

DOI: 10.21294/1814-4861-2021-20-3-5-17

УДК: 616-006.484.04-036.65:575.113

Для цитирования: *Мацко М.В., Скляр С.С., Улитин А.Ю., Мацко Д.Е., Имянитов Е.Н., Иевлева А.Г., Ни В.И., Волков Н.М., Зрелов А.А., Бакшеева А.О., Галкина Д.В.* Изменение уровня экспрессии гена *MGMT* у пациентов с первичной глиобластомой после рецидива. Влияние клинических характеристик и экспрессии гена *MGMT* на продолжительность жизни больных. Сибирский онкологический журнал. 2021; 20(3): 5–17. – doi: 10.21294/1814-4861-2021-20-3-5-17

For citation: *Matsko M.V., Sklyar S.S., Ulitin A.Yu., Matsko D.E., Imyanitov E.N., Ievleva A.G., Ni V.I., Volkov N.M., Zrellov A.A., Baksheeva A.O., Galkina D.V.* Changes in the *MGMT* gene expression in patients with primary glioblastoma after relapse. Influence of clinical characteristics and *MGMT* expression on survival of patients. Siberian Journal of Oncology. 2021; 20(3): 5–17. – doi: 10.21294/1814-4861-2021-20-3-5-17

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *MGMT* У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНОЙ ГЛИОБЛАСТОМОЙ ПОСЛЕ РЕЦИДИВА. ВЛИЯНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК И ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *MGMT* НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ БОЛЬНЫХ

**М.В. Мацко^{1,2,3}, С.С. Скляр⁴, А.Ю. Улитин⁴, Д.Е. Мацко^{1,2,3,4},
Е.Н. Имянитов^{5,6,7}, А.Г. Иевлева^{6,7}, В.И. Ни^{6,8}, Н.М. Волков^{1,3},
А.А. Зрелов⁴, А.О. Бакшеева⁹, Д.В. Галкина²**

ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)», г. Санкт-Петербург, Россия¹

Россия, 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68а, Лит. А.

E-mail: marinamatsko@mail.ru¹

ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург, Россия²

Россия, 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9²

ЧОУ ВО «Санкт-Петербургский медико-социальный институт», г. Санкт-Петербург, Россия³

Россия, 195271, г. Санкт-Петербург, Кондратьевский пр., 72, лит. А³

«РНХИ им. проф. А.Л. Поленова» – филиал ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия⁴

Россия, 191014, г. Санкт-Петербург, ул. Маяковского, 12⁴

ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова»

Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия⁵

Россия, 195067, г. Санкт-Петербург, Пискаревский пр., 47⁵

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия⁶

Россия, 197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68⁶

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет»

Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия⁷

Россия, 194100, г. Санкт-Петербург, Литовская улица, 27

ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова РАН»,

г. Санкт-Петербург, Россия⁸

Россия, 194223, г. Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44⁸

СПБ ГБУЗ «Детский городской многопрофильный клинический центр

высоких медицинских технологий им. К.А. Раухфуса» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия⁹

