

ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР
ОНКОЛОГИИ И МЕДИЦИНСКОЙ РАДИОЛОГИИ
ИМ. Н.Н. АЛЕКСАНДРОВА»

Объект авторского права

УДК 616.831-006.484-037-053.2-091.8-097(043.3)

МИХАЛЕВСКАЯ

Таисия Михайловна

**СУРРОГАТНЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ КАК ФАКТОРЫ
ПРОГНОЗА ГЛИАЛЬНЫХ И ГЛИОНЕЙРОНАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ У
ДЕТЕЙ**

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук
по специальности 14.01.12 – онкология

Минск 2023

Научная работа выполнена в государственном учреждении «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии»

| | |
|---------------------------------|--|
| Научный руководитель | Конопля Наталья Евгеньевна , доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории противоопухолевой лекарственной терапии государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова» |
| Официальные оппоненты | Портянко Анна Сергеевна , доктор медицинских наук, доцент, заведующий республиканской молекулярно-генетической лабораторией канцерогенеза государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова» Жуковец Александр Геннадьевич , кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедры онкологии государственного учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования» |
| Оппонирующая организация | Учреждение образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» |

Защита состоится «17» мая 2023 г. в 14 ч. на заседании совета по защите диссертаций Д 03.12.01 при государственном учреждении «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова» (223040, Минский р-н, агр. Лесной, E-mail: N.Artemova@omr.by, тел. +375173899561).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова».

Автореферат разослан «7» апреля 2023 г.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций
доктор медицинских наук, профессор

Н.А. Артемова

ВВЕДЕНИЕ

Опухоли центральной нервной системы являются наиболее распространенными солидными злокачественными новообразованиями у детей. Подавляющее большинство опухолей центральной нервной системы у детей представлено глиальными опухолями. По данным Детского канцер-регистра Республики Беларусь заболеваемость глиальными опухолями составляет 6,75 случаев на 100 000 детского населения в год и имеется тенденция к росту заболеваемости. Глиальные опухоли у детей отличаются крайне варибельным клиническим поведением, которое невозможно полноценно охарактеризовать, используя стандартную систему определения прогноза в зависимости от степени злокачественности. Невозможность полной хирургической резекции вследствие локализации или диффузного роста приводит к развитию рецидива опухолей и прогрессированию, которые происходят через различные интервалы времени. Одни опухоли остаются стабильными в течение многих лет, другие опухоли быстро прогрессируют в течение месяцев. Соответственно и выживаемость пациентов с глиальными опухолями колеблется в широких пределах, от 1 до 20 лет. Различная терапевтическая чувствительность также усложняет определение прогноза глиальных опухолей.

Дополнительное негативное влияние на точность определения прогноза оказывает низкий уровень межэкспертного согласия, вследствие отсутствия четких диагностических критериев для некоторых нозологий. Даже для крупных референсных центров характерна высокая частота реклассификации глиом. В когорте Children's Cancer Group 945 после центрального референсного пересмотра 29,6% случаев высокозлокачественных глиом были реклассифицированы в низкозлокачественные глиомы [Varlet P. et al., 2020].

В дополнение к вышесказанному, результаты исследований, проведенных на материале глиальных опухолей у взрослых, свидетельствуют об утрате прогностического значения ранее применявшейся системы определения степени злокачественности, рекомендуемой международной классификацией опухолей центральной нервной системы, принятой Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ). Последние исследования наиболее изученной категории глиом – астроцитом с мутацией гена изоцитрат-дегидрогеназы 1 (*IDH1*, Isocitrate dehydrogenase 1) свидетельствуют о стирании границы между опухолями II и III степени злокачественности. Различия в распространенности дополнительных мутаций и изменений числа копий, традиционно считающихся ответственными за увеличение агрессивности опухоли, между *IDH1* глиомами II и III степени злокачественности минимальные, что отражается и

на практически отсутствующей разнице в клиническом течении опухолей [Brat D.J. et al., 2015].

Аналогичные закономерности прослеживаются и в группе глиом IDH1-дикого типа с молекулярными особенностями глиобластомы, в которых отсутствует связь между традиционными гистологическими критериями и клиническим поведением. А именно, диффузные астроцитомы II, III степени злокачественности с амплификацией эпидермального фактора роста (*EGFR*, epidermal growth factor receptor), трисомией 7/потерей 10 хромосомы или мутацией промотора гена теломеразной обратной транскриптазы (*TERT*, telomerase reverse transcriptase) ведут себя клинически как новообразования IV степени злокачественности [WHO Classification of tumours editorial board, 2021].

Неспособность существующей прогностической схемы отразить гетерогенность биологического поведения глиальных опухолей подтверждается и результатами крупных рандомизированных исследований у детей, которые не только продемонстрировали широкие пределы колебаний общей и безрецидивной выживаемости, но и выявили противоречащий самому определению низкоккачественных опухолей риск ранней их трансформации, равный 0,17 на человека на год наблюдения [Smits A. et al., 2019].

Все вышеперечисленное указывает на то, что изучение молекулярно-генетических основ патогенеза глиальных опухолей у детей, отражает современные тенденции в медицинской науке. Совершенствование существующей классификационной схемы за счет введения гистомолекулярных характеристик глиальных опухолей позволит более точно определять клиническое течение опухолей и планировать их терапию.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами (проектами), темами

Работа выполнена на базе ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» в рамках темы 02.08 «Разработать и внедрить комплексный метод прогнозирования биологического поведения нейроэпителиальных опухолей у детей, основанный на выявлении молекулярно-генетических маркеров» Государственной научно-технической программы «Новые методы оказания медицинской помощи» подпрограммы «Онкологические заболевания» № гос. регистрации 20164418, срок выполнения 2016–2019 гг.

Тема исследования соответствует приоритетным направлениям научно-технической деятельности в Республике Беларусь на 2016–2020 годы, утвержденным Указом Президента Республики Беларусь от 22 апреля 2015 г. №166 (пункт 4. Медицина, фармация, медицинская техника: технологии профилактики, диагностики и лечения заболеваний) и приоритетным направлениям научных исследований Республики Беларусь на 2016–2020 годы, утвержденным Постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 12 марта 2015 г. №190 (медицина и фармация), а также научно-технической и инновационной деятельности в Республики Беларусь от 7 мая 2020 г. №156 «О приоритетных направлениях научной, научно-технической и инновационной деятельности на 2021–2025 годы (пункт 2. Биологические, медицинские, фармацевтические и химические технологии и производства: диагностика, медицинская профилактика и лечение инфекционных, включая вирусной этиологии, и неинфекционных заболеваний, экспертиза качества медицинской помощи).

