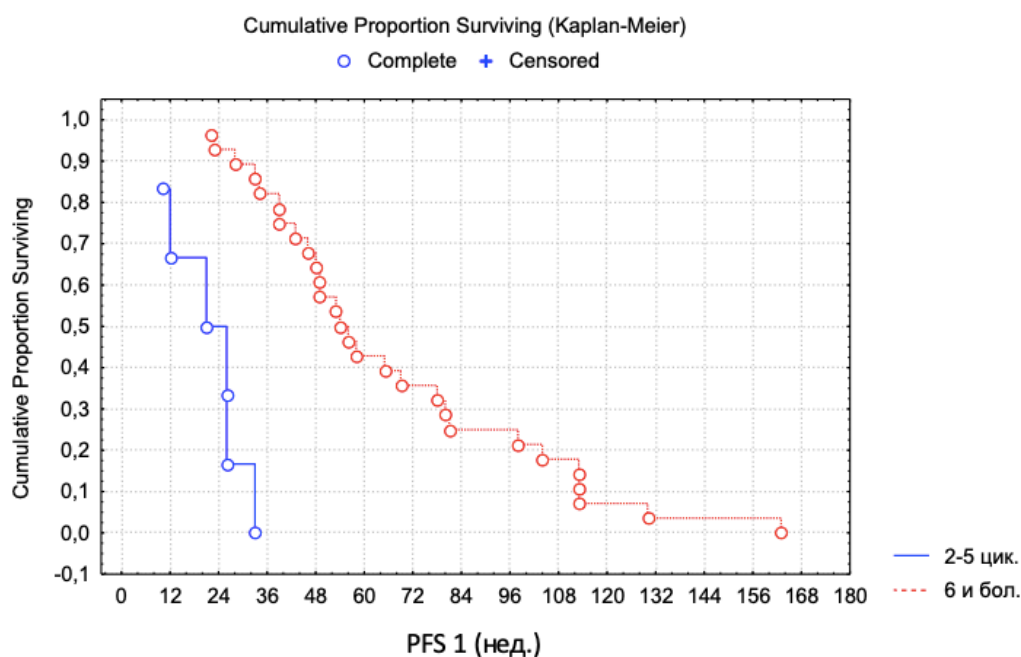


Рисунок 15 – Первый безрецидивный период в зависимости от интенсивности химиотерапии первой линии ($p=0,00059$)

Проведение ХТ в объеме от 6 циклов и выше увеличило медиану выживаемости больных более чем в 2 раза по сравнению с пациентами, получившими меньшее число циклов (55 vs 23,5 недели).

По результатам нашего исследования на медиану первого БРП не оказали влияние такие клинико-демографические характеристики, как возраст и предоперационный функциональный статус (по шкале Карновского) ($p=0,98$, $p=0,12$). Однако было отмечено, что медиана первого БРП со статистической достоверностью была выше при функциональном статусе в послеоперационном периоде (по шкале Карновского) более 80 баллов ($p=0,001$). Влияния нейровизуализационных характеристик опухоли (распространенность опухолевого процесса, вовлечение в опухолевый процесс базальных структур, сторона поражения головного мозга, объем поражения) на выживаемость пациентов зарегистрировано не было ($p=0,98$, $p=0,6$, $p=0,9$, $p=0,67$, $p=0,52$ соответственно).

Несмотря на то, что, по данным литературы, у 40-50% пациентов с первичной глиобластомой регистрируется низкая активность гена MGMT, в нашей работе экспрессия гена MGMT в большинстве случаев была низкой (76,5%, 26/34). Экспрессия остальных исследуемых генов (VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, TOP2A, ERCC-1) преимущественно соответствовала среднему или высокому уровню. Определены молекулярно-генетические особенности опухоли в зависимости от возраста пациентов. Высокие уровни экспрессии генов PDGFRA, β -tubulin III и ERCC-1 в опухоли преимущественно регистрировались в группе пациентов до 50 лет (83,3%, 5/6; 70%, 14/20; 78,6%, 11/14). У пациентов в возрасте старше 50 лет наиболее часто наблюдалось высокое содержание гена VEGF (71,4% vs 55%). Среди всех исследуемых генов только ген MGMT со статистической достоверностью влиял на медиану первого БРП ($p=0,036$). Показатели выживаемости были выше у пациентов с низким уровнем экспрессии гена MGMT в опухоли (53,5 vs 36 недели).

При оценке прогностической роли степени резекции было отмечено, что продолжительность первого БРП была выше при тотальном удалении опухоли, но только при высокой экспрессии гена MGMT (33 vs 12 недели, $p=0,6$). Проведение

же совместной лучевой и химиотерапии при данном биологическом подтипе опухоли не дало преимуществ в выживаемости (33 vs 33 недели). В тоже время при низком уровне экспрессии гена MGMT в первичной глиобластоме при нерадикальном удалении опухоли со статической достоверностью медиана первого БРП была выше, чем при тотальной циторедукции (59,5 vs 38,5 нед, $p=0,05$), а добавление к лучевой терапии темозоломида в этой группе пациентов привело к увеличению медианы первого БРП на 30,5 недель (7 месяцев) ($p=0,039$). Во всей когорте больных на безрецидивную выживаемость оказало влияние количество циклов химиотерапии первой линии ($p=0,00059$).

ГЛАВА 4. КЛИНИЧЕСКАЯ КАРТИНА ПАЦИЕНТОВ, МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОПУХОЛИ ПОСЛЕ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ.
ЛЕЧЕНИЕ ВО ВТОРОЙ ЛИНИИ

4.1. Клинические характеристики пациентов с первичной глиобластомой после рецидива и их влияние на медиану второго безрецидивного периода

На медиану второго БРП оказал влияния возраст пациентов с тенденцией к статической значимости ($p=0,07$) (Рисунок 16).

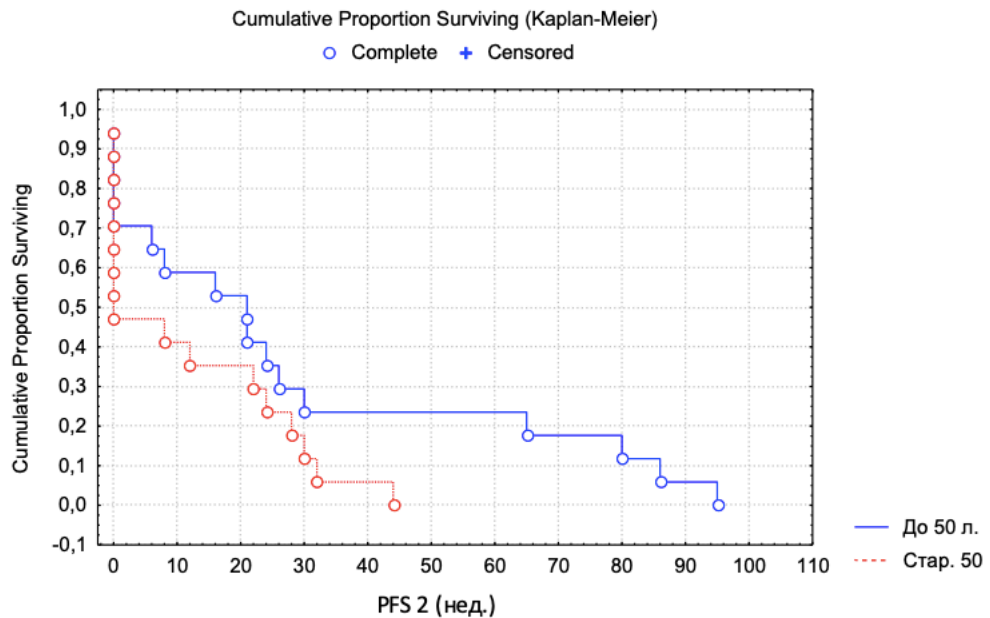


Рисунок 16 – Второй безрецидивный период в зависимости от возраста пациентов ($p=0,07$)

Медиана второго БРП в группе больных до 50 лет оказалась более чем в 2 раза выше, чем у пациентов старше 50 лет (18,5 vs 8 недель).

Далее был проведен анализ влияния функционального статуса по шкале Карновского, определяемого перед второй операцией, на медиану второго безрецидивного периода (Рисунок 17). Перед выполнением второй операции ни у одного пациента функциональный статус не был выше 80 баллов (таблица 3, глава 2 «Материалы и методы»).

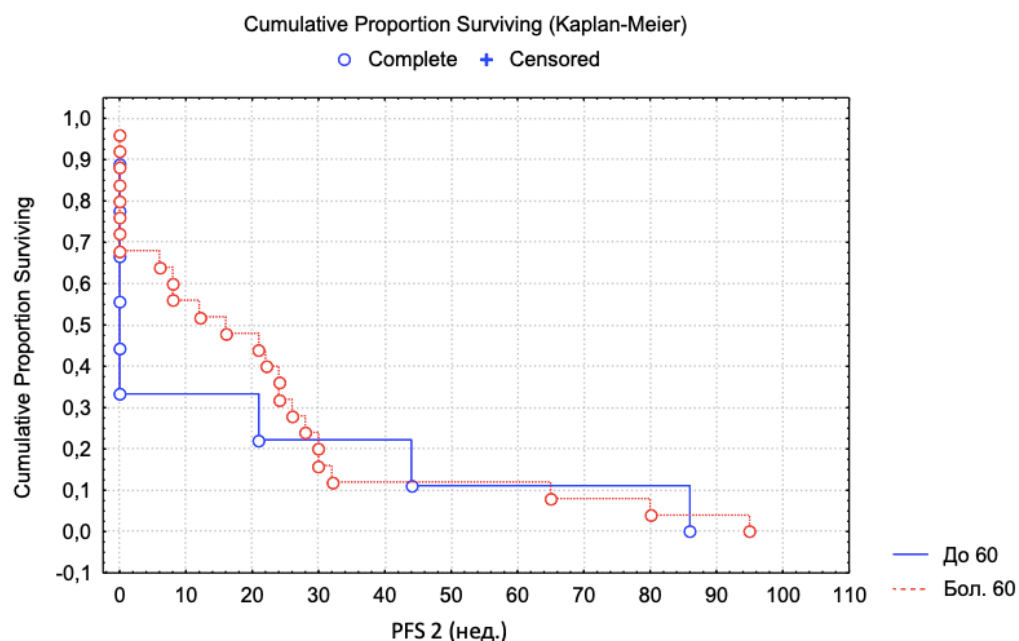


Рисунок 17 – Второй безрецидивный период в зависимости от функционального статуса по шкале Карновского перед второй операцией ($p=0,25$)

Несмотря на то, что статистически достоверного влияния предоперационного функционального статуса на длительность второго БРП получено не было ($p=0,25$), медиана БРП при функциональном показателе более 70 баллов была на 11 недель (2,5 мес) выше, чем в группе пациентов с функциональным статусом 60 баллов и ниже (16 vs 5 недель).

Дополнительно проводился анализ клинической симптоматики на момент диагностирования рецидива (Таблица 18).

Таблица 18 – Клиническая картина на момент рецидивирования заболевания

клинический симптом	число наблюдений (n=34)
1	2
головая боль	28 (82,3%)
тошнота/рвота	7 (20,6%)

1	2
эписиндром	15 (44,1%)
когнитивные нарушения	17 (50%)
речевые нарушения	10 (29,4%)
центральные парезы/параличи	18 (52,9%)
нарушения чувствительности	9 (26,4%)

При прогрессировании заболевания самым часто выявляемым симптомом была головная боль (82,3%). Другие клинические проявления были сопоставимы с локализацией рецидива.

Определена зависимость медианы второго БРП от функционального статуса (по шкале Карновского) пациентов после 2-й операции (Рисунок 18).

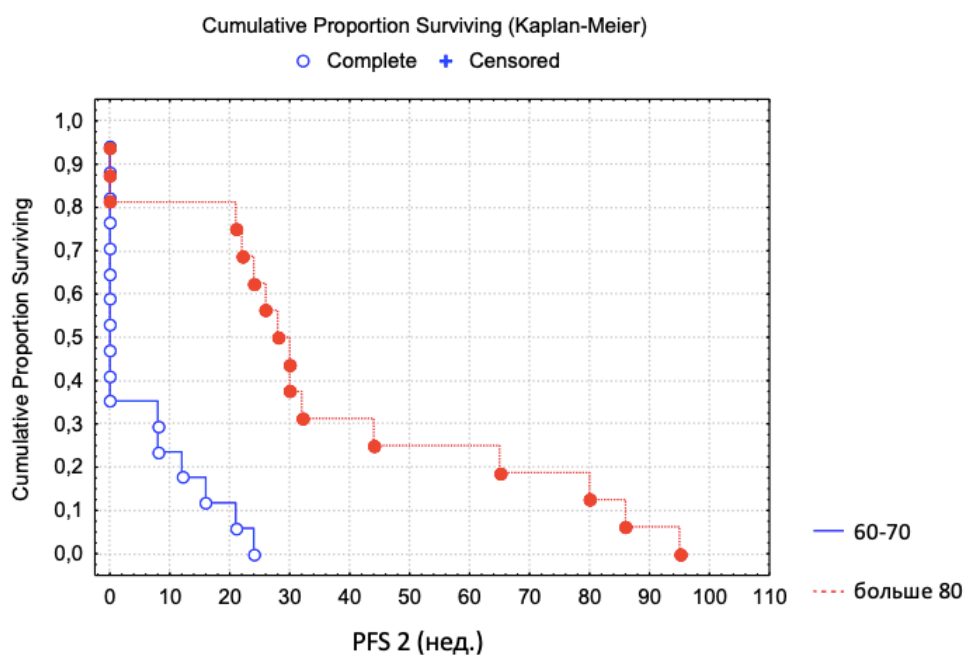


Рисунок 18 – Второй безрецидивный период в зависимости от функционального статуса по шкале Карновского после 2-й операции ($p=0,001$)

Медиана второго БРП в группе пациентов с послеоперационным функциональным статусом (по шкале Карновского) 70 баллов и менее оказалась на 29 недель (6,6 мес) ниже, чем при функциональном статусе 80 баллов и выше (0 vs 29 недель).

Проведена оценка зависимости медианы второго безрецидивного периода от распространенности опухолевого процесса после рецидива (Рисунок 19).

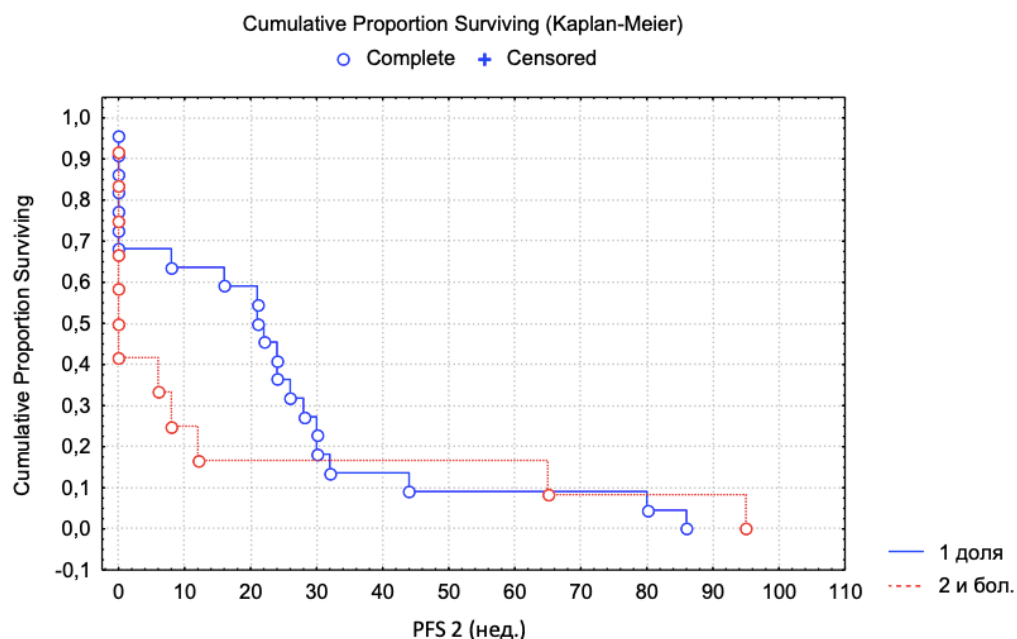


Рисунок 19 – Второй безрецидивный период в зависимости от распространенности опухолевого после рецидива ($p=0,09$)

Медиана второго БРП при поражении одной доли головного мозга, оказалась более чем в 5 раз выше, чем при более распространенном опухолевом процессе, хотя и без статистической достоверности ($p=0,09$, 21,5 vs 4 недели). Среди пациентов, у которых опухоль с рецидивом распространялась за пределы одной доли, в 58,3% случаях (7/12) на первом контрольном МРТ головного мозга после начала второй линии терапии зарегистрирован продолженный рост.

В 85,3% случаев (29/34) рецидивы были локальными (в пределах 2 см от зоны удаления первичной глиобластомы), в 14,7% (5/34) – дистантные (в соседней доле или полушарии от зоны резекции первичной опухоли) (Рисунок 20).

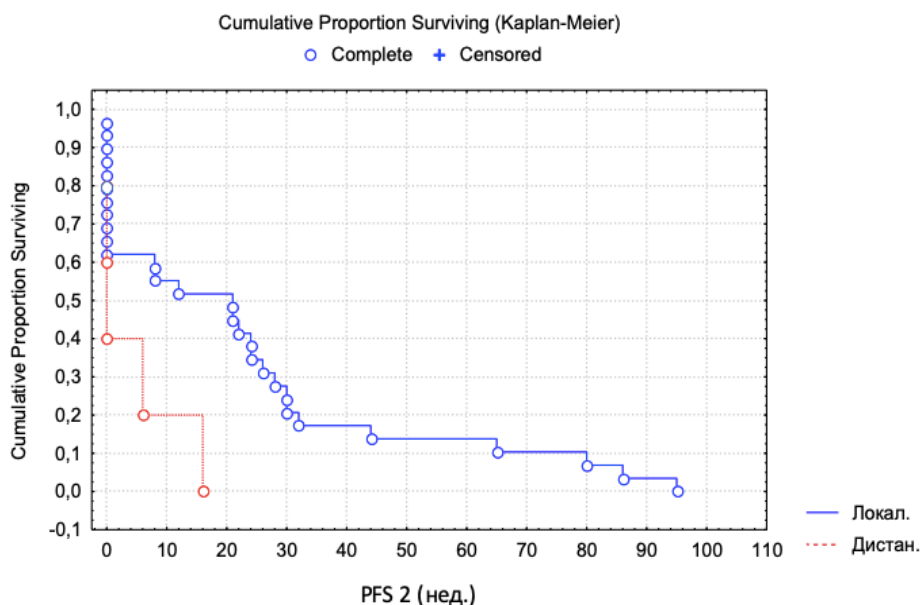


Рисунок 20 – Второй безрецидивный период в зависимости от локализации рецидива глиобластомы ($p=0,07$)

Медиана второго БРП на 13,5 недель оказалась выше при прогрессировании опухоли в пределах 2 см от зоны удаления первичного новообразования, графики БРП близки к достоверным различиям ($p=0,07$). Необходимо подчеркнуть, что локализация рецидива опухоли не зависела от степени ее резекции при проведении первой операции (Таблица 19).

Таблица 19 – Локализация рецидива глиобластомы в зависимости от степени резекции опухоли при проведении первой операции

локализация рецидива	тотальное удаление опухоли (1-я операция) (число случаев)	нерадикальное удаление опухоли (1-я операция) (число случаев)
локальный рецидив	11 (84,6%)	18 (85,7%)
дистантный рецидив	2 (15,4%)	3 (14,3%)

Статистически значимого влияния на медиану второго БРП объема поражения не выявлено ($p=0,97$) (Рисунок 21).

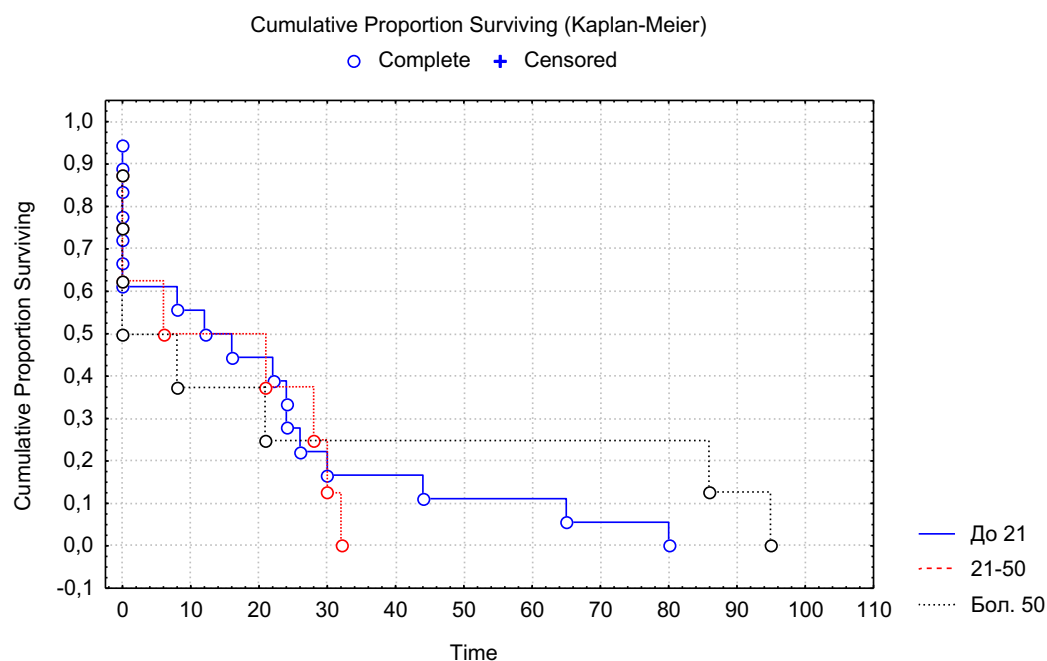


Рисунок 21 – Второй безрецидивного периода в зависимости от объема поражения ($p=0,97$)

Однако было отмечено, что медиана второго БРП при объеме опухоли более 50 см^3 оказалась значительно ниже, по сравнению с объемом опухоли до 20 см^3 и от 21 до 50 см^3 (6 vs 14 и 6 vs 13,5 нед, соответственно).

4.2. Частота уровней экспрессии мРНК генов: MGMT, VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1, TOP2A и мутаций в генах IDH1 и IDH2 в материале от второй операции и их роль в прогнозе заболевания. Изменение молекулярно-генетических характеристик опухоли после прогрессирования заболевания

У 97% пациентов (33/34) была проведена оценка мутации в генах IDH1 и IDH2 в материалах от второй операции (Таблица 20).

Таблица 20 – Частота мутации в генах IDH1 и IDH2 в материале от второй операции

мутация	количество случаев (n=33)
мутация в гене IDH1 (+)	3 (9,1%)
мутация в гене IDH1 (-) и IDH2 (-)	29 (87,8%)
мутация в гене IDH2 (+)	1 (3,1%)

У 3 пациентов (9,1%, 3/33) мутация в гене IDH1(R132H) была выявлена повторно. В 1 случае (3,1%, 1/33) была впервые обнаружена мутация в гене IDH2(R159G).

Уровень экспрессии мРНК генов MGMT и VEGF в материалах от второй операции были определены у всех пациентов (34/34), в гене PDGFRA – у 88,2% больных (30/34), β -tubulin III – у 85,3% (29/34), ERCC-1 – у 88,2% (30/34) и TOP2A – у 94,1% (32/34) (Таблица 21).

Таблица 21 – Уровни экспрессии мРНК генов MGMT, VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1, TOP2A в материале от второй операции

ген (число пациентов)	уровень экспрессии	частота встречаемости
MGMT (n=34)	низкий	22 (64,7%)
	высокий	12 (35,3%)
VEGF (n=34)	низкий	5 (14,7%)
	средний	12 (35,3%)
	высокий	17 (50%)
PDGFRA (n=30)	низкий	8 (26,7%)
	средний	14 (46,6%)
	высокий	8 (26,7%)
β -tubulin III (n=29)	низкий	0 (0%)
	средний	11 (38%)
	высокий	18 (62%)
ERCC-1 (n=30)	низкий	3 (10%)
	средний	17 (56,7%)
	высокий	10 (33,3%)
TOP2A (n=32)	низкий	8 (25%)
	средний	18 (56,2%)
	высокий	6 (18,8%)

Активность гена MGMT преимущественно была на низком уровне (64,7%, 22/34). Уровень экспрессии гена VEGF в половине случаев был высоким (50%, 17/34). Экспрессия генов PDGFRA, ERCC-1 и TOP2A чаще была на среднем уровне (46,6%, 14/30; 56,7%, 17/30; 56,2%, 18/32). В большинстве случаев экспрессия гена β -tubulin III была на высоком уровне (62%, 18/29).

Была проведена оценка частоты встречаемости уровней экспрессии мРНК генов MGMT, VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1, TOP2A в материалах от второй операции в зависимости от возраста пациентов. Из 34 пациентов на момент рецидива заболевания 17 больных были в возрасте до 50 лет и 17 – старше 50 лет (Таблица 22).

Таблица 22 – Уровни экспрессии мРНК генов MGMT, VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1, TOP2A в материале от второй операции в обеих возрастных группах

Параметры		младше 50 лет	старше 50 лет
наличие мутации в генах IDH 1 и IDH 2		3 (18,7%)	1 (5,9%)
отсутствие мутации		13 (81,3%)	16 (94,1%)
уровень экспрессии гена (число больных: младше 50 лет/старше 50 лет)		младше 50 лет	старше 50 лет
MGMT (n=17/17)	низкий	11 (64,8%)	11 (64,8%)
	высокий	6 (35,2%)	6 (35,2%)
VEGF (n=17/17)	низкий	2 (11,7%)	3 (17,6%)
	Средний	9 (53%)	3 (17,6%)
	высокий	6 (35,3%)	11 (64,8%)
PDGFRA (n=16/14)	низкий	3 (18,8%)	5 (35,7%)
	Средний	8 (50%)	6 (42,9%)
	высокий	5 (31,2%)	3 (21,4%)
β -tubulin III (n=17/12)	низкий	0 (0%)	0 (0%)
	Средний	7 (41,2%)	4 (33,3%)
	высокий	10 (58,8%)	8 (66,7%)
ERCC-1 (n=16/14)	низкий	1 (6,2%)	2 (14,3%)
	Средний	6 (37,5%)	11 (78,6%)
	высокий	9 (56,3%)	1 (7,1%)
TOP2A (n=17/15)	низкий	7 (41,2%)	1 (6,7%)
	Средний	6 (35,3%)	12 (80%)
	высокий	4 (23,5%)	2 (13,3%)

После рецидива высокий уровень экспрессии гена VEGF преимущественно регистрировался в группе пациентов старшего возраста (64,8%, 11/17). У больных в возрасте до 50 лет активность гена VEGF в большинстве случаев была на среднем уровне (53%, 9/17). Высокий уровень экспрессии гена ERCC-1 чаще отмечался в группе пациентов младше 50 лет (56,3%, 9/16), в то время как у больных старше 50 лет показатель активности этого гена чаще был средним (78,6%, 11/14). В 7 случаев из 8 с низким уровнем экспрессии гена TOP2A был зарегистрирован у лиц моложе 50 лет. После рецидива не было выявлено влияния возраста на частоту встречаемости уровня экспрессии генов MGMT, PDGFRA и β -tubulin III.

