

ФГБОУ «Санкт-Петербургский государственный университет»

Направление «Медицина»

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

На тему: Внутриопухолевая морфологическая и молекулярно-генетическая  
гетерогенность в астроцитомах разной степени злокачественности

Выполнила: студентка 15.СО5 группы

Морозова Анастасия Сергеевна

Научный руководитель:

д.м.н. Мацко Марина Витальевна

Санкт-Петербург

2021

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений .....	3
Введение.....	5
Глава 1. Обзор литературы.....	7
1.1 Эпидемиология астроцитарных новообразований .....	7
1.2 Классификация астроцитарных новообразований .....	8
1.3 Диагностика астроцитарных новообразований .....	9
1.4 Молекулярно-генетические характеристики астроцитарных опухолей ...	14
1.5 Внутриопухолевая гетерогенность.....	19
1.6 Внутриопухолевая гетерогенность астроцитарных новообразований .....	21
Глава 2. Материалы и методы.....	28
Глава 3. Результаты исследования .....	31
Заключение .....	39
Выводы .....	41
Список литературы .....	42
Приложение .....	58
Приложение 1 .....	58
Приложение 2 .....	60

## **Список сокращений**

АА – анапластическая астроцитома (grade III)

ВВ – внеклеточные везикулы

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ГБ – глиобластома (grade IV)

ДА – диффузная астроцитома (grade II)

ИГХ – иммуногистохимическое исследование

ОДГ – олигодендроглиома

ОСК – опухолевые стволовые клетки (ОСК)

ALT – альтернативное удлинение теломер

BRAF V600E – онкоген, при активирующей мутации заменяет глутамат на валин в кодоне 600

DLGNT – диффузная лептоменингеальная глионейрональная опухоль

EGFR – рецептор эпидермального фактора роста

ERCC1 – фермент комплиментарной эксцизионной репарации ДНК (Excision Repair Cross-Complementing gene 1)

FISH – флуоресцентная гибридизация in situ

GFAP – глиальный фибриллярный кислый белок

IDH – изоцитрат дегидрогеназа (isocitrate dehydrogenase)

MAPK – митоген-активируемая протеинкиназа

MGMT – O6-метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза

NER – эксцизионная репарация нуклеотидов

NF1 – ген нейрофиброматоза 1

OLIG2 – фактор транскрипции олигодендроцитов 2

PDGFR – рецептор тромбоцитарного фактора роста

PNET – глиобластома с примитивной нейроэктодермальной опухолью

PTEN – ген-супрессор PTEN (Phosphatase and ensin homolog)

TERT – обратная транскриптаза теломеразы

TOP2 $\alpha$  – топоизомераза ДНК 2 альфа

TP53 – ген-супрессор TP 53 (protein p53)

VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста (Vascular Endothelial Growth Factor)

VEGF – фактор роста эндотелия сосудов

C-kit – ген C-kit, рецептор активации фактора роста стволовых клеток

## Введение

Астроцитарные новообразования составляют более 50% от всех нейроэпителиальных опухолей [1]. Несмотря на современные успехи онкологии, показатели 5-летней продолжительности жизни пациентов с данным видом опухолей остаются по-прежнему невысокими: с диффузной астроцитомой (ДА) – 50,1%, с анапластической астроцитомой (АА) – 29,8%, а с первичной глиобластомой (ГБ) – всего 5,5% [2]. Это связано с высокой частотой рецидивирования данных опухолей и приобретением резистентности к проводимой терапии. Одна из возможных причин этого – внутриопухолевая гетерогенность, проявляющаяся на морфологическом и молекулярно-генетическом уровнях.

Морфологическая гетерогенность глиом привлекала внимание учёных ещё с первой половины XX века [3, 4]. В последние годы всё больше внимания обращено к проблеме молекулярно-генетической гетерогенности. В ряде исследований было показано наличие в одной опухоли генетически неоднородных клеточных субклонов [5–8].

Классификация опухолей ЦНС ВОЗ 2016 при постановке диагноза учитывает гистологическое строение новообразования и его молекулярно-генетические характеристики [9]. Однако нет единого подхода к количеству опухолевых фрагментов, необходимых для определения данных характеристик. Недостаточное количество предоставленного материала для гистологического диагноза может привести к ошибочной постановке диагноза и, как следствие, неправильной тактике лечения.

Определение молекулярно-генетических характеристик опухоли и учёт их неоднородности также крайне важны, так как они позволяют предсказать ответ опухоли на стандартную химиотерапию и открывают новые возможности для назначения таргетных препаратов, обеспечивая персонализированный подход к пациенту.

### **Цель исследования:**

Определить наличие морфологической и молекулярно-генетической гетерогенности в первичной глиобластоме, анапластической астроцитоме и диффузной астроцитоме.

### **Задачи исследования:**

1. Выявить частоту встречаемости морфологической внутриопухолевой гетерогенности.
2. Изучить частоту встречаемости молекулярно-генетических маркеров MGMT, C-kit, TOP2 $\alpha$ , PDGFR- $\alpha$ , ERCC1, VEGF и мутации в генах IDH1 и IDH2.
3. Определить оптимальное число фрагментов опухолевой ткани необходимых для морфологического исследования.

## Глава 1. Обзор литературы

### 1.1 Эпидемиология астроцитарных новообразований

По данным Центрального регистра опухолей мозга США (CBTRUS) в период с 2013 по 2017 было зарегистрировано 415 411 новых случаев заболевания первичными опухолями ЦНС, из которых приблизительно 20% составляют астроцитомы различной степени злокачественности [10]. Ожидается, что в 2021 году будет диагностировано 84 170 новых случаев опухолей ЦНС.

Среднегодовая заболеваемость первичными опухолями головного мозга составляет 23,79 на 100 000 человек, приблизительно треть из них – злокачественные. Астроцитарные новообразования демонстрируют самые высокие показатели уровня заболеваемости среди злокачественных опухолей ЦНС. Так, среднегодовая заболеваемость для ГБ составляет 3,23 случая на 100 000 населения, ДА – 0,45 случая на 100 000 населения, АА – 0,42 случаев на 100 000 населения. Распространенность астроцитарных опухолей увеличивается с возрастом, при этом наибольшая частота наблюдается у людей в возрасте 75-84 года. Средний возраст заболевания для диффузной астроцитомы составляет 46 лет, анапластической астроцитомы – 53 года, глиобластомы – 65 лет. Астроцитарные опухоли чаще встречается у мужчин. Заболеваемость ГБ соотносится между мужчинами и женщинами как 1,6:1, заболеваемость другими астроцитомами как 1,3:1.

За период с 2013 по 2017 год было зарегистрировано 81 246 смертей от первичных опухолей ЦНС, из них 61.3% приходится на ГБ. Медиана общей выживаемости в случае ГБ составляет 8 месяцев, ДА – 36 месяцев, АА – 18 месяцев.

## 1.2 Классификация астроцитарных новообразований

Глиомы – гетерогенная группа опухолей ЦНС, предположительно, возникающих из глиальных клеток-предшественников и обладающих морфологическим сходством с неизмененными клетками глии [9]. Выделяют диффузные глиомы, характеризующиеся обширным инфильтративным ростом в окружающую паренхиму ЦНС, и другие опухоли, исходящие из клеток глии (пилоцитарная астроцитома и эпендимома). Диффузные глиомы – наиболее часто встречающиеся новообразования ЦНС, особенно у пациентов молодого и среднего возраста. На основании гистологического строения диффузные глиомы подразделяются на диффузные астроцитомы, олигодендроглиомы (ОДГ) или опухоли со смешанным астроцитарным и олигодендроглиальным фенотипом (олигоастроцитомы). Внутри данных подгрупп каждой опухоли присваивается степень дифференцировки опухоли (grade), основанная на таких признаках как: клеточная атипия, анаплазия, митотическая активность, наличие микроваскулярной пролиферации и некрозов.

В новой классификации ВОЗ 2016 года учитываются также молекулярно-генетические параметры. Одним из них является мутация в генах изоцитратдегидрогеназы 1 и 2 (IDH1/IDH2). Данные мутации чаще встречаются в астроцитомах, олигодендроглиомах, олигоастроцитомах grade II и grade III, а также «вторичных глиобластомах». Опухоли с IDH-мутантным типом имеют более благоприятный прогноз [11].

Среди IDH-мутантных диффузных глиом можно выделить две основные молекулярные подгруппы. Первая характеризуется наличием мутации в генах IDH1 и IDH2, ко-делеции 1p/19q и мутации промотора гена TERT, а другая – наличием мутаций в генах IDH1 и IDH2, в гене ATRX и в гене TP53. Первая группа демонстрирует морфологические признаки олигодендроглиомы (GII) и анапластической олигодендроглиомы (GIII),

вторая – диффузной астроцитомы (GII), анапластической астроцитомы (GIII), и вторичной глиобластомы (GIV) [12].

Среди глиобластом IDH-дикого типа в классификации ВОЗ 2016 впервые был представлен гистологический вариант эпителиоидной глиобластомы. Данная опухоль чаще всего встречается у детей и молодых лиц, и в 50% случаев положительно коррелирует с мутацией BRAF V600E [13]. В новую классификацию также была включена глиобластома с примитивным нейрональным компонентом. Ранее опухоли с данным паттерном описывались как глиобластома с примитивной нейроэктодермальной опухолью (PNET) – подобным компонентом, но термин «PNET» был исключен из классификации ВОЗ 2016.

Также в новой классификации ВОЗ 2016 появилась диффузная глиома средней линии с мутацией H3 K27M. Данная опухоль возникает в большинстве случаев у детей и чаще всего располагается в стволе головного мозга, таламусе и/или спинном мозге, и характеризуется, преимущественно, астроцитарной морфологией. Однако важно отметить, что не каждая опухоль ЦНС, несущая мутацию H3 K27M, является диффузной глиомой средней линии.

В тех случаях, когда молекулярное исследование не проводилось либо проводилось, но не найдено диагностических генетических повреждений, то указывается категория «не указано иное» (NOS- ‘not otherwise specified’).

### **1.3 Диагностика астроцитарных новообразований**

Диагностика астроцитарных новообразований основывается на клинических признаках, инструментальных, морфологических и молекулярно-генетических методах исследования.

Признаки и симптомы глиальных опухолей зависят от расположения и размера опухоли. У пациентов наблюдаются прогрессирующие неврологические симптомы, которые развиваются в течение нескольких дней или недель. Наиболее частыми симптомами новообразований ЦНС являются головная боль (50 – 60%) и судороги (20 – 50 %). Могут наблюдаться очаговые симптомы, такие как нарушения памяти и координации движений, парезы и параличи, зрительные, слуховые, обонятельные галлюцинации, выпадение полей зрения [14].

Пациентам с опухолями ЦНС рекомендовано проводить МРТ (магнитно-резонансную томографию) головного мозга в 3 проекциях в стандартных режимах (T1, T2, FLAIR, T1) с обязательным контрастированием. Глиальные опухоли визуализируются как гипоинтенсивные образования в T1-взвешенном изображении и гиперинтенсивны на T2- взвешенных изображениях и FLAIR- взвешенных изображениях (Long Tau Inversion Recovery, восстановление инверсии с ослаблением жидкости). При глиомах высокой степени злокачественности (grade III/IV) наблюдается перифокальный вазогенный отек, продуцирующий гипоинтенсивный сигнал в T1 и гиперинтенсивный в T2 режимах. Опухоль может оказывать объёмное воздействие, что приводит к смещению головного мозга, сдавлению и деформация цистерн и борозд головного мозга. Для определения границ опухоли на фоне отека используется дополнительно контрастирование. Степень накопления контрастного вещества зависит от степени злокачественности опухоли: grade I – хорошо накапливают контрастное вещество; grade II – не накапливают контрастное вещество; grade III – фокально накапливают контрастное вещество; grade IV – накапливают контрастное вещество по периферии в виде кольца. Глиобластома (grade IV) имеет ряд характерных особенностей: массивный некроз с геморрагическим компонентом в центре опухоли и выраженный перифокальный отек. Перед операцией рекомендуется выполнение

функциональной МРТ для визуализации функциональных зон коры мозга (сенсорной, моторной и др.), которые могут быть повреждены во время операции.

Для определения степени злокачественности опухоли и дифференциальной диагностики возможно выполнение магнитно-резонансной спектроскопии (MRS), на которой глиомы высокой степени злокачественности демонстрируют повышенное содержание холина и пониженное содержанием N-ацетиласпартата. Также глиомы высокой степени злокачественности характеризуются повышенной метаболической активностью и демонстрируют увеличение поглощения метионина на позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ).

МРТ с контрастным усилением превосходит компьютерную томографию (КТ) для характеристики опухолей головного мозга. Пациентам с противопоказаниями к МРТ головного мозга или при его недоступности следует выполнить компьютерную томографию (КТ) головного мозга с контрастированием. На КТ опухоль глиальной природы выглядит как гиподенсное образование, в ряде случаев окруженное зоной перифокального отёка белого вещества головного мозга («пальцевидный» отек). Возможно обнаружение кальцификатов и кист. При прорастании опухоли через мозолистое тело на противоположное полушарие она приобретает форму «крыла бабочки» [15].