Цель и задачи, объект и предмет исследования

Цель исследования – повысить эффективность диагностики и определения прогноза течения глиальных и глионейрональных опухолей у детей путем оценки наличия молекулярных маркеров.

Задачи исследования:

1. Изучить частоту встречаемости суррогатных иммуногистохимических молекулярных маркеров IDH1 R132H, BRAF V600E, ATRX, H3K27me3, p53 и цитогенетических aberrаций делеции *CDKN2A*, коделеции 1p/19q, перестроек генов *BRAF*, *FGFR2/3*, *MYB*, *NTRK1/2/3*, *ALK*, *ROS1* в ткани диффузных глиальных и глионейрональных опухолей у детей и их влияние на гистологическое строение, иммунофенотип и течение заболевания. Оценить прогностическое значение молекулярных подписей.

2. Изучить частоту встречаемости суррогатного иммуногистохимического маркера BRAF V600E и цитогенетического маркера делеции *CDKN2A* в ткани ограниченных глиальных опухолей у детей и их влияние на гистологическое строение, иммунофенотип и течение заболевания.

3. Выявить частоту сосудистых осложнений в перитуморозной ткани и оценить наличие взаимосвязи между ними и гистологическими и молекулярно-генетическими характеристиками диффузных глиальных и глионейрональных опухолей.

Объект исследования – гистологические препараты и данные медицинской документации пациентов детского возраста с диффузными и ограниченными глиальными опухолями, получавших лечение в Центре детской онкологии, гематологии и иммунологии с 2011 по 2021 год.

Предмет исследования – молекулярно-генетические маркеры глиальных и глионейрональных опухолей.

Научная новизна

1. Впервые разработан, обоснован и внедрен метод определения прогноза течения ограниченных глиом, основанный на определении экспрессии суррогатного маркера *BRAF V600E* и статуса гена *CDKN2A*, позволяющий оценить вероятность прогрессирования/рецидива опухоли.

2. Выделены дополнительные группы пациентов детского возраста с диффузными глиальными и глионейрональными опухолями с неблагоприятным течением заболевания и молекулярными подписями «*BRAFmut-PXA*» и «*ALT*».

3. Впервые определено значение альтераций генов *IDH1*, *FGFR2*, *BRAF* и семейства RTK на неоваскуляризацию ткани опухоли и риск внутриопухолевого кровотечения. Выявлена зависимость между «*BRAFmut/FGFR2*» и «*IDH1mut*» подгруппами диффузных глиальных и глионейрональных опухолей и повышенной частотой возникновения нейродегенеративных изменений – болезни малых сосудов тяжелой степени, кортикальных микроинфарктов и поражения белого вещества мозга.

Положения, выносимые на защиту:

1. Наличие мутации гена *BRAF V600E* и/или делеции гена *CDKN2A* являются прогностически неблагоприятными факторами при нетотально удаленных ограниченных глиальных опухолях у детей. Так, бессобытийная выживаемость в группе пациентов, имеющих данную молекулярную характеристику, составляет 0% и 74±17% при ее отсутствии соответственно ($p<0,001$). Наличие мутации гена *BRAF V600E* коррелирует с неблагоприятными гистологическими признаками – диффузным ростом ($p<0,001$), анаплазией ($p<0,001$), мультифокальным ростом ($p<0,001$), наличие делеции гена *CDKN2A* ассоциировано с диффузным ростом ($p<0,001$), анаплазией ($p<0,045$).

2. Группы диффузных глиальных и глионейрональных опухолей у детей с молекулярными подписями «*BRAFmut-PXA*» и «*ALT*» имеют неблагоприятное течение и характеризуются бессобытийной выживаемостью равной 18±12% и 20±17% соответственно.

3. Диффузные глиальные и глионейрональные опухоли педиатрического типа с альтерациями RTK, FGFR2, BRAFmut и IDH1mut имеют высокий риск развития сосудистых поражений. В ткани диффузных глиом «BRAFmut/FGFR2» и «IDH1mut» подгрупп болезнь малых сосудов тяжелой степени (2–3 степени по Esiri) развивается в 84,6% и 70% случаев соответственно. Паренхиматозные поражения в глиомах «BRAFmut/FGFR2» подгруппы возникают в коре и белом веществе в виде кортикальных микроинфарктов (84,6%) и лейкоареоза (87,5%). Паренхиматозные поражения в глиальных опухолях с мутацией *IDH1* представлены кортикальными микроинфарктами (60%). Глиальные опухоли с молекулярной подписью «BRAFmut/FGFR2» и «RTK» связаны с высоким риском внутритропухолового кровотечения и геморрагического некроза.

Личный вклад соискателя ученой степени

Участие соискателя в выполнении диссертационной работы состояло в изучении литературы по теме диссертационного исследования, анализе медицинской документации и создании базы данных пациентов с глиальными опухолями, проведении гистологического исследования микропрепаратов, оценке результатов иммуногистохимического исследования, подготовке и публикации полученных результатов в научных изданиях, оформлении диссертационной работы, выводов и практических рекомендаций. Совместно с научным руководителем доктором медицинских наук, профессором Н.Е. Коноплей определены цель и задачи исследования, методология исследования, формулирование положений, выносимых на защиту. Цитогенетические исследования были проведены сотрудниками цитогенетической лаборатории Центра детской онкологии, гематологии и иммунологии. Статистическая обработка полученных данных проведена совместно с ведущим программистом отдела АСУ О.И. Быдановым. Соискатель являлась ответственным исполнителем по заданию «Разработать и внедрить комплексный метод прогнозирования биологического поведения нейроэпителиальных опухолей у детей, основанный на выявлении молекулярно-генетических маркеров» Государственной научно-технической программы «Новые методы оказания медицинской помощи» подпрограммы «Онкологические заболевания». Соискателем в соавторстве опубликованы основные научные результаты диссертации, разработана инструкция по применению метода, рационализаторское предложение. Доля личного участия в исследовании составляет 80%, в публикациях – 85%.

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на научных конференциях и съездах: 31st European Congress of pathology (7–11 September 2019, Nice); XV Международная конференция «Актуальные вопросы детской онкологии, гематологии и иммунологии» (31 октября – 1 ноября 2019 г., Минск); 19th international symposium on pediatric neurooncology (онлайн, 13–16 декабря 2020 г.); XVI Международная конференция «Актуальные вопросы детской онкологии, гематологии и иммунологии» (21–22 октября 2021 г., Минск); IV съезд патологоанатомов Республики Беларусь с международным участием (24–25 марта 2022 г., Минск); школа по детской нейроонкологии с международным участием (18–19 мая 2022 г., Москва).