Россия, 191036, г. Санкт-Петербург, Лиговский пр., 8⁹

Аннотация

Актуальность. За последние 10–15 лет сложилось представление о биологических процессах, происходящих в клетках первичной глиобластомы. В настоящее время остаются неизученными изменение экспрессии гена *MGMT* и его роль после рецидива заболевания. **Цель исследования** – изучить изменение экспрессии гена *MGMT* при рецидивировании первичной глиобластомы после стандартной терапии и определить влияние клинических факторов и экспрессии гена *MGMT* на безрецидивную выживаемость больных. **Материал и методы.** Проведен проспективный анализ клинических и молекулярно-генетических характеристик 21 пациента в возрасте от 28 до 63 лет с глиобластомой до и после рецидива. Экспрессия мРНК гена *MGMT* и мутации в генах *IDH1* и *IDH2* определялись при помощи ПЦР-методик в материалах от первой и второй операций. Все пациенты после первой операции получали лучевую терапию (60 Гр) и химиотерапию темозоломидом (2–18 циклов). Вторая линия химиотерапии проведена 17 (80,9 %) пациентам и в 8 (47 %, 8/17) случаях – темозоломидом. **Результаты.** Установлена зависимость первого безрецидивного периода от экспрессии мРНК гена *MGMT* (73,5 нед vs 33 нед, $p=0,013$) и от наличия объективного ответа на терапию (88 нед vs 36 нед, $p=0,046$). Число циклов химиотерапии темозоломидом в 1-й линии повлияло на длительность первого безрецидивного периода с тенденцией к достоверности (65 нед vs 21,5 нед, $p=0,07$). Не отмечено влияния возраста ($p=0,64$), пола ($p=0,17$), функционального статуса по шкале Карновского ($p=0,43$), объема поражения ($p=0,41$) и степени циторедукции ($p=0,27$). При рецидивах экспрессия мРНК гена *MGMT* осталась прежней в 66,7 % (14/21), повышение экспрессии наблюдалось в 23,8 % (5/21), снижение – в 9,5 % (2/21). На второй безрецидивный период оказала влияние степень циторедукции, хотя статистически значимых различий получено не было ($p=0,52$). Влияния экспрессии мРНК гена *MGMT* на медиану второго безрецидивного периода не выявлено ($p=0,39$). Ни у одного больного с низкой экспрессией гена *MGMT* не был зарегистрирован объективный ответ на терапию. **Заключение.** Глиобластома при рецидивировании становится все более устойчивой к дальнейшей терапии. С развитием рецидива опухоли ген *MGMT* теряет свое предиктивное значение, и на фоне этого возрастает роль степени циторедукции.

Ключевые слова: первичная глиобластома, рецидив глиобластомы, мутации в генах *IDH1* и *IDH2*, ген *MGMT*, темозоломид, первый безрецидивный период, степень циторедукции.

CHANGES IN THE *MGMT* GENE EXPRESSION IN PATIENTS WITH PRIMARY GLIOBLASTOMA AFTER RELAPSE. INFLUENCE OF CLINICAL CHARACTERISTICS AND *MGMT* EXPRESSION ON SURVIVAL OF PATIENTS

M.V. Matsko^{1,2,3}, S.S. Sklyar⁴, A.Yu. Ulitin⁴, D.E. Matsko^{1,2,3,4}, E.N. Imyanitov^{5,6,7}, A.G. Ievleva^{6,7}, V.I. Ni^{6,8}, N.M. Volkov^{1,3}, A.A. Zrelov⁴, A.O. Baksheeva⁹, D.V. Galkina²

Clinical Scientific-Practical Center of Oncology, St. Petersburg, Russia¹
68a, Lit. A, Leningradskaya Street, 197758, St. Petersburg, Russia. E-mail: marinamatsko@mail.ru¹

Saint-Petersburg State University, St. Petersburg, Russia²

7/9, Universitetskaya naberezhnaya Street, 199034, St. Petersburg, Russia²

Saint-Petersburg Medico-Social Institute, St. Petersburg, Russia³

72, Lit. A, Kondratyevsky pr., 195271, St. Petersburg, Russia³

Polenov Russian Neurosurgical Institute – the branch of Almazov NMRC, St. Petersburg, Russia⁴

12, Mayakovsky Street, 191014, St. Petersburg, Russia⁴

I.I. Mechnikov North-Western Medical University, St. Petersburg, Russia⁵

47, Piskarevsky pr., 195067, St. Petersburg, Russia⁵

N.N. Petrov NMRC of Oncology, St. Petersburg, Russia⁶

68, Leningradskaya Street, 197758, St. Petersburg, Russia⁶

Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia⁷

2, Litovskaya Street, 194100, St. Petersburg, Russia⁷

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia⁸

44, Toreza Ave., 194223, St. Petersburg, Russia⁸

Children's city multidisciplinary clinical center of high medical technologies named after K.A. Rauchfusa, St. Petersburg, Russia⁹