Для оценки васкуляризации опухоли возможно выполнение МР- и КТ-перфузии. Ключевую роль в постановке диагноза играет морфологическое исследование. Астроцитарные опухоли состоят из клеток с удлинёнными неправильными, гиперхромными ядрами и эозинофильной цитоплазмой. Напротив, ОДГ имеют округлые ядра, окруженные прозрачной цитоплазмой (сотовидное строение), зоны кальцификации и пронизаны тонкими ветвящимися кровеносными сосудами [16]. При морфологическом исследовании учитывается степень дифференцировки (grade), основанная на

таких признаках как: клеточная атипия, анаплазия, митотическая активность, наличие микроваскулярной пролиферации и некрозов [17]. Так, для grade I опухолей характерна низкая пролиферативная активность, отсутствие выраженной атипии, grade II – инфильтративный рост и низкий уровень пролиферативной активности, grade III – ядерная атипия и иногда выраженная митотическая активность. Напротив, для grade IV опухолей характерна ядерная атипия, митозы, пролиферация эндотелия сосудов, псевдопалисадные некрозы и инфильтрация окружающих тканей [9]. Диффузная астроцитома по степени дифференцировки относится к grade I и II глиомам и исторически обозначается, как глиома низкой степени злокачественности (low-grade). Анапластическая астроцитома соответствуют grade III и вместе с глиобластомой (grade IV) относятся к глиомам высокой степени злокачественности (high-grade). Глиома часто демонстрируют выраженную морфологическую гетерогенность с пространственными различиями клеточного фенотипа и степени злокачественности. Плотность клеток и ядерная атипия не всегда коррелируют с общей злокачественностью, так что олигодендроглиомы низкой степени злокачественности часто являются высококлеточными, в то время как ГБ могут иметь участки с ограниченной клеточностью. Точно так же ядерная атипия бывает выше у глиомы с более низкой степенью злокачественности, чем у глиобластомы [15]. При наличии пространственной гетерогенности опухоли классифицируются гистологически в соответствии с их наиболее анапластическими областями [9].

Иммуногистохимическое исследование (ИГХ) является неотъемлемым компонентом диагностики опухолей ЦНС. Ключевым маркером для распознавания глиальной дифференцировки является глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP). GFAP – это промежуточный цитоскелетный филамент, экспрессируемый нормальными и опухолевыми глиальными клетками, главным образом, астроцитами и эпендимными

клетками. Олигодендроглиальные опухолевые клетки имеют обычно GFAP-отрицательную окраску [15].

Глиальные опухоли характеризуются положительной экспрессией белка S-100, однако данный белок также экспрессируется множеством других клеток, включая нейроны, шванновские клетки, меланоциты, хондроциты, адипоциты и некоторые эпителиальные и миоэпителиальные новообразования. В связи с этим экспрессия S-100 является относительно неспецифическим маркером глиальных опухолей.

Экспрессия OLIG2 наблюдается в клетках-предшественниках нейрального типа и в олигодендроглии, используется в дифференциальной диагностике диффузных глиом и опухолей нейронального, эпендимного или неглиального происхождения.

Иммуногистохимическое окрашивание синаптофизинном долгое время считалось доказательством нейронального происхождения клеток. Однако дальнейшие исследования показали, что синаптофизинном окрашиваются также клетки-предшественники глиальных опухолей [18].

Экспрессия промежуточных филаментов цитоскелета указывают на эпителиальную дифференцировку опухоли, характерную для эпителиоидного варианта глиобластомы и глиосаркомы.

Белок Ki-67 отражает уровень пролиферативной активности. Его экспрессия в целом увеличивается со степенью злокачественности (примерно <5% в диффузных глиомах низкой степени злокачественности, 5–10% в анапластических глиомах, и > 10% в глиобластомах).

ИГХ в 90% случаев подтверждает наличие мутаций в гене IDH у пациентов с диагнозом диффузной глиомы. Наиболее распространенным является вариант мутации в гене IDH1 (R132H). У пациентов с глиомами III степени злокачественности и лиц моложе 55 лет с ГБ, при отрицательном

ИГХ исследовании, рекомендуется выполнение геномного секвенирования, так как именно в этой группе пациентов данная мутация встречается наиболее часто [16].

При подозрении на олигодендроглиому необходимо назначить исследование на наличие ко-делеции 1p/19q методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), либо методом исследования потери гетерозиготности (LOH) (последнее является наиболее точным).

При астроцитарной морфологии и срединной локализации опухоли рекомендуется выполнить ИГХ исследование либо геномное секвенирование на мутацию H3 K27M. Промоторное метилирование MGMT необходимо исследовать во всех случаях глиобластом для прогнозирования ответа опухоли на химиотерапию.

#### **1.4 Молекулярно-генетические характеристики астроцитарных опухолей**

Мутация в гене изоцитратдегидрогеназы 1 (IDH1) обнаруживается в 70-80% астроцитом, олигодендроглиом и в большинстве случаев вторичных ГБ и часто ассоциирована с мутацией в гене TP53 или ко-делацией 1p/19q [20, 21]. Напротив, мутации в генах IDH1 и IDH2 достаточно редко обнаруживаются при первичной ГБ [21]. IDH1 и IDH2 – это ферменты, катализирующие окислительное декарбоксилирование изоцитрата с образованием альфа -кетоглутарата ( $\alpha$ KG) и углекислого газа ( $CO_2$ ). IDH1 обнаруживается в пероксисомах и в цитозоле, а IDH2 – в митохондриях. Мутантные формы генов IDH1 и IDH2 приобретают неоморфную ферментативную активность и превращают альфа-кетоглутарат в онкометаболит D-2-гидроксиглутарат (D2HG) [22]. D2HG ингибирует  $\alpha$ -KG-зависимые диоксигеназы, что приводит к нарушению эпигенетической

регуляции, подавлению нормальной клеточной дифференцировки и дальнейшей злокачественной трансформации клетки. В частности, повышенные уровни D2HG конкурентно ингибируют  $\alpha$ KG-зависимую лизиндеметилазу, тем самым повышая уровни метилирования гистонов в различных моделях клеточных линий [23]. Наличие мутации IDH1 и IDH2 связано с более длительной продолжительностью жизни [21].

Мутация C-kit встречается в гастроинтестинальных стромальных опухолях, семиноме, меланоме и немелкоклеточном раке легкого [24]. Также данная мутация была обнаружена и в глиомах, причём чаще при рецидивах опухоли [27, 28]. C-kit является рецепторной тирозинкиназой, участвующей в пролиферации опухолевых клеток (в том числе и в пролиферации опухолевых стволовых клеток), эндотелия сосудов и поддержании опухолевого ангиогенеза [27, 29]. Однако истинное значение C-kit в развитии глиальных опухолей остаётся неизвестным [28].

Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) является основным активатором множества сигнальных путей, участвующих в пролиферации, выживании и миграции опухолевых клеток. EGFR амплифицирован примерно у 40% пациентов с ГБ и ассоциирован с опухолями высокой степени злокачественности (grade IV) [29]. Около половины пациентов с амплификацией EGFR имеют мутацию делеции экзонов 2-7 (EGFRvIII) [30].

PDGFR представляет собой рецептор с тирозинкиназной активностью, принимающий участие в пролиферации, выживании и миграции клеток [31]. Известны два типа рецепторов PDGF:  $\alpha$ -тип и  $\beta$ -тип. Амплификация и активирующие мутации в  $\alpha$ -типе PDGFR были выявлены в 5-10% случаев мультиформной глиобластомы и формировали пронеуральный подтип [26]. Экспрессия  $\beta$ -типа PDGFR наблюдалась в стволовых клетках глиобластомы [32]. Ряд ингибиторов тирозинкиназ, таких как иматиниб, дазотиниб, нилотиниб, довитиниб не показали эффективности в лечении глиальных опухолей [31].

Глиальные опухоли гиперэкспрессирует проангиогенные факторы, среди них фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) [33]. Фактор роста эндотелия сосудов является ключевым медиатором опухолевого ангиогенеза, а также подавляет опухолевый иммунитет путем ингибирования созревания дендритных клеток и индуцирования иммуносупрессивных клеток, таких как регуляторные Т-клетки, опухолевые макрофаги и миелоидные иммуносупрессивные клетки. Показано, что повышенные уровни VEGF связаны с плохими клиническими исходами при многих опухолях, включая глиальные опухоли [34]. Существуют таргетные препараты, направленные на подавление неоангиогенеза. Так, моноклональное антитело бевацизумаб является стандартом для назначения во 2-й линии лечения рецидивирующих ГБ [35]. Мультикиназный ингибитор регорафениб показал эффективность в исследованиях 2-фазы у пациентов с рецидивирующей глиобластомой, увеличив продолжительность жизни на 1,8 месяцев по сравнению со стандартными режимами химиотерапии [36].

MGMT (Об-метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза) – фермент, восстанавливающий повреждения ДНК, путём удаления гуанин-алкильной группы [37]. MGMT обеспечивает устойчивость к алкилирующим агентам, в частности к широко применяемому в лечении глиальных опухолей темозоломиду [19]. Низкие уровни MGMT коррелируют с увеличением общей выживаемости и ответом на лечение темозоломидом [38].

ERCC1 – ключевой фермент системы эксцизионной репарации нуклеотидов (NER), участвующей в исправлении однонитевых повреждений ДНК. Препараты платины (цисплатин), используемые в лечении астроцитарных новообразований в 3-й линии терапии, вызывают однонитевые повреждения ДНК, путём образования внутри- и межспиральных сшивок, в результате чего нарушается структура ДНК клетки и подавляется её синтез. Выявлена взаимосвязь между

гиперэкспрессией мРНК ERCC1 и лекарственной устойчивостью к цисплатину в глиальных опухолях [39]

Топоизомераза ДНК 2 альфа (TOP2 $\alpha$ ) – фермент, индуцирующий двухцепочечные разрывы ДНК пролиферирующих клеток с целью исправления топологических «запутываний» ДНК во время конденсации, репликации и сегрегации хромосом [40]. TOP2 $\alpha$  является мишенью действия для некоторых противоопухолевых препаратов (например, этопозиды, доксорубицина). Данные лекарственные средства препятствуют расщеплению комплексов TOP2 $\alpha$ /170-ДНК, что впоследствии приводит к накоплению разрывов ДНК и, в конечном итоге, к гибели клеток [41]. Вследствие этого опухоли с активацией TOP2 $\alpha$  имеют большую эффективность лечения данными препаратами [42].

$\beta$ III-тубулин – структурный белок микротрубочек. Некоторые противоопухолевые препараты (винкристин, винбластин, паклитаксел, доцетаксел) способны нарушить целостность микротрубочек в митотическом веретене, таким образом, блокируя и сдерживая деление клетки [43]. Экспрессия  $\beta$ III-тубулина обнаружена в ДА и ОДГ и значительно увеличена в глиомах высокой степени злокачественности, особенно в ГБ [44]. Также экспрессия  $\beta$ III-тубулина замечена в стволовых клетках глиомы и в участках гипоксии опухоли [45]. Препарат ингибитор полимеризации тубулина – плинабулин в клинических испытаниях на модели глиомы мышей с мутацией в гене KRAS показал улучшение общей выживаемости [46].

B-RAF – серин/треониновая киназа, участвующая в онкогенном сигнальном пути митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК). Является протоонкогеном, участвующим в развитии различных опухолей, включая астроцитарные опухоли [47]. Самый частый вариант мутация B-RAF-V600E присутствует в 65–75% плеоморфных ксантоастроцитом, 25–60% ганглиоглиом и 50% эпителиоидных глиобластом [48]. Слияние KIAA1549-B-RAF присутствует в ~ 70% пилоцитарных астроцитом и имеет высокую

дифференциально-диагностическую ценность, поскольку обнаруживается только в редкой диффузной лептоменингеальной глионейрональной опухоли (DLGNT) и очень редко в других глиомах [49]. Мутация B-RAF V600E в опухоли может служить мишенью для таргетных препаратов [50].

Особую роль в патогенезе глиальных новообразований играют гены, связанные с удлинением теломер. TERT (обратная транскриптаза теломеразы) восстанавливает концы теломер хромосом во время деления клеток, обеспечивая тем самым их бессмертие [51]. Также, считается, что TERT вносит свой вклад в онкогенез, вызывая геномную нестабильность [52]. Активирующие мутации в промоторе TERT встречаются примерно в 80% первичной ГБ [51]. Данные мутации часто ассоциированы с IDH-мутантными олигодендроглиальными опухолями с коделецией 1p/19q и глиобластомами IDH дикого типа [53, 55]. В настоящее время предпринимаются попытки воздействия на мутации в промоторе гена TERT с помощью вакцин и низкомолекулярных ингибиторов [54–56].

В 10-15% случаев опухолей происходит независимый от теломеразы механизм альтернативного удлинения теломер (ALT) [57]. Среди глиом, ALT чаще обнаруживается при астроцитоме с мутациями в генах IDH1 и IDH2 II или III степени злокачественности и ГБ с мутациями в генах IDH1 и IDH2 [58]. Механизм альтернативного удлинения теломер (ALT) тесно связан с мутациями в гене ATRX [59]. Ген ATRX расположен в хромосоме Xq21.1 и кодирует нуклеопротеин 280 кДа, участвующий в рекомбинации, репарации и регуляции транскрипции ДНК [60]. Мутации в гене ATRX приводят к развитию  $\alpha$ -талассемии, X-связанной умственной отсталости и других генетических заболеваний [61]. Мутации ATRX встречаются при множестве онкологических заболеваний, например, при нейробластоме, остеосаркоме и нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы [62]. Однако, роль ATRX в онкогенезе до конца ещё не изучена. Считается, что белок ATRX может играть важную роль в эпигенетической регуляции [65, 66]. Также

онкогенный эффект ATRX может быть связан с воздействием на белок-регулятор апоптоза p53 [65]. Было предложено несколько новых методов лечения нацеленных на опухолевые клетки с фенотипом ALT [66–68].