Разработана и утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь инструкция по применению «Метод определения вероятности прогрессирования нейроэпителиальных опухолей головного мозга у детей», который внедрен в практику Центра детской онкологии, гематологии и иммунологии. Соискателем совместно с соавторами оформлено рационализаторское предложение «Метод оценки прогноза низкоккачественных глиальных опухолей у детей на основании определения мутации BRAF V600E и делеции CDKN2A».

Опубликованность результатов диссертации

По теме диссертации опубликовано 12 научных работ: 4 статьи в журналах, 7 тезисов докладов и материалов научных конференций, 1 инструкция по применению. Всего имеется 4 публикации по теме диссертации, соответствующих пункту 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий, общий объем которых составляет 3,8 авторских листа.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 130 страницах текста и состоит из введения, общей характеристики работы, обзора литературы, результатов собственных исследований, заключения и списка использованных источников, содержащего 239 литературных источников и 12 публикаций соискателя. Работа содержит 17 таблиц, иллюстрирована 24 рисунками.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Материал и методы исследования

Материалом для исследования послужили данные 175 пациентов в возрасте до 18 лет с опухолями мозга, которые получали лечение на базе Центра детской онкологии, гематологии и иммунологии в 2011–2022 гг. Исследование проходило с одобрением локального этического комитета по биомедицинской этике. В исследование были включены 90 пациентов с ограниченными глиальными опухолями (пилоцитарными астроцитомами) и 85 пациентов с диффузными глиальными и глионейрональными опухолями.

В соответствии с дизайном исследования в операционном материале пациентов с ограниченными глиальными опухолями после проведения гистологического исследования было проведено изучение статуса гена *CDKN2A* методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) и определение мутации *BRAF V600E* иммуногистохимическим (ИГХ) методом, также проводилась оценка наличия нейрофиброматоза I типа.

Гистологическое исследование операционного материала пациентов с диффузными глиальными и глионейрональными опухолями кроме гистологического описания опухоли включало нейропатологическую оценку ткани мозга до проведения специфического лечения, определение плотности и площади микрососудов. Для оценки тяжести случаев болезни малых сосудов была использована классификация по Esiri. Была проведена оценка экспрессии линия-специфичных антигенов GFAP, OLIG2, CD34, экспрессии суррогатных маркеров IDHR 132H, ATRX, p53, H3K27me3, BRAF V600E методом ИГХ и определение цитологических aberrаций – делеции *CDKN2A*, 1p/19q, перестроек *FGFR2*, *BRAF*, *NTRK1/2/3*, *ROS1*, *ALK* методом FISH.

Статистический анализ выполнен с помощью R-statistics software (Version 3.4.4). Сравнение групп по качественным признакам проводилось с помощью теста χ^2 с поправкой Йетса и теста Фишера. Для определения наличия статистически достоверной разницы между значениями показателей вариационных рядов использовался U test Mann-Whitney. Для определения общей (ОВ) и бессобытийной выживаемости (БВ) использовался метод Каплана-Мейера, а для оценки совместного влияния потенциальных факторов риска на выживаемость – анализ пропорциональных рисков Кокса.

Результаты исследования

Гистологические и молекулярно-генетические характеристики ограниченных глиом и их связь с прогнозом

При проведении иммуногистохимического исследования в ткани ограниченных глиом экспрессия суррогатного маркера BRAF V600E была

выявлена в ткани опухоли у 22 (24,44%) пациентов. При цитогенетическом исследовании делеция *CDKN2A* была обнаружена у 9 (12,9%) пациентов. Нейрофиброматоз I типа согласно клиническим критериям был установлен у 2 (2,2%) пациентов.

Проведена оценка влияния молекулярных маркеров на гистологические особенности опухолей. Паттерны гистологического строения пилоцитарной астроцитомы были взаимосвязаны с молекулярными характеристиками: опухоли имеющие дикий тип *BRAF* и *CDKN2A* достоверно чаще имели классический паттерн строения, встречающийся в 83,8% ($p<0,001$) и в 78,7% ($p=0,015$) случаях соответственно. Опухоли с *BRAF V600E* и делецией *CDKN2A* чаще были представлены смешанным паттерном в 63,6% ($p<0,0010$) и в 66,6% случаях ($p=0,0360$) соответственно. Опухоли, возникшие на фоне нейрофиброматоза, могут характеризоваться паттерном строения подобном субэпендимарной гигантоклеточной астроцитоме (50%, $p=0,002$).

При анализе взаимосвязей между молекулярными изменениями и гистологическими характеристиками было установлено, что очаги диффузного роста достоверно чаще встречались в опухолях с мутацией *BRAF V600E* (90,9%, $p<0,001$) и делецией *CDKN2A* (100%, $p<0,001$), признаки анаплазии также чаще встречались в опухолях с мутацией *BRAF V600E* (63,6%, $p<0,001$) и делецией *CDKN2A* (77,8%, $p=0,045$). Множественные очаги роста были характерны для опухолей с мутацией *BRAF V600E* (31,8%, $p<0,001$). Между наличием лептоменингеальной инвазии и молекулярными характеристиками опухоли не было выявлено взаимосвязей.

Из представленных данных видно, что гистологические характеристики и молекулярные маркеры взаимосвязаны. Наличие в опухоли мутации *BRAF V600E* и делеции *CDKN2A* способствует формированию «агрессивного» фенотипа. В связи с этим молекулярные маркеры как объективные параметры были выбраны в качестве возможных предикторов риска рецидива заболевания. Действительно, наличие молекулярных маркеров было связано с сокращением БВ: БВ пациентов, в опухоли которых была выявлена делеция *CDKN2A*, составила $30\pm 17\%$, у пациентов, у которых ее не было, – $44\pm 15\%$ ($p<0,0099$); БВ пациентов с *BRAF V600E* в опухоли составила 0%, у пациентов с *BRAF_{wt}* – $71\pm 11\%$ ($p<0,0001$).

При изучении влияния клинических факторов на БВ – возраст менее 5 лет, пол, хиазмальная локализация, радикальность хирургического лечения, статистически значимой оказалась лишь радикальность хирургического лечения. Пациенты с частично или субтотально удаленной опухолью имели

более высокий риск рецидива опухоли, чем пациенты с тотально удаленной опухолью – их БВ составила $16\pm 10\%$ против $95\pm 3\%$ ($p < 0,0001$).