Статистических закономерностей в частоте уровней экспрессии исследуемых генов и морфологических характеристик при разном объеме поражения головного мозга не выявлено.

Дополнительно проводилась оценка изменений молекулярно-генетического статуса при рецидивировании заболевания.

У 3 пациентов (9,1%, 3/33) мутация в гене IDH1(R132H) была выявлена повторно. В 3,1% случае (1/33) была впервые обнаружена мутация в гене IDH2(R159G). У остальных 87,8% больных (29/33) в материалах от второй операции, как и в первичной опухоли, данная мутация не определялась (Рисунок 22).

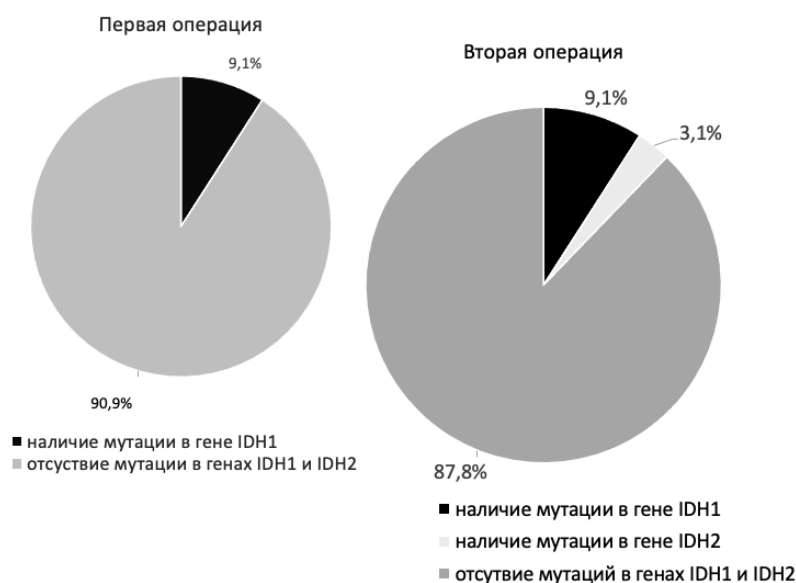


Рисунок 22 – Изменения мутаций в генах IDH1 и IDH2 в опухоли после рецидива

Уровень экспрессии гена MGMT в материалах от второй операции определен у всех 34 пациентов (Рисунок 23).



Рисунок 23 – Изменение уровня экспрессии мРНК гена MGMT после рецидива

После рецидива глиобластомы после лучевой терапии и химиотерапии 1 линии уровень экспрессии гена MGMT преимущественно остался на прежнем уровне (64,8%, 22/34), повышение его зарегистрировано у 23,5% больных (8/34), снижение – только у 11,7% (4/34).

Изучалось влияние числа циклов ХТ темозоломида в 1 линии на изменение экспрессии гена MGMT (Рисунок 24).

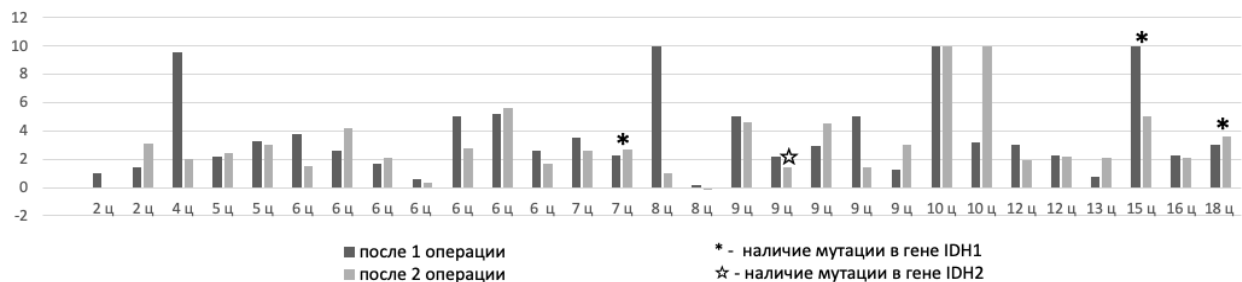


Рисунок 24 – Изменение уровня экспрессии мРНК гена MGMT после рецидива в зависимости от количества циклов химиотерапии первой линии

Достоверного влияния количества циклов темозоломида на уровень экспрессии гена MGMT выявлено не было ($p=0,9$).

Динамика уровня экспрессии гена VEGF была проанализирована у всех 34 пациентов. Оценка изменения уровня экспрессии гена PDGFRA была проведена в 79,5% случаях (27/34), гена β -tubulin III – в 82,4% (28/34), гена ERCC-1 – 82,4% (28/34) и гена TOP2A – 88,2% (30/34) (Таблица 23).

Таблица 23 – Изменение уровня экспрессии генов VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1 и TOP2A после рецидива заболевания

уровень экспрессии генов	VEGF (n=34)	PDGFRA (n=27)	β -tubulin III (n=28)	ERCC-1 (n=28)	TOP2A (n=30)
остался на прежнем уровне	15 (44,1%)	12 (44,5%)	17 (60,8%)	12 (42,8%)	13 (43,3%)
снизился	12 (35,3%)	10 (37%)	6 (21,4%)	9 (32,2%)	12 (40%)
повысился	7 (20,6%)	5 (18,5%)	5 (17,8%)	7 (25%)	5 (16,7%)

После рецидива заболевания уровень экспрессии гена β -tubulin III оказался наиболее стабильным (60,8%; 17/28). Экспрессия остальных генов (VEGF, PDGFRA, ERCC-1, TOP2A) изменилась более, чем в половине случаев.

Более подробно изменения уровней экспрессии генов VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1 и TOP2A представлены на рисунках 25 – 29.



Рисунок 25 – Изменение уровня экспрессии мРНК гена VEGF после рецидива



Рисунок 26 – Изменение уровня экспрессии мРНК гена PDGFRA после рецидива



Рисунок 27 – Изменение уровня экспрессии мРНК гена β -tubulin III после рецидива

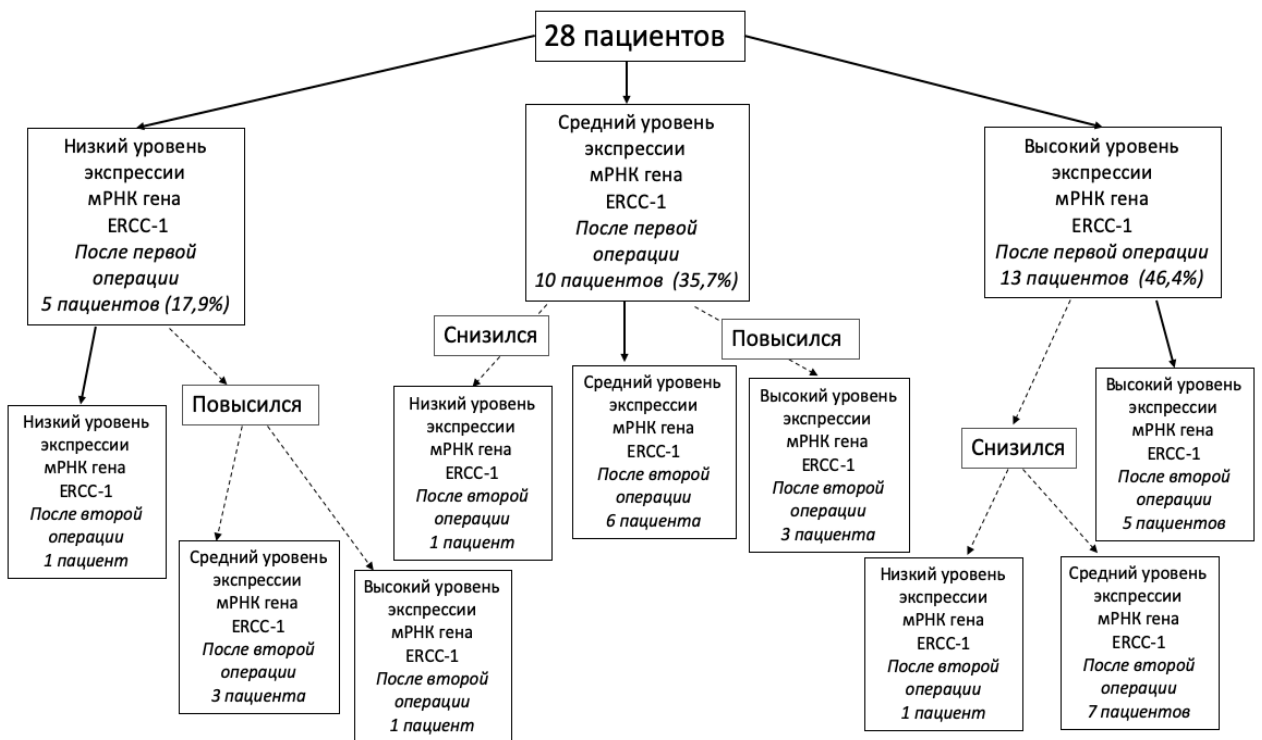


Рисунок 28 – Изменение уровня экспрессии мРНК гена ERCC-1 после рецидива



Рисунок 29 – Изменение уровня экспрессии мРНК гена TOP2A после рецидива

Обращает внимание преимущественное снижение уровней экспрессии исследуемых генов. Реже всего изменялись средние уровни экспрессии генов ERCC-1 и TOP2A.

Проведена оценка изменений уровня экспрессии генов при рецидивировании после лучевой и химиотерапии в разных возрастных группах (Таблица 24).

Таблица 24 – Изменения уровней экспрессии исследуемых генов (MGMT, VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1, TOP2A) после рецидива заболевания в разных возрастных группах

уровень экспрессии/количество случаев		младше 50 лет	старше 50 лет
1		2	3
MGMT (n=17/17)	снизился	2 (11,8%)	2 (11,8%)
	остался на прежнем уровне	12 (70,6%)	10 (58,8%)
	повысился	3 (17,6%)	5 (29,4%)

1		2	3
VEGF (n=17/17)	снизился	6 (35,3%)	6 (35,3%)
	остался на прежнем уровне	10 (58,8%)	5 (29,4%)
	повысился	1 (5,9%)	6 (35,3%)
PDGFRA (n=15/12)	снизился	5 (33,3%)	5 (41,6%)
	остался на прежнем уровне	8 (53,4%)	4 (33,4%)
	повысился	2 (13,3%)	3 (25%)
β -tubulin III (n=17/11)	снизился	4 (23,5%)	2 (18,2%)
	остался на прежнем уровне	10 (58,8%)	7 (63,6%)
	повысился	3 (17,7%)	2 (18,2%)
ERCC-1 (n=15/13)	снизился	4 (26,6%)	5 (38,6%)
	остался на прежнем уровне	8 (53,4%)	4 (30,7%)
	повысился	3 (20%)	4 (30,7%)
TOP2A (n=16/14)	снизился	9 (56,3%)	3 (21,4%)
	остался на прежнем уровне	4 (25%)	9 (64,3%)
	повысился	3 (18,7%)	2 (14,3%)

В обеих возрастных группах наиболее стабильные уровни экспрессии генов отмечены для генов MGMT и β -tubulin III (70,6%, 12/17 и 58,8%, 10/17; 58,8%, 10/17 и 63,6%, 7/11). У пациентов в возрасте до 50 лет экспрессия генов VEGF, PDGFRA и ERCC-1 преимущественно осталась на прежнем уровне (58,8%, 10/17; 53,4%, 8/15; 53,4%, 8/15), только уровень экспрессии гена TOP2A после рецидива заболевания в большинстве случаев изменился (75%; 12/16). В группе старше 50 лет экспрессия генов VEGF, PDGFRA, ERCC-1 чаще изменялась (70,6%, 12/17; 66,6%, 8/12; 69,3%, 9/13), а уровень экспрессии гена TOP2A оказался наиболее стабильным (64,3%; 9/14).

Влияние экспрессии генов MGMT, VEGF, PDGFRA, β -tubulin III, ERCC-1, TOP2A и мутации в гене IDH1, а также морфологических характеристик опухоли на медиану второго безрецидивного периода

Изучили влияние мутаций в генах IDH1 и IDH2 на медиану второго БРП (Рисунок 30).

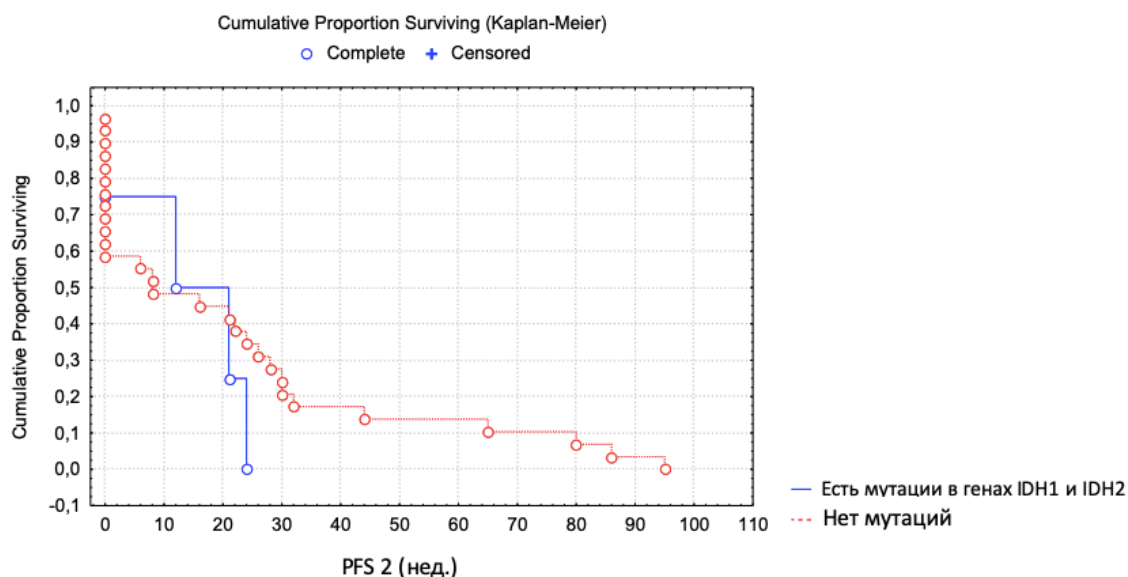


Рисунок 30 – Второй безрецидивный период в зависимости от наличия мутации в генах IDH1 и IDH2 ($p=0,97$)

Медиана второго БРП не зависела от присутствия мутаций в генах IDH1 и IDH2 ($p=0,93$, 16,5 vs 8 недель).

Проведен анализ зависимости второго БРП от уровня экспрессии гена MGMT (Рисунок 31).

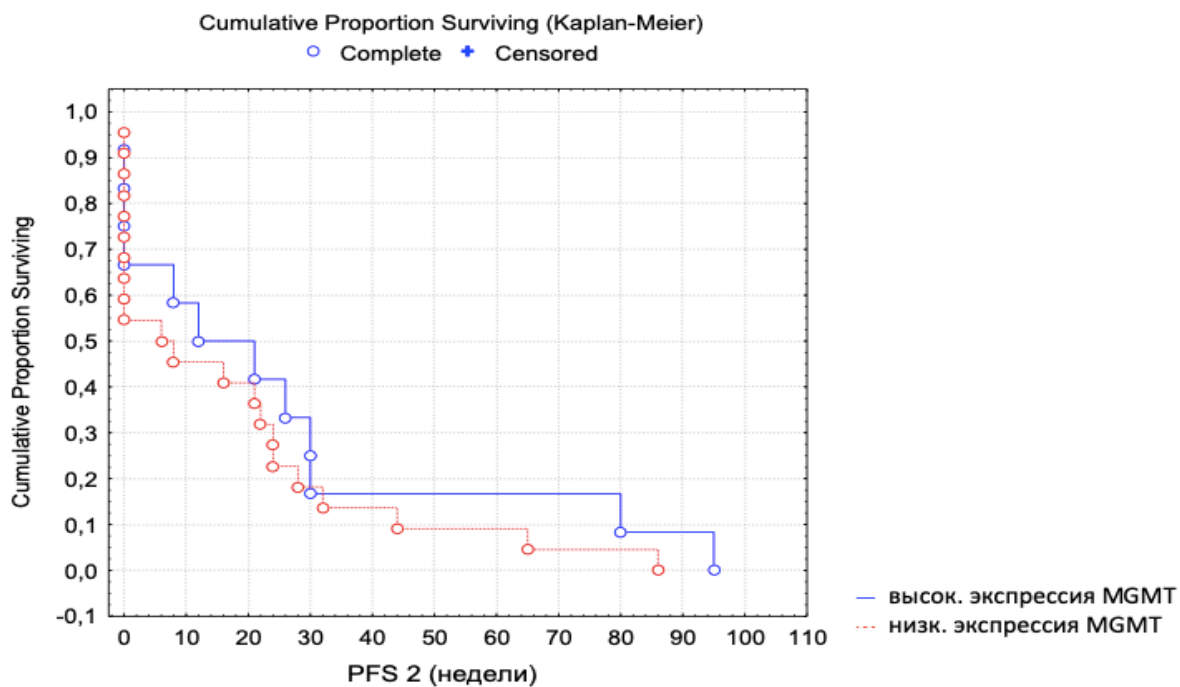


Рисунок 31 – Второй безрецидивный период в зависимости от уровня экспрессии MGMT после рецидива ($p=0,09$)

Длительность второго БРП оказалась даже выше у пациентов с высокой экспрессией гена MGMT, чем у больных с низкой активностью гена (16,5 vs 7 недель) ($p=0,09$). Полученные результаты можно объяснить проведением более радикальной операции у больных в группе с высокой экспрессией гена MGMT.

Проведен анализ влияния экспрессии генов VEGF, β -tubulin III, ERCC-1 на медиану второго БРП (Рисунок 32).

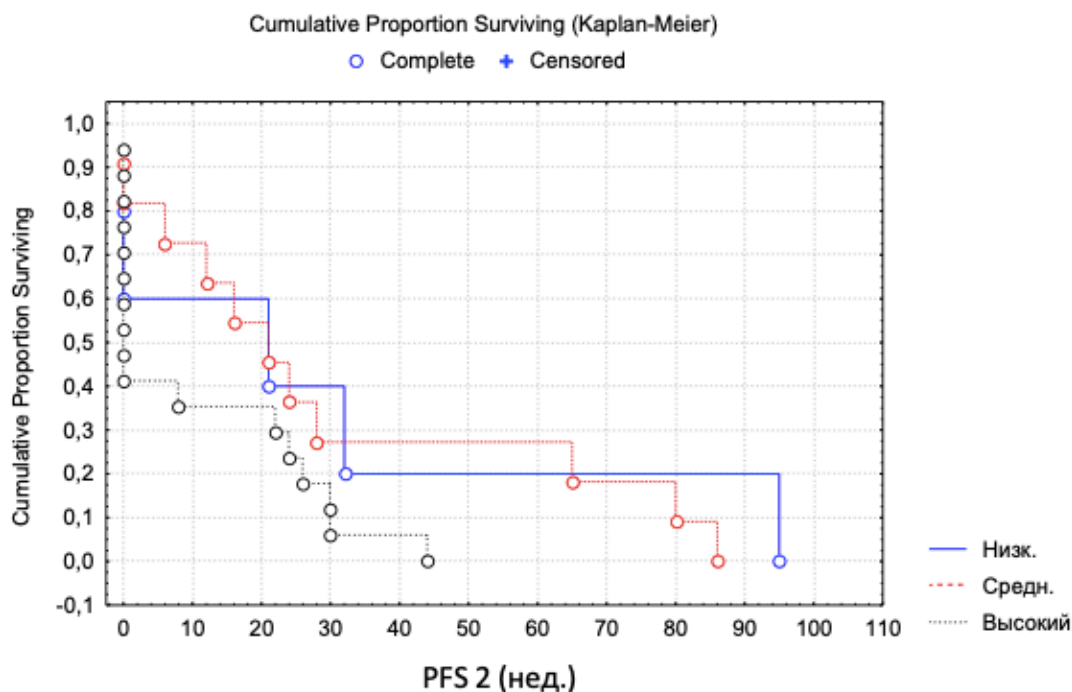


Рисунок 32 – Второй безрецидивный период в зависимости от уровня экспрессии гена VEGF ($p=0,18$)

Статистической зависимости медианы второго БРП от уровня экспрессии генов VEGF, β -tubulin III, ERCC-1 получено не было ($p=0,18$, $p=0,26$, $p=0,91$ соответственно). При этом графики выживаемости при низкой и средней экспрессии гена VEGF отличались от высокой. При высокой активности гена медиана БРП составила 9 нед, при средней – 18,5 нед, а при низкой – 21 неделю. Отмечена тенденция влияния уровня экспрессии гена VEGF на медиану БРП, что согласуется с клиническим течением заболевания и неизбежностью рецидива.

После рецидива заболевания была изучена роль гена TOP2A (Рисунок 33).

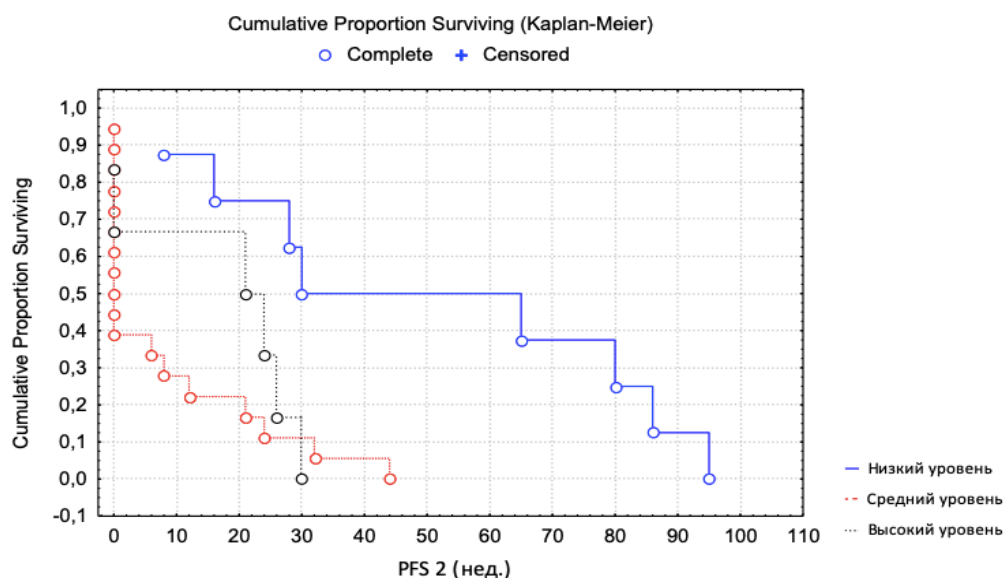


Рисунок 33 – Второй безрецидивный период в зависимости от уровня экспрессии гена TOP2A (низкий vs средний $p=0,001$; низкий vs высокий $p=0,06$)

Были получены статистически достоверные различия. У пациентов с низким уровнем экспрессии гена TOP2A выживаемость оказалась выше, чем при средней экспрессии (47,5 vs 3 нед, $p=0,001$). При сравнении групп пациентов с низким и высоким уровнем экспрессии исследуемого гена медиана второго БРП оказалась также выше при низком уровне экспрессии (47,5 vs 22,5 нед, $p=0,06$).

Также изучена медиана второго БРП при разном уровне экспрессии гена PDGFRA (Рисунок 34).

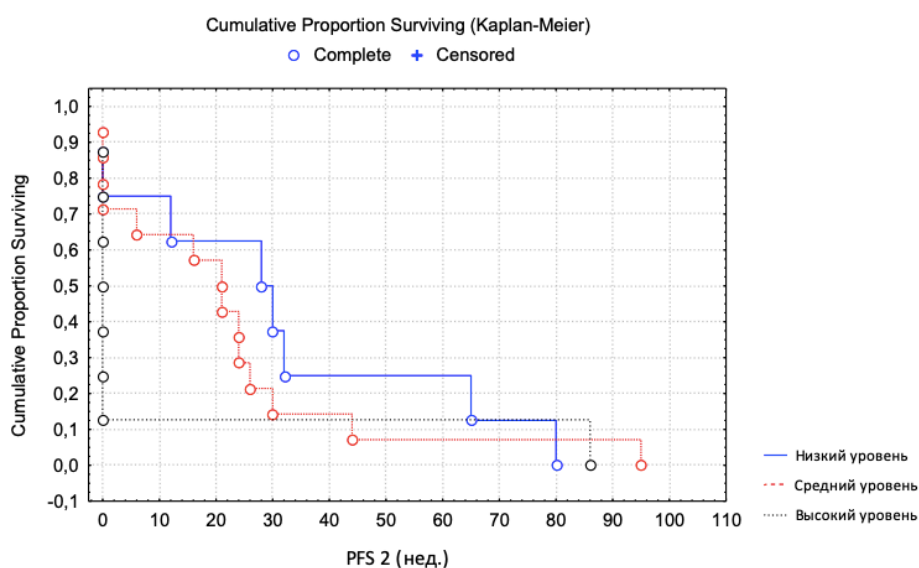


Рисунок 34 – Второй безрецидивный период в зависимости от уровня экспрессии гена PDGFRA (низкий vs высокий $p=0,04$; средний vs высокий $p=0,05$)

Медиана второго БРП при низком и среднем уровнях экспрессии гена была выше, чем при высоком (29 vs 0 нед, $p=0,04$; 21 vs 0 нед; $p=0,05$ соответственно).

4.3. Морфологические особенности опухоли после рецидивирования первичной глиобластомы

В материале от второй операции была проведена оценка индекса пролиферативной активности, наличия некрозов, уровня пролиферации сосудов и пролиферации эндотелия и клеточно-ядерного полиморфизма (Таблица 25).

Таблица 25 – Морфологические характеристики опухоли после рецидива заболевания

показатель (число пациентов)	уровень	частота встречаемости
Ki-67 (n=25)	до 20%	10 (40%)
	более 21%	15 (60%)
пролиферация сосудов (n=24)	отсутствует	0 (0%)
	умеренная	5 (20,8%)
	выраженная	19 (79,2%)
пролиферация эндотелия (n=24)	отсутствует	1 (4,2%)
	умеренная	5 (20,8%)
	выраженная	18 (75%)
клеточно-ядерный полиморфизм (n=26)	отсутствует	1 (3,8%)
	умеренная	7 (27%)
	выраженная	18 (69,2%)
некрозы (n=25)	отсутствуют	0 (0%)
	есть	25 (100%)

Индекс пролиферации сосудов преимущественно был выше 21% в материале от второй операции (60%, 15/25). Пролиферация сосудов и эндотелия, а также выраженность клеточно-ядерного полиморфизма в большинстве случаев были выраженными (78,3%, 18/23; 75%, 18/24; 69,2%, 18/26). Некрозы определялись во всех 25 случаях (100%, 25/25).

Дополнительно проведен анализ изменения морфологических характеристик опухоли при прогрессировании заболевания. Динамика индекса пролиферативной активности оценена в 25 случаях (Таблица 26).

