



русной нагрузкой и слабой силы — с продолжительностью заболевания. Имеется тенденция к более высоким показателям уровня галектина-3 при длительном течении ХГС в сравнении с ранними сроками его развития, при этом достоверно выше средний уровень галектина-3 у пациентов с минимальным фиброзом печени ($F_0 - F_1$) по сравнению с продвинутыми стадиями, что позволяет предположить его важное значение в пусковых и инициальных механизмах фиброгенеза.

Ключевые слова: хронический гепатит С, галектин-3, фиброз печени.

SUMMARY

N. S. Zhevnerova, T. V. Antonova, V. A. Kovaleva

Clinical and laboratory characteristics of chronic hepatitis C on the early stages of development

Aim of the research — to assess the clinical and laboratory parameters in patients with chronic hepatitis C (CHC) on the early stages of development and their comparison with the level of galectin-3. The study included 78 patients with oligosymptomatic course of the disease and minimal liver fibrosis in the most cases. In the most patients with stages of the disease exceeding 8 years, viral load was over a million copies/ml. In 10 % of patients on the early stages of the disease, changes corresponding to severe liver fibrosis and cirrhosis F_3 and F_4 were detected. Moderate correlation of ALT activity, viral load and low severity with the duration of the disease was identified. There is a trend towards a higher level of galectin-3 in a long course of CHC in comparison with earlier stages of its development, with significantly higher average level of galectin-3 in patients with minimal liver fibrosis ($F_0 - F_1$) as compared to advanced stages, suggesting its importance in the launching and initial mechanisms of fibrogenesis.

Keywords: chronic hepatitis C, galectin-3, liver fibrosis.

© Коллектив авторов, 2016 г.
УДК 616-006.484-053.32

**П. С. Солтан, Ф. В. Моисеенко,
В. Н. Очколяс, В. Ю. Старцев**

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ У ДЕТЕЙ

ООО «БиоВитрум», Санкт-Петербург; Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет РАН; Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова; Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет

ВВЕДЕНИЕ

Внутричерепные опухоли представляют собой группу наиболее частых солидных опухолей у детей. Ежегодно выявляется 4,3 случая первичных опухолей головного мозга (ОГМ) на 100 000 детей, более 40 % неоплазм представлены глиомами низкой степени злокачественности [11, 12, 23]. Стандартное лечение детей с глиальными опухолями включает максимально радикальное хирургическое удаление новообразования, а также адъювантную лучевую (ЛТ) и лекарственную терапию (ХТ) [13]. Несмотря на использование современных методов диагностики и лечения, 5-летняя выживаемость пациентов не превышает 5 — 10 %, и рецидивирование опухоли в ближайшие сроки после специализированного лечения в большинстве случаев признается неизбежным [15, 21]. К одной из причин невысоких результатов терапии этих больных относят невозможность интраоперационного удаления микроскопических очагов, не визуализируемых с помощью современных диагностических методик [5, 13, 18].

В настоящее время наиболее перспективным лечебным подходом при ОГМ считают комбинированное использование таргетных препаратов, блокирующих различные сигнальные каскады, что играет определяющую патогенетическую роль для остановки развития опухоли [21]. Сегодня известно, что патогенез глиом, как и других солидных опухолей, обусловлен различными биологическими процессами, основанными на активации различных сигнальных каскадов. Наиболее изучены в этой группе рецепторы ростовых факторов, а также основы ангиогенеза. Однако результаты многочисленных исследований с использованием лекарственных средств с таргетным механизмом действия, с учетом специфической мишени, но без предварительной селекции больных, не показали значимых результатов [26].

Комплексная оценка профиля молекулярно-генетических нарушений считается крайне перспективным направлением для выбора оптимальной терапии [22]. Результаты исследований, проведенных у больных взрослого возраста с ОГМ, позволили выявить многочисленные нарушения активности сигнальных каскадов и, как следствие, значительное число потенциальных мишеней для таргетных препаратов [2, 3].