Инактивирующие мутации в гене TP53 встречаются примерно в 50% диффузных астроцитом и в 30% анапластических астроцитом и глиобластом [69–71]. TP53 кодирует белок-супрессор опухолевого роста p53. Белок p53 вызывает задержку клеточного цикла в случае обратимого повреждения ДНК, и запускает апоптоз в случае повреждения ДНК, при котором её репарация невозможна [72]. Было обнаружено, что наличие мутации TP53 негативно влияет на общую выживаемость у пациентов с глиобластомой [73].

### **1.5 Внутриопухолевая гетерогенность**

Внутриопухолевая гетерогенность – это явление, когда в пределах одной опухоли присутствуют клетки, обладающие различными молекулярными (генетическими/эпигенетическими) и морфологическими характеристиками [74]. Гетерогенность является одним из ключевых факторов развития рецидивов заболевания и приобретения резистентности к дальнейшей терапии в лечении пациентов со всеми онкологическими заболеваниями [75].

Внутриопухолевая гетерогенность может проявляться неравномерным распределением субпопуляций опухолевых клеток в различных участках опухоли (пространственная гетерогенность) или вариациями молекулярного состава с течением времени (временная гетерогенность) [76].

Механизмы формирования внутриопухолевой гетерогенности до конца не известны. Считается, что внутриопухолевое разнообразие развивается под действием факторов, приводящих к генетическим нарушениям в опухолевой клетке. Также множество эпигенетических механизмов, включая метилирование ДНК, ремоделирование хроматина и посттрансляционную

модификацию гистонов, могут вносить вклад в формирование гетерогенности [77]. Особое внимание уделяется и микросреде опухоли.

В настоящее время развитие внутриопухолевой гетерогенности рассматривают в рамках двух теорий: опухолевых стволовых клеток (ОСК) и клональной эволюции опухоли [78]. Согласно теории ОСК опухолевый процесс инициируется генетическими нарушениями в стволовой клетке. ОСК обладают способностью к неограниченной пролиферации и самообновлению с образованием идентичных клеток либо генотипически и фенотипически различных опухолевых субклонов. Также эти клетки обладают высокой устойчивостью к стандартной химиотерапии и лучевой терапии [79].

Теория клональной эволюции объясняет возникновение внутриопухолевой гетерогенности как результат появления драйверных мутаций в соматических клетках, что ведёт к образованию эволюционно новых субклонов. Внутриопухолевая гетерогенность возникает из-за постоянного приобретения молекулярных изменений во время прогрессирования опухоли. По мере роста опухоли отдельные клетки и клоны постоянно конкурируют за питательные вещества, кислород и пространство в микросреде опухоли. В этой селективной среде клоны развиваются и приобретают изменения, которые позволяют им выживать и размножаться, по сути становясь доминирующими субклонами, в то время как другие либо погибают, либо остаются неподвижными [80]. Данные мутации обеспечивают преимущество в опухолевом росте определённым субклоном.

Также на развитие внутриопухолевой гетерогенности влияет микроокружение опухоли. Возможный вклад в этот процесс вносят внеклеточные везикулы (ВВ). Внеклеточные везикулы – это маленькие пузырьки размером от 10 нм до 1 мкм, высвобождаемые из опухолевых клеток и содержащие молекулы РНК, а также геномную ДНК и кДНК (комплементарную ДНК). Содержимое внеклеточных везикул проникает в

соседние клетки и передаёт им проонкогенные сигналы, приводя к возникновению новых мутаций [81]. Микроокружение опухоли влияет на гетерогенность опухоли и за счёт создания благоприятных условий для поддержания пула стволовых клеток [82]. Кроме того было показано, что микроокружение способно регулировать экспрессию гена PTEN в клетках глиомы *in vivo* посредством специфического для астроцитов высвобождения микроРНК [83].

Помимо вышеперечисленных причин внутриопухолевое разнообразие может быть индуцировано и химиотерапией [84].

## **1.6 Внутриопухолевая гетерогенность астроцитарных новообразований**

Морфологическая гетерогенность глиальных опухолей привлекала внимание учёных ещё с первой половины XX века [3, 4]. В 1926 году Бейли и Кушинг впервые применили термин «мультиформная глиобластома», под которым подразумевалось наличие внутри одной опухоли отдельных областей, содержащих различные по форме клетки: анапластические астроциты, олигодендроциты и недифференцированных клетки [85]. В дальнейшем морфологическая гетерогенность была подтверждена в нескольких исследованиях [88, 89].

При гистологическом исследовании астроцитарных новообразований наблюдаются существенные разногласия между патоморфологами. Частота расхождения диагнозов доходит до 20%, что подвергает сомнению однородную структуру опухоли [88].

Во множестве исследований показано, что недостаточное количество материала для морфологического исследования может приводить к неправильной постановке диагноза [89–92]. В 62% случаев глиальные опухоли сохраняют гистологические участки разной степени

злокачественности в пределах одной опухоли, что увеличивает вероятность неправильной постановки диагноза в случаях исследования небольших фрагментов новообразования [93]. Также была обнаружена корреляция между меньшим количеством патологических образцов и более низкой частотой выявления глиобластомы [96, 97]. В зарубежной литературе нет единого подхода к оптимальному количеству опухолевых фрагментов, необходимых для гистологического исследования астроцитарных новообразований.

О неоднородности строения глиальных опухолей сообщается и при применении инструментальных методов исследования. Так, при диагностике с помощью компьютерной томографии (КТ) описаны случаи различной плотности клеток в некротизированном центре и по периферии опухоли [98, 99]. При использовании МРТ-визуализации также отмечается неоднородность изображения внутри одной опухоли, причём неодинаковые участки имели различную экспрессию генов в глиобластоме [98]. Молекулярно-генетическая гетерогенность изучается с помощью различных методов, как на уровне всей опухоли, так и на уровне отдельных клеток. The Cancer Genome Atlas (TCGA) подразделяет ГБ на несколько молекулярных подтипов: классический, невральный, проневральный и мезенхимальный. Классический подтип характеризуется амплификациями или мутациями рецептора эпидермального фактора роста (EGFR); невральный – экспрессией нейрональных генов NEFL, GABRA1, SYT1 и SLC12A5; пронейральный подтип экспрессирует гены нервных стволовых клеток, такие как Sox2 и Olig2, рецептор фактора роста тромбоцитов альфа (PDGFRA); мезенхимальный подтип – мутации в гене нейрофиброматоза 1 (NF1) [99]. В дальнейшем была выявлена связь между молекулярным подтипом и гистологическим строением. Так, мелкоклеточное строение и микрососудистая пролиферация были связаны с классическим подтипом; олигодендроглиальные признаки встречались в пронейральном подтипе;

плеоморфизм, эпителиоидные клетки и воспалительная инфильтрация характеризовали мезенхимальный подтип [100]. Однако в некоторых опухолях были области, содержащие сразу оба молекулярных подтипа [103, 104]. Такие опухоли имели худшую общую выживаемость по сравнению с однородным молекулярным подтипом [103].

Множество исследований показывают, что подгруппы ГБ непостоянны и различаются пространственно и временно в пределах одной и той же опухоли [5, 103, 104, 106]. Первые попытки исследовать внутриопухолевую гетерогенность глиом заключались в исследовании различных участков одной опухоли. Анализ этих отдельных фрагментов опухоли выявил как уникальные, так и общие изменения числа копий генов в разных фрагментах [102].

Несколькими учёными отмечено наличие субклонов опухоли с гетерогенной амплификацией тирозинкиназных рецепторов EGFR, PDGFRA, MET [7, 104, 107]. При этом клетки имели различную морфологию. Амплификации EGFR была ассоциирована с агрессивным фенотипом, скудной васкуляризацией и мелкоклеточной морфологической картиной. Наоборот, PDGFRA-амплифицированные клетки были в значительной степени связаны с фибриллярной морфологией и более васкуляризованными областями [106]. Кроме того, обнаружены множественные aberrации в гене EGFR (EGFRvIII и карбоксиконцевые делеции EGFR) в разных участках опухоли [8, 109]. Также отмечено изменение амплификации EGFR и экспрессии EGFRvIII при рецидивах опухоли. Авторы связывают это с тем, что другие более адаптированные субклоны, существующие внутри опухоли, способны вытеснить клетки с данными мутациями. В этом случае речь идёт о временной (longitudinal) гетерогенности – изменение состава опухоли с течением времени в процессе лечения. Было также описано так называемое мутационное переключение опухоли, когда одна мутация EGFR заменялась другой при рецидиве опухоли. Так, в исследовании Wang J. с соавт. (2016)

мутация EGFR S645C была заменена на EGFRvIII [108]. Несмотря на множество попыток таргетного воздействия с помощью лекарственных препаратов, направленных на блокирование тирозинкиназных рецепторов, так и не удалось достигнуть клинически значимого эффекта в лечении глиальных новообразований, что опять же говорит в пользу наличия нескольких субклонов в опухоли [109].

Гетерогенная экспрессия гена отмечалась также у гена ATRX, которая встречалась в 20% ГБ и была связана с более высокой частотой амплификаций гена EGFR [110].

В немногочисленных работах отмечается гетерогенная экспрессия генов: PTEN, VEGF, TP53, BRAF, MYC, MET, PIK3CA, NOTCH2 [6, 86, 104, 105, 113–115].

Последующие исследования были направлены на изучение гетерогенности на уровне отдельных клеток и сообщали о различных программах транскрипции, состояниях клеток (дифференцированные, стволовые) и способности к пролиферации между отдельными опухолевыми клетками [102, 112, 115–117]. Было показано на геномном и функциональном уровне, что клетки глиобластомы состоят из множества субклонов, имеющих разные характеристики, в частности, такие как агрессивность опухоли и устойчивость к лекарственной терапии [113, 116]. Были определены различные функциональные области опухоли, например, область гипоксии, область пролиферации и область стволовых клеток [117].

Возможным источником гетерогенности являются стволовые клетки. Впервые стволовые клетки в опухолях головного мозга человека были обнаружены ещё в 2003 году [118]. В дальнейшем это было подтверждено во множестве исследований [121, 122]. Стволовые клетки способствуют развитию радиорезистентности, химиорезистентности, ангиогенеза, инвазии и рецидивирования опухоли [121]. Наблюдения как *in vitro*, так и *in vivo*

подтверждают существование субпопуляций опухолевых стволовых клеток человека, способных инициировать опухоли и повторять гетерогенность опухоли при введении мышам [122]. Стволовые клетки ГБ демонстрируют клеточную и фенотипическую гетерогенность, зависящую от анатомического расположения в опухоли и различных сигналов микросреды [121, 123, 125].

Особую роль в развитии гетерогенности играет микроокружение опухоли [126, 127]. Структура глиальных опухолей неоднородна, с помощью стандартного окрашивания гематоксилин-эозином можно выявить несколько областей: зону инфильтрации, передний край опухоли и центральное ядро, которое состоит из множества отдельных областей, включая клетки, пролиферирующие в области микрососудов, и псевдопалисадные клетки вокруг некрозов [126]. Prabhu A. с соавт. (2017), используя общедоступный набор данных секвенирования РНК проекта Ivy Foundation Glioblastoma Atlas Project (Ivy GAP, <http://glioblastoma.alleninstitute.org/>), содержащий геномные профили 119 структурных областей из 37 различных глиобластом, обнаружили взаимосвязь между гетерогенностью подтипа глиобластомы и ее локализацией в структурной области. Так, компоненты зоны инфильтрации несли пронеуральный подтип, перинекротические области включали исключительно мезенхимальный подтип, центральные области опухоли были представлены либо классическими, либо невральными подтипами. Так же авторы отмечают, что отдельные области из разных опухолей несут одинаковые молекулярные подтипы, что говорит об отсутствии межопухолевой геномной гетерогенности [129, 130].

Кроме того, внутриопухолевая гетерогенность может быть индуцирована химиотерапией. Было обнаружено возникновение новых мутаций после применения химиопрепарата темозоломид у мышей с ГБ [79]. Также было продемонстрировано одновременное наличие в первичной ГБ устойчивых и чувствительных к темозоломиду субклонов [111].

Особая роль в формировании гетерогенности отводится эпигенетическим процессам, а именно, постраницсионной модификации гистонов, изменяющих структуру хроматина, метилированию промоторной области ДНК и экспрессии микро-РНК. Так, наблюдались различия в уровне метилирования ДНК между областями опухоли на расстоянии 5 мм друг от друга [129]. В последующих исследованиях также были выявлены различия в уровне метилирования ДНК в различных участках опухоли [71, 134, 135]. Было показано, что гетерогенность метилирования ДНК связана с клональным прогрессированием глиомы низкой степени злокачественности [77]. Кроме того, найдена пространственная эпигенетическая неоднородность ферментов репарации ДНК (MGMT, MSH2, PMS2, APEX1 и PARP1) и генов регуляторов клеточного цикла (TP53) [79, 136, 137]. Hayes J с соавт. (2018) описали различные точечные мутации в гене IDH1 (R132H и R132C) в разных областях глиомы низкой степени злокачественности (grade II) [134]. В первичной ГБ обнаружено гиперметилирование белков, связывающих хроматин (CTCF, EZH2 и KDM4A) [135].

Таким образом, наличие морфологической и молекулярно-генетической гетерогенности подтверждается в немногочисленных зарубежных исследованиях. Крайне мало работ посвящено изучению изменения экспрессии генов репарации ДНК – MGMT, ERCC1 и онкогенов – PDGFR- $\alpha$ , VEGF, c-kit, а также TOP2A. В нашем исследовании мы впервые в России изучили внутриопухолевую морфологическую и молекулярно-генетическую гетерогенность с оценкой уровней экспрессии мРНК генов MGMT, ERCC1, PDGFR- $\alpha$ , VEGF, TOP2A, C-kit и мутаций в генах IDH1/2 в каждом фрагменте опухолевой ткани у пациентов с диффузной астроцитомой, анапластической астроцитомой и первичной глиобластомой изучили внутриопухолевую морфологическую и молекулярно-генетическую гетерогенность с оценкой уровней экспрессии мРНК генов MGMT, ERCC1,

PDGFR- $\alpha$ , VEGF, TOP2A, C-kit и мутаций в генах IDH1/2 в каждом фрагменте опухолевой ткани.