При проведении многофакторного анализа статистически значимое влияние на БВ имели радикальность проведенного хирургического лечения и наличие молекулярных маркеров *BRAF V600E* и/или делеции *CDKN2A*. Анализ показал, что нетотальное удаление опухоли и наличие молекулярных маркеров повышают риск развития рецидива в 6,99 и в 5,53 раза соответственно (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты многофакторного анализа данных

| Фактор | Результаты многофакторного анализа | | |
|---|-------------------------------------|----------------------------|----------|
| | относительный риск прогрессирования | 95% доверительный интервал | <i>p</i> |
| Радикальность | | | |
| тотальное удаление | 1 | – | – |
| нетотальное удаление | 6,99 | 1,52 – 32,18 | 0,0125 |
| Наличие <i>BRAF V600E</i> или делеции <i>CDKN2A</i> | | | |
| нет | 1 | – | – |
| есть | 5,53 | 1,65 – 18,49 | 0,0053 |

На основании полученных данных была создана новая схема стратификации на группы риска рецидива ограниченных глиом. В группу высокого риска рецидива можно отнести пациентов с нетотально удаленной опухолью и наличием молекулярных маркеров *BRAF V600E* и/или делеция *CDKN2A*. При этом БВ пациентов благоприятной группы риска составляет $74\pm 17\%$, неблагоприятной – 0% ($p < 0,0001$).

Гистологические, иммунофенотипические, молекулярно-генетические характеристики диффузных глиальных и глионейрональных опухолей и их связь с прогнозом

При проведении иммуногистохимического исследования с определением экспрессии суррогатных маркеров в группе диффузных глиальных и глионейрональных опухолей экспрессия IDH1 R132H была выявлена в 9 (12,7%) случаях диффузных глиом, утрата экспрессии ATRX в 18 (25,4%) случаях, утрата экспрессии H3K27me3 в 8 (11,3%) случаях, диффузное окрашивание на p53 в 39 (54,9%) случаях, экспрессия BRAF в 23 (32,4%) случаях, экспрессия ALK – в 1 (1,4%) случае.

При цитогенетическом исследовании коделеция 1p/19q была выявлена в 2 (2,8%) случаях, делеция 1p – в 8 (11,3%), делеция *CDKN2A* – в 13 (18,3%),

перестройка гена *BRAF* – в 7 (9,9%), гена *MYB* – в 4 (5,6%), гена *FGFR2* – в 2 (2,8%), гена *NTRK1* – в 2 (2,8%), гена *ROS1* – 1 (1,4%), гена *ALK* – в 1 (1,4%) случае, аббераций гена *FGFR3* не выявлено.

Практически во всех исследуемых опухолях (в 67 из 71) были выявлены одновременно несколько маркеров. Паттерны, образованные суррогатными иммуногистохимическими и цитогенетическими маркерами, являлись устойчивыми и формировали так называемую молекулярную подпись. Всего было выявлено 8 молекулярных подписей:

- H3K27me3 loss/ATRXloss±/p53+, сокр. «H3K27mut», n=8 (11,3%).
- IDH1R132H/ATRXloss±/p53±/1p/19q±, сокр. «IDH1mut», n=9 (12,7%).
- IDH1wt/H3K27me3 pre/ATRXloss/p53±, сокр. «ALT», n=9 (12,7%).
- IDH1wt/H3K27me3 pre/ATRXpre/BRAFwt/fMYB, сокр. «MYB», n=4 (5,6%).
- BRAFV600E/delCDKN2A+, сокр. «BRAFmut-PXA», n=11 (15,5%).
- BRAFV600E or fFGFR2/delCDKN2A-, сокр. «BRAFmut/FGFR2», n=14 (19,7%).
- IDH1wt/BRAFwt /fALK or fROS or fNTRK1/2/3, сокр. «RTK», n=4 (5,6%).
- IDH1wt /fBRAF or fNTRK1/1p deletion/ATRXloss, сокр. «GNT fBRAF/del1p», n=8 (11,3%).

При определении фенотипа опухолевых клеток в различных молекулярных подгруппах методом ИГХ установлено, что все опухоли с молекулярной подписью «H3K27mut», «RTK» и «IDH1mut» имеют астроцитарный абберантный фенотип (GFAP+, OLIG2+, CD34-); опухоли подгруппы «MYB» – зрелый глиальный фенотип (GFAP+, OLIG2-, CD34-); опухоли «BRAFmut/FGFR2» – астроцитарный диспластичный (GFAP+, OLIG2+, CD34+); все опухоли «BRAFmut-PXA» – астроцитарный абберантный с низкой экспрессией GFAP (GFAP^{low}, OLIG2+, CD34^{var}) и все опухоли «GNT fBRAF/del1p» – олигодендроглиоподобный фенотип (GFAP-, OLIG2+, CD34-). Ассоциация между фенотипом и молекулярной подписью указывала на то, что молекулярные нарушения, формировавшие молекулярную подпись, поражали одну чувствительную к ним популяцию глиальных клеток. Гетерогенность фенотипа отмечалась в подгруппе опухолей «ALT», что может быть связано с тем, что утрата нормальной функции *ATRX*, характерная для данной подгруппы, является вторичным молекулярным событием, обеспечивающим выживаемость опухолевого клона. При этом первичное молекулярное событие, обеспечивающее опухолевую трансформацию, может различаться и определять варианты фенотипа данной группы опухолей.

Была выявлена взаимосвязь между светооптической картиной опухолей, дифференцировкой пораженного клона опухолевых клеток и молекулярными подгруппами, выделенными на основании молекулярной подписи. Молекулярные подгруппы «H3K27mut», «RTK» и «GNT fBRAF/1pdel», «IDH1mut», «BRAFmut/FGFR2» и «MYB» соответствовали нозологическим категориям классификации опухолей ЦНС ВОЗ (2021). Опухоли с молекулярными подписями «BRAFmut-PXA» и «ALT» характеризовались отличной от других молекулярных групп гистологической картиной и иммунофенотипом.

При гистологическом исследовании опухоли с молекулярной подписью «ALT» представляли собой глиомы с вариабельной клеточностью и выраженным инфильтративным ростом. Опухолевые клетки были мелкими округлыми, с крупным округлым ядром с диспергированным хроматином без признаков астроцитарной дифференцировки, также определялись причудливые гигантские клетки (n=5), гемистоцитарные астроциты (n=2). Для опухолей были характерны митотическая активность (n=8), сосудистая пролиферация (n=2) и очаги некроза (n=2). Опухоли имели олигодендроглиоподобный или зрелый глиальный фенотип.