В связи с вышеизложенным, представляется актуальным изучить профиль молекулярно-генетических нарушений при ОГМ у детей с целью определения потенциальных кандидатов для лекарственной терапии с направленным механизмом действия.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включены 30 больных (20 (66 %) мальчиков и 10 (34 %) девочек), средний возраст — 9,9 года (от 1 до 17 лет). Повторный анализ всех удаленных опухолей выполнен независимым сертифи-

цированным патоморфологом и классифицирован согласно ВОЗ [16]. Характеристика пациентов приведена в табл. 1.

Как следует из данных табл. 1, 70 % новообразований относились к высокозлокачественным: G_{III} — в 47,0 % случаев, G_{IV} — в 23,0 % случаев. Остальные 9 опухолей расценены как неоплазмы низкой степени злокачественности: G_I — в 20,0 % и G_{II} — в 10,0 % образцов. С точки зрения варианта гистологического строения, наиболее часто определялись анапластические олигоastroцитомы и анапластические astroцитомы (30 % от общего числа исследованных случаев). В работу включены исследования 6 пилоцитарных astroцитом (20 %): по 2 фибриллярных и пиломиксоидных astroцитом и 2 глиобластомы. Большинство опухолей (74,0 %) локализовались супратенториально, 3 — в стволе мозга и 5 — в субтенториальных структурах. Независимо от локализации, 15 (50,0 %) новообразований удалены субтотально, а 10 (34,0 %) — радикально. В 16 % случаев (n = 5) опухоль удалена частично.

Выделение ДНК проводили из материала опухолей, полученного после хирургического лечения больных и прошедшего стандартную процедуру гистологического исследования в патоморфологической лаборатории. После гистологической верификации опухолевой ткани 2–4 среза опухолей с парафиновых блоков, толщиной 15 мкм, наносили на предметные стекла. Выделение областей с максимальным содержанием опухолевых клеток производили методом стереотактической диссекции,

под контролем световой микроскопии. В данный этап включены образцы неоплазм, содержавшие более 40 % опухолевых клеток. Для получения ДНК из срезов парафиновых блоков использовали стандартную методику, основанную на расщеплении тканей протеиназой К, с последующим выделением нуклеиновых кислот фенол-формалиновым методом [10]. Объем полученной ДНК оценивали с помощью метода спектрофотометрии. В последующем растворы нуклеиновых кислот разводили дистиллированной водой до концентрации 10 мг/мл.

Молекулярно-генетический анализ производили на базе платформы, разработанной компанией *Sequenom*. В данной работе использована мутационная панель OncoCarta v1.0, включавшая 24 пула пар праймеров и соответствующих им 24 пула «расширяющих» праймеров [29], что позволило определить 298 мутаций в 19 генах (табл. 2).

Каждый пул включал 5–9 пар праймеров для проведения полимеразно-цепной реакции (ПЦР). Мутации выявляли в несколько этапов, согласно методике OncoCarta Panel v1.0. Объем реакции составил 5 мкл, включая 0,1 Ед Taq-полимеразы, 5 нг геномной ДНК, 2,5 пмоль каждого из ПЦР-праймеров и 2,5 мкмоль dNTP (дезоксинуклеотид трифосфат). Проведение ПЦР начиналось с 10-минутной активации Taq-полимеразы при 95 °С; для накопления ПЦР-продукта проводилось 45 циклов амплификации (денатурация: 15 с при 95 °С; отжиг: 30 с при 57 °С; синтез: 30 с при 72 °С). Праймеры и зонды, использованные для стандартной и расширяющей амплификации, входили в состав комплекта для проведения работы. Детальная характеристика использованных реактивов была описана R. K. Thomas et al. в 2007 г. [29].