Таблица 26 – Изменение Ki-67 после рецидива заболевания

уровень Ki-67	количество случаев (n=25)
остался прежним	3 (12%)
снизился	13 (52 %)
повысился	9 (36%)

Только у 12% пациентов (3/25) показатель индекса пролиферативной активности при рецидивировании не поменялся. Более чем в половине случаев Ki-67 снизился (52%, 13/25), что косвенно говорит об успешно проведенном лечении. Повышение индекса зарегистрировано у 36% пациентов (9/25).

Изменение пролиферации сосудов в материалах от первой и второй операции удалось проанализировать в 70,5% случаев (24/34) (Таблица 27).

Таблица 27 – Изменение пролиферации сосудов при рецидивировании после лучевой терапии и химиотерапии первой линии

пролиферация сосудов	количество случаев (n=24)
осталась выраженной	19 (79,2%)
снизилась	4 (16,6%)
осталась умеренной	1 (4,2%)
увеличилась	0 (0%)

После рецидива в опухоли чаще сохраняется выраженная васкуляризация опухоли (79,2%; 19/24). И только у 16,6% пациентов (4/24) отмечено снижение степени пролиферации сосудов.

Оценка изменений клеточно-ядерного полиморфизма при рецидивировании проведена в 76,5% случаев (26/34) (Таблица 28).

Таблица 28 – Изменение клеточно-ядерного полиморфизма при рецидивировании после лучевой терапии и химиотерапии первой линии

клеточно-ядерный полиморфизм	количество случаев (n=26)
остался выраженным	17 (65,4%)
снизился	7 (27%)
остался умеренным	1 (3,8%)
увеличился	1 (3,8%)

Клеточно-ядерный полиморфизм после рецидива преимущественно оставался выраженным (65,4%; 17/26). В 27% случаев (7/26) отмечено снижение степени клеточно-ядерного полиморфизма (27%; 7/26) и только в 3,8% (1/26) – его увеличение (7,7%; 2/26).

Следует отметить, что у всех 3 пациентов с бикомпонентными первичными глиобластомами (с наличием примитивного нейронального компонента) при рецидивировании опухоли отмечалось исчезновение примитивного нейронального компонента со снижением уровня Ki-67 (клинический случай 3). Что может свидетельствовать об ответе на проводимую терапию в 1 линии.

Была проведена оценка влияния на длительность второго БРП индекса пролиферативной активности Ki-67 в материалах от второй операции (Рисунок 35).

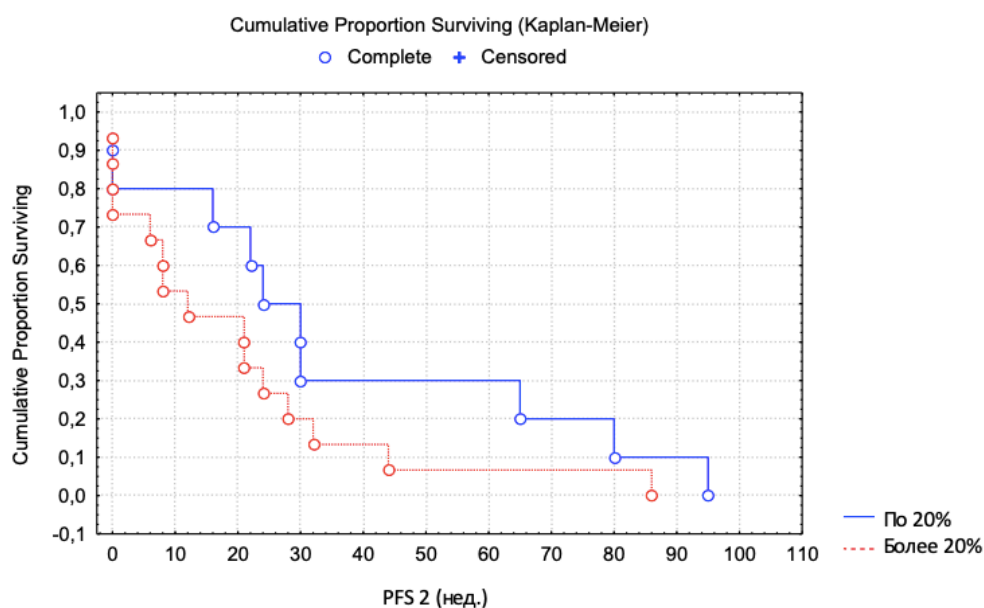


Рисунок 35 – Второй безрецидивный период в зависимости от индекса пролиферативной активности Ki-67 в материале от второй операции ($p=0,05$)

Медиана второго БРП была достоверно выше при индексе пролиферативной активности менее 20% (27 vs 12 нед, $p=0,05$).

4.4. Влияние проводимого лечения на медиану второго безрецидивного периода

Медиана второго БРП со статистической достоверностью была выше при тотальном и субтотальном удалении рецидива опухоли, в сравнении с биопсией (22 vs 0 нед и 18,5 vs 0 нед; $p=0,04$ и $p=0,05$, соответственно) (Рисунок 36).

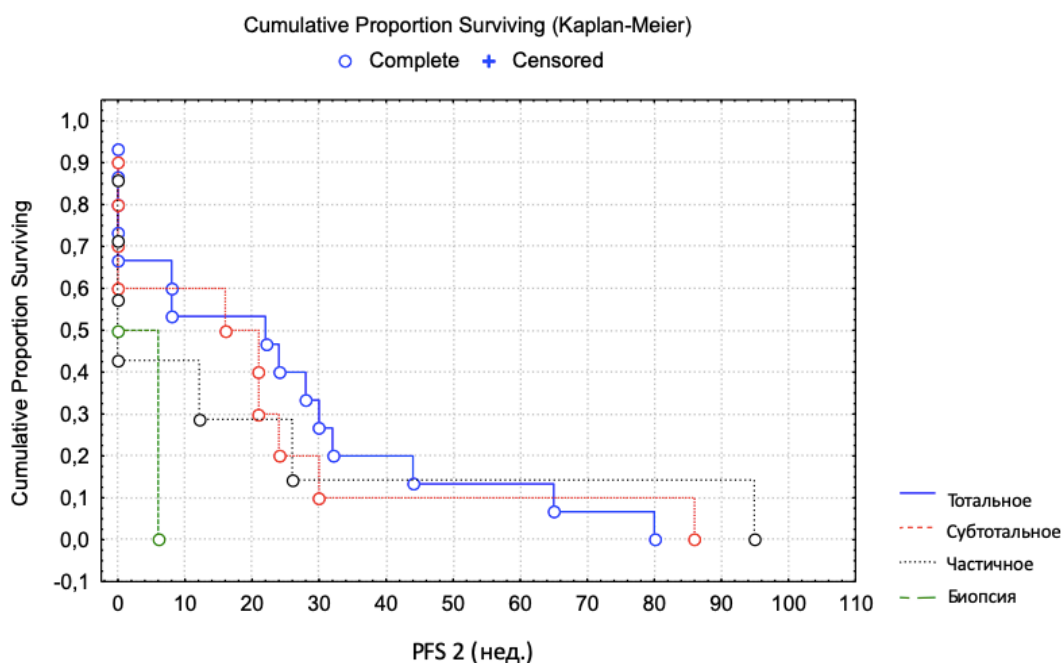


Рисунок 36 – Второй безрецидивный период в зависимости от степени резекции опухоли при проведении повторного хирургического лечения (тотальное vs биопсия $p=0,04$; субтотальное vs биопсия $p=0,05$; тотальное vs частичное $p=0,05$; тотальное vs субтотальное $p=0,4$)

Отмечена более высокая медиана второго БРП после тотальной резекции опухоли по сравнению с частичной (22 vs 10 нед; $p=0,05$). Медианы второго БРП между группами тотального и субтотального удаления отличались на 4,5 недели (22 vs 18,5 нед, $p=0,4$).

Отдельно проведена оценка объема резекции опухоли при использовании дополнительно интраоперационных методик при проведении повторного хирургического лечения (Таблица 29).

Таблица 29 – Степень резекции опухоли при использовании дополнительных интраоперационных методик (2 операция)

интраоперационная методика/число пациентов	степень резекции опухоли (2 операция)			
	тотальная (n=15)	субтотальная (n=10)	частичная (n=7)	биопсия (n=2)
УЗ-навигация (n=26)	12	8	5	1
флуоресцентная навигация (n=5)	4	1	0	0
нейрофизиологический мониторинг (n=17)	8	4	4	1
- картирование коры и трактов	4	2	3	1
- электрокортикография	4	2	1	0
несколько методик (n=16)	8	4	3	1
не использовались (n=4)	1	1	1	1

При проведении повторного хирургического вмешательства наиболее часто используемой интраоперационной методикой лечения была УЗ-навигации, причем именно ее использование позволило повысить радикальность удаления опухоли до тотального или субтотального (80%, 12/15 и 80%, 8/10).

Назначение повторной лучевой терапии пациентам было ограничено, в первую очередь, коротким интервалом после окончания терапии в первой линии (менее 12 месяцев). Все пациенты, у которых этот период был 1 год и более, прошли повторно лучевую терапию. Остальным больным проведение данного метода лечения было противопоказано. Таким образом, исследуемые группы оказались не сопоставимы и определение влияния лучевой терапии на длительность второго БРП не проводилось.

Химиотерапию второй линии получили 27 пациентов (79,4%, 27/34). Из них 11 больных (40,7%, 11/27) продолжили лечение темозоломидом, в 33,3% случаях (9/27) во второй линии использовалась схема бевацизумаб+иринотекан и в 26% (7/27) – PCV/CV. Из 11 пациентов, которые во второй линии получили химиотерапию темозоломидом, 6 пациентов прошли до 3 циклов и 5 больных – более 4 циклов. Медиана второго БРП в зависимости от проводимой химиотерапии представлена в таблице 30.

Таблица 30 – Медиана второго безрецидивного периода в зависимости от проводимой химиотерапии второй линии

химиотерапия 2-ой линии/число пациентов		медиана второго БРП (недели)
темозоломид (n=11)	до 3 циклов	2
	более 4 циклов	32
другая химиотерапия (n=16)	бевацизумаб+иринотекан	21,5
	PCV	
не получали терапию (n=7)		0

Проведение химиотерапии второй линии темозоломидом (более 3 циклов) или по другим схемам (PCV/CV, бевацизумаб+иринотекан) со статистической достоверностью увеличивает медиану второго БРП ($p=0,001$, $p=0,01$, соответственно) (Рисунок 37).

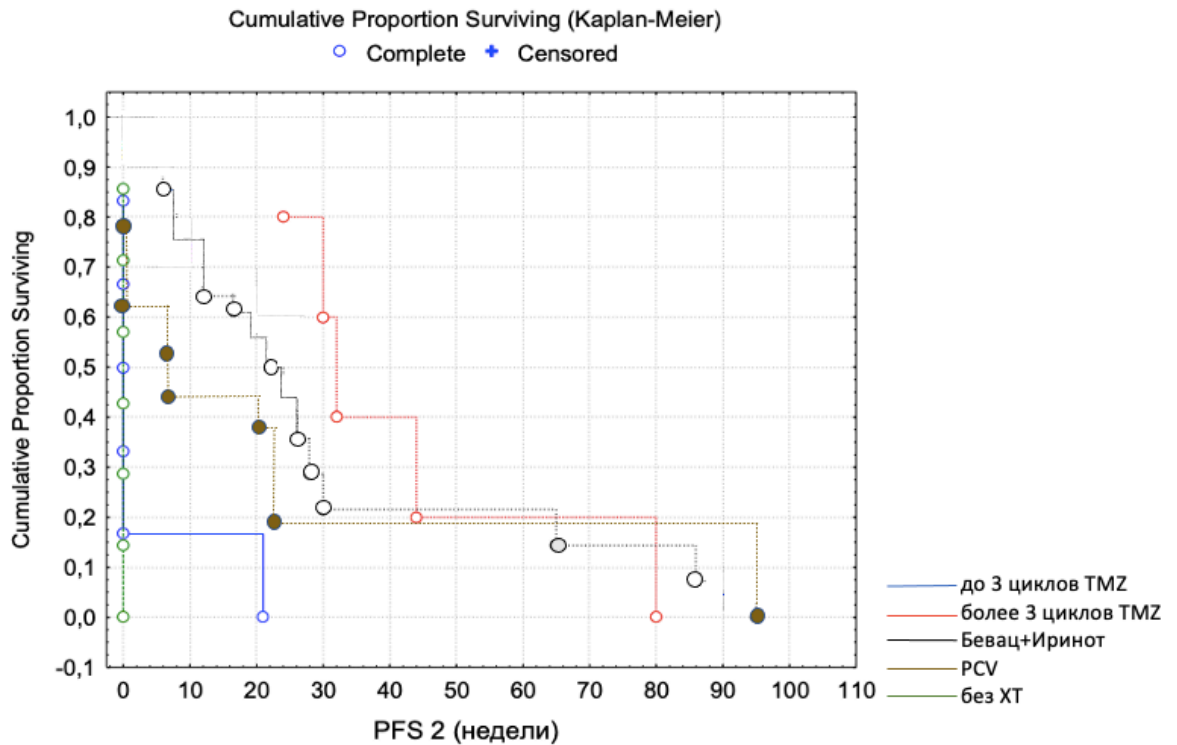


Рисунок 37 – Второй безрецидивный период в зависимости от проводимой химиотерапии второй линии

При сравнении продолжительности жизни пациентов, которые получили менее интенсивную терапию темозоломидом (до 3 циклов), с большим числом циклов (больше 4 циклов) также были получены статистически значимые различия ($p=0,047$) (Рисунок 37).

Отдельно рассмотрена группа пациентов, которые после рецидива продолжили получать темозоломид (Таблица 31).

Таблица 31 – Результаты проведения ХТ темозоломидом в первой и второй линиях с учетом уровня экспрессии гена MGMT

№	экспрессия мРНК гена MGMT (ΔCt) (1 оп)	ХТ 1 линия (Тем), число циклов	ответ на ХТ	1-й БРП (нед)	экспрессия мРНК гена MGMT (ΔCt) (2 оп)	ХТ 2 линия (Тем), число циклов	2-й БРП (нед)	ответ на ХТ
1	выс	8	ЧО	56	выс	2	0	нет РО
2	низк	6	нет РО	69	выс	4	30	нет РО
3	низк	8	ПО	113	выс	6	80	нет РО
4	низк	15	ЧО	98	низк	2	21	ПР
5	низк	5	СТ	33	низк	2	0	ПР
6	низк	7	СТ	39	низк	2	0	ПР
7	низк	18	ПО	113	низк	3	0	нет РО
8	низк	6	нет РО	22	низк	2	0	ПР
9	низк	9	нет РО	80	низк	4	44	нет РО
10	низк	6	ПО	163	низк	4	24	нет РО
11	низк	8	нет РО	43	низк	7	32	нет РО

Примечание: выс – высокая, низк – низкая, Тем – темозоломид, ЧО – частичный ответ, нет РО – нет резидуальной опухоли, ПО – полный ответ, СТ – стабилизация, нед – недели, 2 оп – 2 операция

Ни у одного пациента с низким уровнем экспрессии гена MGMT (n=8) не был зарегистрирован объективный ответ на проводимую терапию, и в 4 случаях из 8 на первом контрольном МРТ головного мозга зафиксирован продолженный рост опухоли. Стабилизация на фоне лечения темозоломидом наблюдалась только у 1 пациента с низкой активностью гена.

Проведен анализ случаев при терапии второй линии другими схемами (бевацизумаб+иринотекан или PCV) с учетом молекулярно-генетического статуса после рецидива (Таблица 32).

Таблица 32 – Результаты проведения лекарственной терапии во второй линии (бевацизумаб+иринотекан и PCV) с учетом уровня экспрессии генов VEGF и β -tubulin III

схема бевацизумаб+иринотекан					
№	динамика экспрессии гена VEGF после рецидива	экспрессия мРНК гена VEGF (Δ Ct) (2 оп)	число циклов 2 ХТ	2-й БРП (нед)	ответ на ХТ
1	снизился	средняя	4	6	СТ
2	на прежнем уровне	средняя	12	86	СТ
3	снизился	средняя	6	12	СТ
4	снизился	средняя	11	65	нет РО
5	на прежнем уровне	средняя	4	16	ПР
6	снизился	средняя	8	28	нет РО
7	на прежнем уровне	высокая	8	26	СТ
8	повысился	высокая	12	22	нет РО
9	на прежнем уровне	высокая	13	30	СТ
схема PCV					
№	динамика экспрессии гена β -tubulin III после рецидива	экспрессия мРНК гена β -tubulin III (Δ Ct) (2 оп)	число циклов 2 ХТ	2-й БРП (нед)	ответ на ХТ
1	повысился	высокая	6	95	СТ
2	снизился	средняя	2	0	ПР
3	на прежнем уровне	высокая	4	20	ПР
4	на прежнем уровне	высокая	2	8	нет РО
5	нет данных	нет данных	2	0	нет РО
6	на прежнем уровне	высокая	2	8	нет РО
7	на прежнем уровне	высокая	4	22	ПР

Примечание: 2 оп – 2 операция, СТ – стабилизация, нет РО - нет резидуальной опухоли, ПР – продолженный рост

Чем больше число циклов терапии было проведено, тем выше была продолжительность второго БРП. Преимущественно при назначении во второй линии терапии схемы бевацизумаб+иринотекан наблюдалась стабилизация опухолевого процесса. Из всех пациентов, которым назначалась данная схема, ни у одного не было низкого уровня экспрессии гена VEGF. При этом медиана второго БРП при терапии бевацизумаб+иринотекан составила 26 недель, что ниже по

сравнению с показателем выживаемости при химиотерапии темозоломидом объемом более 4 циклов.

При проведении химиотерапии во 2 линии по схеме PCV лишь у одного пациента наблюдалась стабилизация процесса, необходимо отметить, что именно в данном случае при рецидивировании выявлено повышение экспрессии гена β -tubulin III. При проведении этой схемы химиотерапии длительность второго БРП составила 8 недель и оказалась самой низкой по сравнению с двумя другими режимами терапии (темозоломид более 4 циклов и бевацизумаб+иринотекан).

РЕЗЮМЕ

При оценке прогностической роли клинических факторов было отмечено, что медиана второго БРП, как и первого БРП, оказалась выше при функциональном статусе по шкале Карновского более 60 баллов, определяемого перед операцией (16 vs 5 недель). Помимо этого, было установлено влияние возраста больного и распространенности опухолевого процесса на медиану второго БРП, чего не отмечалось при оценке первого БРП ($p=0,07$ vs $p=0,98$; $p=0,09$ vs $p=0,6$, соответственно). Со статической достоверностью на медиану второго БРП оказал влияние послеоперационный функциональный статус по шкале Карновского ($p=0,001$). Также было отмечено, что медиана второго БРП была выше на 13,5 недель при возникновении рецидива опухоли в зоне первого хирургического вмешательства, по сравнению с дистантными отсевами (16,5 vs 3 нед, $p=0,07$).

При рецидивировании заболевания было отмечено появление одной и той же опухоли мутации в гене IDH2 (3,1%), ранее не определяемой (материал перепроверялся). Уровень экспрессии гена MGMT преимущественно оставался на низком уровне (в материале от первой операции – 76,5%, после рецидива – 64,7%). По сравнению с первичной опухолью отмечается увеличение случаев со средним уровнем экспрессии гена ERCC1 после прогрессирования (38,7% vs 56,7%).

У больных младше 50 лет чаще регистрировался высокий уровень экспрессии гена ERCC1 в опухоли (56,3%, 9/16), а у пациентов старше 50 лет – высокий уровень экспрессии гена VEGF (64,8%, 11/17).

При оценке динамики молекулярных маркеров во всей когорте пациентов наиболее стабильными оказались уровни экспрессии генов MGMT, β -tubulin III и отсутствие мутации в генах IDH1 и IDH2 (64,8%, 22/34; 60,8%, 17/28; 96,9%, 32/33, соответственно). Была выявлена закономерность в изменении экспрессии остальных исследуемых генов в зависимости от возраста пациентов. У больных младше 50 лет уровень экспрессии генов VEGF, PDGRA и ERCC1 преимущественно остался на прежнем уровне (58,8%, 10/17; 53,4%, 8/15; 53,4%, 8/15, соответственно), а экспрессия гена TOP2A в большинстве случаев поменялась (75%; 12/16). У пациентов в возрасте старше 50 лет после рецидива преимущественно регистрировалось изменение экспрессии генов VEGF, PDGRA и ERCC1 (70,6%, 12/17; 66,6%, 8/12; 69,3%, 9/13, соответственно), а уровень экспрессии гена TOP2A остался на прежнем уровне (64,3%; 9/14).

При анализе влияния на медиану второго БРП молекулярно-генетического статуса опухоли, были выявлены два новых прогностических маркера: ген TOP2A и ген PDGFRA ($p \geq 0,05$). Неожиданным оказалось тот факт, что медиана второго БРП оказалась выше при высоком уровне экспрессии гена MGMT (16,5 vs 7 недель). Влияние остальных исследуемых генов на длительность второго БРП не установлено.

Отмечено исчезновение «эмбриональной» порции опухоли у 3 пациентов с первичными глиобластомами с наличием примитивного нейронального компонента. Выявлено прогностическое значение индекса пролиферативной активности Ki-67 на длительность второго БРП, чего не наблюдалось после первой операции ($p=0,05$ vs $p=0,67$ соответственно).

При оценке влияния проводимого лечения на медиану второго БРП было выявлено, что продолжительность жизни пациентов прямо пропорционально зависит от степени резекции рецидива опухоли (22 vs 18,5 vs 10 vs 0 нед, тотально vs субтотально vs частично vs биопсия соответственно). Проведение

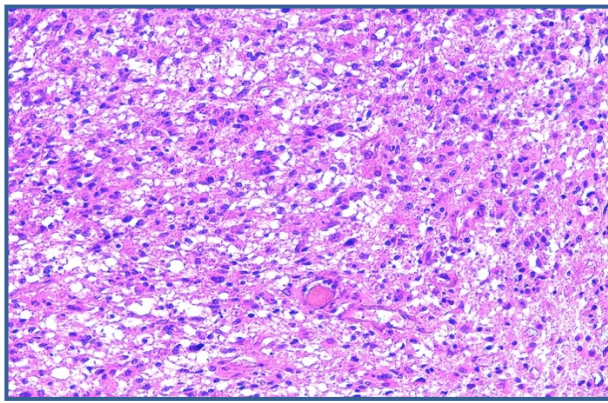
химиотерапии со статистической достоверностью увеличило продолжительность второго БРП ($p \geq 0,05$). При этом наиболее высокие показатели выживаемости зарегистрированы при приеме темозоломида в объеме более 4 циклов во второй линии (32 vs 21,5 недель).

4.5. Клинические случаи

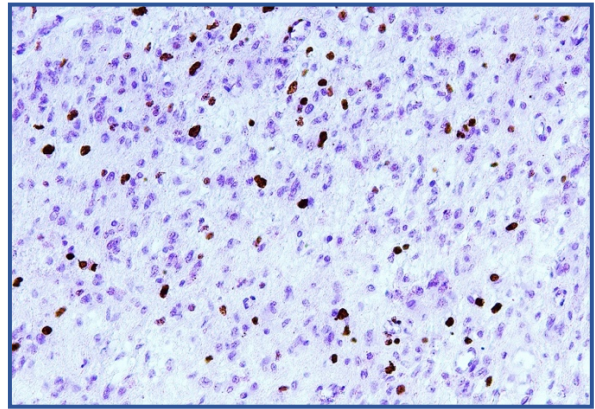
Случай 1.

У пациентки 56 лет выявлено объёмное образование правой височной доли, в связи с чем было выполнено хирургическое удаление опухоли в объеме частичной резекции. Гистологический диагноз соответствовал первичной глиобластоме GIV без мутаций в генах IDH1 и IDH2 с относительно высоким индексом пролиферативной активности (25%) и выраженным клеточным и ядерным полиморфизмом (Рисунок 38 а, б). Проведена ЛТ в СОД 60 Гр с ежедневным приемом темозоломида и 5 циклов химиотерапии темозоломидом в адьювантном режиме. Ответ на терапию – стабилизация. Первый БРП составил 33 недели (7,5 месяцев).

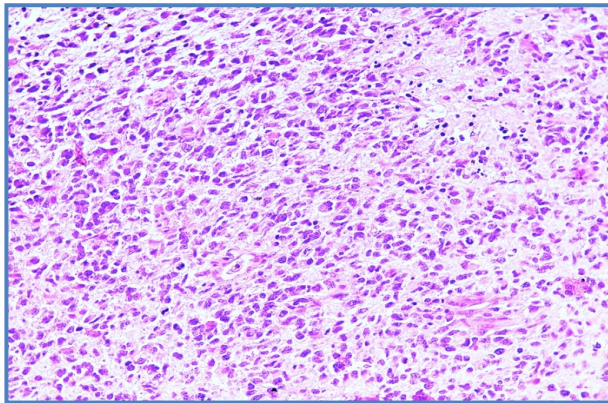
Рецидив опухоли развился в зоне первой операции. Было выполнено повторное хирургическое вмешательство (в объеме субтотальной резекции) с последующим гистологическим исследованием, на котором определялась опухоль с выраженным клеточным и ядерным полиморфизмом, пролиферацией сосудов и эндотелия, некрозом (без признаков лечебного патоморфоза), и с крайне высоким индексом пролиферативной активности Ki-67 (до 80%) – ГБGIV (Рисунок 38 в, г). Во второй линии терапии пациентка получила радиохирургическое лечение (Кибер-нож) и повторно 2 цикла ХТ темозоломидом с развитием продолженного роста на фоне лечения. Второй безрецидивный период составил – 0 недель.



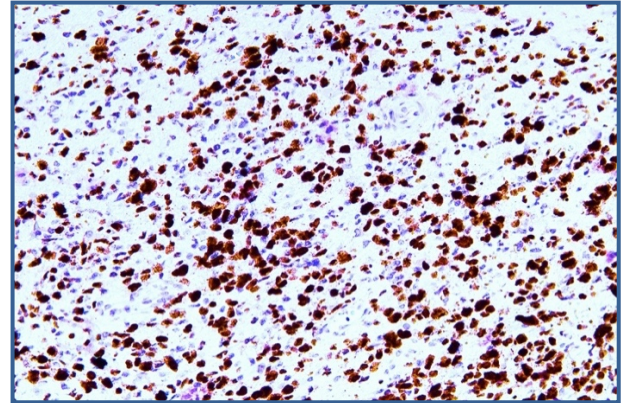
а



б



в



г

Рисунок 38 – Первичная глиобластома GIV, IDHwt. а, б – материал от первой операции (до ЛТ и ХТ); в, г – материал от второй операции (после ЛТ и ХТ). а – выраженный клеточный и ядерный полиморфизм. Пролиферация сосудов. Окраска гематоксилином и эозином; X100. б – иммуногистохимия, ядерное окрашивание антителом Ki-67 (очагово – до 16%); X100. в – выраженный клеточный и ядерный полиморфизм, пролиферация сосудов и эндотелия, некроз. Окраска гематоксилином и эозином; X100. г – иммуногистохимия, ядерное окрашивание антителом Ki-67 (до 80%); X100

Молекулярно-генетический анализ был выполнен от двух операций (Таблица 33).