## Глава 2. Материалы и методы

Проведено проспективное и ретроспективное исследование 22 больных в возрасте 18 лет и старше с впервые диагностированной супратенториальной нейроэпителиальной опухолью. Женщин было 14. Всем пациентам было выполнено хирургическое удаление опухоли со степенью циторедукции от субтотального до практически тотального удаления. Под макроскопически тотальным удалением понималась резекция опухоли 95% и более, под субтотальным – 80-94%. Интраоперационно проводился забор фрагментов опухолевой ткани из пяти равноудаленных точек с минимальным расстоянием между ними 15 мм под контролем УЗ-навигации и флюоресцентной микроскопии с использованием 5-аминолевулиновой кислоты (рис. 1).

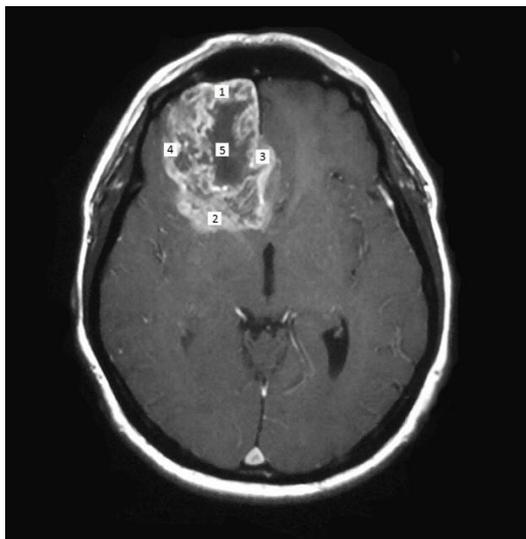


Рисунок 1. Точки интраоперационного забора материала для определения внутриопухолевой гетерогенности.

Кусочки опухоли помещались в пробирки с 10% нейтральным формалином и маркировались по локализации. В дальнейшем выполнялось изготовление парафиновых блоков по стандартной методике. Гистологический диагноз ставился в соответствии с классификациями ВОЗ

опухолей ЦНС (2007/2016). ИГХ всех образцов опухолевой ткани выполнялось с использованием антител GFAP (poly, DakoCytomation) и Ki-67 (MIB-1, DakoCytomation), а при подозрении на наличие примитивного нейроэктодермального компонента в опухоли: Syn (27G12, DakoCytomation), NB (NB84A, Leica), CD99 (12E7, DakoCytomation). При оценке цитоплазматического окрашивания антителами GFAP, Syn, NB, CD99 применялся полуколичественный метод: 0 – окрашивание отсутствует, 1+ – слабое окрашивание, 2+ – умеренное окрашивание, 3+ – интенсивное окрашивание. При ядерном окрашивании антителом Ki-67 определялся процент окрашенных клеток к их общему числу.

Для изучения молекулярно-генетической гетерогенности с блока производился прицельный забор опухолевых клеток с минимальным объемом информативного материала не менее 85%. Относительная экспрессия мРНК генов ERCC1, TOP2A, MGMT, VEGF, C-kit, PDGFR- $\alpha$  определялась при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени на оборудовании CFX96 Real-Time PCR DetectionSystem (BioRadLaboratories, США) (рис. 2).

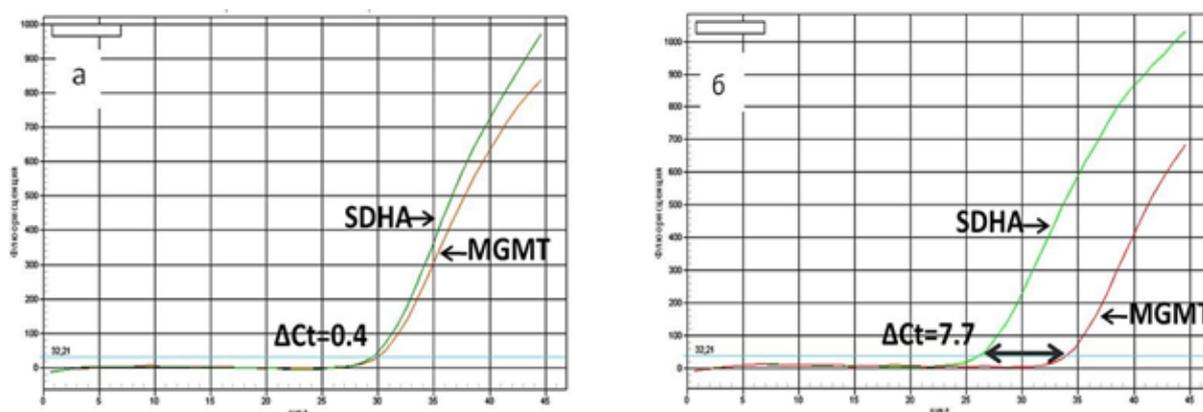


Рисунок 2. Метод определения экспрессии мРНК – ПЦР в режиме реального времени. а) высокий уровень экспрессии, б) низкий уровень экспрессии ( $\Delta Ct < 0,7$  – высокий;  $0,7 < \Delta Ct < 3$  – средний;  $\Delta Ct = > 3$  – низкий).

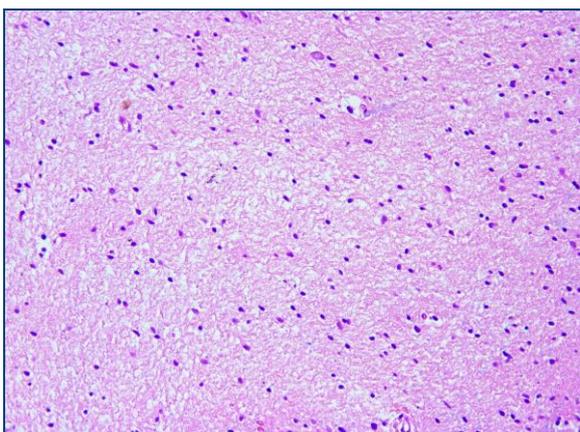
Мутации в генах IDH1 (экзон 4) и IDH2 (экзон 4) выявляли при помощи анализа кривых плавления ПЦР-продуктов с высоким разрешением (HRMA – High Resolution Melting Analysis) с последующим секвенированием ДНК.

### Глава 3. Результаты исследования

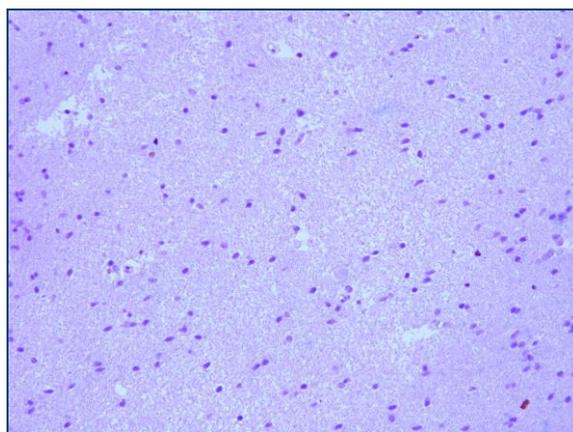
На наличие внутриопухолевой морфологической гетерогенности было исследовано 110 парафиновых блоков, полученных от 22 больных. Полученные результаты по внутриопухолевой морфологической гетерогенности представлены в таблице 1 (приложение 1).

ДА была диагностирована у одного больного, АА – у 5, первичная ГБ – у 16 больных. В 16 случаях из 22 (72,7%) была выявлена внутриопухолевая морфологическая гетерогенность. Морфологическая гетерогенность отсутствовала у 6 пациентов (6/22, 27,3%), из которых 5 были с первичной ГБ и один с АА. Таким образом, внутриопухолевая морфологическая гетерогенность в первичной ГБ присутствовала в 68,8% (11/16), в АА – в 80% (4/5) и в единственном случае ДА. В 50% случаев опухоль была гетерогенна в трех и более фрагментах из пяти.

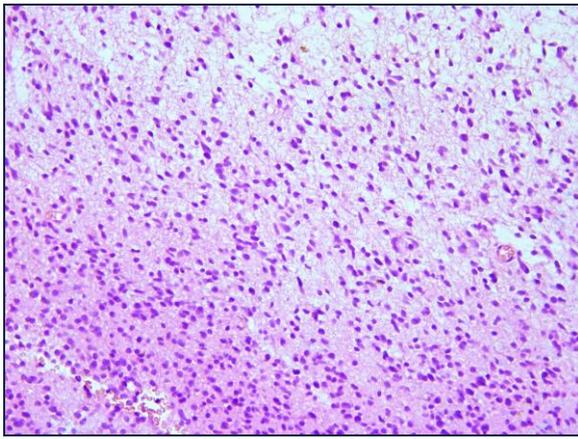
Описание клинического случая (из таблицы 1, № 19) морфологической гетерогенности опухоли (рис. 3-7).



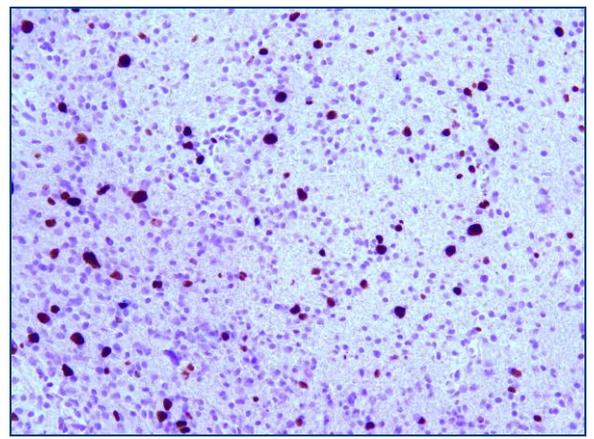
а



б

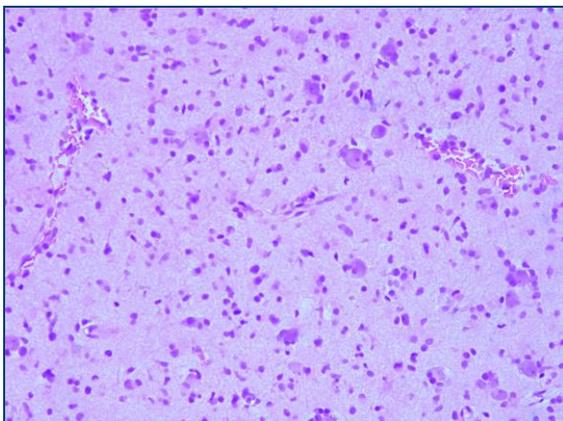


в

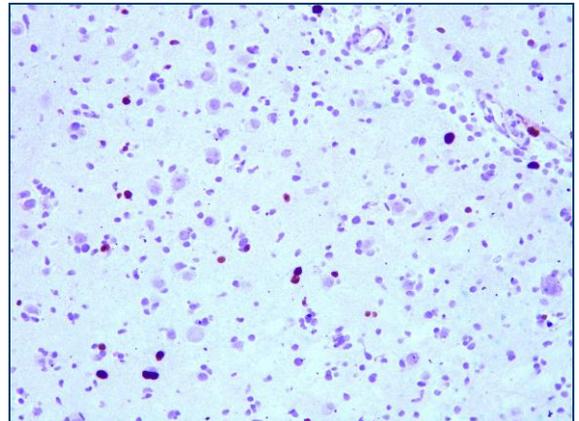


г

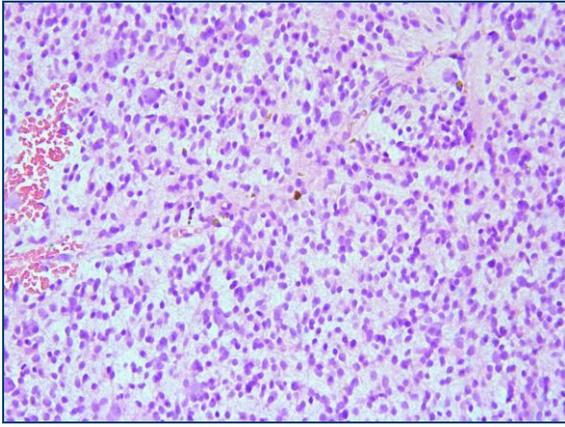
Рисунок 3. Морфологическая гетерогенность. Правый полюс. а – мозг. Окраска гематоксилином и эозином; X100. б – ИГХ-исследование, ядерное окрашивание антителом Ki-67; X100. в – диффузная астроцитома/анапластическая астроцитома. Окраска гематоксилином и эозином; X100. г – ИГХ-исследование, ядерное окрашивание антителом Ki-67; X100.