На этапе II все неизрасходованные dNTP деградировались с помощью алкальной фосфатазы креветки. В каждую лунку добавляли по 0,3 Ед фермента, после чего полученный раствор инкубировали при 45 °С в течение 4 ч. Праймеры расширяли путем добавления 5,4 пмоль расширяющих зондов для каждого из ампликонов, с 50 мкмоль соответствующей комбинации dNTP/ddNTP и 0,5 Ед термосеквенанзной ДНК-полимеразы. Цикл данной реакции начинался с 2-минутной активации фермента при 95 °С, с последующими 40 циклами амплификации (денатурация: 5 с при 94 °С; отжиг: 5 с при 50 °С; синтез: 5 с при 72 °С). После удаления остаточных солей из раствора при помощи катионообменной смолы, 7 мл раствора расширенных ампликонов переносились на чип SpectroCHIP. Анализ полученного массива производился с использованием масс-спектрометра (SpectroREADER, *Sequenom*).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ частоты мутаций в срезах парафиновых блоков детских глиальных ОГМ позволил выявить

Таблица 1
Клиническая характеристика больных (n=30)

Исследуемые показатели	Число пациентов, абс. (%)
Пол:	
мужчины	20 (66,0)
женщины	10 (34,0)
Варианты гистологического строения:	
анапластическая astroцитомы	9 (30,0)
фибрилярная astroцитомы	2 (6,6)
пиломиксоидная astroцитомы	2 (6,6)
пилоцитарные astroцитомы	6 (20,0)
анапластические олигоastroцитомы	9 (30,0)
глиобластомы	2 (6,6)
Степень злокачественности:	
I	6 (20,0)
II	3 (10,0)
III	14 (47,0)
IV	7 (23,0)
Характер оперативного лечения:	
радикальное	10 (34,0)
субтотальное	15 (50,0)
частичное	5 (16,0)
Локализация опухоли в структурах мозга:	
субтенториально	5 (16,0)
ствол мозга	3 (10,0)
супратенториально	22 (74,0)

10 мутаций в 9 из 30 образцов. Выявленные изменения приведены в табл. 3.

Только в одном случае в опухолевой ткани одновременно выявлены изменения двух генов. В целом выявлены следующие молекулярные нарушения: *EGFR*: *EGFR* (N771_P772>SVDNR, A289V), *BRAF* (V600E), *HRAS* (G13S) и *PI3K* (N345K, H1047R). Кроме того, обнаружены мутации в рецепторах, определяющих передачу сигналов по сигнальным каскадам, связанным с *EGFR*: *FGFR3* (K650M) и *MET* (T992I).

Статистический анализ по методу Пирсона, проведенный для выявления корреляций между клиническими характеристиками (возраст, пол, размер опухоли, характер хирургического лечения) и молекулярно-генетическими изменениями, не выявил значимых закономерностей в частоте возникновения мутаций в целом и их отдельных видов.

В нашей работе впервые на популяции российских больных проведена комплексная оценка молекулярных изменений сигнальных каскадов в клетках глиальных опухолей у детей. Активирующие молекулярные нарушения выявлены в 9/30 образцов (30,0%), что является клинически значимой частотой, определяющей целесообразность изучения данного вопроса.

В отобранных образцах мы выявили несколько потенциально активирующих генетических нарушений. Среди них наиболее часто измененным являлся ген *EGFR*. Так, в 2 случаях выявлена мутация