Таблица 33 – Сравнительный молекулярно-генетический анализ опухолевой ткани от двух операций

исследуемые гены	мутации в генах IDH1/2	MGMT	TOP2A	PDGFRA	VEGF	ERCC1	B-tubulin III
1-ая операция	не обнаружены	2,2 (н)	10,0 (н)	-2,6 (в)	0,4 (ср)	1,4 (ср)	4,5 (ср)
2-ая операция	не обнаружены	2,4 (н)	3,3 (ср)	-2,2 (в)	-3,6 (в)	-0,1 (в)	1,0 (в)

Примечание: н – низкий, ср – средний, в – высокий

Короткий первый БРП в представленном случае ожидаем, учитывая малый объем циторедукции и особенности молекулярно-генетического статуса в материале от первой операции (отсутствие мутаций в генах IDH1 и IDH2, пограничный уровень экспрессии гена MGMT). При рецидивировании опухоли обращает внимания выраженное увеличение Ki-67, а также повышение экспрессии генов VEGF, ERCC1, B-tubulin III и в том числе гена TOP2A в результатах молекулярно-генетического анализа. Помимо этого, при повторном хирургическом вмешательстве опухоль не была удалена тотально, что также является неблагоприятным для прогноза заболевания.

Общая продолжительность жизни составила 71 неделю (16,3 мес.).

Случай 2.

Пациентке 49 лет с поражением левых теменной и затылочной долей было выполнено субтотальное удаление опухоли. Гистологический диагноз – первичная глиобластома GIV без мутаций в генах IDH1 и IDH2 (Рисунок 39 а, б). После операции пациентка получила лучевую терапию в СОД 60 Гр и 10 циклов химиотерапии темозоломидом в адьювантном режиме с полным ответом на лечение. Первый БРП составил 48 недель (11 месяцев).

Рецидив возник в левой теменной зоне (зоне первой операции). Была выполнена повторная операция в объеме субтотальной резекции опухоли с

последующим гистологическим исследованием, на котором кроме скопления опухолевых клеток с высоким индексом пролиферативной активности Ki-67 (до 80%), определялись обширные поля с некрозом (лечебный патоморфоз) (Рисунок 39 в, г). Во второй линии терапии пациентка не получала ни лучевой, ни химиотерапии. На первой же контрольной МРТ головного мозга выявлен продолженный рост опухоли. Безрецидивный период после второй операции составил 0 недель.

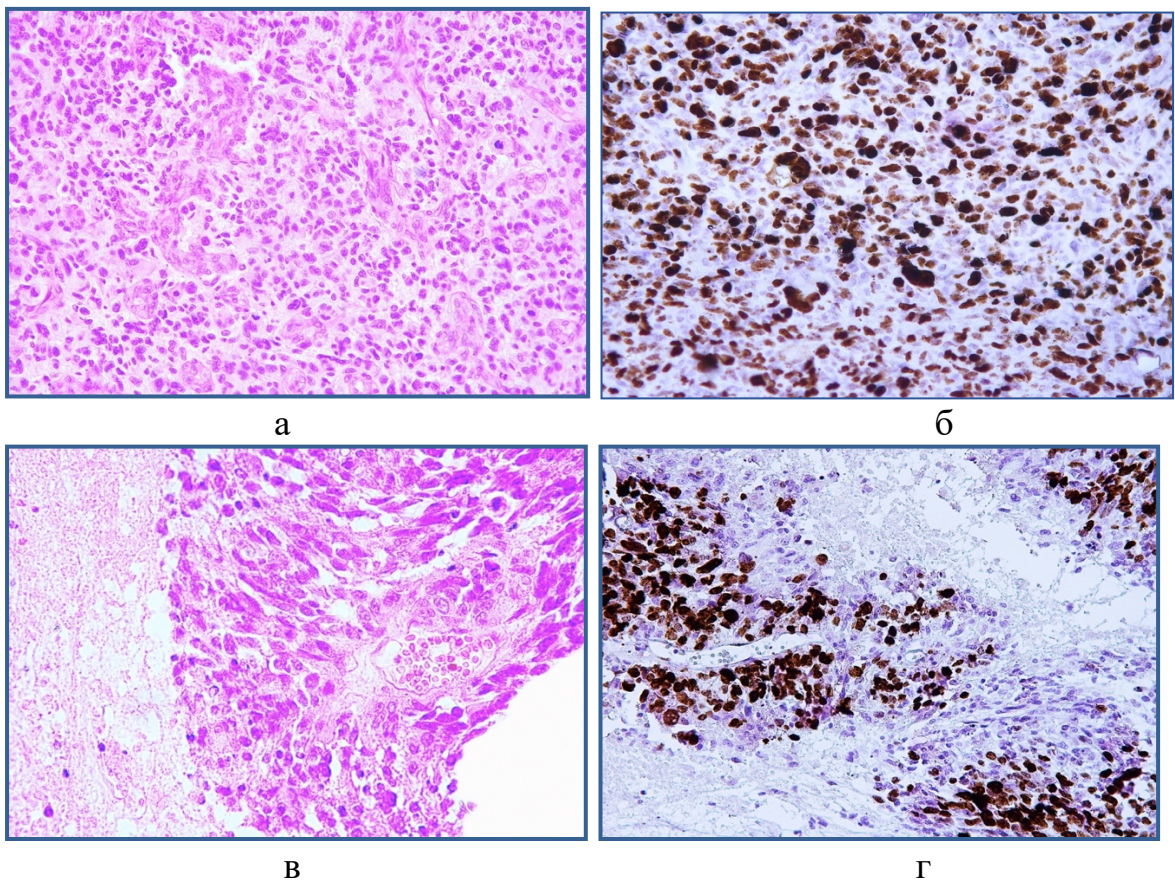


Рисунок 39 – Первичная глиобластома GIV, IDHwt. а, б – материал от первой операции (до ЛТ и ХТ); в, г – материал от второй операции (после ЛТ и ХТ). а – выраженный клеточный и ядерный полиморфизм, отчетливая пролиферация сосудов и эндотелия. Окраска гематоксилином и эозином; х100. б – иммуногистохимия, ядерное окрашивание антителом Ki-67 (60%); X200. в – выраженный клеточный и ядерный полиморфизм, пролиферация сосудов и эндотелия, лечебный патоморфоз. Окраска гематоксилином и эозином; X200. г – иммуногистохимия, ядерное окрашивание антителом Ki-67 (очагово до 80%), лечебный патоморфоз; X200

Молекулярно-генетический анализ был выполнен от двух операций (Таблица 34).

Таблица 34 – Сравнительный молекулярно-генетический анализ опухолевой ткани от двух операций

исследуемые гены	мутации в генах IDH1/2	MGMT	TOP2A	PDGFRA	VEGF	ERCC1	B-tubulin III
1-ая операция	не обнаружены	10,0 (н)	1,4 (ср)	-0,2 (ср)	-1,0(ср)	2,4 (н)	4,3 (ср)
2-ая операция	не обнаружены	10,0 (н)	1,4 (ср)	3,1 (н)	-4,7 (в)	3,1 (н)	3,5 (ср)

Примечание: н – низкий, ср – средний, в – высокий

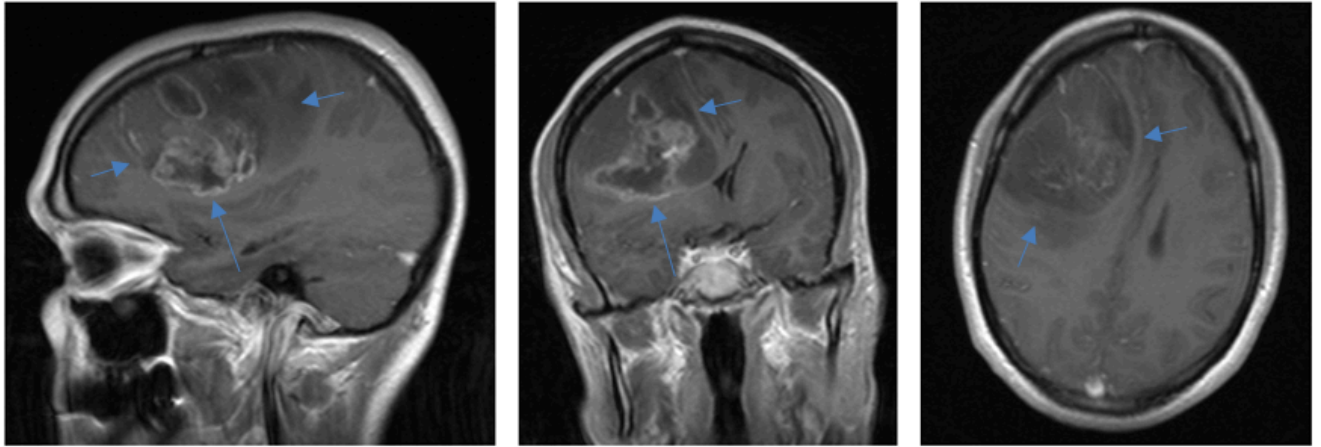
В представленном случае продемонстрировано влияние уровня экспрессии гена MGMT и длительности терапии темозоломидом на первый безрецидивный период. Также, в данном наблюдении продемонстрирован достигнутый полный ответ на терапию первой линии, что подтверждается наличием обширных полей некроза (лечебный патоморфоз) при морфологическом исследовании.

В молекулярно-генетическом анализе обращает внимание стабильный показатель низкой экспрессии гена MGMT, несмотря на большое число циклов химиотерапии темозоломидом в первой линии. Экспрессия генов TOP2A, ERCC1, B-tubulin III осталась на прежнем уровне.

Общая продолжительность жизни составила 73 недели (16,8 мес).

Случай 3.

Пациентка М. заболела остро в начале февраля 2017 года в возрасте 38 лет, когда появилась интенсивная головная боль, сопровождающаяся тошнотой. 26 февраля 2017 года пациентке было выполнено МРТ-исследование головного мозга с контрастным усилением, на котором обнаружено объемное образование в правых лобной и теменной долях гетерогенной структуры с неровными контурами, с выраженным перифокальным отеком и неоднородным активным накоплением контрастного вещества (Рисунок 40 а-в).



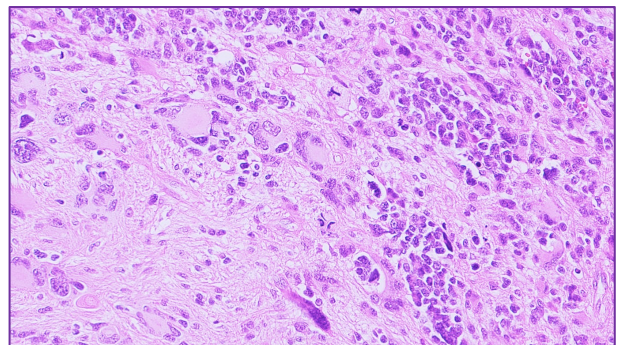
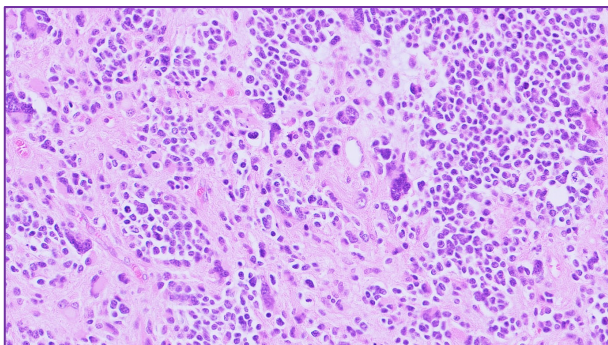
а

б

в

Рисунок 40 – МРТ головного мозга с контрастным усилением (26.02.2017г): а – сагиттальная проекция, б – коронарная проекция, в – аксиальная проекция. Объемное образование правых лобной и теменной долей размерами 43х47х51 мм

3 марта 2017 года пациентке проведено хирургическое вмешательство: краниотомия, макроскопически тотальное удаление опухоли. При гистологическом исследовании выявлена бикомпонентная полиморфная опухоль со скоплением целых фокусов и полей мелко-кругло-голубоклеточных клеток со скудной цитоплазмой и множественными псевдорозетками (Рисунок 41 а-в).



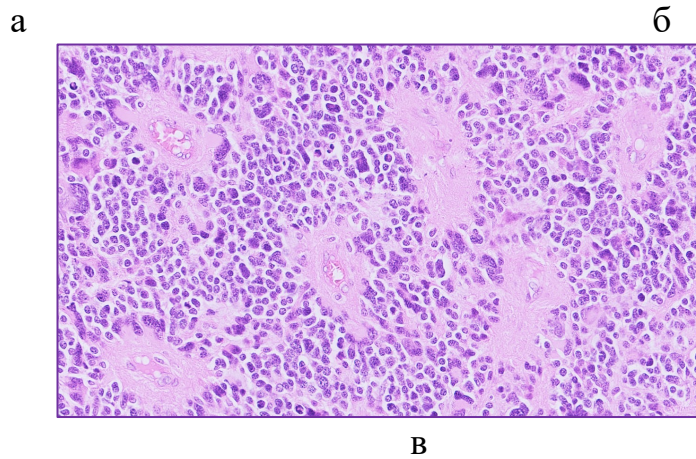


Рисунок 41 – Глиобластома с примитивным нейрональным компонентом (GIV). Материал от 1-й операции. Окраска гематоксилином и эозином. а, б – бикомпонентная опухоль, астроцитарный компонент с многоядерными гигантскими клетками больше выражен слева, примитивный нейрональный – справа, x200; в – псевдорозетки Хомера-Райта в примитивном нейрональном компоненте глиобластомы, x200

Пациентке было выполнено иммуногистохимическое исследование (ИГХ) (Рисунок 42 а-г).

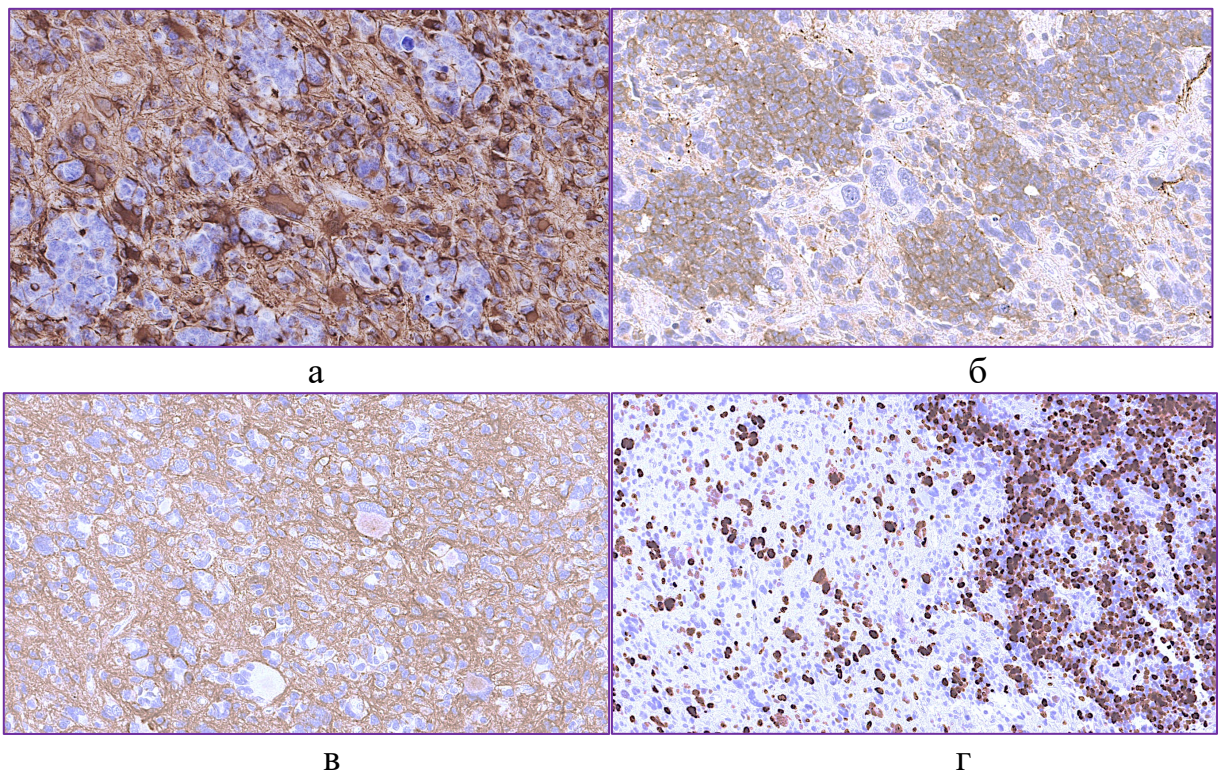


Рисунок 42 – Глиобластома с примитивным нейрональным компонентом (GIV), ИГХ. Материал от 1-й операции. а – положительное окрашивание антителом

GFAP в астроцитарном компоненте опухоли, x200; б – позитивное окрашивание цитоплазмы клеток антителом Syn в примитивной нейрональной порции, x200; в – позитивное окрашивание антителом CD99 в примитивном нейрональном компоненте, x200; г – ядерное окрашивание антителом Ki-67 в астроцитарном компоненте около 20%, в примитивном нейрональном – до 60%, x100

Гистологическое заключение после проведения ИГХ: глиобластома с примитивным нейрональным компонентом (GIV). Результаты иммуногистохимического исследования: GFAP (+), Syn (+), CD99 (+) с индексом пролиферативной активности (Ki-67) от 20 до 60%.

После операции пациентке выполнена компьютерная томография (КТ) головного мозга с контрастным усилением (04.03.2017г): резидуальная опухоль достоверно не визуализировалась (Рисунок 43).

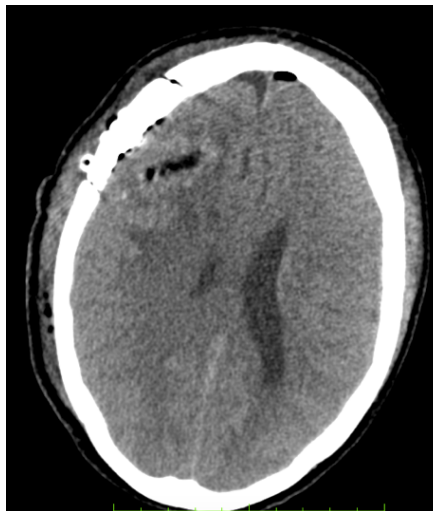


Рисунок 43 – КТ головного мозга с контрастным усилением после 1-й операции (04.03.2017г): аксиальная проекция. Отек правой гемисферы без смещения срединных структур мозга; накопление контраста остатками опухоли не определяется

Ранний послеоперационный период протекал без осложнений. С 10.04.2017 г. по 03.05.2017г. пациентка прошла курс лучевой терапии (62 Гр на ложе удаленной опухоли). На контрольном МРТ с контрастным усилением (31.05.2017г.) выявлено накопление контрастного вещества по краю удаленной

опухоли с формированием очагов в нижнемедиальных отделах (отрицательная динамика?) (Рисунок 44 а-в).

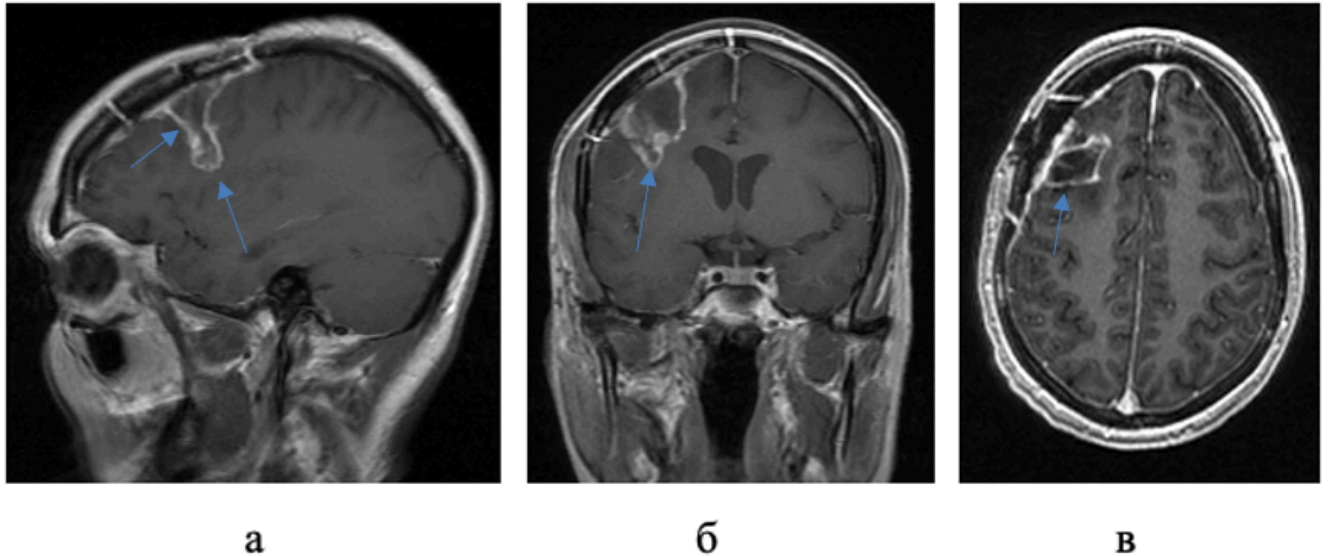
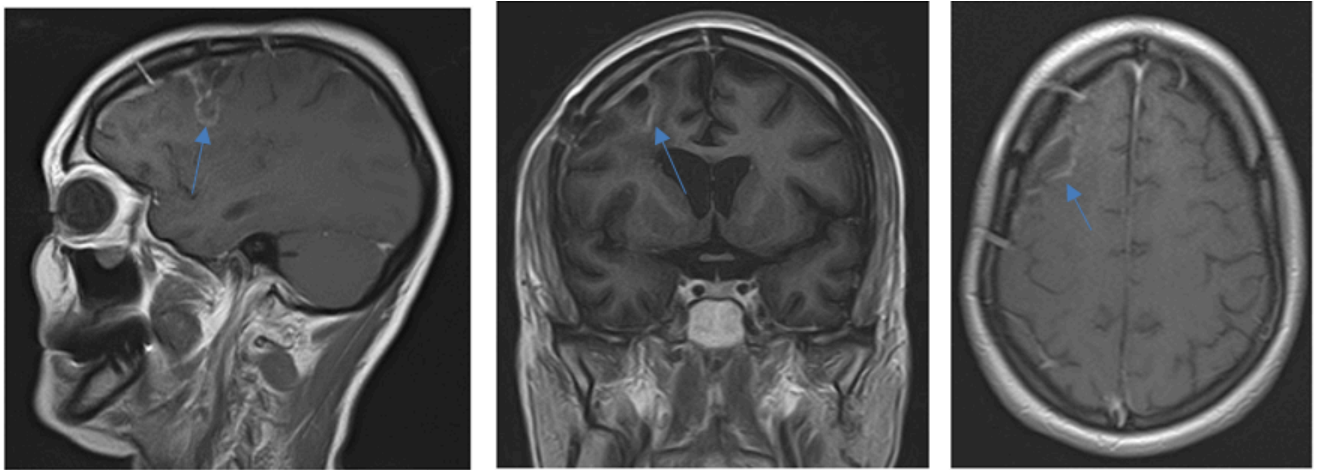


Рисунок 44 – МРТ головного мозга с контрастным усилением (31.05.2017г): а – сагиттальная проекция, б – коронарная проекция, в – аксиальная проекция. Отмечается активное накопление контраста в стенках послеоперационной кисты с формированием очагов в нижнемедиальных отделах

Монотерапия темозоломидом в адьювантном режиме начата 6 июня 2017 года. Всего пациентка получила 8 циклов химиотерапии (ХТ). Режим приема темозоломида проводился согласно общепринятому протоколу лечения пациентов со злокачественными глиомами. В первый цикл ХТ доза составила 280 мг в сутки, последующие 2-й и 3-й циклы – 320 мг в день. С 4 по 8 циклы, в связи с гематологической токсичностью (нейтропения 2 степени, тромбоцитопения 4 степени, анемия 1 степени), доза препарата была редуцирована до 180 мг в сутки. Во время лечения проводилось динамическое наблюдение, выполнялась МРТ головного мозга с контрастным усилением каждые 2 цикла (Рисунок 45 – 48).

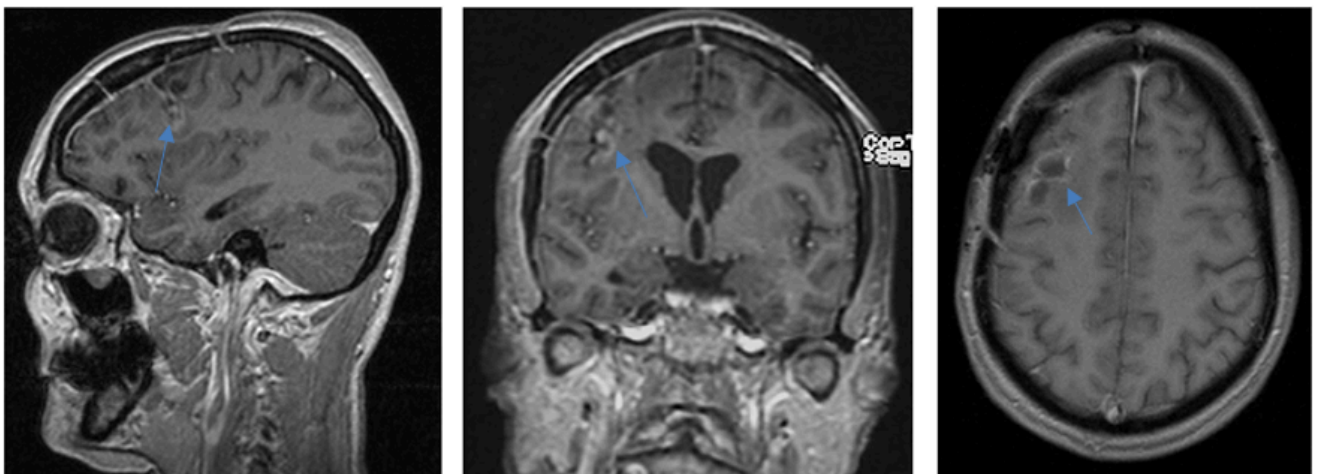


а

б

в

Рисунок 45 – МРТ головного мозга с контрастным усилением после 2-х циклов ХТ темозоломидом (20.07.2017г): а – сагиттальная проекция, б – коронарная проекция, в – аксиальная проекция. Отмечается участок неоднородного накопления контрастного вещества в правой лобной доле, по краю удаленной опухоли размерами 21х9х9 мм.



а

б

в

Рисунок 46 – МРТ головного мозга с контрастным усилением после 4-х циклов ХТ темозоломидом (21.09.2017г): а – сагиттальная проекция, б – коронарная проекция, в – аксиальная проекция. Положительная динамика в виде уменьшения участка накопления контрастного вещества в правой лобной доле до 15х7х5 мм.