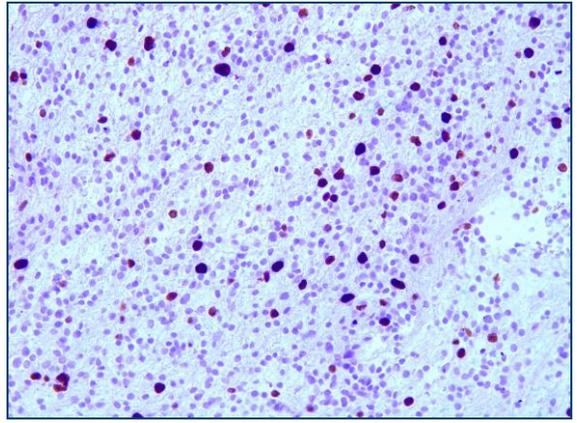
а



б

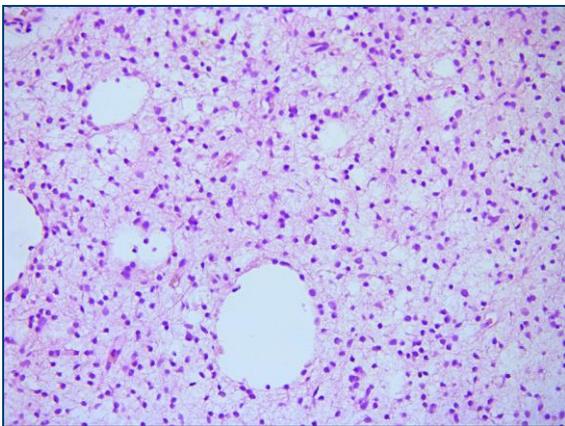


в

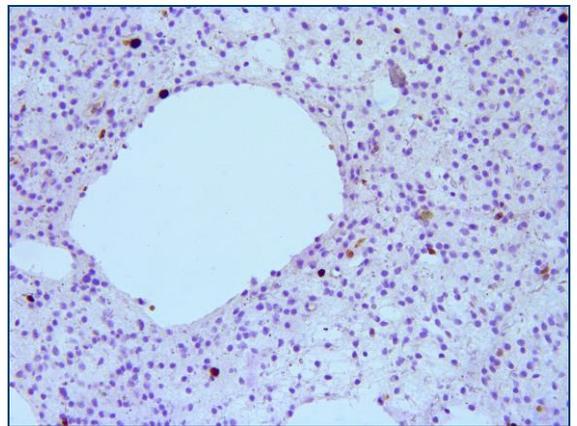


г

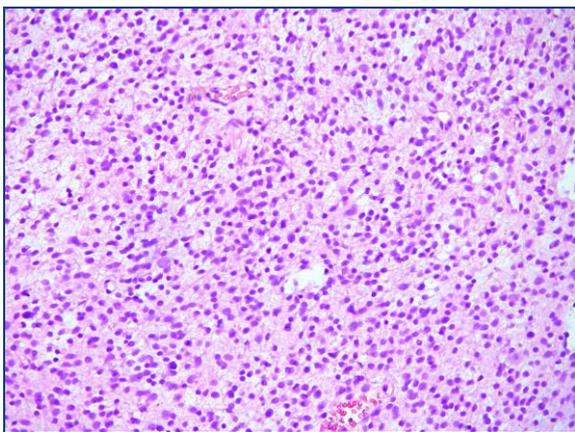
Рисунок 4. Морфологическая гетерогенность. Левый полюс. а – диффузная астроцитома с явлением нейтрофагии. Окраска гематоксилином и эозином; X100. б – ИГХ-исследование, ядерное окрашивание антителом Ki-67; X100. в – анапластическая астроцитома. Окраска гематоксилином и эозином; X100. г – ИГХ-исследование, ядерное окрашивание антителом Ki-67; X100.



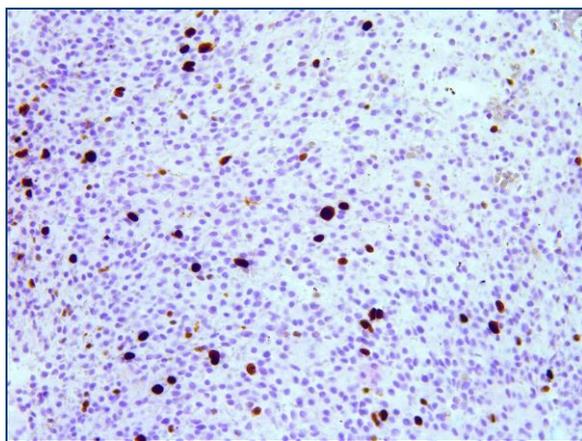
а



б

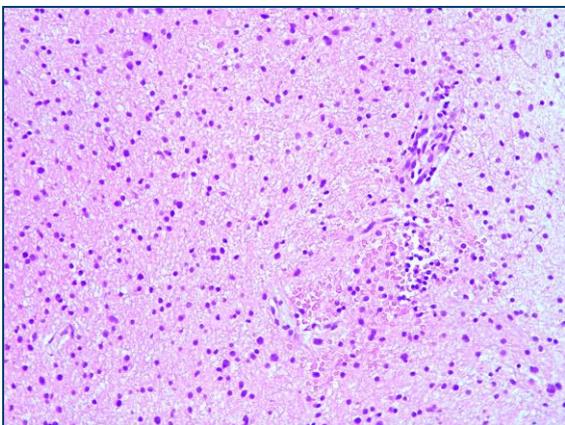


в

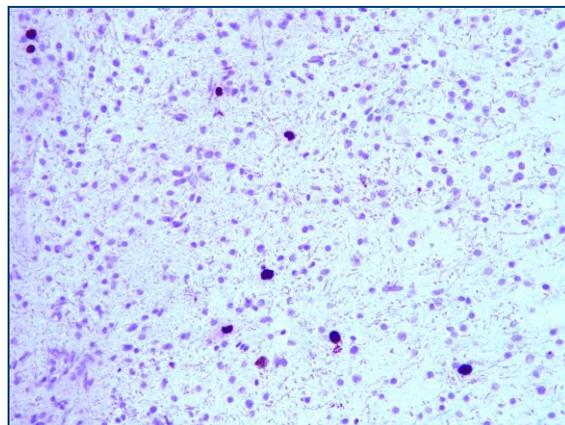


г

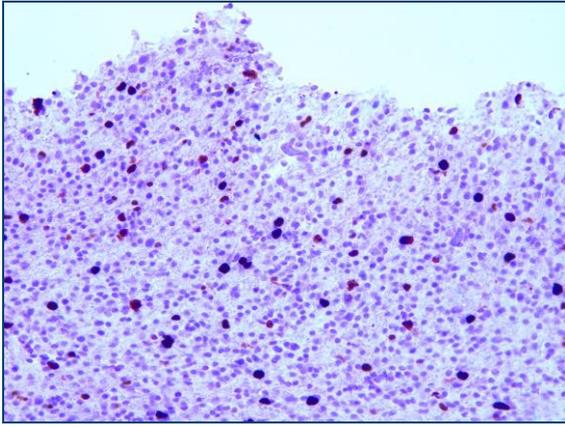
Рисунок 5. Морфологическая гетерогенность. Центр. а – диффузная астроцитома с микрокистозом. Окраска гематоксилином и эозином; X100. б – ИГХ-исследование, ядерное окрашивание антителом Ki-67; X100. в – анапластическая астроцитома. Окраска гематоксилином и эозином; X100. г – ИГХ-исследование, ядерное окрашивание антителом Ki-67; X100.



а

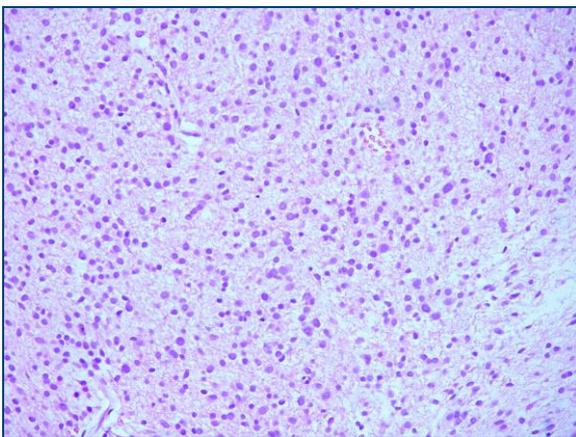


б

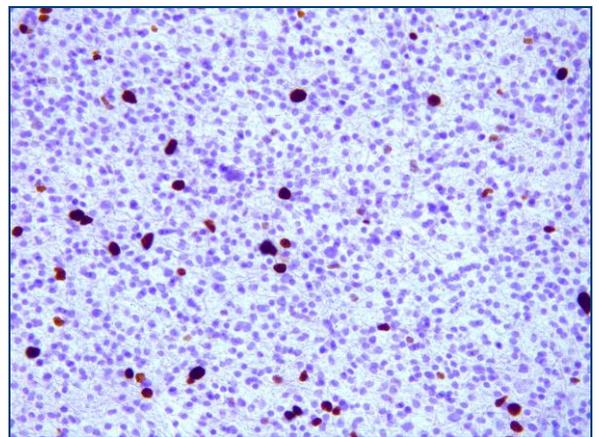


в

Рисунок 6. Морфологическая гетерогенность. Задний полюс. а – диффузная астроцитома/анапластическая астроцитома. Окраска гематоксилином и эозином; X100. б, в – ИГХ-исследование, ядерное окрашивание антителом Ki-67; X100.



а



б

Рисунок 7. Морфологическая гетерогенность. Передний полюс. а – анапластическая астроцитома. Окраска гематоксилином и эозином; X100. б – ИГХ-исследование, ядерное окрашивание антителом Ki-67; X100.

В ходе исследования была диагностирована глиобластома с примитивным нейроэктодермальным компонентом с индексом пролиферативной активности Ki-67 до 80-90% в участках эмбриональной опухоли и позитивной окраской антителами +Syn и NSE в ней (табл. 1, случай 14). Встречались участки опухоли с картиной «диффузной астроцитомы GII» и индексом пролиферативной активности в них 2-3% и Ki-67 около 80-90% в фокусах примитивного нейронального компонента.

Внутриопухолевая молекулярно-генетическая гетерогенность была изучена у 8 пациентов (2 пациента – АА и 6 – ГБ). Всего проанализировали 33 фрагмента опухолевой ткани (по 5 фрагментов из каждого опухолевого узла, из них в 7 не удалось выделить достаточное количество РНК для проведения анализа). Изменение уровней экспрессии шести генов (ERCC1, TOP2A, MGMT, VEGF, C-kit, PDGFR- $\alpha$ ) изучено в 48 экспрессионных анализах (табл. 2).

Таблица 2. Внутриопухолевая морфологическая и молекулярно-генетическая гетерогенность.

Случай 1 (ГБ)	MGMT	TOP2A	c-kit	PDGFRA	VEGF	ERCC1	IDH1/IDH2	Ki-67 (%)
перед.пол (АА-ГБ)	4.7 (н)	3.8 (н)	3.3 (ср)	1.1 (ср)	-2.7 (в)	-1.1 (в)	WT	10-18
центр (некроз-ГБ)	3.9 (н)	3.7 (ср)	2.7 (ср)	0.0 (ср)	-1.9 (в)	-1.3 (в)	WT	22
слева (АА-ГБ)	5.8 (н)	4.5 (н)	3.9 (н)	-0.3 (ср)	-3.9 (в)	-1.1 (в)	WT	8-20
справа (АА-ГБ)	3.7 (н)	2.5 (ср)	3 (ср)	0.3 (ср)	-2.2 (в)	-1.5 (в)	WT	8-25
задн.пол (ГБ)	3.8 (н)	3.9 (н)	2.8 (ср)	0.4 (ср)	-1.9 (в)	-0.9 (в)	WT	20
Случай 2 (ГБ)	MGMT	TOP2A	c-kit	PDGFRA	VEGF	ERCC1	IDH1/IDH2	Ki-67
справа (ДА-АА)	2.9 (ср)	8.6 (н)	2.4 (ср)	2.6 (н)	-0.4 (ср)	-2.5 (в)	IDH1 R132H	н.д.
слева (АА-ГБ)	2.2 (ср)	4.9 (н)	1.3 (ср)	4.5 (н)	-3.9 (в)	-1.0 (в)	IDH1 R132H	7-20
задн. пол (мозг-ДА)	2.3 (ср)	8.5 (н)	2.6 (ср)	-1.8 (ср)	1.1 (ср)	-0.7 (в)	IDH1 R132H	0-1-5
перед.пол (ДА-АА)	2.2 (ср)	9.8 (н)	3.4 (ср)	-0.2 (ср)	-0.5 (ср)	-2.1 (в)	IDH1 R132H	н.д.
центр (некроз-АА)	1.7 (ср)	4.7 (н)	1.4 (ср)	3.6 (н)	-2.4 (в)	-1.3 (в)	IDH1 R132H	8
Случай 3 (ГБ)	MGMT	TOP2A	c-kit	PDGFRA	VEGF	ERCC1	IDH1/IDH2	Ki-67
центр (ГБ)	3.0 (н)	1.8 (ср)	2.5 (ср)	0.8 (ср)	-0.1 (ср)	-1.0 (в)	WT	18
справа (некроз-ГБ)	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	нет РНК	14

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

Примечание. ДА – диффузная астроцитома; АА – анапластическая астроцитома; ГБ – глиобластома; Ki-67 – индекс пролиферативной активности; н – низкий; в – высокий; ср – средний; н.д. – нет данных.

Экспрессия генов MGMT, ERCC1, PDGFR- $\alpha$ , VEGF, TOP2A, C-kit изучена в 48 экспрессионных анализах. Уровни экспрессии мРНК генов PDGFR- $\alpha$ , VEGF, TOP2A, MGMT в разных фрагментах одной опухоли различались в 4 из 8 случаев (50%), в гене C-kit – в 3 из 8 (37,5%), в гене ERCC1 – 1 из 8 (12,5%). Таким образом, уровни экспрессии мРНК всех изучаемых генов отличались в 41,7% (20/48) и оставались неизменёнными в 58,3% случаев.

Молекулярно-генетическая гетерогенность не выявлена при определении мутаций в генах IDH1/2. Мутация была обнаружена в гене IDH1 (R132H) в 50% (4/8) случаев – в двух первичных ГБ и двух АА (табл. 2).