Анализируемые генетические изменения

Ген	Определяемые мутации
ABL-1	G250E, Q252H, Y253H, Y253F, E255K, E255V, D276G, F311L, T315I, F317L, M351T, E355G, F359V, H396R
AKT-1	V461L, P388T, L357T, E319G, V167A, Q43X, E17del
AKT-2	S302G, R371H
BRAF	G464R, G464V/E, G466R, F468C, G469S, G469E, G469A, G469V, G469R, G469R, D594V/G, F595L, G596R, L597S, L597R, L597Q, L597V, T599I, V600E, V600K, V600R, V600L, K601N, K601E
CDK-4	R24C, R24H
EGFR	R108K, T263P, A289V, G598V, E709K/H, E709A/G/V, G719S/C, G719A, M766_A767insAI, S768I, V769_D770insASV, V769_D770insCV, D770_N771>AGG/V769_D770insASV/V769_D770insASV, D770_N771insG, N771_P772>SVDNR, P772_H773insV, H773>NPY, H773_V774insNPH/PH/H, V774_C775insHV, T790M, L858R, L861Q, E746_T751del, E746_A750del, E746_T751del, E746_T751del, S752D, L747_E749del, L747_T750del, L747_S752del, L747_T751del, L747_S752del, P753S, A750P, T751A, T751P, T751I, S752I/F, S752_I759del, L747_Q ins, E746_T751del, I ins (combined), E746_A750del, T751A (combined), L747_E749del, A750P (combined), L747_T750del, P ins (combined), L747_S752del, Q ins (combined)
ERBB2	L755P, G776S/LC, G776VC/VC, A775_G776insYVMA, P780_Y781insGSP, P780_Y781insGSP, S779_P780insVGS
FGFR-1	S125L, P252T
FGFR-3	G370C, Y373C, A391E, K650Q/E, K650T/M
FLT-3	I836del, D835H/Y
JAK-2	V617F
KIT	D52N, Y503_F504insAY, W557R/R/G, V559D/A/G, V559I, V560D/G, K550_K558del, K558_V560del, K558_E562del, V559del, V559_V560del, V560del, Y570_L576del, E561K, L576P, P585P, D579del, K642E, D816V, D816H/Y, V825A, E839K, M552L, Y568D, F584S, P551_V555del, Y553_Q556del
MET	R970C, T992I, Y1230C, Y1235D, M1250T
PDGFRa	V561D, T674I, F808L, D846Y, N870S, D1071N, D842_H845del, I843_D846del, S566_E571>K, I843_S847>T, D842V
PIK3CA	R88Q, N345K, C420R, P539R, E542K, E545K, Q546K, H701P, H1047R/L, H1047Y, R38H, C901F, M1043I
H-RAS	G12V/D, G13C/R/S, Q61H/H, Q61L/R/P, Q61K
K-RAS	G12C, G12R, G12S, G12V, G12D, G12A, G12F, G13V/D, A59T, Q61E/K, Q61L/R/P, Q61H/H
N-RAS	G12V/A/D, G12C/R/S, G13V/A/D, G13C/R/S, A18T, Q61L/R/P, Q61H, Q61E/K
RET	C634R, C634W, C634Y, E632_L633del, M918T, A664D

дальнейшего

в экзоне 20 (N771_P772>SVDNR), а в 1 случае – в 7-м экзоне внеклеточного домена (A298V). Во время как возможность существования первого вида мутаций уже показана для первичных ОГМ, точковый замер в 771 позиции выявлен при данном типе опухолей впервые [8, 9]. Кроме того, выявлены

Таблица 3

Клиническая и генетическая характеристика детских глиальных опухолей

Каскад	Вариант мутированного гена	Grade	Степень радикальности хирургического лечения	Локализация опухоли	Имеющиеся лечебные возможности
<i>EGFR</i>	<i>EGFR</i> (n=3)	III, IV	Радикально (2/3), субтотально (1/3)	СТ (2/3), ствол мозга (1/3)	МКА: цетукимаб, панитумумаб, ИТК: эрлотиниб, gefитиниб
	<i>BRAF</i> (n=2)	II III	Радикально (1/3), субтотально (1/2)	СТ (2/2)	ИТК: PLX4032
	<i>PI3K</i> (n=1)	III	Субтотальное	СТ	ИТК: в настоящее время проходят клинические исследования
	<i>HRAS</i> (n=1)	II	Частичное	СТ	Негативный предиктивный маркер для блокирования <i>EGFR</i> и <i>PI3K</i>
<i>MET</i>	<i>MET</i> (n=1)	I	Субтотальное	Субтенториально	Резистентность к <i>EGFR</i> -блокированию
<i>FGFR</i>	<i>FGFR</i> (n=1)	IV	Ствол	Частичное	МКА находятся на стадии клинической разработки

Примечание: МКА – моноклональные антитела; ИТК – ингибиторы тирозин-киназ; СТ – супратенториальное расположение.