8, Ligovsky pr., 191036, St. Petersburg, Russia⁹

Abstract

Background. Over the past 10–15 years, there has been a clearer understanding of the processes occurring in cells of the primary glioblastoma. However, the change in *MGMT* gene expression and its role after disease relapse remain understudied. **Purpose:** to study changes in *MGMT* gene expression in case of recurrent primary glioblastoma after the standard therapy; to determine influence of clinical factors and *MGMT* gene expression on relapse-free survival of patients. **Materials and Methods.** We carried out a prospective analysis of clinical and molecular genetic characteristics of 21 patients aged from 28 to 63 with primary glioblastoma before and after recurrence. Relative mRNA expression of *MGMT* gene and mutations in *IDH1/IDH2* genes were determined in surgical biopsies using PCR techniques. After the first surgery, all patients received radiation therapy (60 Gy) and chemotherapy with adjuvant temozolomide (2–18 cycles). The second-line chemotherapy was performed in 17 (80.9 %) patients, and 8 patients received (47 %, 8/17) temozolomide. **Results.** The relationship between the progression-free survival (PFS) and mRNA expression of *MGMT* gene (73.5 vs 33 weeks, $p=0.013$) and objective response to therapy (88 vs 36 weeks, $p=0.046$) was found. The number of cycles of first-line chemotherapy with temozolomide influenced the duration of the first PFS (65 weeks vs 21.5 weeks, $p=0.07$). The first PFS was not affected by patients' age ($p=0.64$), sex ($p=0.17$), Karnofsky performance scale index ($p=0.43$), extent of brain damage ($p=0.41$) and extent of the resection ($p=0.27$). After onset of relapse, mRNA expression of *MGMT* gene remained the same, being 66.7 % (14/21). The increased expression was observed in 23.8 % (5/21) of cases, and decreased gene expression was observed in 9.5 % (2/21) of cases. The second PFS was affected by the extent of tumor resection, although there were no statistically significant differences ($p=0.52$). The effect of mRNA expression of *MGMT* gene on the median second PFS was not revealed ($p=0.39$). No objective response to therapy was found in patients with a low mRNA expression of *MGMT* gene. **Conclusion.** Recurrent glioblastoma becomes more resistant to further therapy. With the development of tumor recurrence, the predictive value of *MGMT* gene is lost and the role of the extent of cytoreductive surgery increases.

Key words: primary glioblastoma, glioblastoma recurrence, mutations *IDH1/IDH2* genes, *MGMT* gene, temozolomide, progression-free survival, extent of resection.

Согласно данным Регистра Опухолей Мозга США (Central Brain Tumor Registry of the United States CBTRUS), среди всех опухолей ЦНС первичная глиобластома (ГБ) составляет 14,9 %, среди злокачественных новообразований нервной системы – 47,1 %, в структуре глиальных опухолях – 56,1 % [1]. Пациенты с ГБ даже при комплексном лечении живут от 9,5 до 16 мес [2, 3], и лишь у небольшого числа заболевших удается достичь 3-летней выживаемости [4, 5]. Обязательными в лечении пациентов с глиобластомой являются максимальная циторедукция, лучевая и лекарственная терапия [6]. Учитывая инфильтративный рост ГБ, удалить ее радикально не представляется возможным, поэтому наиболее перспективными остаются лучевая терапия и лекарственные методы лечения [7]. Появление препарата темозоломид в нейроонкологической практике позволило существенно увеличить медиану безрецидивной и общей выживаемости больных [8, 9].

Выявленные за последние два десятилетия предиктивные и прогностические биомаркеры в лечении пациентов с глиобластомой [8, 10] повлияли на формирование новой классификации ВОЗ 2016 [11]. Впервые в основу диагноза положено не только гистологическое строение новообразования, но и наиболее значимая молекулярно-генетическая характеристика, или хромосомная aberrация (наличие или отсутствие мутации в генах *IDH1* и *IDH2*, делеция 1p19q и др.). Особую нишу в лечении больных с ГБ занимает ген репарации ДНК *MGMT* (О6-метилгуанин-ДНК-

метилтрансфераза), изучение роли которого началось в 1970-х гг. [12]. Однако только с 2005 г. стало понятно, что назначение темозоломида при высокой экспрессии гена *MGMT* малооправдано [8, 10, 13]. Данное обстоятельство способствовало формированию индивидуализированного подхода в лечении больных. К сожалению, пока не во всех клиниках учитывают статус гена *MGMT* при назначении темозоломида в первой линии. Более того, многим больным «вслепую» рекомендуется этот препарат и после рецидивирования опухоли. Видимо, в данном случае ориентируются на логичную гипотезу «суицид энзима» [14]. Согласно этой гипотезе, под воздействием темозоломида в опухоли запасы белка *MGMT* истощаются, и чувствительность к данному препарату теоретически должна увеличиваться. Однако данное предположение не учитывает приспособительные механизмы ГБ к различным воздействиям, в том числе и к химиотерапии [15–17].