В 62,5% случаев (5/8) была выявлена морфологическая гетерогенность с различным значением индекса пролиферативной активности (Ki-67). Индекс пролиферативной активности иногда сильно различался в пределах одной опухоли.

Морфологическая характеризовалась большей частотой и встречалась в 72,7% случаев, а молекулярно-генетическая в 41,7% случаев.

## Заключение

Было проведено проспективное и ретроспективное исследование 22 больных в возрасте 18 лет и старше с впервые диагностированной супратенториальной нейроэпителиальной опухолью. Всем пациентам было проведено хирургическое удаление опухоли с интраоперационным забором фрагментов опухолевой ткани из 5 равноудаленных точек. Выполнена гистологическая верификация материала с иммуногистохимическим исследованием (ИГХ). В части случаев была определена относительная экспрессия мРНК генов ERCC1, TOP2A, MGMT, VEGF, C-kit, PDGFR-альфа и наличие мутации в генах IDH1 (экзон 4) и IDH2 (экзон 4).

Внутриопухолевая морфологическая гетерогенность была изучена у 22 больных (110 парафиновых блоков) и присутствовала в 68,8% ГБ (11/16), в АА – в 80% (4/5) и в единственном случае ДА. В 50% случаев опухоль была гетерогенна в трех и более фрагментах из пяти, что существенно осложняет постановку правильного гистологического диагноза в случае малого количества материала, предоставленного морфологам для исследования.

Внутриопухолевая молекулярно-генетическая гетерогенность была изучена в 8 случаях (2 случая – АА и 6 – ГБ). Всего проанализировали 33 фрагмента опухолевой ткани (по 5 фрагментов из каждого опухолевого узла, из них в 7 не удалось выделить достаточное количество РНК для проведения анализа). Изменение уровней экспрессии шести генов (ERCC1, TOP2A, MGMT, VEGF, C-kit, PDGFR- $\alpha$ ) изучено в 48 экспрессионных анализах. Уровни экспрессии мРНК генов PDGFR- $\alpha$ , VEGF, TOP2A, MGMT в разных фрагментах одной опухоли различались в 4 из 8 случаев (50%), в гене C-kit – в 3 из 8 (37,5%), в гене ERCC1 – 1 из 8 (12,5%). Таким образом, уровни экспрессии мРНК всех изучаемых генов отличались в 41,7% (20/48) и оставались неизменёнными в 58,3% случаев (28/48). В большинстве случаев

уровень экспрессии мРНК колебался в пределах уровня «низкий-средний» или «высокий-средний». И только в одном случае (№ 6) уровень экспрессии мРНК гена ERCC1 был в категории от низкого до высокого (табл. 2). На данный аспект теоретически мог повлиять процент опухолевых клеток в образцах, но мы постарались свести данный методологический недостаток к минимуму, забирая материал с содержанием опухолевых клеток более 85%.

Самой стабильной абберацией являлась мутация в гене IDH1(R132H), которая или присутствовала, или отсутствовала во всех фрагментах опухоли. Возможно, это связано с тем, что мутации для гена IDH являются неслучайными событиями и появляются ещё на ранних этапах развития опухоли [21].

## Выводы

1. Морфологическая внутриопухолевая гетерогенность была выявлена у пациентов с диффузной астроцитомой, анапластической астроцитомой и первичной глиобластомой в 72,7% случаев – в 68,8% ГБ (11/16), в АА – в 80% (4/5) и в единственном случае ДА.
2. Экспрессия мРНК генов MGMT, ERCC1, PDGFR- $\alpha$ , VEGF, TOP2A, C-kit отличалась в разных фрагментах опухолевой ткани в 41,7% случаев. Молекулярно-генетическая гетерогенность при определении мутаций в генах IDH1/2 не выявлена.
3. С целью повышения точности постановки гистологического диагноза необходимо во время оперативного вмешательства осуществлять забор не менее трёх фрагментов опухолевой ткани.

## Список литературы

1. Barnholtz-Sloan J.S., Ostrom Q.T., Cote D. Epidemiology of Brain Tumors // *Neurol. Clin.* Elsevier Inc, 2018. Vol. 36, № 3. P. 395–419.
2. Batash R. et al. Glioblastoma Multiforme, Diagnosis and Treatment; Recent Literature Review // *Curr. Med. Chem.* Bentham Science Publishers Ltd., 2017. Vol. 24, № 27.
3. Смирнов Л.И. Морфология нервной системы, общая нормальная и патологическая гистология. 1935.
4. Земская А.Г. Мультиформные глиобластомы головного мозга. 1976.
5. Reinartz R. et al. Functional Subclone profiling for prediction of treatment-induced intratumor population shifts and discovery of rational drug combinations in human glioblastoma // *Clin. Cancer Res.* American Association for Cancer Research Inc., 2017. Vol. 23, № 2. P. 562–574.
6. Patel A.P. et al. Single-cell RNA-seq highlights intratumoral heterogeneity in primary glioblastoma // *Science* . American Association for the Advancement of Science, 2014. Vol. 344, № 6190. P. 1396–1401.
7. Szerlip N.J. et al. Intratumoral heterogeneity of receptor tyrosine kinases EGFR and PDGFRA amplification in glioblastoma defines subpopulations with distinct growth factor response // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2012. Vol. 109, № 8. P. 3041–3046.
8. Francis J.M. et al. EGFR variant heterogeneity in glioblastoma resolved through single-nucleus sequencing // *Cancer Discov.* 2014. Vol. 4, № 8. P. 956–971.
9. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD C.W. WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System (Revised 4th edition). 4th ed. Lyon: IARC,

2016. 408 p.

10. Ostrom Q.T. et al. CBTRUS statistical report: Primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2013-2017 // *Neuro. Oncol.* Oxford University Press, 2020. Vol. 22, № Supplement\_1. P. IV1–IV96.
11. Sanson M. et al. Isocitrate dehydrogenase 1 codon 132 mutation is an important prognostic biomarker in gliomas // *J. Clin. Oncol.* American Society of Clinical Oncology, 2009. Vol. 27, № 25. P. 4150–4154.
12. Suzuki H. et al. Mutational landscape and clonal architecture in grade II and grade III gliomas // *Nat. Genet.* Nature Publishing Group, 2015. Vol. 47, № 5. P. 458–468.
13. Kleinschmidt-Demasters B.K. et al. Epithelioid GBMs show a high percentage of BRAF V600E mutation // *Am. J. Surg. Pathol.* NIH Public Access, 2013. Vol. 37, № 5. P. 685–698.
14. Overview of the clinical features and diagnosis of brain tumors in adults - UpToDate [Electronic resource]. URL: <https://www.uptodate.com/contents/overview-of-the-clinical-features-and-diagnosis-of-brain-tumors-in-adults> (accessed: 27.03.2021).
15. Perry A., Wesseling P. Histologic classification of gliomas // *Handbook of Clinical Neurology.* Elsevier, 2016. Vol. 134. P. 71–95.
16. Classification and pathologic diagnosis of gliomas Official reprint from UpToDate.
17. Forst D.A. et al. Low grade Gliomas // *Oncologist.* Wiley, 2014. Vol. 19, № 4. P. 403–413.
18. Perry A. et al. Oligodendrogliomas with Neurocytic Differentiation. A Report of 4 Cases with Diagnostic and Histogenetic Implications // *J.*

- Neuropathol. Exp. Neurol. American Association of Neuropathologists Inc., 2002. Vol. 61, № 11. P. 947–955.
19. Gupta K., Salunke P. Molecular markers of glioma: An update on recent progress and perspectives // *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. Springer, 2012. Vol. 138, № 12. P. 1971–1981.
  20. Ichimura K. et al. IDH1 mutations are present in the majority of common adult gliomas but rare in primary glioblastomas // *Neuro. Oncol.* Oxford Academic, 2009. Vol. 11, № 4. P. 341–347.
  21. Yan H. et al. IDH1 and IDH2 Mutations in Gliomas // *N. Engl. J. Med.* New England Journal of Medicine (NEJM/MMS), 2009. Vol. 360, № 8. P. 765–773.
  22. Waitkus M.S., Diplas B.H., Yan H. Biological Role and Therapeutic Potential of IDH Mutations in Cancer // *Cancer Cell*. Cell Press, 2018. Vol. 34, № 2. P. 186–195.
  23. Chowdhury R. et al. The oncometabolite 2 hydroxyglutarate inhibits histone lysine demethylases // *EMBO Rep.* John Wiley & Sons, Ltd, 2011. Vol. 12, № 5. P. 463–469.
  24. Babaei M.A. et al. Receptor tyrosine kinase (c-Kit) inhibitors: A potential therapeutic target in cancer cells // *Drug Design, Development and Therapy*. Dove Medical Press Ltd., 2016. Vol. 10. P. 2443–2459.
  25. Gomes A.L. et al. Molecular alterations of KIT oncogene in gliomas // *Anal. Cell. Pathol.* IOS Press, 2007. Vol. 29, № 5. P. 399–408.
  26. Puputti M. et al. Amplification of KIT, PDGFRA, VEGFR2, and EGFR in gliomas // *Mol. Cancer Res.* American Association for Cancer Research, 2006. Vol. 4, № 12. P. 927–934.
  27. Pittoni P. et al. Tumor-intrinsic and -extrinsic roles of c-Kit: Mast cells as the

- primary off-target of tyrosine kinase inhibitors // *Oncogene*. Nature Publishing Group, 2011. Vol. 30, № 7. P. 757–769.
28. Morris P.G., Abrey L.E. Novel targeted agents for platelet-derived growth factor receptor and c-KIT in malignant gliomas // *Targeted Oncology*. Springer, 2010. Vol. 5, № 3. P. 193–200.
  29. Yip S., Iafrate A.J., Louis D.N. Molecular Diagnostic Testing in Malignant Gliomas: A Practical Update on Predictive Markers // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* Oxford Academic, 2008. Vol. 67, № 1. P. 1–15.
  30. Nathanson D.A. et al. Targeted therapy resistance mediated by dynamic regulation of extrachromosomal mutant EGFR DNA // *Science* (80-. ). American Association for the Advancement of Science, 2014. Vol. 343, № 6166. P. 72–76.
  31. Papadopoulos N., Lennartsson J. The PDGF/PDGFR pathway as a drug target // *Molecular Aspects of Medicine*. Elsevier Ltd, 2018. Vol. 62. P. 75–88.
  32. Kim Y. et al. Platelet-derived growth factor receptors differentially inform intertumoral and intratumoral heterogeneity // *Genes Dev.* Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012. Vol. 26, № 11. P. 1247–1262.
  33. Jain R.K. et al. Angiogenesis in brain tumours // *Nature Reviews Neuroscience*. Nature Publishing Group, 2007. Vol. 8, № 8. P. 610–622.
  34. Chaudhry I.H. et al. Vascular endothelial growth factor expression correlates with tumour grade and vascularity in gliomas // *Histopathology*. John Wiley & Sons, Ltd, 2001. Vol. 39, № 4. P. 409–415.
  35. Vredenburgh J.J. et al. Bevacizumab plus irinotecan in recurrent glioblastoma multiforme // *J. Clin. Oncol.* American Society of Clinical Oncology, 2007. Vol. 25, № 30. P. 4722–4729.

36. Lombardi G. et al. Regorafenib compared with lomustine in patients with relapsed glioblastoma (REGOMA): a multicentre, open-label, randomised, controlled, phase 2 trial // *Lancet Oncol.* Lancet Publishing Group, 2019. Vol. 20, № 1. P. 110–119.
37. Hegi M.E. et al. MGMT Gene Silencing and Benefit from Temozolomide in Glioblastoma // *N. Engl. J. Med.* New England Journal of Medicine (NEJM/MMS), 2005. Vol. 352, № 10. P. 997–1003.
38. Ludwig K., Kornblum H.I. Molecular markers in glioma // *Journal of Neuro-Oncology.* Springer New York LLC, 2017. Vol. 134, № 3. P. 505–512.
39. Chen H.-Y. et al. Role of ERCC1 promoter hypermethylation in drug resistance to cisplatin in human gliomas // *Int. J. Cancer.* John Wiley & Sons, Ltd, 2010. Vol. 126, № 8. P. 1944–1954.
40. Dewese J.E., Osheroff N. The DNA cleavage reaction of topoisomerase II: Wolf in sheep's clothing // *Nucleic Acids Res.* Oxford Academic, 2009. Vol. 37, № 3. P. 738–748.
41. Elton T.S., Ozer H.G., Yalowich J.C. Effects of DNA topoisomerase II alpha splice variants on acquired drug resistance // *Cancer Drug Resist. OAE Publishing Inc.*, 2020. Vol. 3, № 2. P. 161.
42. Delgado J.L. et al. Topoisomerases as anticancer targets // *Biochemical Journal.* Portland Press Ltd, 2018. Vol. 475, № 2. P. 373–398.
43. Katsetos C.D. et al. Emerging microtubule targets in glioma therapy // *Semin. Pediatr. Neurol.* W.B. Saunders, 2015. Vol. 22, № 1. P. 49–72.
44. Mao Y. et al. Proliferative status of tumor stem cells may be correlated with malignancy grade of human astrocytomas // *Front. Biosci.* 2007. Vol. 12, № 6. P. 2252–2259.
45. Katsetos C.D. et al. Tubulin targets in the pathobiology and therapy of

- glioblastoma multiforme. I. class III beta-tubulin // *J. Cell. Physiol.* John Wiley & Sons, Ltd, 2009. Vol. 221, № 3. P. 505–513.
46. Cimino P.J. et al. Plinabulin, an inhibitor of tubulin polymerization, targets KRAS signaling through disruption of endosomal recycling // *Biomed. Reports.* Spandidos Publications, 2019. Vol. 10, № 4. P. 218–224.
  47. Chi A.S. et al. BRAF V600E Mutation Identifies a Subset of Low-Grade Diffusely Infiltrating Gliomas in Adults // *J. Clin. Oncol.* 2013. Vol. 31, № 14. P. e233–e236.
  48. Preusser M., Bienkowski M., Birner P. BRAF inhibitors in BRAF-V600 mutated primary neuroepithelial brain tumors // *Expert Opinion on Investigational Drugs.* Taylor and Francis Ltd, 2016. Vol. 25, № 1. P. 7–14.
  49. Rodriguez F.J. et al. High rate of concurrent BRAF-KIAA1549 gene fusion and 1p deletion in disseminated oligodendroglioma-like leptomeningeal neoplasms (DOLN) // *Acta Neuropathologica.* Springer Verlag, 2015. Vol. 129, № 4. P. 609–610.
  50. Kieran M.W. Targeting BRAF in Pediatric Brain Tumors // *Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. B.* American Society of Clinical Oncology (ASCO), 2014. № 34. P. e436–e440.
  51. Killela P.J. et al. TERT promoter mutations occur frequently in gliomas and a subset of tumors derived from cells with low rates of self-renewal // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* National Academy of Sciences, 2013. Vol. 110, № 15. P. 6021–6026.
  52. Chiba K. et al. Mutations in the promoter of the telomerase gene TERT contribute to tumorigenesis by a two-step mechanism // *Science* (80-. ). American Association for the Advancement of Science, 2017. Vol. 357, № 6358. P. 1416–1420.