нарушения в нижележащих сигнальных молекулах, участвующих в передаче сигнала от *EGFR*, в частности — *PI3K*.

Как показано ранее, наличие мутаций *PI3K* может повышать пролиферативную активность опухолевых клеток [4]. Среди молекулярных нарушений, уже известных ранее, обнаруженные нами *R88Q* и *H1047R* относятся к относительно редким [19]. Кроме того, был выявлен и другой вид редких молекулярных нарушений *PI3K* — *N345K*, имеющих активирующее значение при некоторых видах неглиальных злокачественных опухолей [7, 24, 29].

Шунтирующим *EGFR*-связанным молекулярным путем является сигнальный каскад гепатоцеллюлярного фактора роста (сМЕТ). В настоящее время описано несколько механизмов изменения активности данной молекулы [19, 20]. В качестве примера можно привести амплификацию, ауто- и паракринную активацию, а также мутационные нарушения. В нашем исследовании в 1 из случаев выявлена мутация *T992I*, также известная как *T1010I* [28]. Патогенетического значения этого нарушения на сегодня не установлено, так как это не приводит к изменению фосфорилирования нижележащих сигнальных молекул. Тем не менее наблюдение *T992I* в опухолях глиальной природы выполнено впервые.

Проведенное исследование с использованием OncoCarta v.1.0 на генетическом материале детских опухолей головного мозга глиальной природы продемонстрировало возможность определения мутаций *BRAF*, описанных ранее для опухолей легкого, меланомы кожи [1, 6]. Мы выявили наиболее частый вариант нарушений этого гена — *V600E* в 14,5% случаев, что превосходит подобный показатель для ОГМ низкой степени злокачественности.

Среди других молекулярных нарушений необходимо отметить выявленную в нашем исследовании мутацию фактора роста фибробластов-3 (FGFR3) *K650M*, что ранее было описано для немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря. Кроме того, не обнаружена мутация в гене *PDGFR*, что подтверждено в исследованиях прежних лет, при низкоклеточных ОГМ [14].

Помимо активирующих нарушений патогенетически важных сигнальных каскадов, нами показаны нарушения фундаментальных механизмов клеточного деления. Так, *R24C* — единственная известная в настоящий момент мутация в гене *CDK4*, определяющая входжение клетки в фазу *G1*, выявлена в 1 из исследованных нами случаев. Подобный тип нарушений был уже показан ранее в глиальных опухолях у взрослых [25]. Выявленные нами активирующие мутации в генах *BRAF*, *EGFR*, *FGFR* и *PI3K* подтверждают необходимость глубокого изучения молекулярно-генетических особенностей детских опухолей.