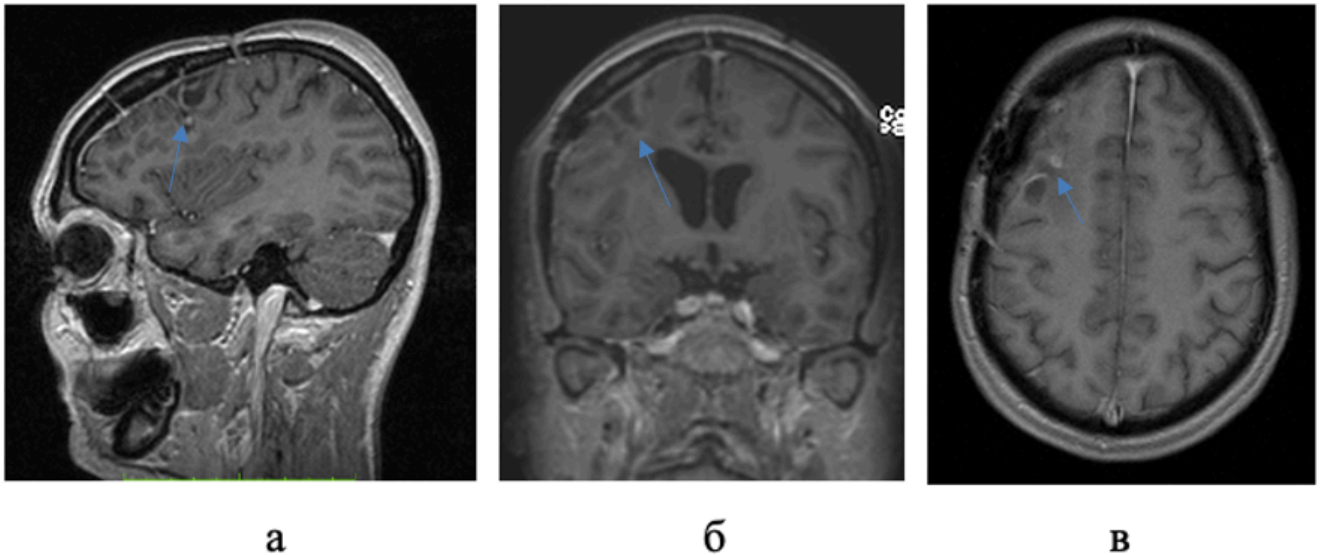


Рисунок 47 – МРТ головного мозга с контрастным усилением после 6 циклов ХТ темозоломидом (28.11.2017г.): а – сагиттальная проекция, б – коронарная проекция, в – аксиальная проекция. Частичный ответ на терапию, размеры образования – 10x5x3 мм.

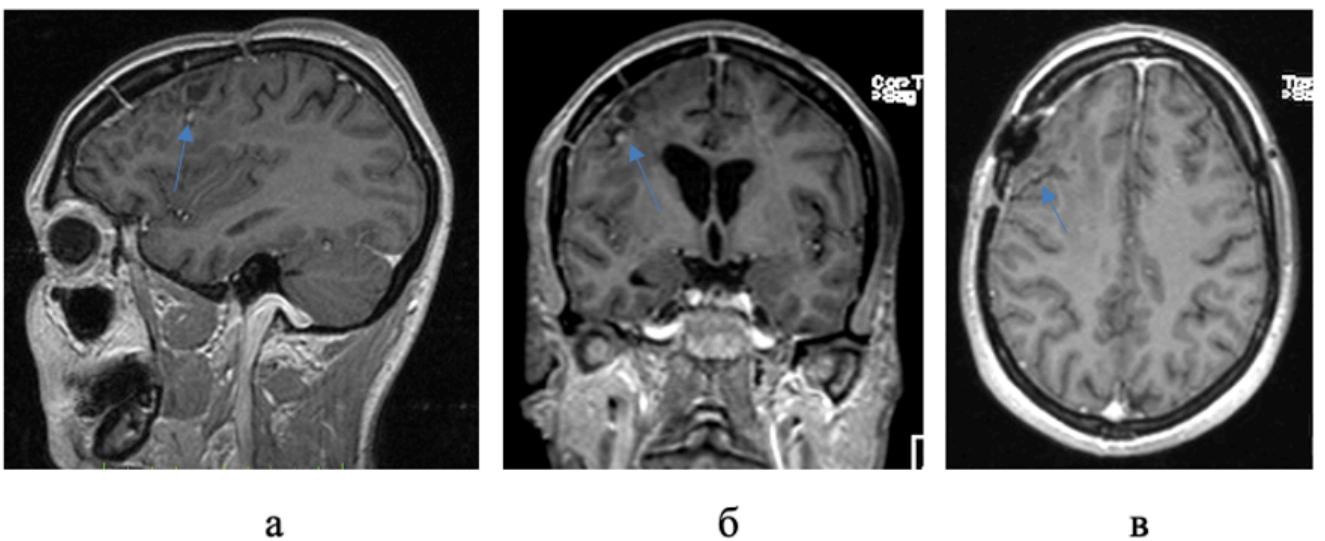


Рисунок 48 – МРТ головного мозга с контрастным усилением, после 8 циклов ХТ темозоломидом (24.01.2018г.): а – сагиттальная проекция, б – коронарная проекция, в – аксиальная проекция. Накопления контрастного вещества не наблюдается. Полный ответ на терапию

На фоне проводимого лечения по данным МРТ исследования был достигнут полный ответ на терапию темозоломидом. Прием темозоломида прекращен с февраля 2018 года.

На контрольных МРТ (26.03.2018г) по заднему контуру послеоперационной кисты появился новый очаг с накоплением контрастного вещества размерами 26x15x14 мм (Рисунок 49 а – в).

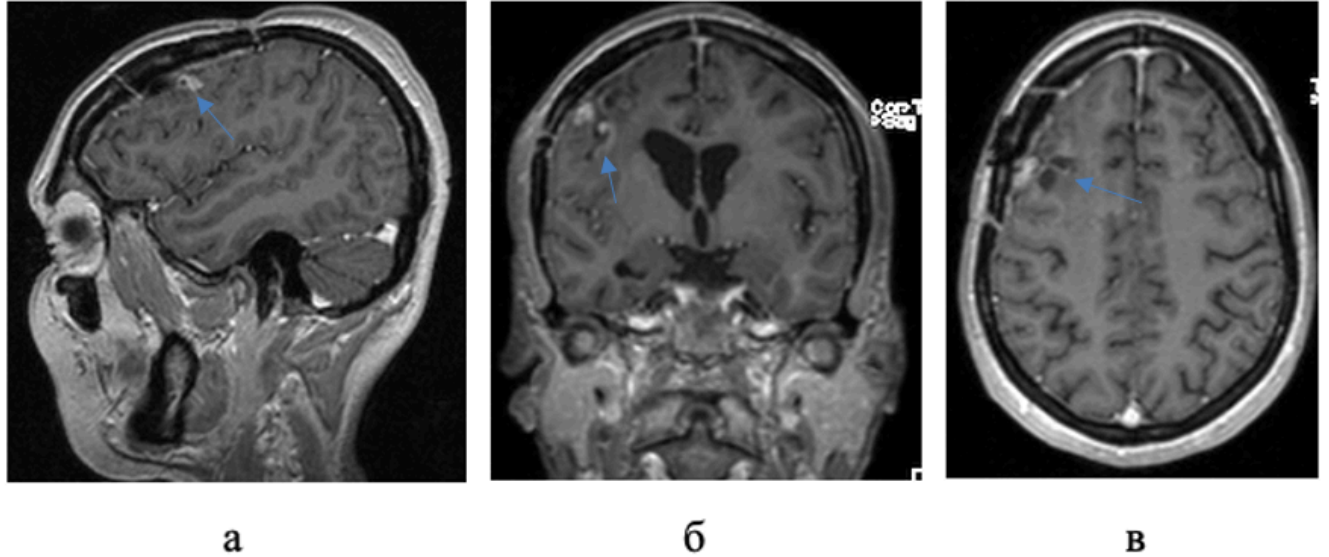


Рисунок 49 – МРТ головного мозга с контрастным усилением (26.03.2018г): а – сагиттальная проекция, б – коронарная проекция, в – аксиальная проекция. Определяется образование в правой лобной доле размерами 26x15x14 мм. Рецидив заболевания

Для уточнения характера образования и исключения псевдопрогрессии опухоли 25 апреля 2018г. проведено ПЭТ/КТ головного мозга с С-метионином. Отмечено патологическое накопление РФП в зоне накопления контраста до 1,97, что соответствует локальному рецидиву. Таким образом, в данном клиническом наблюдении первый безрецидивный период составил 12 месяцев и 3 недели. 29 мая 2018 года пациентке было выполнено повторное хирургическое вмешательство с субтотальным удалением новообразования.

При проведении морфологического исследования микроскопическая картина была представлена анапластической астроцитарной полиморфной опухолью с выраженной пролиферацией сосудов и эндотелия, обилием многоядерных клеток, обширными полями некроза и практически отсутствием примитивного нейронального компонента – клетки рассеяны в опухолевой массе (Рисунок 50 а, б). Выполнено ИГХ-исследование (Рисунок 50 в – д).

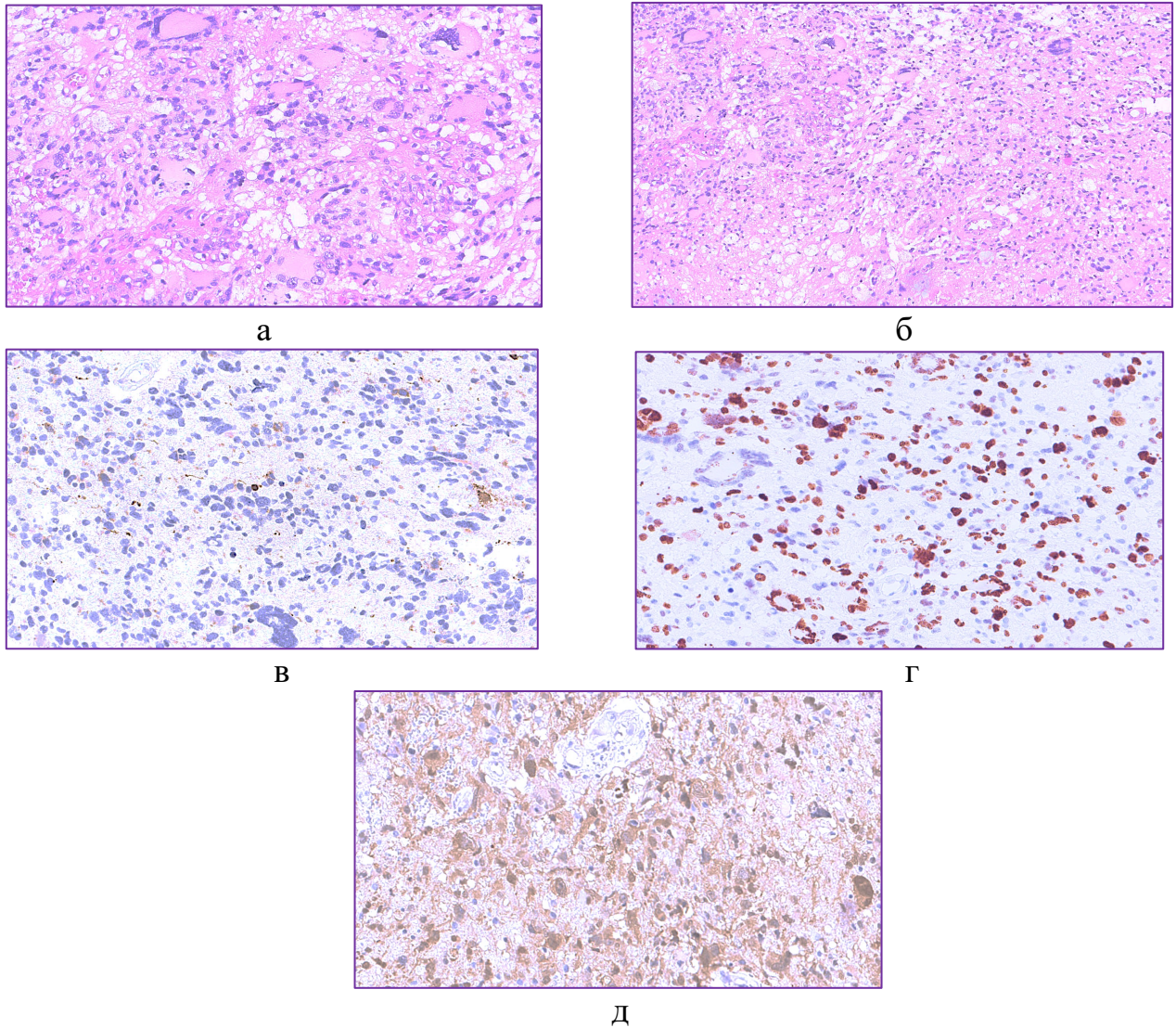


Рисунок 50 – Глиобластома с примитивным нейрональным компонентом (GIV) с мутацией в гене IDH1(R132H). Материал от 2-й операции: а – астроцитарный компонент опухоли с многоядерными гигантскими клетками, выраженная пролиферация сосудов и эндотелия (клубки). Окраска гематоксилином и эозином, x200; б – астроцитарный компонент опухоли с зоной некроза внизу. Окраска гематоксилином и эозином, x100; в – ИГХ; окрашивание антителом Syn в единичных клетках примитивного нейронального компонента (реакция ближе к отрицательной), x200; г – ИГХ. Ядерное окрашивание антителом Ki-67 фокально до 40%, x200; д – ИГХ. Позитивное окрашивание антителом IDH1(R132H), x200

Ранний послеоперационный период протекал без осложнений. Контрольное МРТ головного мозга было выполнено 21.06.2018 года (Рисунок 51 а – в).

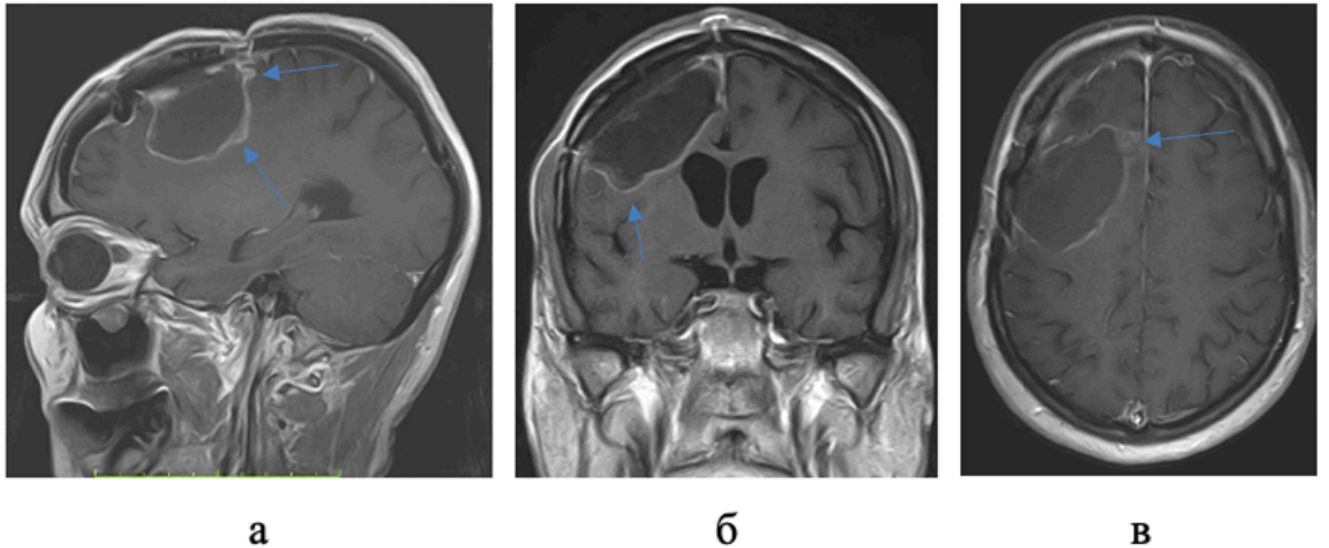


Рисунок 51 – МРТ головного мозга с контрастным усилением (21.06.2018г): а – сагиттальная проекция, б – коронарная проекция, в – аксиальная проекция. Отмечается неоднородное накопление контрастного вещества по краю резекционной полости

Проведен повторный курс лучевой терапии (50 Гр) с 09.07.2018 по 13.08.2018 года. 27.09.2018 года начата 2 линия полихимиотерапии (ПХТ) по схеме PCV (винкристин $1,4 \text{ мг/м}^2$, в/в Д8 и Д29 + ломустин 110 мг/м^2 , внутрь Д1 + прокарбазин 60 мг/м^2 , внутрь Д8-21). Химиотерапию перенесла без осложнений, но на первом контрольном МРТ-исследовании головного мозга (21.12.2018г) после 2-х циклов ХТ выявлен продолженный рост опухоли (Рисунок 52 а – в).

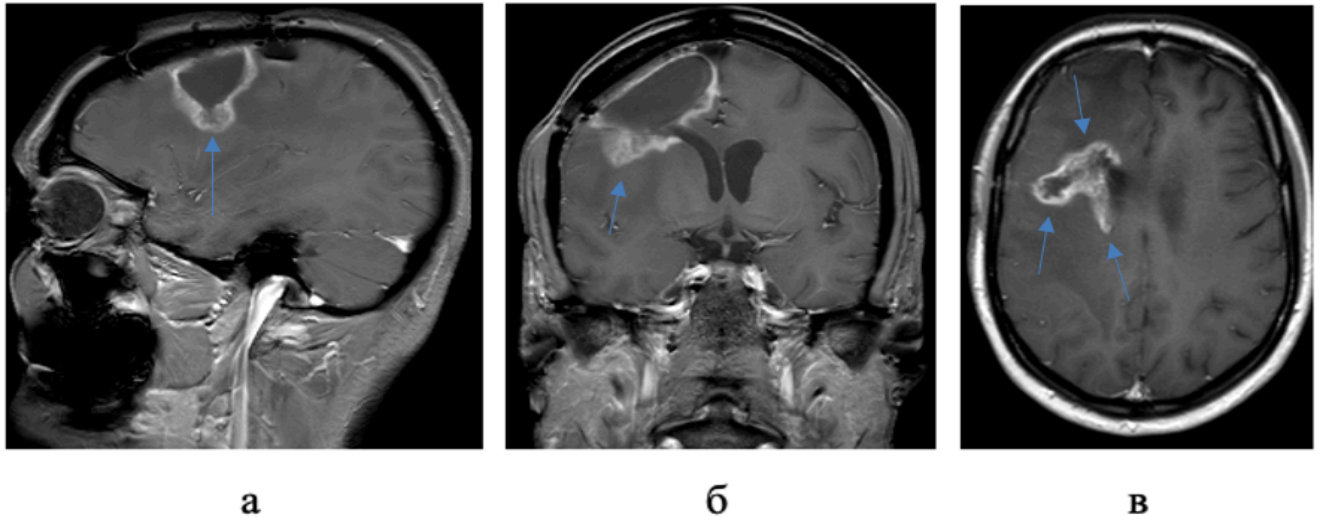


Рисунок 52 – МРТ головного мозга с контрастным усилением после 2-х циклов ПХТ по схеме PCV (21.12.2018г): а – сагиттальная проекция, б – коронарная проекция, в – аксиальная проекция. Картина образования глубоких отделов правой лобной доли, размерами 40х30х27 мм, интенсивно накапливающее контрастное вещество, перифокальный отек. Отрицательная динамика

Пациентка получила еще 2 цикла ПХТ по схеме PCV и симптоматическую терапию (дексаметазон 16 мг в сутки + омепразол 20 мг 2 раза в день). 28 мая 2019 года на контрольном МРТ головного мозга была отмечена выраженная отрицательная динамика с увеличением в размерах образования глубоких отделов правой лобной доли (Рисунок 53 а, б).

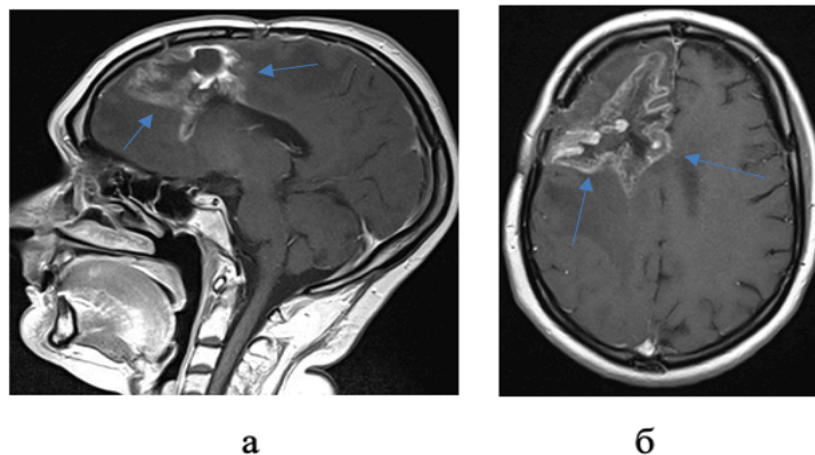


Рисунок 53 – МРТ головного мозга с контрастным усилением, после 4-х циклов ПХТ по схеме PCV (28.05.2019г) (И/Б № 11475): а – сагиттальная проекция, б – коронарная проекция, в – аксиальная проекция. Отмечается

увеличение в размерах ранее описанного образования до 85x53x53 мм.
Отрицательная динамика

Пациентке было выполнено третье хирургическое вмешательство (01.07.2019г) с частичным удалением опухоли. При гистологическом исследовании опухоль была представлена фокусами анапластической астроцитомы (GIII) с ярким клеточным полиморфизмом и низкой пролиферативной активностью на фоне обширных полей некроза (Рисунок 54 а – г).

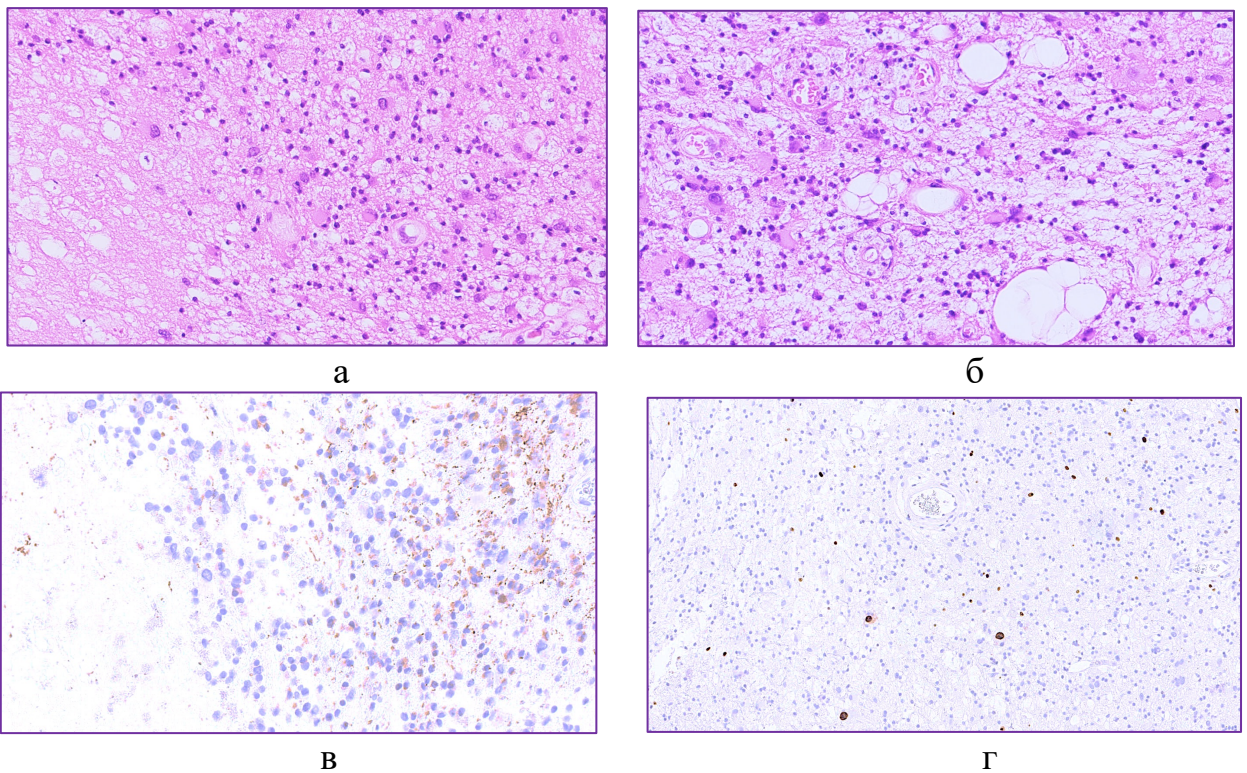


Рисунок 54 – Материал от 3-й операции (И/Б № 11475). Гистологическая картина соответствует анапластической астроцитоме (GIII): а – анапластическая астроцитарная опухоль с выраженным клеточным полиморфизмом, единичными многоядерными клетками и гемистоцитами, зона некроза слева. Окраска гематоксилином и эозином, x200; б – анапластическая астроцитарная опухоль с выраженным клеточным полиморфизмом, гемистоцитами и поликистозом. Окраска гематоксилином и эозином, x200; в – ИГХ. Окрашивание антителом Syn цитоплазмы единичных клеток примитивного нейронального компонента (ближе к отрицательному), слева некроз, x200; г – ИГХ. Ядерное окрашивание антителом Ki-67 6-8%, x100

От дальнейшего лечения и обследования пациентка отказалась. Общая продолжительность жизни составила 30 месяцев.

Материал от третьей операции был представлен преимущественно глиомезо-дермальными изменениями и некрозом, поэтому полученные результаты оказались неинформативными. Данные по уровню экспрессии мРНК исследуемых генов и мутации в гене IDH1(R132H) в опухоли от первых двух операций представлены в таблице 35.

Таблица 35 – Сравнительный молекулярно-генетический анализ опухолевой ткани от двух операций

исследуемые гены	мутации в генах IDH1/2	MGMT	TOP2A	PDGFRA	VEGF	ERCC1	B-tubulin III
1-ая операция	обнаружена IDH1(R132H)	2,7 (н)	-0,2 (в)	-2,5 (в)	-0,7 (ср)	0,2 (ср)	0 (в)
2-ая операция	обнаружена IDH1(R132H)	2,5 (н)	2,3 (ср)	0,5 (ср)	-1,5 (в)	1,0 (ср)	1,3 (в)

Примечание: н – низкая экспрессия, в – высокая экспрессия, ср – средняя экспрессия

При сравнении результатов молекулярно-генетического анализа материалов от первых двух операции наблюдалось изменение уровней экспрессии трех генов: TOP2A, PDGFRA, VEGF. Низкая экспрессия гена MGMT способствовала достижению полного ответа на терапию темозоломидом в 1-й линии. Быстро наступивший рецидив заболевания можно объяснить недостаточным числом циклов химиотерапии с учетом редукции дозы препарата.

При анализе морфологической картины опухоли от всех трех операций наблюдалось постепенное исчезновение примитивного нейроэктодермального компонента в опухоли, который изначально был ярко выражен, и все большее преобладание астроцитарного. Гистологическая картина опухоли от 3-й операции не была характерна для глиобластомы (GIV), а соответствовала больше

анапластической астроцитоме (GIII) с фокусами диффузной астроцитомы (GII). Подобную ситуацию ни в коем случае нельзя расценивать, как «одоброкачество» опухоли. Мнимую «доброкачественность» в материале от 3-й операции вполне можно объяснить или наличием внутриопухолевой гетерогенности в астроцитомах, которая встречается в 50 – 70% случаев, или лечебным патоморфозом. Таким образом, с учетом первоначального диагноза от первой операции и данных молекулярно-генетического исследования, окончательный диагноз звучит следующим образом: глиобластома с примитивным нейрональным компонентом (GIV) с мутацией в гене IDH1(R132H).