Глиомы «BRAFmut-PXA» характеризовались плеоморфно-ксантоастроцитомоподобным или псевдопапиллярным строением. Опухоли с чертами плеоморфной ксантоастроцитомы были гиперклеточными, состояли из атипичных плеоморфных клеток с астроцитарной, нейрональной или мезенхимальной дифференцировкой. Очагово клетки формировали «муаровый» паттерн. В других случаях опухоли имели псевдопапиллярное строение. Опухолевые клетки были рабдоидные, крупные, с широкой эозинофильной цитоплазмой и крупным овальным эксцентричным гипохромным ядром без ядрышка. В опухоли – высокая митотическая активность, классические палисадообразные некрозы. Сосуды имели синусоидное строение. Фенотип клеток – астроцитарный аберрантный с низкой экспрессией GFAP.

Был проведен анализ ОБ и БВ пациентов с диффузными глиомами и глионейрональными опухолями в зависимости от молекулярной подгруппы (таблица 2). В исследуемых группах «BRAFmut-PXA» и «ALT» показатели БВ были низкие, составляли $18\pm 12\%$ и $20\pm 17\%$ соответственно, были сопоставимы по значению с показателями БВ в других неблагоприятных молекулярных подгруппах «H3K27mut», «RTK», «GNT fBRAF/1pdel». ОБ в молекулярной подгруппе «BRAFmut-PXA» равнялась $53\pm 19\%$, в «ALT» - $37\pm 20\%$, что также свидетельствовало о неблагоприятном течении заболевания в данных группах. Проведенный анализ Logrank test подтвердил

наличие статистически достоверной разницы между БВ и ОВ пациентов с глиомами по сравнению с референтной группой «BRAFmut/FGFR2».

Таблица 2 – Результаты лечения педиатрических диффузных глиальных и глионейрональных опухолей

| Молекулярные подгруппы | Показатели выживаемости | | | |
|------------------------|-------------------------|--------|-----------------------------|-----------------------------|
| | ОВ | БВ | Logrank test (ОВ), <i>p</i> | Logrank test (БВ), <i>p</i> |
| «BRAFmut/FGFR2» | 100% | 92±7% | – | – |
| «BRAFmut-PXA» | 53±19% | 18±12% | <0,001 | <0,001 |
| «IDH1mut» | 40±17% | 44±17% | 0,004 | 0,006 |
| «H3K27mut» | 23±19% | 0% | <0,001 | <0,001 |
| «ALT» | 37±20% | 20±17% | 0,002 | 0,005 |
| «MYB» | 100% | 100% | – | 0,579 |
| «RTK» | 75±22% | 25±22% | 0,061 | 0,001 |
| «GNT fBRAF/1pdel» | 60±18% | 13±12% | 0,039 | 0,002 |
| Не определена | 75±22% | 50±25% | 0,060 | 0,050 |

По данным многофакторного анализа БВ с пошаговым включением таких показателей, как молекулярная подгруппа и радикальность хирургического лечения, статистически значимым независимым значением обладала только молекулярная подгруппа (таблица 3).

Таблица 3 – Результаты анализа относительных рисков Кокса

| Фактор | Результаты многофакторного анализа | | |
|------------------------|-------------------------------------|----------------------------|----------|
| | относительный риск прогрессирования | 95% доверительный интервал | <i>p</i> |
| Молекулярная подгруппа | | | |
| «BRAFmut/FGFR2» | 1 | – | – |
| «BRAFmut-PXA» | 15,1 | 1,9 – 120,6 | 0,010 |
| «IDH1mut» | 10,9 | 1,3 – 94,3 | 0,030 |
| «H3K27mut» | 47,3 | 5,4 – 415,25 | <0,001 |
| «ALT» | 12,8 | 1,4 – 109,78 | 0,021 |
| «MYB» | 2,07·10 ⁻⁷ | не определяется | 0,997 |
| «RTK» | 19,9 | 2,025 – 195,92 | 0,010 |
| «GNT fBRAF/1pdel» | 15,2 | 1,85 – 124,162 | 0,011 |
| Хирургическое лечение | | | |
| тотальное удаление | 1 | – | – |
| субтотальное удаление | 1,18 | 0,6 – 25 | 0,665 |

Проведение субтотальной резекции незначительно увеличивало риск прогрессирования заболевания (на 18%) по сравнению с референтной группой, однако различия между группами были статистически недостоверны.

На основании результатов проведенного нами исследования можно предполагать, что молекулярные подгруппы диффузных глиом являются основным фактором, определяющим развитие рецидива/прогрессии.

Результаты исследования васкуляризации диффузных глиальных и глионейрональных опухолей и перитуморозной ткани головного мозга

Нарушения васкуляризации в диффузных педиатрических глиальных и глионейрональных опухолях включали наличие сосудистых мальформаций, увеличение микроваскуляризации, сосудистую ко-опцию и признаки болезни малых сосудов в перитуморозной ткани.

Сосудистые мальформации были найдены в 6 (7,8%) случаях опухолей: артерио-венозная мальформация ($n=1$), венозная ангиома ($n=2$) и капиллярные телеангиоэктазии ($n=3$). Статистических закономерностей между наличием сосудистых мальформаций и молекулярной подгруппой, а также между наличием сосудистых мальформаций и геморрагическими некрозами выявлено не было.

Показатели микроваскуляризации в диффузных глиальных и глионейрональных опухолях были повышены по сравнению с контрольной группой. Медиана плотности микрососудов в опухолевой ткани колебалась в пределах от 96 микрососудов/ мм^2 до 268 микрососудов/ мм^2 , медиана площади микрососудов от 25 112 пикселей/ мм^2 до 153 872 пикселей/ мм^2 . Медиана плотности и площади микрососудов были достоверно выше в «BRAFmut/FGFR2» ($p=0,0001$; $p=0,0001$) и в «RTK» подгруппах ($p=0,0312$; $p=0,0092$) по сравнению с остальными подгруппами.

Качественные изменения в строении сосудистой стенки наиболее часто были представлены кальцинацией, выпадением кристаллов кальция в периваскулярное пространство, данные изменения встречались в 12 случаях. В 6 (7,8%) случаях определялись геморрагии, геморрагические некрозы, выраженная кальцинация сосудистой стенки. Геморрагические некрозы достоверно чаще определялись в «BRAFmut/FGFR2» и «RTK» ($p=0,0064$ и $p=0,0286$), что вероятно связано с большей плотностью микрососудов, чем в остальных подгруппах.

Явление сосудистой ко-опции было отмечено в 60 (77,9%) случаях: в 57 (74,0%) случаях определялся опухолевый сателлиоз, в 13 случаях – рост в периваскулярном пространстве. Наличие роста в периваскулярных

пространства достоверно чаще встречалось в молекулярных подгруппах «BRAFmut-PXA» ($p<0,0001$) и «MYB» ($p=0,0722$).