53. Arita H. et al. Upregulating mutations in the TERT promoter commonly occur in adult malignant gliomas and are strongly associated with total 1p19q loss // *Acta Neuropathol.* 2013. Vol. 126, № 2. P. 267–276.
54. Takahashi M. et al. Eribulin penetrates brain tumor tissue and prolongs survival of mice harboring intracerebral glioblastoma xenografts // *Cancer Sci.* Blackwell Publishing Ltd, 2019. Vol. 110, № 7. P. 2247–2257.
55. Li X. et al. Programmable base editing of mutated TERT promoter inhibits brain tumour growth // *Nature Cell Biology.* Nature Research, 2020. Vol. 22, № 3. P. 282–288.
56. Mancini A. et al. Disruption of the beta-1L Isoform of GABP Reverses Glioblastoma Replicative Immortality in a TERT Promoter Mutation-Dependent Manner // *Cancer Cell.* Cell Press, 2018. Vol. 34, № 3. P. 513–528.e8.
57. Ohba S. et al. Correlation between IDH, ATRX, and TERT promoter mutations in glioma // *Brain Tumor Pathology.* Springer, 2020. Vol. 37, № 2. P. 33–40.
58. Pekmezci M. et al. Adult infiltrating gliomas with WHO 2016 integrated diagnosis: additional prognostic roles of ATRX and TERT // *Acta Neuropathol.* Springer Verlag, 2017. Vol. 133, № 6. P. 1001–1016.
59. Wiestler B. et al. ATRX loss refines the classification of anaplastic gliomas and identifies a subgroup of IDH mutant astrocytic tumors with better prognosis // *Acta Neuropathol.* 2013. Vol. 126, № 3. P. 443–451.
60. Gibbons R.J. et al. Mutations in the chromatin-associated protein ATRX // *Hum. Mutat.* John Wiley & Sons, Ltd, 2008. Vol. 29, № 6. P. 796–802.
61. Gibbons R.J. et al. Identification of acquired somatic mutations in the gene encoding chromatin-remodeling factor ATRX in the alpha-thalassemia

- myelodysplasia syndrome (ATMDS) // *Nat. Genet.* Nature Publishing Group, 2003. Vol. 34, № 4. P. 446–449.
62. Gao J. et al. Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal // *Sci. Signal.* American Association for the Advancement of Science, 2013. Vol. 6, № 269. P. p11–p11.
  63. Heaphy C.M. et al. Altered telomeres in tumors with ATRX and DAXX mutations // *Science.* American Association for the Advancement of Science, 2011. Vol. 333, № 6041. P. 425.
  64. Bassett A.R. et al. The Chromatin Remodelling Factor dATRX Is Involved in Heterochromatin Formation // *PLoS One* / ed. Sullivan B. Public Library of Science, 2008. Vol. 3, № 5. P. e2099.
  65. Elsässer S.J., Allis C.D., Lewis P.W. New epigenetic drivers of cancers // *Science.* American Association for the Advancement of Science, 2011. Vol. 331, № 6021. P. 1145–1146.
  66. Flynn R.L. et al. Alternative lengthening of telomeres renders cancer cells hypersensitive to ATR inhibitors // *Science* (80-. ). American Association for the Advancement of Science, 2015. Vol. 347, № 6219. P. 273–277.
  67. Conomos D., Reddel R.R., Pickett H.A. NuRD-ZNF827 recruitment to telomeres creates a molecular scaffold for homologous recombination // *Nat. Struct. Mol. Biol.* Nature Publishing Group, 2014. Vol. 21, № 9. P. 760–770.
  68. Liang J. et al. Genome-wide CRISPR-Cas9 screen reveals selective vulnerability of ATRX-mutant cancers to WEE1 inhibition // *Cancer Res.* American Association for Cancer Research Inc., 2020. Vol. 80, № 3. P. 510–523.
  69. Brennan C.W. et al. The somatic genomic landscape of glioblastoma // *Cell.* Cell Press, 2013. Vol. 155, № 2. P. 462.

70. Ham S.W. et al. TP53 gain-of-function mutation promotes inflammation in glioblastoma // *Cell Death Differ.* Nature Publishing Group, 2019. Vol. 26, № 3. P. 409–425.
71. Zhu Y. et al. Early inactivation of p53 tumor suppressor gene cooperating with NF1 loss induces malignant astrocytoma // *Cancer Cell.* Cell Press, 2005. Vol. 8, № 2. P. 119–130.
72. Meletis K. et al. p53 suppresses the self-renewal of adult neural stem cells // *Development.* The Company of Biologists Ltd, 2006. Vol. 133, № 2. P. 363–369.
73. Wang X. et al. Gain of function of mutant TP53 in glioblastoma: Prognosis and response to temozolomide // *Ann. Surg. Oncol.* Springer New York LLC, 2014. Vol. 21, № 4. P. 1337–1344.
74. McGranahan N., Swanton C. Clonal Heterogeneity and Tumor Evolution: Past, Present, and the Future // *Cell.* Cell Press, 2017. Vol. 168, № 4. P. 613–628.
75. Greaves M. Evolutionary determinants of cancer // *Cancer Discovery.* American Association for Cancer Research Inc., 2015. Vol. 5, № 8. P. 806–821.
76. Dagogo-Jack I., Shaw A.T. Tumour heterogeneity and resistance to cancer therapies // *Nature Reviews Clinical Oncology.* Nature Publishing Group, 2018. Vol. 15, № 2. P. 81–94.
77. Mazor T. et al. DNA Methylation and Somatic Mutations Converge on the Cell Cycle and Define Similar Evolutionary Histories in Brain Tumors // *Cancer Cell.* Cell Press, 2015. Vol. 28, № 3. P. 307–317.
78. Prasetyanti P.R., Medema J.P. Intra-tumor heterogeneity from a cancer stem cell perspective // *Molecular Cancer.* BioMed Central Ltd., 2017. Vol. 16, №

- 1.
79. Chen J. et al. A restricted cell population propagates glioblastoma growth after chemotherapy // *Nature*. Nature, 2012. Vol. 488, № 7412. P. 522–526.
80. Greaves M., Maley C.C. Clonal evolution in cancer // *Nature*. Nature Publishing Group, 2012. Vol. 481, № 7381. P. 306–313.
81. Ricklefs F. et al. Extracellular vesicles from high-grade glioma exchange diverse pro-oncogenic signals that maintain intratumoral heterogeneity // *Cancer Res.* American Association for Cancer Research Inc., 2016. Vol. 76, № 10. P. 2876–2881.
82. Noch E.K., Ramakrishna R., Magge R. Challenges in the Treatment of Glioblastoma: Multisystem Mechanisms of Therapeutic Resistance // *World Neurosurg.* Elsevier Inc, 2018. Vol. 116. P. 505–517.
83. Zhang L. et al. Microenvironment-induced PTEN loss by exosomal microRNA primes brain metastasis outgrowth // *Nature*. Nature Publishing Group, 2015. Vol. 527, № 7576. P. 100–104.
84. Johnson B.E. et al. Mutational analysis reveals the origin and therapy-driven evolution of recurrent glioma // *Science*. American Association for the Advancement of Science, 2014. Vol. 343, № 6167. P. 189–193.
85. Stoyanov G.S., Dzhankov D.L. On the Concepts and History of Glioblastoma Multiforme - Morphology, Genetics and Epigenetics // *Folia Med. (Plovdiv)*. NLM (Medline), 2018. Vol. 60, № 1. P. 48–66.
86. Burger P.C., Kleihues P. Cytologic composition of the untreated glioblastoma with implications for evaluation of needle biopsies // *Cancer*. John Wiley & Sons, Ltd, 1989. Vol. 63, № 10. P. 2014–2023.
87. Glantz M.J. et al. Influence of the type of surgery on the histologic diagnosis in patients with anaplastic gliomas // *Neurology*. Wolters Kluwer Health, Inc.

- on behalf of the American Academy of Neurology, 1991. Vol. 41, № 11. P. 1741–1744.
88. Paulus W., Peiffer J. Intratumoral histologic heterogeneity of gliomas. A quantitative study // *Cancer*. Cancer, 1989. Vol. 64, № 2. P. 442–447.
  89. McCullough B.J. et al. Preoperative relative cerebral blood volume analysis in gliomas predicts survival and mitigates risk of biopsy sampling error // *J. Neurooncol.* Springer New York LLC, 2018. Vol. 136, № 1. P. 181–188.
  90. McGirt M.J. et al. MRI-guided stereotactic biopsy in the diagnosis of glioma: Comparison of biopsy and surgical resection specimen // *Surg. Neurol.* Elsevier Inc., 2003. Vol. 59, № 4. P. 279–283.
  91. Reithmeier T. et al. Intraindividual comparison of histopathological diagnosis obtained by stereotactic serial biopsy to open surgical resection specimen in patients with intracranial tumours // *Clin. Neurol. Neurosurg.* Elsevier, 2013. Vol. 115, № 10. P. 1955–1960.
  92. Vaquero J., Martínez R., Manrique M. Stereotactic biopsy for brain tumors: Is it always necessary? // *Surg. Neurol.* Elsevier, 2000. Vol. 53, № 5. P. 432–438.
  93. Jackson R.J. et al. Limitations of stereotactic biopsy in the initial management of gliomas // *Neuro. Oncol.* Oxford University Press (OUP), 2001. Vol. 3, № 3. P. 193–200.
  94. Gutt-Will M. et al. Frequent Diagnostic Under-Grading in Isocitrate Dehydrogenase Wild-Type Gliomas due to Small Pathological Tissue Samples // *Clin. Neurosurg.* Oxford University Press, 2019. Vol. 85, № 5. P. 689–694.
  95. Kim B.Y.S. et al. Diagnostic discrepancies in malignant astrocytoma due to limited small pathological tumor sample can be overcome by IDH1 testing //

- J. Neurooncol. Springer New York LLC, 2014. Vol. 118, № 2. P. 405–412.
96. Burger P.C. et al. Computerized tomographic and pathologic studies of the untreated, quiescent, and recurrent glioblastoma multiforme // J. Neurosurg. J Neurosurg, 1983. Vol. 58, № 2. P. 159–169.
  97. Giangaspero F., Burger P.C. Correlations between cytologic composition and biologic behavior in the glioblastoma multiforme. A postmortem study of 50 cases // Cancer. John Wiley & Sons, Ltd, 1983. Vol. 52, № 12. P. 2320–2333.
  98. Barajas R.F. et al. Glioblastoma multiforme regional genetic and cellular expression patterns: Influence on anatomic and physiologic MR imaging // Radiology. Radiological Society of North America, Inc., 2010. Vol. 254, № 2. P. 564–576.
  99. McLendon R. et al. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways // Nature. NIH Public Access, 2008. Vol. 455, № 7216. P. 1061–1068.
  100. Orzan F. et al. A simplified integrated molecular and immunohistochemistry-based algorithm allows high accuracy prediction of glioblastoma transcriptional subtypes // Lab. Investig. Springer Nature, 2020. Vol. 100, № 10. P. 1330–1344.
  101. Patel A.P. et al. Single-cell RNA-seq highlights intratumoral heterogeneity in primary glioblastoma // Science (80-. ). American Association for the Advancement of Science, 2014. Vol. 344, № 6190. P. 1396–1401.
  102. Sottoriva A. et al. Intratumor heterogeneity in human glioblastoma reflects cancer evolutionary dynamics // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. National Academy of Sciences, 2013. Vol. 110, № 10. P. 4009–4014.
  103. Liesche-Starnecker F. et al. Immunohistochemically Characterized