Представленное наблюдение по-своему уникально. Во-первых, диагноз «первичная глиобластома» достаточно редко встречается у пациентов моложе 40 лет. Во-вторых, в данном случае это была еще и бикомпонентная опухоль с наличием примитивного нейронального компонента, что было подтверждено ИГХ-исследованием, а глиобластомы с примитивным нейрональным компонентом составляют всего 0,5% от всех первичных глиобластом. В-третьих, в опухоли была выявлена мутация в гене IDH1(R132H), которая встречается в этом варианте глиобластомы с частотой, не превышающей 20%. Помимо этого, биологический подтип опухоли оказался изначально чувствительным к терапии темозоломидом. Несмотря на редукцию дозы темозоломида, был достигнут полный ответ на лечение. И, наконец, представленный клинический случай демонстрирует широкие приспособительные возможности опухоли к терапии – стабильный показатель экспрессии мРНК гена MGMT.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Глиобластома – самая распространенная первичная злокачественная опухоль головного мозга, отличающаяся еще и самыми низкими показателями выживаемости пациентов среди всех новообразований ЦНС (9,5 – 16 мес) (Gilbert M.R., 2014; Louis D.N. et al., 2016; Norohe D.S. et al., 2016). В тоже время в общей когорте больных с глиобластомой выделяется группа пациентов, преодолевающих рубеж 5-летней выживаемости (Ostrom Q.T. et al., 2019). Таким образом, перед нейроонкологическим сообществом встал актуальный вопрос о выявлении факторов прогноза и возможностей влияния на них.

До недавнего времени считалось, что именно такие клинико-демографические и нейровизуализационные параметры, как возраст больного, его функциональный статус (например, по шкале Карновского), локализация опухоли и объем поражения головного мозга являются основными прогностическими факторами для пациентов с глиобластомой (Scott J.N. et al., 1999; Chaichana K.L. et al., 2013; Adebeg S. et al., 2014). Согласно медицинской литературе, пожилые пациенты получают менее интенсивную терапию, что, по всей видимости, может приводить к снижению показателей продолжительности жизни (Lutterbach J. et al., 2005; Young J.S. et al., 2017). В нашей работе возраст пациентов не влиял на объем получаемой терапии, и мы не выявили прогностического значения возраста ($p=0,98$, 49 vs 50 недель). При оценке продолжительности жизни до прогрессирования заболевания в группах больных с различным функциональным статусом по шкале Карновского перед операцией было отмечено, что больные с высоким функциональным статусом имели лучшие показатели первого БРП (перед операцией: 90 – 100 баллов – 71,5 нед, 70 – 80 баллов – 49 нед, 60 баллов – 19 недель). Нами не было установлено прогностической роли таких факторов, как распространенность опухолевого процесса головного мозга, локализация в базальных структурах и объем поражения ($p=0,6$, $p=0,9$, $p=0,52$).

Активное изучение биологии опухолевого роста первичной глиобластомы на генетическом уровне в течение двух последних десятилетий привело к

открытию новых факторов прогноза - молекулярных биомаркеров, таких как гены IDH1, IDH2 и MGMT (Parson D.W. et al., 2008; Yan H. et al., 2009; Мацко М.В. с соавт., 2019; Yu W. et al., 2019; Schaff L.R. et al., 2020). Данный факт отражен в последней классификации ВОЗ опухолей центральной нервной системы (2016), согласно которой выделяют два биологических подтипа первичной глиобластомы: с наличием мутации в генах IDH1 или IDH2 и без этой мутации. На сегодняшний день присутствие этих aberrаций является главным прогностическим маркером для пациентов с первичной глиобластомой. Согласно некоторым исследованиям, наличие мутации в генах IDH1 и IDH2 увеличивает медиану безрецидивной выживаемости более чем в 2 раза (Yang P. et al., 2015; Chen J.R. et al., 2016; Louis D.N. et al., 2016), что и подтвердилось в нашем исследовании (98 vs 48,5 недель). Следует подчеркнуть, что данные альтерации в первичной глиобластоме встречаются нечасто (лишь от 2 до 12%) (Amelot A. et al., 2015; Мацко Д.Е. с соавт., 2017; Мацко М.В. с соавт., 2019; Sarmiento J.M. et al., 2016) и преимущественно у пациентов молодого возраста (Louis D.N. et al., 2016). В нашем исследовании только у 9,1% (3/34) больных была выявлена мутация в гене IDH1, и все они были моложе 50 лет.

Особое значение в лечении пациентов с первичной глиобластомой занимает ген репарации ДНК MGMT (06-метилгуанин-ДНК-метилтрансфераз). В настоящее время он является единственным предиктивным маркером в нейроонкологии (Louis D.N. et al., 2016). Именно с низким содержанием этого гена в опухоли ассоциируется более длительная продолжительность жизни больных с первичной глиобластомой при условии проведения стандартной химиотерапии (Hegi M.E. et al., 2005; Matsko M.V. et al. 2015). По данным зарубежных исследований, при низкой активности гена MGMT и комплексном лечении медиана первого БРП составляет от 8,2 до 24 мес, а при высоком – от 2,7 до 10 месяцев (Felsberg J. et al., 2011; Sunwoo L. et al., 2013; Quillien V. et al., 2014; Matsko M.V. et al. 2015). Однако лишь 30% пациентов попадают в благоприятную прогностическую группу (Louis D.N. et al., 2016). В научной литературе отмечается, что содержание MGMT не коррелирует с возрастом пациентов (Wick

A. et al., 2018). В нашей работе низкая экспрессия гена MGMT была зарегистрирована в 76,5% случаях (26/34), причем практически с одинаковой частотой она определялась в разных возрастных группах (моложе и старше 50 лет) (70% и 85,7%, соответственно). Все больные в нашем исследовании в качестве первой линии химиотерапии получили темозоломид, и было выявлено статистически значимое влияние уровня экспрессии мРНК гена MGMT после первой операции на длительность первого БРП ($p=0,036$). Продолжительность жизни пациентов до прогрессирования заболевания при низкой экспрессии исследуемого гена составила 53,5 нед (12,3 мес), а при высокой – 36 недель (8,2 месяца). В медицинской литературе приводятся схожие показатели безрецидивной продолжительности жизни (10,3 vs 5,3 мес.) (Hegi M.E. et al., 2005; Matsko M.V. et al. 2015).

Роль других молекулярных маркеров в прогнозе заболевания для пациентов с первичными глиобластомами пока до конца не выяснена. В части работ подтверждается влияние генов VEGF и PDGF на продолжительность жизни пациентов при условии стандартной терапии, однако, встречаются исследования, опровергающие их прогностическое значение (Sjostrom S. et al., 2011; Chen D. et al., 2013; Vezanzones S. et al., 2017; Kim M.M. et al., 2018). В нескольких публикациях отмечается, что высокая активность гена VEGF встречается преимущественно у пациентов пожилого возраста, а у молодых больных с первичными глиобластомами чаще регистрируется высокая активность PDGF (Chen D. et al., 2013; Wick A. et al., 2018). В нашем исследовании высокий уровень экспрессии гена VEGF чаще встретился у пациентов старше 50 лет (71,4% vs 55%). Высокая экспрессия гена PDGFRA преимущественно зарегистрировалась у больных моложе 50 лет (29,4% vs 8,3%). По результатам нашей работы длительность первого БРП не зависела от экспрессии данных генов (VEGF – $p=0,19$; PDGFRA – $p=0,2$).

В то время как в общей онкологии уже четко определились с ролью таких биомаркеров, как β -tubulin III, ERCC1 и TOP2A, их влияние на продолжительность жизни пациентов с первичной глиобластомой остаётся не

известной (Wang T.L. et al., 2017; Liu J. et al., 2017; Han J.Y. et al., 2017; Мамичев И.А. с соавт., 2018). Нами была проведена оценка прогностической роли этих генов, и влияния на медиану первого БРП экспрессии β -tubulin III, ERCC1 и TOP2A в первичной глиобластоме выявлено не было. ($p=0,15$, $p=0,52$, $p=0,61$).

На сегодняшний день в нейроонкологическом сообществе не прекращаются дискуссии о влиянии морфологических характеристик глиобластомы на выживаемость пациентов. В литературе встречаются публикации, где индекс пролиферативной активности считают важным прогностическим маркером, в тоже время существуют работы, которые не подтверждают этого (Moskowitz S.I. et al., 2006; Zeng A. et al., 2015; Stoyanov G.S. et al., 2017; Cheng P. et al., 2018). По результатам нашего исследования Ki-67 не влиял на длительность первого БРП ($p=0,67$).

Открытие новых биологических подтипов глиобластом с бикомпонентной структурой подтверждает многогранность процессов, которые происходят в опухоли. В наше исследование вошли три пациента с наличием в первичной глиобластоме примитивного нейронального компонента (8,8%, 3/34). Частота данного нозологического варианта глиобластом крайне невысока, лишь 0,5% случаев от всех первичных глиобластом (Perry A. et al., 2009; Prelaj A. et al., 2018). При этом, согласно редким исследованиям, присутствие примитивного нейронального компонента в глиобластоме не дает значимых преимуществ в выживаемости даже при проведении стандартной терапии (Perry A. et al., 2009; Joseph N.M. et al., 2013). По результатам нашего исследования медиана первого БРП в группе пациентов с наличием примитивного нейронального компонента оказалась такой же, как у больных с обычной первичной глиобластомой (49 vs 49 недель).

Особое внимание в нейроонкологической практике уделяется проводимой адьювантной терапии, хотя хирургическое удаление опухоли по-прежнему считается важнейшим этапом в лечении пациентов с глиобластомой, целью которого является устранение «масс-эффекта» с целью разрешения внутричерепной гипертензии и уменьшения неврологического дефицита, а также

получение достаточного объема материала для проведения гистологического исследования с выполнением иммуногистохимии и молекулярно-генетического анализа. Для выполнения этих задач современная нейрохирургия предоставляет целый арсенал мультимодальных интраоперационных методик (нейрофизиологический мониторинг, УЗ-навигация, флюоресцентная диагностика и др.) (Stummer W. et al., 2006; Choi B.D. et al., 2012; Tamura M. et al., 2015; Улитин А.Ю. и др., 2017; Коновалов Н.А. и др. 2020).

Среди нейрохирургов сформировался устойчивый стереотип о ключевом влиянии степени резекции опухоли на продолжительность жизни у больных с глиобластомой. Стремление к тотальному удалению опухоли нередко приводит к нарушению одного из основных принципов хирургии – «физиологической дозволенности», сформированного Н.Н. Бурденко в 1935 году. Цель «удалить все» может привести к тяжелейшему неврологическому дефициту и лишить больного шанса получить комплексное лечение – лучевую терапию и химиотерапию. В течение последнего десятилетия в научной литературе стали появляться работы, описывающие быстрое наступления рецидива у пациентов после радикального удаления глиобластомы даже на фоне проведения стандартной послеоперационной терапии (Amelot A. et al., 2015; Ringel F. et al., 2015; Gessler F. et al., 2018). Таким образом, все чаще стал подниматься вопрос о значимости объема резекции в прогнозе заболевания, особенно в случае локализации опухоли в функционально важных зонах головного мозга. В нашем исследовании со статистической достоверностью удалось показать, что наиболее длительная медиана первого БРП отмечена при субтотальном удалении опухоли (субтотальное vs тотальное $p=0,038$, 65 vs 43 нед; субтотальное vs частичное $p=0,05$, 65 vs 42,5 недель). Следует подчеркнуть, что при нерадикальном удалении опухоли именно использование методик нейрофизиологического мониторинга (в 61,9%) позволило избежать снижения функционального статуса после операции, хотя, косвенным образом, и оказало влияние на радикальность хирургического вмешательства. Согласно результатам нашего исследования, сохранение функционального статуса после операции (по шкале Карновского)

более 80 баллов со статистической достоверностью способствовало увеличению медианы первого безрецидивного периода на 11,5 месяцев ($p=0,001$).

Объяснение феномена длительного первого безрецидивного периода при субтотальном удалении опухоли следует искать в генетическом статусе опухоли. На сегодняшний день проведено лишь несколько исследований, в которых оценивается влияние степени циторедукции на выживаемость пациентов с учетом молекулярно-генетического статуса опухоли (Kreth F.W. et al., 2013; Gessler F. et al., 2018; Marchi F. et al., 2020). Все работы привели к одинаковому заключению: объем резекции опухоли влияет на выживаемость пациентов, но только при высокой активности гена MGMT; у пациентов же с низкой активностью гена данная зависимость не наблюдается. Более того, при сравнении групп с нерадикальной резекцией опухоли и низкой экспрессией гена MGMT с другими объемами удаления (тотальное удаление и биопсия), безрецидивный период и общая выживаемость оказались длиннее в первой группе (Marchi F. et al., 2020). В настоящем исследовании мы разделили всех пациентов на два биологических подтипа в зависимости от уровня экспрессии гена MGMT. Первая группа – с низкой экспрессией гена MGMT и вторая – с высокой. Наибольший период выживаемости был отмечен при нерадикальном удалении опухоли и низкой экспрессии гена MGMT ($p \geq 0,05$, 59,5 недель); тотальная резекция опухоли привела к увеличению выживаемости, но лишь в случаях с высокой активностью исследуемого гена (33 vs 12 недель). Более высокие показатели выживаемости у пациентов после нерадикальной циторедукции можем объяснить низкой экспрессией гена MGMT и большим числом циклов химиотерапии темозоломидом в адьювантном режиме, при тотальном же удалении опухоли субстрат для наблюдения отсутствует, в связи с чем больные получали меньшее число циклов химиотерапевтического лечения.

Учитывая важную роль гена MGMT в терапии пациентов глиобластомой, был поднят вопрос об определении его активности на дооперационном этапе для возможной коррекции тактики лечения больных. В литературе есть данные, что глиобластомы с низкой экспрессией гена MGMT, как правило, не распростра-

няются за пределы одной доли головного мозга и часто локализируются в лобной доле, в то время как при высоком уровне экспрессии гена MGMT опухоль поражает несколько долей головного мозга (Paldor I. et al., 2013). В нашей работе низкий уровень экспрессии гена MGMT встречался практически с одинаковой частотой как при поражении одной доли головного мозга, так и при более распространенном опухолевом процессе (75%, 18/24 и 80%, 8/10). Из всех случаев первичной глиобластомы с высокой экспрессией исследуемого гена в 75% наблюдений (6/8) опухоль локализовалась в пределах одной доли головного мозга. Преимущественно низкая экспрессия гена MGMT регистрировалась при поражении височной доли головного мозга (38%, 10/26). У пациентов с локализацией опухоли в лобной доле частота низкого и высокого уровней экспрессии гена MGMT оказалась одинаковой (50% vs 50%).

В стандарты комплексного лечения пациентов с глиобластомой входит также проведение лучевой терапии с ежедневным приемом темозоломида. По ряду причин не все больные получают химиотерапевтический препарат на фоне проведения лучевой терапии. По результатам нашей работы при оценке первого БРП проведение лучевой терапии с ежедневным приемом темозоломида дает преимущество в длительности первого БРП в 10 недель (3 мес) ($p=0,08$, 53 vs 43 недель). Разделив всех пациентов на два биологических подтипа (с низкой и высокой экспрессией гена MGMT в опухоли) мы выявили, что проведение ХТ темозоломидом на фоне лучевой терапии увеличивает медиану выживаемости, но только в группе с низкой активностью гена MGMT ($p=0,07$, 71,5 vs 41 нед); у пациентов же с высоким содержанием гена MGMT в опухоли добавление темозоломида не привело к повышению первого БРП (33 vs 33 недель).

Согласно стандартам лечения от 2020 года темозоломид является препаратом выбора в первой линии химиотерапии пациентов с глиобластомой. При этом рекомендуется проведение не менее 6 циклов в 1-й линии химиотерапии. По результатам нашего исследования проведение более интенсивной химиотерапии (свыше 6 циклов) со статистической достоверностью

позволило увеличить медиану первого БРП более, чем в 2 раза ($p=0,00059$, 55 vs 23,5 недель).

Таким образом, в условиях современной стандартной терапии пациентов с первичной глиобластомой (хирургическое удаление опухоли, химиолучевая терапия с последующей адьювантной терапией темозоломидом) длительность первого БРП в первую очередь зависит от молекулярно-генетических характеристик опухоли, а именно – наличия мутации в генах IDH1 и IDH2 и уровня MGMT в опухоли. Для пациентов с заведомо неблагоприятным прогнозом и ожидаемым отсутствием ответа на проводимую химиотерапию (т.е. с высоким уровнем активности гена MGMT) возрастает роль других факторов и в первую очередь – объема циторедукции.

К сожалению, рецидивирование первичной глиобластомы неизбежно. Благодаря уже имеющимся немногочисленным исследованиям стало понятно, что при прогрессировании заболевания опухоль эволюционирует, в том числе, под воздействием лучевой и лекарственной терапии, и становится еще более устойчивой к дальнейшему лечению (Andor N. et al., 2014; Kim H. et al., 2015; Campos V. et al., 2016). В первую очередь перед нейроонкологическим сообществом был поставлен вопрос об изменении активности гена MGMT при рецидивировании глиобластомы после проведения химиотерапии первой линии с целью рассмотрения возможности повторного назначения темозоломида при прогрессировании заболевания. Первоначальная теория о том, что на фоне лечения темозоломидом в опухоли истощаются запасы MGMT, была опровергнута в ряде научных публикаций (Parkinson J.F. et al., 2008; Metellus P. et al., 2009; Christmann M. et al., 2010; Felsberg J. Et al., 2011; Park C.K. et al., 2012; Brandes A.A. et al., 2017; Hudson A.M. et al., 2018; Draaisma K. et al., 2019). По результатам указанных исследований снижение активности гена в рецидивирующей глиобластоме встречается крайне редко – преимущественно она остается на прежнем уровне или увеличивается. В нашем исследовании изменение уровня экспрессии гена MGMT наблюдалось лишь в 35,2% (12/34) случаев, причем чаще регистрировалось его повышение (66,6%, 8/12). Таким

образом, глиобластома «приспосабливается» к воздействию химиотерапии в первой линии, стимулируя выработку новых порций гена, «защищающего ее» от воздействия алкилирующих препаратов. Помимо этого, при рецидивировании глиобластомы появляются новые мутаций, которые изменяют молекулярно-генетический статус в опухоли (Andor N. et al., 2014; Kim H. et al., 2015; Kim J. et al., 2015; Campos B. et al., 2016). По результатам нашего исследования экспрессия генов VEGF, PDGFRA, ERCC1 и TOP2A в большей части случаев изменилась (55,9%, 19/34; 55,5%, 15/27; 57,2% 16/28; 56,7%, 17/30). При разделении пациентов на 2 группы согласно возрасту на момент рецидивирования глиобластомы (первая группа – младше 50 лет, вторая – старше 50 лет) была выявлена интересная закономерность: у исследуемых более молодого возраста экспрессия генов VEGF, PDGFRA и ERCC1 чаще оставалась на прежнем уровне (58,8%, 53,4%, 53,4%, соответственно), снижалась лишь экспрессия гена TOP2A (56,3%); во второй группе уровень экспрессия гена TOP2A в большинстве случаев оставался таким же (64,3%), в то время как содержание в опухоли остальных генов изменялось (70,6%, 66,6%, 69,3%, соответственно). Экспрессия гена β -tubulin III также чаще оставалась на прежнем высоком уровне (60,8%), причем как в группе молодых пациентов (58,8%), так и у пациентов старшего возраста (63,6%). Также отмечена стабильность в наличии или отсутствии мутации в гене IDH1 (96,9%). Только в одном случае при рецидивировании глиобластомы появилась мутация в гене IDH2 (3,1%). Объяснения данного феномена в современной литературе мы не нашли.

По результатам нашего исследования при оценке морфологических изменений после рецидивирования глиобластомы отмечено снижение индекса пролиферативной активности Ki-67 в большей части случаев (52%, 13/25), в тоже время пролиферация сосудов и клеточно-ядерный полиморфизм преимущественно остались выраженными (79,2%, 19/24; 65,4%, 17/26).

Необходимо отметить, что во всех 3 случаях первичной бикомпонентной глиобластомы с примитивным нейрональным компонентом с каждым последующим рецидивом отмечалось значительное сокращение фокусов прими-

тивного нейронального компонента до его исчезновения с увеличением зон некроза. В нескольких научных публикациях при назначении темозоломида пациентам с примитивными нейроэктодермальными опухолями ЦНС наблюдался полный ответ на терапию (Rao R.D. et al., 2001; Terheggen F. et al., 2007; Yamada A. et al. 2013; Мацко М.В. с соавт., 2019). Возможно, темозоломид, в первую очередь, «воздействует» на нейрональный компонент, однако, данный вопрос требует дальнейшего исследования. Но уже можно сделать осторожный вывод, что бикомпонентные глиобластомы требуют другого подхода к химиотерапевтическому лечению.

Анализируя влияние молекулярно-генетических характеристик на медиану второго БРП, также, как и в случаях первичных опухолей, мы не получили зависимости выживаемости пациентов от экспрессии генов VEGF, β -tubulin III, ERCC-1 ($p=0,18$, $p=0,26$ и $p=0,91$, соответственно). На длительность второго БРП не повлияло и наличие альтерации в генах IDH1 и IDH2 ($p=0,93$). Было отмечено, что второй БРП во всей когорте пациентов, как ни парадоксально, был выше при высокой экспрессии гена MGMT (16,5 vs 7 недель). Однако, в нашем исследовании было выявлено влияние на медиану второго БРП уровней экспрессии генов TOP2A и PDGFRA. Длительность второго БРП при низкой экспрессии гена TOP2A оказалась выше, чем при высокой ($p=0,001$, 47,5 vs 3 нед) и при средней ($p=0,06$, 47,5 vs 22,5 недель). Стоит отметить, что по результатам нашего исследования после прогрессирования заболевания ни у одного пациента с низкой экспрессией гена TOP2A не было выявлено продолженного роста опухоли при проведении первого контрольного МРТ головного мозга. Медиана второго БРП при высоком уровне экспрессии гена PDGFRA оказалась ниже, чем при низкой и средней его активности (0 vs 29 и 21 недель $p=0,04$ и $p=0,05$). Таким образом, впервые были выявлены два новых прогностических маркера после рецидивирования глиобластомы – это гены TOP2A и PDGFRA.

При изучении зависимости длительности второго БРП от морфологических характеристик опухоли отмечается увеличение влияния индекса пролиферативной активности, по сравнению с первым БРП ($p=0,05$ vs $p=0,67$).

Медиана выживаемости при низком Ki67% оказалась выше, чем при высоком индексе (27 vs 12 недель).

В нашем исследовании не было выявлено влияния большинства клинических факторов на длительность первого БП, однако при рецидивировании глиобластомы ситуация изменилась. Медиана второго БРП у пациентов в возрасте до 50 лет оказалась выше, чем у пациентов старше 50 лет с тенденцией к статистической значимости ($p=0,07$, 18,5 vs 0 недель). Также было отмечено, что при поражении одной доли головного мозга рецидивирующей опухолью выживаемость пациентов была в 5 раз выше, чем при более распространенном опухолевом процессе ($p=0,09$, 21,4 vs 4 недели). Несмотря на то, что статистической достоверности получено не было, второй БРП при большом объеме опухоли ($>50 \text{ см}^3$) оказался короче более, чем в 2 раза, по сравнению с ее меньшим объемом (6 vs 14 и 13,5 недель). Сохранилось влияние функционального статуса (по шкале Карновского) на длительность безрецидивной выживаемости пациентов. Медиана второго БРП при функциональном статусе после операции более 80 баллов была более, чем на 29 недель выше ($p=0,001$). Полученные результаты подтверждаются в ряде научных исследований (Park J.K. et al., 2010; Audureau E. et al., 2018; Seyve A. et al., 2020; Birzu C. et al., 2021). Также в нашем исследовании был проведен анализ зависимости второго БРП от локализации рецидива. По данным литературы, в 70 – 88% рецидивы глиобластомы возникают в месте удаленной опухоли (в пределах 2 см от края резекции) (Campos B. et al., 2016). Мы получили такие же результаты: локальные рецидивы были зарегистрированы в 85% случаев (29/34). Согласно результатам нашего исследования, медиана второго БРП при локализации опухоли в зоне первоначальной операции была выше более, чем в 5 раз, по сравнению с дистантными рецидивами ($p=0,07$; 16,5 vs 3 недель), а локализация рецидива опухоли совершенно не зависела от радикальности при первой операции. Практически с одинаковой частотой рецидив в месте удаленной опухоли возникал как при проведении тотальной циторедукции при первом хирургическом лечении, так и при нерадикальном удалении новообразования (84,6% vs 85,7%).

Следует признать, что лечение пациентов с рецидивирующей глиобластомой является существенной проблемой в современной нейроонкологии. Пока еще остается открытым вопрос о необходимости выполнения повторного хирургического лечения, единого мнения нет (Oppenlander M.E. et al., 2014; Linde M.E. et al., 2017). Но уже четко сформировалось понимание, что при удалении рецидивирующей глиобластомы объем циторедукции опухоли играет одну из ключевых ролей в выживаемости пациентов (Ringel F. et al., 2015; Lu V.M. et al., 2018). По результатам нашего исследования выявлено влияние степени резекции опухоли на длительность второго БРП: с увеличением объема удаления опухоли повышалась и выживаемость пациентов (тотально – 22 нед, субтотально – 18,5 нед, частично – 10 нед, биопсия – 0 недель). Увеличению радикальности удаления опухоли способствовало применение УЗ-навигации (76,9%).

Целесообразность назначения повторной лучевой терапии, которая дает достаточно поздний эффект, еще пока остается дискуссионной (Кобяков Г.Л. с соавт., 2014; Roy S. et al., 2015; Lee J. Et al., 2018). По мнению многих исследователей повторная ЛТ способствует более длительному безрецидивному периоду (Ryu S. et al., 2014; Taunk N.K. et al., 2016; Zwirner K. et al., 2017; Chun S.J. et al., 2018). В нашем исследовании пациенты, которые не прошли повторную лучевую терапию, имели противопоказания для назначения этого метода лечения (в первую очередь, короткий период от момента окончания последнего сеанса радиотерапии в первой линии поэтому провести адекватный анализ влияния повторной радиотерапии на медиану второго безрецидивного периода было невозможно).