ВЫВОДЫ

Целесообразна реализация современных методик высокоэффективного скрининга опухолей головного мозга у больных детского возраста, в том числе с использованием OncoCarta v1.0 (*Sequenom*, USA). Это актуально для деятельности онкопедиатров и нейрохирургов, поскольку поможет широко применить возможности адъювантного лечения пациентов, перенесших нерадикальные операции. В свою очередь, применение полученных результатов в клинической практике поможет увеличить показатель общей выживаемости детей с впервые выявленными злокачественными опухолями головного мозга.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bentley D. R. et al. Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry // *Nature*. — 2008. — № 456 (7218). — P. 53–59.
2. Cerami A. et al. Automated network analysis identifies core pathways in glioblastoma // *PLoS One*. — 2010. — № 5 (2). — P. e8918.
3. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways / TCGA // *Nature*. — 2008. — № 455 (7216). — P. 1061–1068.
4. Engelman J. A., Luo J., Cantley L. C. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism // *Nat. Rev. Genet.* — 2006. — № 7 (8). — P. 606–619.
5. Ford J. M. et al. Results of the phase I dose-escalating study of motexafin gadolinium with standard radiotherapy in patients with glioblastoma multiforme // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* — 2007. — № 69 (3). — P. 831–838.
6. Forshew T. et al. Activation of the ERK/MAPK pathway: a signature genetic defect in posterior fossa pilocytic astrocytomas // *J. Pathol.* — 2009. — № 218 (2). — P. 172–181.
7. Gymnopoulos M., Elsliger M. A., Vogt P. K. Rare cancer-specific mutations in PIK3CA show gain of function // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2007. — № 104 (13). — P. 5569–5574.
8. Idbaih A. et al. Epidermal growth factor receptor extracellular domain mutations in primary glioblastoma // *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* — 2009. — № 35 (2). — P. 208–213.
9. Idbaih A. et al. Therapeutic application of noncytotoxic molecular targeted therapy in gliomas: growth factor receptors and angiogenesis inhibitors // *Oncologist*. — 2008. — № 13 (9). — P. 978–992.
10. Imyaninov E. N. et al. Partial restoration of degraded DNA from archival paraffin-embedded tissues // *Biotechniques*. — 2001. — № 31 (5). — P. 1000; 1002.
11. Kaatsch P. Epidemiology of childhood cancer // *Cancer Treat Rev.* — 2010. — № 36 (4). — P. 277–285.
12. Kaatsch P. et al. Population-based epidemiologic data on brain tumors in German children // *Cancer*. — 2001. — № 92 (12). — P. 3155–3164.
13. Karajannis M., Allen J. C., Newcomb E. W. Treatment of pediatric brain tumors // *J. Cell. Physiol.* — 2008. — № 217 (3). — P. 584–589.
14. Knobbe C. B., Reifenberger J., Reifenberger G. Mutation analysis of the Ras pathway genes NRAS, HRAS, KRAS and BRAF in glioblastomas // *Acta Neuropathol.* — 2004. — № 108 (6). — P. 467–470.
15. Law M. et al. Gliomas: predicting time to progression or survival with cerebral blood volume measurements at dynamic susceptibility-weighted contrast-enhanced perfusion MR imaging // *Radiology*. — 2008. — № 247 (2). — P. 490–498.

16. Louis D. N. et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system // *ActaNeuropathol.* — 2007. — № 114 (2). — P. 97–109.

17. MacConaill L. E. et al. Profiling critical cancer gene mutations in clinical tumor samples // *PLoS One.* — 2009. — № 4 (11). — P. e7887.

18. Massimino M. et al. Diffuse pontine gliomas in children: changing strategies, changing results? A mono-institutional 20-year experience // *J. Neurooncol.* — 2008. — № 87 (3). — P. 3355–3361.

19. Navis A. C. et al. Identification of a novel MET mutation in high-grade glioma resulting in an auto-active intracellular protein // *ActaNeuropathol.* — 2015. — № 130 (1). — P. 131–144.

20. Onvani S. et al. Molecular genetic analysis of the hepatocyte growth factor/MET signaling pathway in pediatric medulloblastoma // *Genes Chromosomes Cancer.* — 2012. — № 51 (7). — P. 675–688.

21. Recinos P. F., Sciubba D. M., Jallo G. I. Brainstem tumors: where are we today? // *Pediatr. Neurosurg.* — 2007. — № 43 (3). — P. 192–201.

22. Reifenberger G., Collins V. P. Pathology and molecular genetics of astrocytic gliomas // *J. Mol. Med.* — 2004. — № 82 (10). — P. 656–670.

23. Rickert C. H., Paulus W. Epidemiology of central nervous system tumors in childhood and adolescence based on the new WHO classification // *Childs Nerv. Syst.* — 2001. — № 17(9). — P. 503–511.

24. Sabine V. S. et al. Mutational analysis of PI3K/AKT signaling pathway in tamoxifen/exemestane adjuvant multinational pathology study // *J. Clin. Oncol.* — 2014. — № 32 (27). — P. 2951–2958.