Признаки церебральной болезни малых сосудов выявлены в 24 (31,2%) случаях. Тяжесть микроангиопатии была различной: 1 grade по Esiri был установлен в 9 случаях, 2 grade – в 19 случаях, 3 grade – в 6 случаях. Паренхиматозные поражения, вызванные болезнью малых сосудов, включали расширение периваскулярных пространств (35 случаев, 45,6%), периваскулярную бледность миелиновых волокон (25 случаев, 32,5%), микрокровоизлияния (36 случаев, 46,8%), микроинфаркты (20 случаев, 25,9%), лейкоареоз (15 случаев из 45 исследованных, 33,3%), венозный коллагеноз (17 случаев из 60 исследованных, 28,3%).

Церебральная болезнь малых сосудов grade 2–3 достоверно чаще встречалась в «BRAFmut/FGFR2» подгруппе (84,6% случаев, Fishers exact test, $p<0,0001$) и в «IDH1mut» подгруппе (60% случаев, Fishers exact test, $p=0,0111$). Соответственно, частота встречаемости паренхиматозных поражений в данных молекулярных подгруппах также была выше по сравнению с остальными подгруппами: микроинфаркты были выявлены в 84,6% опухолей «BRAFmut/FGFR2» подгруппы ($p<0,0001$), в 60% опухолей «IDH1mut» групп ($p=0,0162$), лейкоареоз был выявлен в 87,5% случаях «BRAFmut/FGFR2» подгруппы ($p=0,0009$), венозный коллагеноз в 100% случаев «BRAFmut/FGFR2» подгруппы ($p<0,0001$).

Из вышеизложенных данных о состоянии сосудистого русла в опухолях следует, что наибольший риск развития сосудистых поражений в «BRAFmut/FGFR2», «IDH1mut» и «RTK» молекулярных подгруппах педиатрических диффузных глиом и глионейрональных опухолей. Полученные нами результаты о структурных особенностях сосудов в опухоли и предрасположенности к развитию ишемических и геморрагических осложнений необходимо учитывать при планировании объема хирургического лечения и назначении лучевой терапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Частота встречаемости *BRAF V600E* и делеции гена *CDKN2A* в ткани ограниченных глиом у детей составляет 24,4% и 12,9% соответственно. Мутация *BRAF V600E* и делеция *CDKN2A* достоверно чаще встречаются в ограниченных глиомах со смешанным паттерном роста ($p<0,001$ и $p=0,036$), диффузным ростом по периферии ($p<0,001$ и $p<0,001$), признаками анаплазии ($p<0,001$ и $p=0,045$) и мультифокальным ростом ($p<0,001$).

В мультивариантном анализе клинических и молекулярно-генетических характеристик подтверждено независимое прогностическое значение в отношении бессобытийной выживаемости нетотального объема хирургического лечения (ОР 6,99; 95% ДИ 1,52–32,18; $p=0,0125$) и наличия мутации *BRAF V600E* и/или делеции *CDKN2A* (ОР 5,53; 95% ДИ 1,65–18,49; $p=0,0053$) [1, 6, 10, 12].

2. Выделены молекулярные подгруппы детских диффузных глиальных и глионейрональных опухолей, имеющие диагностическое и прогностическое значение. Наиболее часто встречающейся молекулярной подгруппой детских диффузных глиальных опухолей является «BRAFmut/FGFR2», опухоли с данными молекулярными характеристиками регистрируются в 19,7% случаев. Опухоли с молекулярной подписью «H3K27mut» встречаются в 11,3% случаев, «IDH1mut» – в 12,7% случаев, «ALT» – в 12,7% случаев, «MYB» – в 5,6% случаев, «BRAFmut-PXA» – в 15,5% случаев, опухоли «опухоли «РТК» – в 5,6% случаев, опухоли «GNT fBRAF/dellp» – в 11,3% случаев.

Описаны дополнительные, не имеющие эквивалентов в классификации ВОЗ (2021), молекулярные подгруппы «BRAFmut-PXA» и «ALT». Молекулярная подгруппа «BRAFmut-PXA» включает глиальные опухоли, имеющие плеоморфное ксантоастроцитомоподобное строение или псевдопапиллярное строение, астроцитарный аберрантный фенотип с низкой экспрессией GFAP (GFAPlow OLIG2+CD34var). Молекулярная подгруппа «BRAFmut-PXA» характеризуется низкими показателями бессобытийной ($18\pm 12\%$) и общей выживаемости ($53\pm 19\%$).

Молекулярную группу «ALT» составляют диффузные глиальные опухоли, имеющие олигодендроглиоподобный (GFAP-OLIG2+CD34-) или зрелый глиальный (GFAP+OLIG2-CD34-) фенотип. Опухоли с молекулярной подписью «ALT» имеют неблагоприятный прогноз течения заболевания с бессобытийной выживаемостью $20\pm 17\%$ и общей выживаемостью $37\pm 20\%$ [2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 12].

3. Сосудистые мальформации в ткани глиом возникали в 7,8% случаев и не были связаны с определенной молекулярной подгруппой.

Показатели опухолевого ангиогенеза были повышены в «РТК» (микроваскулярная плотность 268 микрососудов/ мм^2 , $p=0,0312$; микроваскулярная площадь 153 872 пикселей/ мм^2 , $p=0,0092$) и «BRAFmut/FGFR2» (микроваскулярная плотность 488 микрососудов/ мм^2 , $p<0,0001$; микроваскулярная площадь 150 760 пикселей/ мм^2 , $p<0,0001$) молекулярных подгрупп по сравнению с опухолями других молекулярных подгрупп. Геморрагии и геморрагические некрозы достоверно чаще

встречались в «BRAFmut/FGFR2» подгруппе ($p=0,0064$) и «RTK» ($p=0,0286$) подгруппе.

Признаки болезни малых сосудов в 32,5% случаев выявлялись в перитуморозной ткани педиатрических глиом. Установлена взаимосвязь болезни малых сосудов и «IDH1mut» ($p=0,0111$) и «BRAFmut/FGFR2» подгруппы ($p<0,0001$). Паренхиматозные поражения также достоверно чаще встречались в данных подгруппах: кортикальные микроинфаркты возникали в 70% в «IDH1mut» подгруппе ($p=0,0162$) и в 84,6% случаях в «BRAFmut/FGFR2» подгруппе ($p<0,0001$), венозный коллапенос в 100% в «BRAFmut/FGFR2» подгруппе ($p<0,0001$) и лейкоареоз в 87,5% случаев в «BRAFmut/FGFR2» подгруппе ($p=0,0009$) [3, 11].