В настоящее время не возникает сомнений в необходимости лекарственной противоопухолевой терапии при прогрессировании заболевания. Однако остается открытым вопрос – какую схему второй линии химиотерапии выбрать? Согласно современным стандартам лечения рекомендуется назначение пациентам схемы бевацизумаб+иринотекан, хотя есть и другие варианты – продолжение лечения темозоломидом или схема PCV. В нашем исследовании химиотерапию при

прогрессировании заболевания получили 27 пациентов, из них 11 продолжили получать темозоломид. Проведение химиотерапии 2 линии препаратом темозоломид объемом более 4 циклов или другими схемами (PCV/CV или бевацизума + иринотекан) со статистической достоверностью увеличило медиану второго БРП ($p=0,001$, 32 vs 0 нед; $p=0,01$, 21,5 vs 0 недель). Важно отметить, что на длительность второго БРП влияла интенсивность терапии. Медиана второго БРП пациентов, которые получили более 4 циклов темозоломида во второй линии, составила 32 недели и оказалась выше, чем в случае менее интенсивной терапии ($p=0,047$, 32 vs 2 недели). Стоит отметить, что ни у одного больного с низкой активностью гена MGMT в материалах от второй операции, продолжившего получать темозоломид во 2 линии химиотерапии, не был зарегистрирован объективный ответ. В современной литературе существуют достаточно исследований, подтверждающих потерю предиктивной роли гена MGMT при прогрессировании заболевания (Brandes A.A. et al., 2006; Sadones J. et al., 2009; Stockhammer F. et al., 2010; Quick J. et al., 2014). Второй БРП при проведении лекарственной терапии по схеме бевацизума + иринотекан оказался на 10,5 недель короче, чем при лечении темозоломидом объемом свыше 4 циклов (32 vs 26 недель), но более чем в 3 раза выше по сравнению с медианой второго БРП при назначении схемы PCV (26 недель vs 8 недель). При этом следует отметить, что только в одном случае (11,1%) при проведении терапии по схеме бевацизума + иринотекан был зарегистрирован продолженный рост, в большей половине случаев наблюдалась стабилизация процесса.

На основании данных нашего исследования при рецидивировании первичной глиобластомы происходит перестройка как ее морфологической картины, так и генетических характеристик с возникновением новых мутаций и изменением экспрессии генов. При прогрессировании заболевания единственные, общепризнанные на сегодняшний день прогностический (мутация в генах IDH1 и IDH2) и предиктивный биомаркеры (ген MGMT) теряют свою значимость, в связи с чем возрастает влияние таких параметров, как возраст пациентов, локализация рецидива глиобластомы и объем поражения головного мозга, а также степень

циторедукции опухоли. Помимо этого, мы выявили два новых прогностических маркера, влияющих на длительность БП при рецидивировании глиобластомы – гены TOP2A и PDGFRA. Ранее в литературе роль этих генов при прогрессировании заболевания не описывалась.

ВЫВОДЫ

1. Тотальная резекция опухоли увеличила медиану первого безрецидивного периода на 4,8 месяцев только в группе пациентов с высоким уровнем экспрессии гена MGMT ($p=0,6$, 33 vs 12 недели). При низкой экспрессии гена MGMT первый безрецидивный период оказался выше на 21 нед. (4,8 мес.) по сравнению с высоким уровнем экспрессии вне зависимости от степени резекции опухоли при условии проведения совместной химиолучевой терапии и химиотерапии препаратом темозоломид в интенсивном режиме (более 6 циклов) ($p=0,05$, 59,5 vs 38,5 недель).

2. При прогрессировании заболевания на медиану второго безрецидивного периода положительно влияет степень резекции опухоли в объеме более 75% ($p\leq 0,05$).

3. Уровень функционального статуса по шкале Карновского более 80 баллов после первой операции коррелировал с увеличением первого безрецидивного периода на 11,5 месяцев ($p=0,001$), а в случае проведения повторного хирургического лечения при прогрессировании заболевания на 6,6 месяцев ($p=0,001$).

4. Медиана второго безрецидивного периода при рецидиве опухоли в зоне первого хирургического вмешательства была выше на 3,7 месяцев по сравнению с дистантными отсевами (16,5 vs 3 нед, $p=0,07$).

5. При рецидиве заболевания наиболее стабильными остаются уровни экспрессии генов MGMT, β -tubulin III и наличие мутации в гене IDH1 (64,8%, 60,8%, 96,9%, соответственно), активность других исследуемых генов (VEGF, PDGFRA, ERCC1 и TOP2A) чаще изменялась (55,9%, 19/34, 55,5%, 15/27, 57,2%, 16/28, 56,7%, 17/30).

6. После рецидива заболевания гены TOP2A и PDGFRA становятся новыми биомаркерами прогноза. При низком уровне экспрессии гена TOP2A и низком/среднем уровне экспрессии гена PDGFRA второй безрецидивный период оказался выше на 5,7 и 2 месяца, соответственно ($p\leq 0,06$, $p\leq 0,05$ соответственно). Прогностическая роль гена IDH1 утрачивается после прогрессии заболевания

($p=0,97$). Ни у одного пациента с низким уровнем экспрессии гена MGMT не был зарегистрирован объективный ответ на химиотерапию темозоломидом во второй линии. Гены VEGF, β -tubulin III и ERCC-1 не оказали влияние на медиану второго безрецидивного периода.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Выбор хирургической тактики у пациентов с первичной глиобластомой должен быть ориентирован, в первую очередь, на сохранение их высокого функционального статуса после оперативного лечения.

2. При низком уровне экспрессии гена MGMT целесообразным представляется проведение совместной химиолучевой терапии. При высоком уровне экспрессии гена MGMT назначение химиотерапии на фоне радиотерапии неоправданно.

3. Целесообразно ориентироваться на такие клинические факторы, как возраст пациента, локализация рецидива опухоли и распространенность процесса при определении прогноза течения второго БП.

4. При прогрессировании заболевания необходимо определять активность активности генов TOP2A и PDGFRA в опухоли, поскольку наличие низкого уровня экспрессии гена TOP2A и низкого или среднего уровня экспрессии гена PDGFRA являются благоприятными факторами прогноза.

5. Хирургическое лечение пациентов с рецидивирующей глиобластомой должно быть ориентировано на максимальную резекцию опухоли (при возможности – радикальное удаление) с сохранением функционального статуса по шкале Карновского более 80 баллов.

6. Проведение второй линии химиотерапии является неотъемлемой частью лечения пациентов после прогрессирования опухолевого процесса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Брюховецкий, А.С. Клеточные технологии в нейроонкологии / А.С. Брюховецкий. – Москва: ИГР, 2011. – С. 183 – 184.
2. Клинические рекомендации. Первичные опухоли центральной нервной системы. Разработчики: Ассоциация онкологов России, Ассоциация нейрохирургов России, Российское общество клинической онкологии. Одобрены научным советом Министерства Здравоохранения РФ / Н.А. Коновалов. - 2020.
3. Кобяков, Г.Л. Лечение рецидива глиобластомы: есть ли успехи? / Г.Л. Кобяков, А.В. Смолин, А.Х. Бекашев и др. // Опухоли головы и шеи. – 2014. – Т. 3. – С. 12 – 21.
4. Мамичев, И.А. Белки микротрубочек β -tubulin: строение, экспрессия и функции в нормальных и опухолевых клетках / И.А. Мамичев, Т.А. Богущ, Е.А. Богущ и др. // Антибиотики и Химиотерапия. – 2018. – Т. 63(7-8). - С. 79 – 90.
5. Мацко, Д.Е. Нейроонкология / Д.Е. Мацко, М.В. Мацко, Е.Н. Имянитов // Практическая онкология. – 2017. – Т. 18(1). – С. 103 – 114.
6. 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 и соавт. // Сибирский онкологический журнал. – 2019. – Т. 18(3). – С. 34 – 44.
7. Мацко, М.В. Супратенториальные нейроэктодермальные опухоли ЦНС у взрослых. Три наблюдения из практики. Обзор литературы / М.В. Мацко, Д.Е. Мацко, Е.Н. Имянитов и др. // Сибирский онкологический журнал. – 2021. – Т. 20 (1). – С. 105 – 114.
8. Мацко, М.В. Изменение уровня экспрессии гена MGMT у пациентов с первичной глиобластомой после рецидива. Влияние клинических характеристик и экспрессии гена MGMT на продолжительность жизни больных / М.В. Мацко, С.С. Скляр, А.Ю. Улитин и соавт. // Сибирский онкологический журнал. – 2021. – Т. 20 (3). – С. 5 – 17.

9. Стрельников, В.В. Молекулярно-генетическая диагностика опухолей головного мозга / В.В. Стрельников, В.В. Землякова, М.В. Шубина. - М.: Медицина, 2011. – Т. 2.
10. Улитин, А.Ю., Мацко ДЕ, Олюшин ВЕ. Нейроэпителиальные опухоли головного мозга / А.Ю. Улитин, Д.Е. Мацко, В.Е. Олюшин. – СПб.: Синтез Бук, 2014.
11. Улитин, А.Ю. эффективность интраоперационного моторного картирования при резекции опухолей центральной извилины / А.Ю. Улитин, М.В. Александров, С.М. Малышев и др. // Российский нейрохирургический журнал имени профессора А.Л. Поленова. – 2017. – Т. 9 (1) – С. 57 – 62.
12. Aaberg-Jessen, C. Overexpression of TIMP-1 and Sensitivity to Topoisomerase Inhibitors in Glioblastoma Cell Lines / C. Aaberg-Jessen, L. Fogh, M.D. Sorensen et al. // Pathology&Oncology Research. – 2019. – Vol. 25(1). – P. 59 – 69.
13. Adeberg, S. A comparison of long-term survivors and short-term survivors with glioblastoma, subventricular zone involvement: a predictive factor for survival? / S. Adeberg, T. Bostel, L. Konig et al. // Radiat Oncol. – 2014. – Vol. 9(95). – P. 1 – 6.
14. Amelot, A. IDH-Mutation Is a Weak Predictor of Long-Term Survival in Glioblastoma Patients / A. Amelot, P.D. Cremoux, V. Quillien et al. // PLoS One. – 2015. – Vol. 10(7).
15. Andor, N. EXPANDS: expanding ploid and allele frequency on nested subpopulations / N. Andor, J.V. Harness, S. Muller et al. // Bioinformatics. – 2014. – Vol. 30. – P. 50 – 60.
16. Aoki, T. Phase II study of ifosfamide, carboplatin, and etoposide in patients with a first recurrence of glioblastoma multiforme / T. Aoki, T. Mizutani, K. Nojima et al. // Neurosurg. – 2010. – Vol. 112(1). – P. 50 – 56.
17. Arakawa, Y. Retrospective Analysis of Bevacizumab in Combination with Ifosfamide, Carboplatin, and Etoposide in Patients with Second Recurrence of Glioblastoma / Y. Arakawa, T. Mizowaki, D. Murata et al. // Neurol Med Chir. – 2013. –Vol. 53. – P. 779 – 785.

18. Audureau, E. Prognostic factors for survival in adult patients with recurrent glioblastoma: A decision-tree-based model / E. Audureau, A. Chivet, R. Ursu et al. // *J. Neurooncol.* – 2018. – Vol. 136. – P. 565 – 576.
19. Barresi, A. Ultra-Mutation in *IDH* Wild-Type Glioblastomas of Patients Younger than 55 Years is Associated with Defective Mismatch Repair, Microsatellite Instability, and Giant Cell Enrichment / A. Barresi, M. Simbolo, A. Mafficini et al. // *Cancers (Basel).* – 2019. – Vol. 11(9). – P. 1279.
20. Batchelor, T.T. Antiangiogenic Therapy for Glioblastoma: Current Status and Future Prospects / T.T. Batchelor, D.A. Reardon, J.F. Groot et al. // *Clin Cancer Res.* – 2014. – Vol. 20(22). – P. 5612 – 5619.
21. Bauchet, L. Assessment and treatment relevance in elderly glioblastoma patients / L. Bauchet, S. Zouaoui, A. Darlix et al. // *Neuro-Oncology.* – 2014. – Vol. 16(11). – P. 1459 – 1468.
22. Beranek, D.T. Distribution of methyl and ethyl adducts following alkylation with monofunctional alkylating agents / D.T. Beranek // *Mutat. Res.* – 1990. – Vol. 231(1). – P. 11 – 30.
23. Birzu, C. Recurrent Glioblastoma: From Molecular Landscape to New Treatment Perspectives / C. Birzu, P. French, M. Caccese et al. // *Cancers (Basel).* – 2021. – Vol. 13(1):47. – P. 1 – 29.
24. Brada, M. Temozolomide Versus Procarbazine, Lomustine, and Vincristine in Recurrent High-Grade Glioma / M. Brada, S. Stenning, R. Gabe et al. // *J Clin Oncol.* – 2010. – Vol. 28(30). – P. 4601– 4608.
25. Brandes, A.A. O(6)-methylguanine DNA-methyltransferase methylation status can change between first surgery for newly diagnosed glioblastoma and second surgery for recurrence: Clinical implications / A.A. Brandes, E. Franceschi, A. Tosoni et al. // *Neuroncol.* – 2010. – Vol. 12. – P. 283 – 288.
26. Brandes, A.A. Role of MGMT Methylation Status at Time of Diagnosis and Recurrence for Patients with Glioblastoma: Clinical Implications / A.A. Brandes, E. Franceschi, A. Paccapelo et al. // *Oncologist.* – 2017. – Vol. 22(4). – P. 432 – 437.

27. Brandes, A.A. Second surgery for recurrent glioblastoma: advantages and pitfalls / A.A. Brandes, M. Bartolotti, E. Franceschi // *Expert rev anticancer ther.* – 2013. – Vol. 13(5). – P. 583 – 587.
28. Brandes, A.A. Temozolomide 3 weeks on and 1 week off as first-line therapy for recurrent glioblastoma: phase II study from gruppo italiano cooperativo di neuro-oncologia (GICNO) / A.A. Brandes, A. Tosoni, G. Cavallo et al. // *Br J Cancer.* – 2006. – Vol. 95(9). – P. 1155 – 1160.
29. Burger, P.C. Cytologic composition of the untreated glioblastoma with implications for evaluation of needle biopsies / P.C. Burger, P. Kleihues // *Cancer.* – 1989. – Vol. 63(10). – P. 2014 – 2023.
30. Campos, B. A comprehensive profile of recurrent glioblastoma / B. Campos, L.R. Olsen, T. Urup et al. // *Oncogene.* – 2016. – Vol. 35(45). – P. 5819 – 5825.
31. Capdevila, L. Neoadjuvant cisplatin plus temozolomide versus standard treatment in patients with unresectable glioblastoma or anaplastic astrocytoma: a differential effect of MGMT methylation / L. Capdevila, S. Cros, J.L. Ramirez et al. // *J Neurooncol.* – 2014. – Vol. 117(1). – P. 77 – 84.
32. Chaichana, K.L. Multi-institutional validation of a preoperative scoring system which predicts survival for patients with glioblastoma / K.L. Chaichana, C. Pendleton, L. Chambless et al. // *J Clin Neurosci.* – 2013. – Vol. 20(10). – P. 1422 – 1426.
33. Chen, D. Better Prognosis of Patients with Glioma Expressing FGF2-Dependent PDGFRA Irrespective of Morphological Diagnosis / D. Chen, A. Persson, Y. Sun et al. // *PLoS ONE.* – 2013. – Vol. 8(4). – e61556.
34. Chen, J.R. Isocitrate Dehydrogenase (IDH)1/2 Mutations as Prognostic Markers in Patients With Glioblastomas / J.R. Chen, Y. Yao, H.Z. Xu et al. // *Medicine (Baltimore).* – 2016. – Vol. 95(9). – e2583.
35. Cheng, P. High Mobility Group Box 1 (HMGB1) Predicts Invasion and Poor Prognosis of Glioblastoma Multiforme via Activating AKT Signaling in an

Autocrine Pathway / P. Cheng, Y. Ma, Z. Gao et al. // *Med Sci Monit.* – 2018. – Vol. 24. – P. 8916–8924.

36. Christmann, M. MGMT activity, promoter methylation and immunohistochemistry of pretreatment and recurrent malignant gliomas: a comparative study on astrocytoma and glioblastoma / M. Christmann, G. Nagel, S. Horn et al. // *Int. J. Cancer.* – 2010. – Vol. 127(9). – P. 2106 – 2118.

37. Choi, B.D. The use of motor mapping to aid resection of eloquent gliomas / B.D. Choi, A.I. Mehta, K.A. Batich, et al. // *Neurosurg Clin N Am.* – 2012 – Vol. 23 – № 2 – P. 215-225.

38. Chun, S.J. Survival gain with re-Op/RT for recurred high-grade gliomas depends upon risk groups / S.J. Chun, S.H. Park, C.K. Park et al. // *Radiother Oncol.* – 2018. – Vol. 128(2). – P. 254 – 259.

39. Dang, L. Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate / L. Dang, D.W. White, S. Gross // *Nature.* – 2009. – Vol. 462(7274). – P. 739 – 744.

40. De Bonis, P. The influence of surgery on recurrence pattern of glioblastoma / P. De Bonis, C. Anile, A. Pompucci et al. // *Clin Neurol Neurosurg.* – 2013. – Vol. 115. – P. 37 – 43.

41. Dimas-gonzález, J. Overexpression of p53 protein is a marker of poor prognosis in Mexican women with breast cancer / J. Dimas-gonzález, V. Maldonadolagunas, J. Díazchávez et al. // *Oncol Rep.* – 2017. – Vol. 37. – P. 3026 – 3036.

42. Draaisma, K. Molecular Evolution of IDH Wild-Type Glioblastomas Treated With Standard of Care Affects Survival and Design of Precision Medicine Trials: A Report From the EORTC 1542 Study / K. Draaisma, A. Chatzipli, M. Taphoorn M. et al. // *J Clin Oncol.* – 2020. – Vol. 38(1). – P. 81 – 99.

43. Esteller, M. Inactivation of the DNA repair gene O6-methylguanine-DNA methyltransferase by promoter hypermethylation is a common event in primary human neoplasia / Esteller M, Hamilton SR, Burger PC et al. // *Cancer Res.* – 1999. – Vol. 59. – P. 793 – 797.

44. Everhard, S. Identification of regions correlating MGMT promoter methylation and gene expression in glioblastomas / S. Everhard, J. Tost J, H. Abdalaoui et al. // *Neuro-oncology*. – 2009. – Vol. 11(4). – P. 348 – 356.
45. Felsberg, J. Promoter methylation and expression of MGMT and the DNA mismatch repair genes MLH1, MSH2, MSH6 and PMS2 in paired primary and recurrent glioblastomas / J. Felsberg, N. Thon, S. Eigenbrod et al. // *Int. J. Cancer*. – 2011. – Vol. 129(3). – P. 659 – 670.
46. Ferguson, S.D. GBM-associated mutations and altered protein expression are more common in young patients / S.D. Ferguson, J. Xiu, S. Weathers et al. // *Oncotarget*. – 2016. – Vol. 7(43). – P. 69466 – 69478.
47. Field, K. Randomized phase 2 study of carboplatin and bevacizumab in recurrent glioblastoma / K. Field, J. Simes, A.K. Nowak et al. // *Neuro Oncol*. – 2015. – Vol. 17(11). – P. 1504 – 1513.
48. Franceschi, E. Temozolomide rechallenge in recurrent glioblastoma: when is it useful? / E. Franceschi, G. Lamberti, M. Visani et al. // *Future Oncol*. – 2018. – Vol. 14(11). – P.1063 – 1069.
49. Friedman, H.S. Bevacizumab along and in combination with irinotecan in recurrent glioblastoma / H.S. Friedman, M.D. Prados, P.Y. Wen et al. // *Journal of Clinical Oncology*. – 2009. – Vol. 27(28). – P. 4733 – 4740.
50. Garett, M. Metabolic characterization of isocitrate dehydrogenase (IDH) mutant and IDH wildtype gliomaspheres uncovers cell type- specific vulnerabilities / M. Garett, J. Sperry, D. Braas et al. // *Cancer Metab*. – 2018. – Vol. 6(4). – P. 1 – 15.
51. Gessler, F. Surgery for glioblastoma in light of molecular markers: impact of resection and MGMT promoter methylation in newly diagnosed IDH-1 wild-type glioblastomas / F. Gessler, J.D. Bernstock, S. Lescher et al. // *Neurosurgery*. – 2019. – Vol. 84(1). – P. 190 – 197.
52. Gilbert, M.R. A randomized trial of bevacizumab for newly diagnosed glioblastoma / M.R. Gilbert, J.J. Dignam, T.S. Armstrong et al. // *N. Engl. J. Med*. – 2014. – Vol. 370(8). – P. 699-708.

53. Glas, M. Long-term survival of patients with glioblastoma treated with radiotherapy and lomustine plus temozolomide / M. Glas, C. Happold, J. Rieger et al. // *J Clin Oncol.* – 2009. – Vol. 27(8). – P. 1257 – 1261.
54. Gutenberg A, Bock HC, Brück W, Doerner L, Mehdorn HM, Roggendorf W, Westphal M, Felsberg J, Reifenberger G, Giese A. MGMT promoter methylation status and prognosis of patients with primary or recurrent glioblastoma treated with carmustine wafers / A. Gutenberg, H.C. Bock, W. Brück et al. // *Br. J. Neurosurg.* – 2013. – Vol. 27(6). – P. 772 – 778.
55. Gutman, D.A. MR imaging predictors of molecular profile and survival: multi-institutional study of the TCGA glioblastoma data set / D.A. Gutman, L.A. Cooper, S.N. Hwang et al. // *Radiology.* – 2013. – Vol. 267(2). – P. 560 – 569.
56. Han, J.Y. ERCC1 Expression-Based Randomized Phase II Study of Gemcitabine/Cisplatin Versus Irinotecan/Cisplatin in Patients with Advanced Non-small Cell Lung Cancer / J.Y. Han, G.K. Lee, K.Y. Lim et al. // *Cancer Res Treat.* – 2017. – Vol. 49(3). – P. 678 – 687.
57. Hasselbalch, B. Prospective evaluation of angiogenic, hypoxic and EGFR-related biomarkers in recurrent glioblastoma multiforme treated with cetuximab, bevacizumab and irinotecan / B. Hasselbalch, J.G. Eriksen, H. Broholm et al. // *APMIS.* – 2010. – Vol. 118(8). – P. 585 – 594.
58. Hassler, M.R. Response to imatinib as a function of target kinase expression in recurrent glioblastoma / M.R. Hassler, M. Vedadinejad, B. Flechl et al. // *SpringerPlus.* – 2014. – Vol. 3(111). – P. 1 – 9.
59. Hegi, M.E. Mgmt gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma / M.E. Hegi, A.C. Diserens, T.N. Gorlia et al. // *Engl. J. Med.* – 2005. – Vol. 352. – P. 997 – 1003.
60. Helseth, R. Overall survival, prognostic factors, and repeated surgery in a consecutive series of 516 patients with glioblastoma multiforme / R. Helseth, E. Helseth, T.B. Johannesen et al. // *Acta Neurol Scand.* – 2010. – Vol. 122. – P. 159 – 167.

61. Hudson, A.M. Glioblastoma Recurrence Correlates with Increased APE1 and Polarization Toward an Immuno-Suppressive Microenvironment / A.M. Hudson, N.R. Parker, P. Khong et al. // *Frontiers in Oncology*. – 2018. – Vol. 8(314). – P. 1 – 10.
62. Iqbal, S. Randomized, Phase II Study Prospectively Evaluating Treatment of Metastatic Esophageal, Gastric, or Gastroesophageal Cancer by Gene Expression of *ERCC1*: SWOG S1201 / S. Iqbal, S. McDonough, H.J. Lenz et al. // *J Clin Oncol*. – 2020. – Vol. 38(5). – P. 472 – 479.
63. Joseph, N.M. Diagnostic implications of IDH1-R132H and OLIG2 expression patterns in rare and challenging glioblastoma variants / N.M. Joseph, J. Phillips, S. Dahiya et al. // *Modern Pathology*. – 2013. – Vol. 26. – P. 315 – 326.
64. Jung, T.Y. Changes of the O6-methylguanine-DNA methyltransferase promoter methylation and MGMT protein expression after adjuvant treatment in glioblastoma / T.Y. Jung, S. Jung, K.S. Moon et al. // *Oncol Rep*. – 2010. – Vol. 23(5). – P. 1269 – 1276.
65. Kaina, B. DNA repair in personalized brain cancer therapy with temozolomide and nitrosoureas / B. Kaina, M. Christmann // *DNA Repair (Amst)*. – 2019. – Vol. 78. – P. 128 – 141.
66. Katsetos, C.D. Aberrant localization of the neuronal class III beta-tubulin in astrocytomas / C.D. Katsetos, L. Del Valle, J.F. Geddes et al. // *Arch Pathol Lab Med*. – 2001. – Vol. 125(5). – P. 613 – 624.
67. Kenig, S. Topoisomerase II β mediates the resistance of glioblastoma stem cells to replication stress-inducing drugs / S. Kenig, V. Faoro, E. Bourkoula et al. // *Cancer Cell International*. – 2016. – Vol. 16. – P. 58.
68. Kim, H. Whole-genome and multisector exome sequencing of primary and post-treatment glioblastoma reveals patterns of tumor evolution / H. Kim, S. Zheng, S.S. Amini et al. // *Genome Res*. – 2015. – Vol. 25. – P. 316 – 327.
69. Kim, J. Spatiotemporal Evolution of the Primary Glioblastoma Genome / J. Kim, I.H. Lee, H.J. Cho et al. // *Cancer Cell*. – 2015. – Vol. 28. – P. 318 – 328.

70. Kim, M. Bevacizumab and Glioblastoma. Past, Present, and Future Directions / M.M. Kim, Y. Umemura, D. Leung // *Cancer J.* 2018. – Vol. 24 (4). – P. 180–186.
71. Kim, Y.J. Optimal extent of resection for glioblastoma according to site, extension, and size: a population-based study in the temozolomide era / Y.J. Kim, D.J. Lee, C.K. Park et al. // *Neurosurg Rev.* – 2019. – Vol. 42(4). – P. 937 – 950.
72. Kreth, F-W. Gross total but not incomplete resection of glioblastoma prolongs survival in the era of radiochemotherapy / F-W. Kreth, N. Thon, M. Simon et al. // *Annals of Oncology.* – 2013. – Vol. 24(12). – P. 3117 – 3123.
73. Kreth, S. O6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) mRNA expression predicts outcome in malignant glioma independent of MGMT promoter methylation / S. Kreth, N. Thon, S. Eigenbrod et al. // *PLoS ONE.* – 2011. – Vol. 6(2). – e17156.
74. Lee, A.P.S. Combination therapy for glioblastoma multiforme with primitive neuroectodermal tumor components: Case series / A.P.S. Lee, J. Brewer, M. Back et al. // *J Clin Oncol.* – 2012. – Vol. 30. – P. 12507.
75. Lee, J. Hypofractionated Re-irradiation after Maximal Surgical Resection for Recurrent Glioblastoma: Therapeutic Adequacy and Its Prognosticators of Survival / J. Lee, S.S. Ahh, J.H. Chang et al. // *Yonsei Med J.* – 2018. – Vol. 59(2). – P. 194 – 201.
76. Li, Y. Bevacizumab in Recurrent Glioma: Patterns of Treatment Failure and Implications / Y. Li, S. Ali, J. Clarke et al. // *Brain Tumor Res Treat.* – 2017. – Vol. 5(1). – P. 1 – 9.
- 77.
78. Linde, M.E. Treatment outcome of patients with recurrent glioblastoma multiforme: a retrospective multicenter analysis / M.E. Linde, C.G. Brahm, P.C. de Witt Hame et al. // *J Neurooncol.* – 2017. – Vol. 135(1). – P. 183 – 192.
79. Liu, J. Functional characterization of a novel transcript of ERCC1 in chemotherapy resistance of ovarian cancer / J. Liu, L. Zhang, P. Mao, G. Jiang et al. // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8(49). – P. 85759 – 85771.