- Intratumoral Heterogeneity Is a Prognostic Marker in Human Glioblastoma // *Cancers (Basel)*. MDPI AG, 2020. Vol. 12, № 10. P. 2964.
104. Zhang R.R. et al. Mutational Analysis Reveals the Origin and Therapy-Driven Evolution of Recurrent Glioma // *Neurosurgery*. Lippincott Williams and Wilkins, 2014. Vol. 75, № 6. P. N9–N10.
  105. Snuderl M. et al. Mosaic amplification of multiple receptor tyrosine kinase genes in glioblastoma // *Cancer Cell*. Cell Press, 2011. Vol. 20, № 6. P. 810–817.
  106. Little S.E. et al. Receptor tyrosine kinase genes amplified in glioblastoma exhibit a mutual exclusivity in variable proportions reflective of individual tumor heterogeneity // *Cancer Res. American Association for Cancer Research*, 2012. Vol. 72, № 7. P. 1614–1620.
  107. Eskilsson E. et al. EGFRvIII mutations can emerge as late and heterogenous events in glioblastoma development and promote angiogenesis through Src activation // *Neuro. Oncol. Oxford Academic*, 2016. Vol. 18, № 12. P. 1644–1655.
  108. Wang J. et al. Clonal evolution of glioblastoma under therapy // *Nat. Genet.* Nature Publishing Group, 2016. Vol. 48, № 7. P. 768–776.
  109. Eskilsson E. et al. EGFR heterogeneity and implications for therapeutic intervention in glioblastoma // *Neuro. Oncol. Oxford University Press*, 2018. Vol. 20, № 6. P. 743–752.
  110. Purkait S. et al. ATRX in Diffuse Gliomas With its Mosaic/Heterogeneous Expression in a Subset // *Brain Pathol. Blackwell Publishing Ltd*, 2017. Vol. 27, № 2. P. 138–145.
  111. Meyer M. et al. Single cell-derived clonal analysis of human glioblastoma links functional and genomic heterogeneity // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*

- National Academy of Sciences, 2015. Vol. 112, № 3. P. 851–856.
112. Aubry M. et al. From the core to beyond the margin: A genomic picture of glioblastoma intratumor heterogeneity // *Oncotarget*. Impact Journals LLC, 2015. Vol. 6, № 14. P. 12094–12109.
  113. Hoffman L.M. et al. Spatial genomic heterogeneity in diffuse intrinsic pontine and midline high-grade glioma: implications for diagnostic biopsy and targeted therapeutics // *Acta Neuropathol. Commun.* BioMed Central, 2016. Vol. 4, № 1. P. 1.
  114. Akgül S. et al. Intratumoural Heterogeneity Underlies Distinct Therapy Responses and Treatment Resistance in Glioblastoma // *Cancers (Basel)*. MDPI AG, 2019. Vol. 11, № 2. P. 190.
  115. Abou-El-Ardat K. et al. Comprehensive molecular characterization of multifocal glioblastoma proves its monoclonal origin and reveals novel insights into clonal evolution and heterogeneity of glioblastomas // *Neuro. Oncol.* Oxford University Press, 2017. Vol. 19, № 4. P. 546–557.
  116. Ho I.A.W., Shim W.S.N. Contribution of the microenvironmental niche to glioblastoma heterogeneity // *BioMed Research International*. Hindawi Limited, 2017. Vol. 2017.
  117. Bergmann N. et al. The Intratumoral Heterogeneity Reflects the Intertumoral Subtypes of Glioblastoma Multiforme: A Regional Immunohistochemistry Analysis // *Front. Oncol.* Frontiers Media S.A., 2020. Vol. 10. P. 494.
  118. Singh S.K. et al. Identification of a Cancer Stem Cell in Human Brain Tumors // *Cancer Res.* 2003. Vol. 63, № 18.
  119. Weng Q. et al. Single-Cell Transcriptomics Uncovers Glial Progenitor Diversity and Cell Fate Determinants during Development and Gliomagenesis // *Cell Stem Cell*. Cell Press, 2019. Vol. 24, № 5. P. 707-

723.e8.

120. Tirosh I. et al. Single-cell RNA-seq supports a developmental hierarchy in human oligodendroglioma // *Nature*. Nature Publishing Group, 2016. Vol. 539, № 7628. P. 309–313.
121. Gimple R.C. et al. Glioblastoma stem cells: Lessons from the tumor hierarchy in a lethal cancer // *Genes and Development*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2019. Vol. 33, № 11–12. P. 591–609.
122. Lee J. et al. Tumor stem cells derived from glioblastomas cultured in bFGF and EGF more closely mirror the phenotype and genotype of primary tumors than do serum-cultured cell lines // *Cancer Cell*. Cell Press, 2006. Vol. 9, № 5. P. 391–403.
123. Bhaduri A. et al. Outer Radial Glia-like Cancer Stem Cells Contribute to Heterogeneity of Glioblastoma // *Cell Stem Cell*. Cell Press, 2020. Vol. 26, № 1. P. 48-63.e6.
124. Motegi H. et al. Type 1 collagen as a potential niche component for CD133-positive glioblastoma cells // *Neuropathology*. Blackwell Publishing, 2014. Vol. 34, № 4. P. n/a-n/a.
125. Schiffer D. et al. Stem cell niches in Glioblastoma: A Neuropathological view // *Biomed Res. Int.* Hindawi Publishing Corporation, 2014. Vol. 2014.
126. Wen P.Y., Kesari S. *Malignant Gliomas in Adults* // *N. Engl. J. Med.* Massachusetts Medical Society, 2008. Vol. 359, № 5. P. 492–507.
127. Prabhu A. et al. Histologically defined intratumoral sequencing uncovers evolutionary cues into conserved molecular events driving gliomagenesis // *Neuro. Oncol.* Oxford University Press, 2017. Vol. 19, № 12. P. 1599–1606.
128. Khagi S., Miller C.R. Putting “multiforme” back into glioblastoma: intratumoral transcriptome heterogeneity is a consequence of its complex

- morphology // *Neuro. Oncol.* Oxford University Press, 2017. Vol. 19, № 12. P. 1570–1571.
129. Gates E.D.H. et al. Spatial Distance Correlates With Genetic Distance in Diffuse Glioma // *Front. Oncol.* Frontiers Media S.A., 2019. Vol. 9. P. 676.
  130. Ceccarelli M. et al. Molecular Profiling Reveals Biologically Discrete Subsets and Pathways of Progression in Diffuse Glioma // *Cell.* Cell Press, 2016. Vol. 164, № 3. P. 550–563.
  131. Sturm D. et al. Hotspot Mutations in H3F3A and IDH1 Define Distinct Epigenetic and Biological Subgroups of Glioblastoma // *Cancer Cell.* Cell Press, 2012. Vol. 22, № 4. P. 425–437.
  132. Parker N.R. et al. Intratumoral heterogeneity identified at the epigenetic, genetic and transcriptional level in glioblastoma // *Sci. Rep.* Nature Publishing Group, 2016. Vol. 6, № 4. P. 2065.
  133. Wenger A. et al. Intratumor DNA methylation heterogeneity in glioblastoma: implications for DNA methylation-based classification // *Neuro. Oncol.* Oxford University Press, 2019. Vol. 21, № 5. P. 616–627.
  134. Hayes J. et al. Genomic analysis of the origins and evolution of multicentric diffuse lower-grade gliomas // *Neuro. Oncol.* Oxford University Press, 2018. Vol. 20, № 5. P. 632–641.
  135. Klughammer J. et al. The DNA methylation landscape of glioblastoma disease progression shows extensive heterogeneity in time and space // *Nat. Med.* Nature Publishing Group, 2018. Vol. 24, № 10. P. 1611–1624.

## Приложение

### Приложение 1

Таблица 1. Внутриопухолевая морфологическая гетерогенность.

номер случая/ лок- ция/д-з	правый полюс		левый полюс		Центр		передний полюс		задний полюс		окончательный диагноз	гетерог- енность
	диагноз	Ki-67 (%)	диагноз	Ki-67 (%)	Диагноз	Ki-67 (%)	диагноз	Ki-67 (%)	диагноз	Ki-67 (%)		
1	АА	8-10	АА	8-12	АА	8-10	АА	7-8	АА	8	АА	нет
2	ГБ	30-35	ГБ	30	ГБ	35-40	ГБ	40-45	ГБ	40	ГБ	нет
3	ГБ	10-12	ГБ	20-25	ГБ	10-12	мозг/ ГБ	0/16-18	ГБ	18-20	ГБ	есть
4	ГБ	25-30	ГБ	30-40	ГБ	35-40	ГБ	40-45	ГБ	30-40	ГБ	нет
5	ДА/АА	<5/7-9	АА	8-10	АА	6-8	ДА/АА	<5/5-6	мозг/АА	0/6-8	АА	есть
6	ГБ	12-14	ГБ	18-20	ГБ	18	ГБ	30	ГБ	14-16	ГБ	нет
7	АА	7-8	мозг/ДА/АА	2-3/5-6	ДА/АА	2-3/10	АА	7-8	АА	10-12	АА	есть
8	ГБ	16	некроз	н.д.	Некроз	н.д.	ГБ	25	ГБ	20	ГБ	нет
9	ДА/ГБ	4-5/50	ДА/ГБ	1-2/25	ДА	2-3	АА/ГБ	5-7/35-40	ДА/АА	2-3/10	ГБ	есть

10	мозг/ДА/АА	1/2-3/5-6	мозг/ГБ	1-2/10-12	АА	8-10	Мозг	0-1	АА	8-9	АА	есть
11	ДА/ГБ	1-2/10-12	ГБ	40-45	мозг/ДА	н.д.	ГБ	30-35	мозг/ГБ	1/50	ГБ	есть
12	ДА/АА	2-3/5-6	н.д.	н.д.	ГБ	30-40	АА	5-6	ГБ	20-25	ГБ	есть
13	ДА	2	ДА	1-2	ДА	1-2	ДА	2-5	мозг	1	ДА	есть
14	ГБ с ПНЕО	25-30	ГБ с ПНЕО	30/80-90	ГБ	10-40	ДА/ГБ с ПНЕО	2-3/90	ГБ с ПНЕО	80	ГБ с ПНЕО	есть
15	ГБ	12-16	ГБ	20-25	н.д.	н.д.	ГБ	20	ДА/ГБ	3-4/20	ГБ	есть
16	ГБ	30-40	АА/ГБ	5-7/20	ГБ	16-18	ДА/АА	4-5/8-10	ГБ	20	ГБ	есть
17	ГБ	25-30	ГБ	20-25	ГБ	40-45	ГБ	25-30	ГБ	35-40	ГБ	нет
18	мозг/ДА	0-1/3-4	ГБ	15-16	ДА/АА/ГБ	4-5/14	ДА/АА/ГБ	3-4/14	ГБ	20-25	ГБ	есть
19	мозг/ДА/АА	1/3/8-10	ДА/АА	3-4/8-10	ДА/АА	2-3/6-8	АА	6-8	ДА/АА	5/7-10	АА	есть
20	ГБ	25-35	ГБ	20-25	ГБ	20-25	АА	7-8	ГБ	16	ГБ	есть
21	мозг/ГБ	1/30	мозг	1	ГБ	20-25	ГБ	30	ДА/АА	2-3/10	ГБ	есть
22	ДА/АА	н.д.	АА/ГБ	5-7/20	АА	7-8	ДА/АА	н.д.	ДА	5	ГБ	есть

Примечание: ДА — диффузная астроцитома GII; АА — анапластическая астроцитома GIII; ГБ — глиобластома GIV; Ki-67 — индекс пролиферативной активности; ПНЕО — примитивный нейроэктодермальная опухоль; н.д. — нет данных. (Note: DA — diffuse astrocytoma GII; AA — anaplastic astrocytoma GIII; GB — primary glioblastoma GVI; Ki67 — proliferative index; PNET — primitive neuroectodermal tumor; n/a — no information available).

## Приложение 2

Морозова А.С. с соавт. Внутритропухолевая морфологическая и молекулярно-генетическая гетерогенность в астроцитомах разной степени злокачественности / Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье: Материалы научной конференции. – СПб.: Сциентиа, 2021. – с 411-412.

**Введение.** Астроцитарные новообразования характеризуется высокой частотой рецидивирования и приобретением резистентности к проводимой терапии. Одна из возможных причин этого – внутритропухолевая гетерогенность.

**Цель работы.** Определить наличие морфологической и молекулярно-генетической гетерогенности в первичной глиобластоме (ГБ), анапластической астроцитоме (АА) и диффузной астроцитоме (ДА).

**Материалы и методы.** Было проведено проспективное исследование 22 больных в возрасте 18 лет и старше с впервые диагностированной супратенториальной нейроэпителиальной опухолью. Всем пациентам было проведено хирургическое удаление опухоли с интраоперационным забором фрагментов опухолевой ткани из 5 равноудаленных точек. Выполнена гистологическая верификация материала с иммуногистохимическим исследованием (ИГХ). В части случаев была определена относительная экспрессия мРНК генов ERCC1, TOP2A, MGMT, VEGF, C-kit, PDGFR-альфа при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Мутации в генах IDH1 (экзон 4) и IDH2 (экзон 4) выявлялась при помощи анализа кривых плавления ПЦР-продуктов с высоким разрешением (HRMA – High Resolution Melting Analysis) с последующим секвенированием ДНК.

Результаты. Морфологическая внутриопухолевая гетерогенность была выявлена в 72,7% случаев (16/22). В первичной ГБ гетерогенность наблюдалась в 68,8% (11/16), в АА – в 80% (4/5) и в единственном случае ДА. Ровно в половине случаев опухоль была гетерогенна в трех и более фрагментах из пяти (50%). Внутриопухолевая молекулярно-генетическая гетерогенность изучена у 8 пациентов (2 случая – АА и 6 – ГБ) в 48 экспрессионных анализах генов (ERCC1, TOP2A, MGMT, VEGF, C-kit, PDGFR-альфа) и присутствовала в 41,7% (20/48) случаев.

Выводы. Для астроцитарных новообразований характерна морфологическая и молекулярно-генетическая внутриопухолевая гетерогенность. Данный факт осложняет постановку правильного диагноза и выбор тактики лечения в случае малого количества материала, предоставленного морфологам для исследования.