Рекомендации по практическому использованию результатов

Пациентам с ограниченными глиальными опухолям (пилоцитарной астроцитомой) с нетотальным удалением рекомендовано определение мутации BRAF V600E методом ИГХ и статуса гена *CDKN2A* методом FISH в ткани первичной опухоли. Выявление указанных маркеров позволяет отнести опухоль в неблагоприятную группу с очень высоким риском рецидива [12].

Пациентам с диффузными глиальными и глионейрональными опухолями для определения риска рецидива/прогрессии заболевания и риска развития сопутствующих сосудистых нарушений рекомендовано определение молекулярной подписи, включающей анализ экспрессии BRAF V600E, p53, ATRX, IDH1 R132H, H3K27me3 методом ИГХ и статуса генов *CDKN2A*, *FGFR2*, *BRAF*, *MYB*, 1p/19q, *NTRK1/2/3*, *ROS1*, *ALK* методом FISH. На основании определения молекулярной подписи выделяют неблагоприятные подгруппы с высоким риском рецидива – «ALT», «BRAFmut-PXA». Высокий риск развития сосудистых нарушений в «BRAFmut/FGFR2», «IDH1mut», «RTK» подгруппах [12].

Разработанный метод диагностики изложен в инструкции по применению «Метод определения вероятности прогрессирования нейроэпителиальных опухолей головного мозга у детей» [12] и внедрен в практическую деятельность в государственном учреждении «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии».

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ

Статьи в журналах, включенных в перечень ВАК

1. Клиническое значение молекулярных маркеров – мутации BRAF V600E и делеции CDKN2A – при низкоквалифицированных глиомах у детей: когортное исследование / Т. М. Михалевская, Е. В. Волочник, Н. Е. Конопля, О. И. Быданов // Онкопедиатрия. – 2019. – Т. 6, № 1. – С. 34–44.
2. Прогностическое значение суррогатного молекулярного профиля диффузных астроцитом у детей / Т. М. Михалевская, Д. Р. Капуза, Н. Е. Конопля, О. И. Быданов, О. В. Алейникова // Вопросы гематологии, онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2021. – Т. 20, № 4. – С. 69–77.
3. Spectrum of concomitant brain vascular lesions in pediatric diffuse gliomas / Т. М. Mikhaleuskaya, D. R. Kapuza, N. E. Konoplya, O. I. Bydanov // Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. – Medical series. – 2022. – Vol. 19, № 2. – P. 240–247.
4. Rare pediatric glioneuronal tumors with anaplasia : a pathological, clinical and outcome study / Т. М. Mikhaleuskaya, D. R. Kapuza, A. V. Punko, S. M. Sitsynskaya, O. I. Bydanov, N. E. Konoplya // Oncological J. – 2022. – Vol. 16, № 1. – P. 5–12.

Тезисы докладов и материалы конференций

5. Михалевская, Т. М. Анализ молекулярно-генетических нарушений в ткани олигодендроглиом детского типа / Т. М. Михалевская, Е. В. Волочник, Н. Е. Конопля // VII съезд детских онкологов России : тезисы съезда, Москва, 25–26 окт. 2018 г. – [Опубл. в журн.] Онкопедиатрия. – 2018. – Т. 5, № 3, прил. – С. 113.
6. Михалевская, Т. М. Пилоцитарные астроцитомы с признаками анаплазии: характерные гистологические и генетические изменения / Т. М. Михалевская, Е. В. Волочник, Н. Е. Конопля // Актуальные проблемы и перспективы развития детской гематологии-онкологии в РФ : сб. материалов десятого конгр. нац. общества дет. гематологов и онкологов, Сочи, РФ, 25–27 апр. 2019 г. – [Опубл. в журн.] Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2019. – Спец. номер. – С. 62–63.
7. Congenital high-grade gliomas with features of maldevelopment of brain: review of 2 cases with molecular studies / Т. Mikhaleuskaya, N. Konoplya, A. Volochnik, A. Punko // the 31th European Congress of Pathology : abstracts, Nice, France, 7-11 September, 2019. – [Publ.] Virchows Archive. – 2019. – Vol. 475, Suppl. 1 – P. 376.

8. Mikhaleuskaya, T. Prognostic relevant immunophenotypes of pediatric high-grade non-brainstem gliomas / T. Mikhaleuskaya, N. Konoplya, A. Volochnik // the 19th international symposium on pediatric neuro-oncology : abstracts, Karuizawa, Japan, 13–16 December, 2020. – [Publ.] Neuro-oncology. – 2020. – Vol. 22, Suppl. 3 – P. 426.

9. Роль определения экспрессии суррогатных иммуногистохимических маркеров для оценки прогноза диффузных астроцитом у детей / Т. М. Михалевская, Е. В. Волочник, Н. Е. Конопля, О. И. Быданов // Актуальные вопросы детской онкологии, гематологии и иммунологии : тез. докл. XV Междунар. конф., Минск, Беларусь, 31 окт. – 1 ноябр. 2019 г. – [Опубл. в журн.] Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа. – 2019. – Т. 5, № 4. – С. 520–522.

10. Метод персонализированной диагностики медуллобластом и глиальных опухолей у детей [Электронный ресурс] / Т. М. Михалевская, Е. В. Волочник, Н. Е. Конопля, О. В. Алейникова // Достижения медицинской науки Беларуси : рец. науч.-практ. ежегодник / Респ. науч. мед. б-ка. – Минск, 2019. – Режим доступа: http://med.by/dmn/book.php?book=19-10_1. – Дата доступа: 11.12.2022.

11. Предикторы развития церебральной микроангиопатии при диффузных глиальных опухолях у детей / Т. М. Михалевская, Д. Р. Капуза, О. И. Быданов, Н. Е. Конопля // Современная патологическая анатомия: научно-практический опыт, пути совершенствования и инновационные технологии морфологической диагностики, роль в клинической практике, актуальные проблемы и перспективы развития : сб. материалов IV съезда патологоанатомов Респ. Беларусь с междунар. участием, Республика Беларусь, Минск, 24–25 марта 2022 г. – Минск, 2022. – С. 222–225.

Инструкция по применению

12. Метод определения вероятности прогрессирования нейроэпителиальных опухолей головного мозга у детей: инструкция по применению № 087–0619, утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 28.06.2019 / Респ. науч.-практ. центр детской онкологии, гематологии и иммунологии ; сост.: Т. М. Михалевская, Е. В. Волочник, Н. Е. Конопля, О. В. Алейникова. – Минск, 2019. – 8 с.