80. Louis, D.N. WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System, Revised 4th edition / D.N. Louis, H. Ohgaki, O.D. Wiestler et al. – Lyon: International Agency Research Cancer. – 2016. – P. 28 – 45.
81. Lu, V.M. The Survival Effect of Repeat Surgery at Glioblastoma Recurrence and its Trend: A Systematic Review and Meta-Analysis / V.M. Lu, T.R. Jue, K.L. McDonald et al. // *World Neurosurg.* – 2018. – Vol. 115. – P. 453 – 459.
82. Lutterbach, J. Is older age associated with a worse prognosis due to different patterns of care? A long-term study of 1346 patients with glioblastomas or brain metastases / J. Lutterbach, S. Bartelt, F. Momm et al. // *Cancer.* – 2005. – Vol. 103(6). – P. 1234 – 1244.
83. Lutz, H. NMDA Receptor Signaling Mediates cFos Expression via Top2 β -Induced DSBs in Glioblastoma Cells / H. Lutz, T.A. Nguyen, J. Joswig et al. // *Cancers (Basel).* – 2019. – Vol. 11(3). – E. 306.
84. Mandl, E.S. Repeated surgery for glioblastoma multiforme: only in combination with other salvage therapy / E.S. Mandl, C.M. Dirven, D.R. Buis et al. // *Surg Neurol.* – 2008. – Vol. 69(5). – P. 506 – 509.
85. Marchi, F. The Impact of Surgery in IDH 1 Wild Type Glioblastoma in Relation With the MGMT Deregulation / F. Marchi, N. Sahnane N, R. Cerutti et al. // *Frontiers in Oncology.* – 2020. – Vol. 9(1569). – P. 1 – 9.
86. Martinez, R. Independent molecular development of metachronous glioblastomas with extended intervening recurrence-free interval / R. Martinez, H.K. Schackert, S. von Kannen et al. // *Brain Pathol.* – 2003. – Vol. 13. – 598 – 607.
87. Martinho, O. Expression, mutation and copy number analysis of platelet-derived growth factor receptor A (PDGFRA) and its ligand PDGFA in gliomas / O. Martinho, A. Longatto-Filho, M.B.K. Lambros et al. // *British Journal of Cancer.* – 2009. – Vol. 101. – P. 973 – 982.
88. Marucci, G. Pathological spectrum in recurrences of glioblastoma multiforme / G. Marucci, P.V. Fabbri, L. Morandi L et al. // *Pathologica.* – 2015. – Vol. 107(1). – P. 1–8.

89. Matsko, M.V. Predictive role of O⁶-methylguanine DNA methyltransferase status for the treatment of brain tumors / M.V. Matsko, E.N. Imaynitov // *Epigenetics Territory and Cancer*. – 2015. – Vol. 251 – 279.
90. McLendon, R. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways / R. McLendon, A. Friedman, D. Bigner et al. // *Nature*. – 2008. – Vol. 455(7216). – P. 1061 – 1068.
91. Metellus, P. Prognostic impact of O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase silencing in patients with recurrent glioblastoma multiforme who undergo surgery and carmustine wafer implantation: a prospective patient cohort / P. Metellus, B. Coulibaly, I. Nanni et al. // *Cancer*. – 2009. – Vol. 115. – P. 4783 – 4794.
92. Mitiushkina, N.V. Detection of EGFR mutations and EML4-ALK rearrangements in lung adenocarcinomas using archived cytological slides / N.V. Mitiushkina, A.G. Iyevleva, A.N. Poltoratskiy et al. // *Cancer Cytopathol*. – 2013. – Vol. 121. – P. 370 – 376.
93. Moskowitz, S.I. Role of MIB1 in predicting survival in patients with glioblastomas / S.I. Moskowitz, T. Jin, R.A. Prayson // *J Neurooncol*. – 2006. – Vol. 76(2). – P. 193 – 200.
94. Noroxe, D.S. Hallmarks of glioblastoma: a systematic review / D.S. Noroxe, H.S. Poulsen, U. Lassen // *ESMO Open*. – 2016. – Vol. 1(6).
95. O'Regan, C.J. Temporal stability of MGMT promoter methylation in glioblastoma patients undergoing STUPP protocol / C.J. O'Regan, H. Kearney, A. Beausang et al. // *J. Neurooncol*. – 2018. – Vol. 137(2). – P. 233 – 240.
96. Olsson, M. Repair of alkylated DNA in *Escherichia coli*. Methyl group transfer from O⁶-methylguanine to a protein cysteine residue / M. Olsson, T. Lindahl // *J Biol Chem*. – 1980. – Vol. 255. – P. 10569 – 10571.
97. Oppenlander, M.E. An extent of resection threshold for recurrent glioblastoma and its risk for neurological morbidity / M.E. Oppenlander, A.B. Wolf, L.A. Snyder LA et al. // *J Neurosurg*. – 2014. – Vol. 120(4). – P. 846 – 853.

98. Ostrom, Q.T. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2012–2016 / Q.T. Ostrom, C. Cioffi, H. Gittleman et al. // *Neuro-oncol.* – 2019. – Vol. 21 (5). – P. 1 – 100.
99. Paldor, I. Frontal glioblastoma multiforme may be biologically distinct from non-frontal and multilobar tumors / I. Paldor, F.C. Pearce, K.J. Drummond et al. // *J Clin Neurosci.* – 2016. – Vol. 34. – P. 128-132.
100. Park, C.K. The changes in MGMT promoter methylation status in initial and recurrent glioblastomas / C.K. Park, J.E. Kim, J.Y. Kim et al. // *Transl. Oncol.* – 2012. – Vol. 5. – P. 393 – 397.
101. Park, J.K. Scale to predict survival after surgery for recurrent glioblastoma multiforme / J.K. Park, T. Hodges, L. Arko et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2010. – Vol. 28. – P. 3838 – 3843.
102. Parkinson, J.F. Variation of O(6)-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) promoter methylation in serial samples in glioblastoma / J.F. Parkinson, H.R. Wheeler, A. Clarkson et al. // *J Neurooncol.* – 2008. – Vol. 87. – P. 71 – 78.
103. Parson, D.W. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme / D.W. Parson, S. Jones, X. Zhang et al. // *Science.* – 2008. – Vol. 26 (321). – P. 1807 – 1812.
104. Perry, A. Malignant gliomas with primitive neuroectodermal tumor-like components: A clinicopathologic and genetic study of 53 cases / A. Perry, C.R. Miller, M. Gujrati // *Brain Pathol.* – 2009. – Vol. 19. – P. 81 – 90.
105. Pierallini, A. Radiological assessment of necrosis in glioblastoma: variability and prognostic value / A. Pierallini, M. Bonamini, P. Pantano et al. // *Neuroradiology.* – 1998. – Vol. 40(3). – P. 150 – 153.
106. Plate, K.H. Molecular mechanisms of development and tumor angiogenesis / K.H. Plate, G. Breier, W. Risau // *Brain Pathology.* – 1994. – Vol. 4(3) – P. 207 – 218.
107. Prelaj, A. Therapeutic approach in glioblastoma multiforme with primitive neuroectodermal tumor components: Case report and review of the literature / A. Prelaj, S.E. Rebuzzi, G. Caffarena et al. // *Oncol Lett.* – 2018. – Vol. 15(5). – P. 6641 – 6647.

108. Qazi, M.A. A novel stem cell culture model of recurrent glioblastoma / M.A. Qazi, P. Vora, C. Venugopal et al. // *J Neurooncol.* – 2016. – Vol. 126(1). – P. 57 – 67.
109. Qian, T. Association between common polymorphisms in ERCC gene and glioma risk. A meta-analysis of 15 studies / T. Qian, B. Zhang, C. Quin et al. // *Medicine.* – 2017. – Vol. 96(20). – e6832.
110. Quick, J. Benefit of tumor resection for recurrent glioblastoma / J. Quick, F. Gessler, S. Dutzmann et al. // *J Neurooncol.* – 2014. – Vol. 117(2). – P. 365 – 372.
111. Quillien, V. Outcome-based determination of optimal pyrosequencing assay for MGMT methylation detection in glioblastoma patients / V. Quillien, A. Lavenu, M. Sanson et al. // *Journal of Neurooncology.* – 2014. – Vol. 116(3). – P. 487 – 496.
112. Rahman, R. Incidence, risk factors, and reasons for hospitalization among glioblastoma patients receiving chemoradiation / R. Rahman, P.J. Catalano, D.A. Reardon et al. // *J Neurooncol.* – 2015. – Vol. 124. – P. 137 – 146.
113. Rao, R.D. Late recurrence of a primitive neuro-ectodermal tumor / R.D. Rao, H.I. Robins, M.P. Mehta // *Oncology.* – 2001. – Vol. 61(3). – P. 189 – 191.
114. Reardon, D.A. Metronomic chemotherapy with daily, oral etoposide plus bevacizumab for recurrent malignant glioma: A phase II study / D.A. Reardon, A. Desjardins, J.J. Vredenburgh et al. // *Br J Cancer.* – 2009. – Vol. 101(12). – P. 1986 – 1994.
115. Reis, R.M. Second primary glioblastoma / R.M. Reis, R. Herva, S. Brandner et al. // *J Neuropathol Exp Neurol.* – 2001. – Vol. 60. – P. 208 – 215.
116. Ringel, F. Clinical benefit from resection of recurrent glioblastomas: results of a multicenter study including 503 patients with recurrent glioblastomas undergoing surgical resection / F. Ringel, H. Pape, M. Sabel et al. // *Neuro-Oncology.* – 2016. – Vol. 18(1). – P. 96 – 104.
117. Roux, A. MRI Atlas of IDH Wild-Type Supratentorial Glioblastoma: Probabilistic Maps of Phenotype, Management, and Outcomes / A. Roux, P. Roca, M. Edjlali et al. // *Radiology.* – 2019. – Vol. 293(3). – P. 633 – 643.

118. Roy, S. Recurrent Glioblastoma: Where we stand / S. Roy, D. Lahiri, T. Maji et al. // *South Asian J Cancer*. – 2015. – Vol. 4(4). – P.163 – 173.
119. Ryu, S. The role of radiotherapy in the management of progressive glioblastoma / S. Ryu, J.M. Buatti, A. Morris et al. // *J Neurooncol*. – 2014. – Vol. 118. – P. 489 – 499.
120. Sadones, J. MGMT promoter hypermethylation correlates with a survival benefit from temozolomide in patients with recurrent anaplastic astrocytoma but not glioblastoma / J. Sadones, A. Michotte, C. Chaskis et al. // *Eur. J. Cancer*. – 2009. – Vol. 45(1). – P. 146 – 153.
121. Samson, L. A new pathway for DNA repair in *Escherichia coli* / L. Samson, J. Cairns // *Nature*. – 1977. – Vol. 267. – P. 281 – 283.
122. Sarmiento, J.M. Do Long-Term Survivor Primary Glioblastoma Patients Harbor IDH1 Mutations? / J.M. Sarmiento, D. Mukherjee, K.L. Black et al. // *J Neurol Surg A Cent Eur Neurosurg*. – 2016. – Vol. 77(3). – P. 195–200.
123. Sathornsumetee, S. Tumor angiogenic and hypoxic profiles predict radiographic response and survival in malignant astrocytoma patients treated with bevacizumab and irinotecan / S. Sathornsumetee, Y. Cao, J.E. Marcello et al. // *J Clin Oncol*. – 2008. – Vol. 26(2). – P. 271 – 278.
124. Scott, J.N. Which glioblastoma multiforme patient will become a long-term survivor? A population-based study / J.N. Scott, N.B. Rewcastle, P.M. Brasher et al. // *Ann Neurol*. – 1999. – Vol. 46(2). – 183 – 188.
125. Seyve, A. Initial surgical resection and long time to occurrence from initial diagnosis are independent prognostic factors in resected recurrent IDH wild-type glioblastoma / A. Seyve, F. Lozano-Sanchez, A. Thomas et al. // *Clin. Neurol. Neurosurg*. – 2020. – Vol. 196. – P. 1 – 6.
126. Shah, N. Comprehensive analysis of MGMT promoter methylation: correlation with MGMT expression and clinical response in GBM / N. Shah, B. Lin, Z. Sibenaller et al. // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 6(1). – e16146.

127. Sjostrom, S. Genetic variations in VEGF and VEGFR2 and glioblastoma outcome / S. Sjostrom, C. Wibom, U. Andersson et al. // *J Neurooncol.* – 2011. – Vol. 104. – P. 523 – 527.
128. Stratmann, A. Cell type-specific expression of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 suggests a role in glioblastoma angiogenesis / A. Stratmann, W. Risau, K.H. Plate // *Am. J. Pathol.* – 1998. – Vol. 153(5). – P. 1459 – 1466.
129. Stockhammer, F. Continuous low-dose temozolomide and celecoxib in recurrent glioblastoma / F. Stockhammer, M. Misch, A. Koch et al. // *J Neurooncol.* – 2010. – 100(3). – P. 407 – 415.
130. Stoyanov, G.S. Correlation Between Ki-67 Index, World Health Organization Grade and Patient Survival in Glial Tumors With Astrocytic Differentiation / G.S. Stoyanov, D.L. Dzhenkov, M. Kitanova et al. // *Cureus.* – 2017. – Vol. 9(6). – P. 1396.
131. Stummer, W. ALA-Glioma Study Group. Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial / W. Stummer, U. Pichlmeier, T. Meinel et al. // *Lancet Oncol.* – 2006. – Vol. 7(5). – P. 392–401.
132. Stupp, R. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma / R. Stupp, W.P. Mason, M.J. van den Bent et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2005. – Vol. 352. – P. 987 – 996.
133. Sunwoo, L. Correlation of Apparent Diffusion Coefficient Values Measured by Diffusion MRI and MGMT Promoter Methylation Semiquantitatively Analyzed With MS-MLPA in Patients With Glioblastoma Multiforme / L. Sunwoo, S.H. Choi, C.K. Park et al. // *Journal of magnetic resonance imaging.* – 2013. – Vol. 37(2). – P. 351 – 358.
134. Tamura, K. Expansion of CD133-positive glioma cells in recurrent de novo glioblastomas after radiotherapy and chemotherapy / K. Tamura, M. Aoyagi, N. Ando et al. // *J Neurosurg.* – 2013. – Vol. 119. – P. 1145 – 1155.

135. Tamura, M. Strategy of surgical resection for glioma based on intraoperative functional mapping and monitoring / M. Tamura, Y. Muragaki, T. Saito, et al. // *Neurol Med Chir (Tokyo)*. – 2015 – Vol. 55 – № 5 – P. 383-398.
136. Tamura, R. Histopathological investigation of glioblastomas resected under bevacizumab treatment / R. Tamura, T. Tanaka, K. Miyake et al. // *Oncotarget*. – 2016. – Vol. 7(32). – P. 52423 – 52435.
137. Taunk, N.K. External beam re-irradiation, combination chemoradiotherapy, and particle therapy for the treatment of recurrent glioblastoma / N.K. Taunk, F.Y. Moraes, F.E. Escorcia et al. // *Expert Rev Anticancer Ther*. – 2016. – Vol. 16(3). – P. 347 – 358.
138. Terheggen, F. Local recurrence and distant metastasis of supratentorial primitive neuro-ectodermal tumor in an adult patient successfully treated with intensive induction chemotherapy and maintenance temozolomide / F. Terheggen, D. Troost, C.B. Majoie et al. // *J Neurooncol*. – 2007. – Vol. 82(1). – P.113 – 116.
139. Tykocki, T. Ten-year survival in glioblastoma. A systematic review / T. Tykocki, M. Eltayeb // *J Clin Neurosci*. – 2018. – Vol. 54. – P. 7 – 13.
140. Van den Bent, M.J. Changes in the EGFR amplification and EGFRvIII expression between paired primary and recurrent glioblastomas / M.J. Van den Bent, Y. Gao, M. Kerkhof et al. // *Neuro Oncol*. – 2015. – Vol. 17. – P. 935 – 941.
141. Veganzones, S. Genetic alterations of IDH1 and Vegf in brain tumors / S. Veganzones, V. Orden, L. Requejo et al. // *Brain and Behavior*. – 2017. – Vol. 7(9). – e00718.
142. Viola, F. Phase II trial of high dose imatinib in recurrent glioblastoma multiforme (GBM) with platelet derived growth factor receptor (PDGFR) expression / F. Viola, A. Katz, A. Arantes et al. // *Journal of Clinical Oncology*. – 2007. – Vol. 25. – P. 2056.
143. Vredenburgh, J.J. Bevacizumab plus irinotecan in recurrent glioblastoma multiforme / J.J. Vredenburgh, A. Desjardins, J.E. Herndon et al. // *Journal of Clinical Oncology*. – 2007. – Vol. 25(30). – P. 4722 – 4729.

144. Wang, N. New Directions in Anti-Angiogenic Therapy for Glioblastoma / N. Wang, R.K. Jain, T.T. Batchelor // *Neurotherapeutics*. – 2017. – Vol. 14(2). – P. 321 – 332.
145. Wang, T.L. Association of topoisomerase II (TOP2A) and dual-specificity phosphatase 6 (DUSP6) single nucleotide polymorphisms with radiation treatment response and prognosis of lung cancer in Han Chinese / T.L. Wang, Y.W. Ren, H.T. Wang et al. // *Med Sci Monit*. – 2017. – Vol. 23. – P. 984 – 993.
146. Wang, Y. Continuous dose-intense temozolomide and cisplatin in recurrent glioblastoma patients / Y. Wang, X. Kong, Y. Guo et al. // *Medicine (Baltimore)*. – 2017. – Vol. 6(10). – e6261.
147. Weller, M. MGMT Promoter Methylation Is a Strong Prognostic Biomarker for Benefit from Dose-Intensified Temozolomide Rechallenge in Progressive Glioblastoma: The DIRECTOR Trial / M. Weller, G. Tabatabai, B. Kästner et al. // *Clin. Cancer Res*. – 2015. – Vol. 21(9). – P. 2057-2064.
148. Weller, M. Standards of care for treatment of recurrent glioblastoma-are we there yet? / M. Weller, T. Cloughesy, J.R. Perry et al. // *Neuro-oncology*. – 2013. – Vol. 15(1). – P. 4 – 27.
149. Wick, A. Glioblastoma in elderly patients: solid conclusions built on shifting sand? / A. Wick, T. Kessler, A.E. Elia et al. // *Neuro-Oncology*. – 2018. – Vol. 20(2). – P. 174 – 183.
150. Xin, Y. Association of ERCC1 C8092A and ERCC2 Lys751Gln Polymorphisms with the Risk of Glioma: A Meta- Analysis / Y. Xin, S. Hao, J. Lu et al. // *PLoS ONE*. – 2014. – Vol. 9(4). – e95966.
151. Yamada, A. Efficacy of temozolomide in a central nervous system relapse of neuroblastoma with O6-methylguanine methyltransferase (MGMT) promoter methylation / A. Yamada, H. Moritake, H. Shimonodan et al. // *J Pediatr Hematol Oncol*. – 2013. – Vol. 35(1). – P. 38 – 41.
152. Yan, H. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas / H. Yan, D.W. Parson, G. Jin et al. // *N Engl J Med*. – 2009. – Vol. 19 (360). – P. 765 – 773.

153. Yang, F.D. Expression of topoisomerase II alpha in human colorectal carcinoma and its significance / F.D. Yang, Z.L. Jia // *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.* – 2010. – Vol. 30. – P. 1959-1961, 1964.
154. Young, J.S. Management of glioblastoma in elderly patients / J.S. Young, S.J. Chmura, D.A. Wainwright et al. // *J Neurol Sci.* – 2017. – Vol. 15(380). – P. 250 – 255.
155. Zeng, A. IDH1/2 mutation status combined with Ki-67 labeling index defines distinct prognostic groups in glioma / A. Zeng, Q. Hu, Y. Liu et al. // *Oncotarget.* – 2015. – Vol. 6(30). – P. 30232 – 30238.
156. Zhang, C. Temozolomide for adult brain stem glioblastoma: case report of a long-term survivor / C. Zhang C, Y. Yao, Y. Wang et al. // *Int J Neurosci.* – 2010. – Vol. 120(12). – P. 787 – 791.
157. Zhang, W. Prognostic Significance of TNFR-Associated Factor 1 and 2 (TRAF1 and TRAF2) in Glioblastoma / W. Zhang, Y. Sun, L. Liu et al. // *Med Sci Monit.* – 2017. – Vol. 23. – P. 4506–4512.
158. Zhou, T. Over-expression of TOP2A as a prognostic biomarker in patients with glioma / T. Zhou T, Y. Wang, D. Qian D et al. // *Int J Clin Exp Pathol.* – 2018. – Vol. 11(3). – P. 1228 – 1237.
159. Zhou, Z. Overexpression of topoisomerase 2-alpha confers a poor prognosis in pancreatic adenocarcinoma identified by co-expression analysis / Z. Zhou, S. Liu, M. Zhang, R. Zhou et al. // *Dig Dis Sci.* – 2017. – Vol. 62. – P. 2790 – 2800.
160. Zwirner, K. Prognostic parameters and outcome after re-irradiation for progressive glioblastoma / Zwirner K, Paulsen F, Schittenhelm J et al. // *Acta Neurol Scand.* – 2017. – Vol. 136(3). – P. 239 – 245.

Список пациентов

№ п/п	Фамилия	№ и/б	№ п/п	Фамилия	№ и/б
1	А-ев М.З.	1279	26	П-ва М.В.	1298
2	А-ко В.И.	6781	27	П-ов В.С.	5770
3	А-ко В.И.	350	28	Р-ич О.П.	30112
4	Б-ов М.В.	688	29	С-ва Н.В.	14334
5	В-ва С.А.	21008	30	С-ва Н.В.	33700
6	Д-ов П.М.	12349	31	С-ва Г.И.	5690
7	З-ая А.Г.	2588	32	С-ця Т.В.	13645
8	З-ая Л.Н.	618	33	С-ик Г.В.	2123
9	З-ев С.К.	7475	34	С-ва Р.Т.	7892
10	И-ов Д.В.	20471	35	Т-ев Г.А.	6781
11	К-кая Н.Ю.	270	36	Т-ин В.Н.	20410
12	К-ая Н.Ю.	34612	37	Ш-на О.Н.	25656
13	К-ва В.П.	19876	38	Ш-на О.Н.	5105
14	К-рь И.А.	8195	39	Щ-ин С.А.	12561
15	Л-ва И.А.	6287	40	Г-ин А.С.	5599
16	Л-ак А.Г.	4679			
17	Л-ак А.Г.	24487			
18	Л-ая О.Н.	7128			
19	Л-ва М.Г.	5078			
20	М-ев В.А.	2928			
21	М-ев В.А.	20166			
22	М-ов А.М.	1401			
23	М-ва Т.Р.	11475			
24	Н-ов А.В.	31001			
25	О-ва Т.А.	12428			

УТВЕРЖДАЮ
Главный врач ГБУЗ
«Ленинградская областная
клиническая больница»
д.м.н. проф. Т.В. Тюрина.



АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Название предложения для внедрения: повышение эффективности лечения пациентов с первичной глиобластомой и после рецидивирования на основе анализа клинических параметров и молекулярно-генетического профиля опухоли

Автор предложения: Склиар Софья Сергеевна - младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории нейроонкологии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» МЗ РФ.

Название темы исследования, при выполнении которого сделано предложение:

«Влияние клинических и молекулярно-генетических характеристик на продолжительность жизни больных с первичной глиобластомой до и после рецидива».

Предложение усовершенствует алгоритм лечения пациентов с первичной глиобластомой до и после рецидива.

Форма внедрения: предложение реализовано в сфере практического здравоохранения, медицинской науки в виде докладов, лекций и обучения специалистов.

Уровень внедрения: местный.

Наименование учреждения и его подразделения, где данное предложение используется: ГБУЗ ЛОКБ, нейрохирургическое отделение

Краткое заключение об эффективности, пользе предложения: применение результатов проведенного исследования позволяет повысить эффективность лечения пациентов с первичной глиобластомой до и после рецидива.

Заместитель главного врача по хирургии,
Заведующий нейрохирургическим отделением

к.м.н. В.М. Драгун

УТВЕРЖДАЮ

директор ГБУЗ «СПб КНпЦСВМП (о)»

Д.м.н., проф., заслуженный врач РФ

В.М. Моисеенко



«12» августа 2021 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ результатов научно-исследовательской работы

Название предложения для внедрения: улучшение результатов лечения пациентов с первичной глиобластомой до и после рецидива на основе анализа особенностей клинической картины и молекулярно-генетического профиля опухоли.

Автор предложения: Складар Софья Сергеевна - младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории нейроонкологии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» МЗ РФ.

Название темы исследования, при выполнении которого сделано предложение:
«Влияние клинических и молекулярно-генетических характеристик на продолжительность жизни больных с первичной глиобластомой до и после рецидива».

Предложение усовершенствует алгоритм лечения пациентов с первичной и рецидивирующей глиобластомой.

Форма внедрения: предложение реализовано в сфере практического здравоохранения, медицинской науки в виде докладов и обучения специалистов.

Уровень внедрения: местный.

Наименование учреждения и его подразделения, где данное предложение используется: ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)», нейрохирургическое отделение.

Краткое заключение об эффективности, пользе предложения: применение результатов проведенного исследования позволяет повысить эффективность лечения пациентов с первичной глиобластомой до и после рецидива.

Заместитель директора по медицинской части
(по хирургической помощи)
ГБУЗ «СПб КНпЦСВМП (о)»

к.м.н. В.В. Егоренков

Заведующий нейрохирургическим отделением
ГБУЗ «СПб КНпЦСВМП (о)»

А.В. Семенов

УТВЕРЖДАЮ
Директор «РНХИ им. проф. А.Л. Поленова»
(филиал ФГБУ «НМИЦ имени В.А. Алмазова»
д.м.н. К.А. Самочерных



«16» 08 2021 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ результатов научно-исследовательской работы

Название предложения для внедрения: улучшение результатов лечения пациентов с первичной глиобластомой до и после рецидива на основе анализа особенностей клинической картины и молекулярно-генетического профиля опухоли.

Автор предложения: Скляр Софья Сергеевна - младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории нейроонкологии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» МЗ РФ.

Название темы исследования, при выполнении которого сделано предложение:

«Влияние клинических и молекулярно-генетических характеристик на продолжительность жизни больных с первичной глиобластомой до и после рецидива».

Предложение усовершенствует алгоритм лечения пациентов с первичной и рецидивирующей глиобластомой.

Форма внедрения: предложение реализовано в сфере практического здравоохранения, медицинской науки в виде докладов и обучения специалистов._

Уровень внедрения: местный._

Наименование учреждения и его подразделения, где данное предложение используется: «РНХИ им. проф. А.Л. Поленова (филиал ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»), 4 нейрохирургическое отделение.

Краткое заключение об эффективности, пользе предложения: применение результатов проведенного исследования позволяет повысить эффективность лечения пациентов с первичной глиобластомой до и после рецидива.

Заведующий 4 нейрохирургическим отделением
РНХИ им. проф. А.Л. Поленова»
(филиал ФГБУ «НМИЦ имени В.А. Алмазова»)

к.м.н. Б.И. Сафаров