25. Schmidt E. E. et al. CDKN2 (p16/MTS1) gene deletion or CDK4 amplification occurs in the majority of glioblastomas // *Cancer Res.* — 1994. — № 54 (24). — P. 6321–6324.

26. Sievert A. J., Fisher M. J. Pediatric low-grade gliomas // *J. Child Neurol.* — 2009. — № 24 (11). — P. 1397–1408.

27. Thomas R. K. et al. High-throughput oncogene mutation profiling in human cancer // *Nat. Genet.* — 2007. — № 39 (3). — P. 347–351.

28. Tyner J. W. et al. MET receptor sequence variants R970C and T992I lack transforming capacity // *Cancer Res.* — 2010. — № 70 (15). — P. 6233–6237.

29. Vogt P. K. et al. Phosphatidylinositol 3-kinase: the oncoprotein // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* — 2010. — № 347. — P. 79–104.

РЕЗЮМЕ

П. С. Солтан, Ф. В. Моисеенко, В. Н. Очколяс, В. Ю. Старцев

Молекулярно-генетические исследования глиальных опухолей у детей

Глиобластомы у детей представляют собой наиболее частые злокачественные новообразования среди первичных опухолей головного мозга. Несмотря на развитие комп-

лексного лечебного подхода, включающего нейрохирургические, радиотерапевтические и химиотерапевтические методики, общая выживаемость больных с впервые выявленными опухолями остается крайне низкой, не превышая 14 месяцев. При использовании таргетных препаратов, в частности, gefitiniba, в общей популяции больных продемонстрирована низкая клиническая эффективность. Наиболее перспективным в настоящий момент является определение популяции больных, потенциально чувствительных к действию таргетных препаратов, с учетом определения предиктивных молекулярных маркеров. В данной работе определены мутационные изменения в тканях 30 детских глиобластом. Анализ данных, основанный на результатах масс-спектрометрического секвенирования (OncoCarta v1.0, *Sequenom*), позволил определить 298 мутаций в 19 генах и идентифицировать 10 мутаций в 9 опухолях (30%). Изменения выявлены в генах *BRAF*, *CDK*, *HRAS*, *EGFR*, *FGFR*, *MET* и *PI3K*. Наиболее часто (6/30, 20% опухолей) мутации выявлены у участников сигнального каскада *EGFR*. Полученные результаты позволяют говорить о потенциальных возможностях изучения новейших таргетных препаратов, включая ингибиторы *BRAF*, для лечения больных детского возраста с глиальными опухолями головного мозга.

Ключевые слова: детские глиальные опухоли, мутации, таргетная терапия, масс-спектрометрическое секвенирование.

SUMMARY

P. S. Soltan, F. V. Moiseenko, V. N. OchkoLYas, V. Yu. Startsev

Molecular genetic studies of glial tumors in children

Glioblastomas are the most frequent malignant neoplasm among primary brain tumors of childhood. Despite the advances in a multimodality treatment approach including neurosurgery, radiotherapy and chemotherapy, the overall survival of such patients remains poor and doesn't exceed 14 months. The using of targeted agents such as gefitinib in unselected patient populations showed insufficient efficacy. Nowadays, the most perspective approach is a selection of patient populations potentially sensitive to targeted therapy based on predictive markers of response. We performed a comprehensive analysis of the mutational patterns in 30 glioblastomas of children. Data Analysis was based on the new method of mass spectrometry (OncoCarta v1.0, *Sequenom*) that enabled us to estimate 298 mutations in 19 genes and to identify 10 mutations in 9 tumors (30%). Mutations were found in *BRAF*, *CDK*, *HRAS*, *EGFR*, *FGFR*, *MET* and *PI3K*. The most mutated pathway was *EGFR* — in 20% of the samples (6/30). The obtained results seem to be very promising in terms of possibilities of using new targeted agents including *BRAF* inhibitors for treatment of children with glial brain tumors.

Keywords: glial tumors in children, mutations, targeted therapy, mass spectrometry sequencing.