РЭЗІЮМЭ

Міхалёўская Таісія Міхайлаўна СУРАГАТНЫЯ МАЛЕКУЛЯРНЫЯ МАРКЕРЫ ЯК ФАКТАРЫ ПРАГНОЗУ ГЛІЯЛЬНЫХ І ГЛІЯНЕЙРАНАЛЬНЫХ ПУХЛІН У ДЗЯЦЕЙ

Ключавыя словы: гліяльныя і гліянейранальныя пухліны ў дзяцей, прагноз, хвароба дробных сасудаў, малекулярныя маркеры

Мэта даследавання: павысіць эфектыўнасць дыягностыкі і вызначэння прагнозу гліяльных і гліянейранальных пухлін у дзяцей шляхам ацэнкі наяўнасці малекулярных маркераў.

Аб'ект і метады даследавання: на аперацыйным матэрыяле педыятрычных гліяльных і гліянейранальных пухлін выканана іммуногістахімічнае даследаванне з антыцеламі да H3K27me3, IDH1 R132H, ATRX, p53, BRAF V600E, GFAP, OLIG2, CD34 і цытагенетычнае даследаванне з вызначэннем статусу 1p, *CDKN2A*, *FGFR2*, *ALK*, *ROS1*, *BRAF*, *NTRK1/2/3*. Вызначана значнасць малекулярных маркераў для прагнозу захворвання.

Вынікі. Распрацаваны метады прагназавання рызыкі рэцыдыву пілацытарных астрацытом. Пры нетатальным выдаленні пухліны і наяўнасці маркераў *BRAF V600E* і/або дзялок гена *CDKN2A* пацыенты ставяцца ў групу высокай рызыкі рэцыдыву з беспадзейнай выжывальнасцю (БВ) 0%.

Выяўлены дадатковыя групы дыфузных гліяльных і гліянейранальных пухлін у дзяцей з малекулярнымі подпісамі "BRAFmut-PXA" і "ALT", якія маюць неспрыяльны прагноз захворвання і характарызуюцца беспадзейнай выжывальнасцю, роўнай $18 \pm 12\%$ і $20 \pm 17\%$ адпаведна.

Упершыню праведзена даследаванне частаты распаўсюджанасці судзінкавых параз мозгу ў пацыентаў з дыфузнымі гліяльнымі пухлінамі. Устаноўлена залежнасць паміж наяўнасцю гемарагічных параз і «BRAFmut/FGFR2» і «RTK» малекулярнымі падгрупамі, а таксама паміж наяўнасцю хваробы дробных сасудаў, парэнхіматычных паражэнняў мозгу і «BRAFmut/FGFR2» і «IDH1mut» падгрупамі гліём.

Вобласць ужывання: анкалогія, паталагічная анатомія.

РЕЗЮМЕ

Михалевская Таисия Михайловна
СУРРОГАТНЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ КАК ФАКТОРЫ
ПРОГНОЗА ГЛИАЛЬНЫХ И ГЛИОНЕЙРОНАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ У
ДЕТЕЙ

Ключевые слова: глиальные и глионейрональные опухоли у детей, прогноз, болезнь малых сосудов, молекулярные маркеры

Цель исследования: повысить эффективность диагностики и определения прогноза глиальных и глионейрональных опухолей у детей путем оценки наличия молекулярных маркеров.

Объект и методы исследования: на операционном материале педиатрических глиальных и глионейрональных опухолей выполнено иммуногистохимическое исследование с антителами к H3K27me3, IDH1 R132H, ATRX, p53, BRAF V600E, GFAP, OLIG2, CD34 и цитогенетическое исследование с определением статуса 1p, *CDKN2A*, *FGFR2*, *ALK*, *ROS1*, *BRAF*, *NTRK1/2/3*. Определена значимость молекулярных маркеров для прогноза заболевания.

Результаты. Разработан метод прогнозирования риска рецидива пилоцитарных астроцитом. При нетотальном удалении опухоли и наличии маркеров *BRAF V600E* и/или делеции *CDKN2A* пациенты относятся в группу высокого риска с бессобытийной выживаемостью (БВ) 0%.

Выявлены дополнительные группы диффузных глиальных и глионейрональных опухолей у детей с молекулярными подписями «*BRAFmut-PXA*» и «*ALT*», которые имеют неблагоприятное течение и характеризуются бессобытийной выживаемостью, равной $18\pm 12\%$ и $20\pm 17\%$ соответственно.

Впервые проведено исследование частоты встречаемости сосудистых поражений мозга у пациентов с диффузными глиальными опухолями. Установлена зависимость между наличием геморрагических поражений и «*BRAFmut/FGFR2*» и «*RTK*» молекулярными подгруппами, а также между наличием болезни малых сосудов, паренхиматозных поражений мозга и «*BRAFmut/FGFR2*» и «*IDH1mut*» подгруппами глиом.

Область применения: онкология, патологическая анатомия.

SUMMARY

Mikhaleuskaya Taisiya Mikhailavna

SURROGATE MOLECULAR MARKERS AS PROGNOSTIC FACTORS FOR GLIAL AND GLIONEURONAL TUMORS IN CHILDREN

Keywords: pediatric glial and glioneuronal tumors, prognosis, small vessel disease, molecular markers

Aim: to improve the diagnostics and efficiency of determining the prognosis of glial and glioneuronal tumors in children by assessing the presence of molecular markers.

Object and methods: cases of pediatric glial, glioneuronal tumors were analyzed using immunohistochemical assay with antibodies to H3K27me3, IDH1 R132H, ATRX, p53, BRAF V600E, GFAP, OLIG2, CD34 and cytogenetic study of 1p, *CDKN2A*, translocations *FGFR2*, *ALK*, *ROS1*, *BRAF*, *NTRK1/2/3* genes. Prognostic significance of the molecular markers was determined.

Results. A method for predicting the recurrence of pilocytic astrocytomas has been designed. Patients with pilocytic astrocytomas with non-total tumor resection and the presence of *BRAF V600E* markers and/or deletion of the *CDKN2A* gene, belong to high risk group of recurrence with an event-free survival (EFS) of 0%.

Additional groups of diffuse glial and glioneuronal tumors in children with molecular signatures "BRAFmut-PXA" and "ALT" were identified, which have an unfavorable course with event-free survival, equal to 18±12% and 20±17%, respectively.

For the first time, the incidence of brain vascular lesions in patients with diffuse glial tumors was studied. We find a statistical relationship between the presence of hemorrhagic lesions and «BRAFmut/FGFR2» and «RTK» molecular subgroups and between the incidence of small vessel disease, brain parenchymal lesions, and «BRAFmut/FGFR2» and «IDH1mut» molecular subgroups of gliomas.

Field of application: oncology, pathology.