Следует признать, что лечение пациентов с рецидивирующей ГБ является существенным пробелом в современной нейроонкологии. Четких стандартов нет, а рекомендуемая комбинация бевацизумаб + иринотекан из-за стоимости препаратов доступна не всем пациентам. Выбор вновь остается за цитостатиками. Принимая решение о повторном назначении темозоломида во 2-й линии, необходимо ответить на следующие вопросы: как изменяется активность гена *MGMT* с рецидивом и сохраняется ли его предиктивная значимость при низкой экспрессии гена?

Цель исследования – изучить изменение экспрессии гена *MGMT* при рецидивировании первичной глиобластомы после стандартной терапии и определить влияние клинических факторов и экспрессии гена *MGMT* на безрецидивную выживаемость больных.

Материал и методы

В проспективное исследование был включен 21 пациент старше 18 лет с первичной глиобластомой

с супратенториальной локализацией (табл. 1). В каждом случае изучены особенности клинической картины и молекулярных характеристик опухоли до и после ее рецидива. Все пациенты подписывали информированное согласие на участие в данном исследовании.

При анализе первичной МРТ головного мозга с контрастным усилением было установлено, что почти в половине случаев поражалась только одна доля (52,3 %) и преимущественно левое полушарие

Таблица 1/Table 1

Характеристика пациентов с первичной ГБ GIV перед первой и второй операцией Characteristics of patients with primary GB (grade IV) before the first and second surgeries

Клинические характеристики/ Clinical characteristics	1-я операция/ 1-я линия терапии/ First surgery/First-line therapy	2-я операция/ 2-я линия терапии/ Second surgery/ Second-line therapy	
Пол/Gender			
Мужчины/Males	7 (33,4 %)		
Женщины/Females	14 (66,6 %)		
Медиана возраста (лет)/Median age (years)	47 (45,8–49,5)		
Объем поражения/Extent of injury			
1 доля/One lobe	11 (52,3 %)	9 (42,8 %)	
2 доли/2 lobes	6 (28,6 %)	7 (33,4 %)	
3 доли/3 lobes	1 (4,8 %)	0 (0 %)	
1 доля и базальные отделы/ One lobe and basal structures	1 (4,8 %)	3 (14,3 %)	
2 доли и базальные отделы/ 2 lobes and basal structures	2 (9,5 %)	2 (9,5 %)	
Локализация/Location			
Правое полушарие/Right hemisphere	7 (33,4 %)	6 (28,6 %)	
Левое полушарие/Left hemisphere	10 (47,5 %)	10 (47,5 %)	
Оба полушария/ Both hemispheres	1 (4,8 %)	0 (0 %)	
Полушария + базальные структуры/ Hemispheres + basal structures	3 (14,3 %)	5 (23,7 %)	
Функциональный статус по шкале Карновского (баллы)/Functional status on the Karnofsky scale (points)			
90–100	3 (14,3 %)	0 (0 %)	
60–80	17 (80,9 %)	20 (95,2 %)	
Меньше 60/less than 60	1 (4,8 %)	1 (4,8 %)	
Объем циторедукции/Extent of cytoreductive surgery			
Близко к тотальному/Close to total	6 (28,6 %)	4 (19,1 %)	
Субтотально/Subtotally	8 (38,0 %)	10 (47,5 %)	
Частично/Partially	7 (33,4 %)	7 (33,4 %)	
Лучевая терапия/радиохирургия/Radiation therapy/radiosurgery			
Лучевая терапия/ Radiation therapy	Без темозоломида/ Without temozolomide	6 (28,6 %)	4 (19,1 %)
	С темозоломидом/ With temozolomide	15 (71,4 %)	0 (0 %)
Гамма нож/Кибер нож/ Gamma Knife/Cyber Knife	-	3 (14,3 %)	
Не получали ЛТ/Received no radiation therapy	-	14 (66,6 %)	
Лекарственная терапия/Chemotherapy			
Темозоломид/Temozolomide			
2–5 циклов/2–5cycles	2 (9,5 %)	8 (38 %)	
6–15 циклов/cycles	18 (85,7 %)	-	
Более 15 циклов/More than 15 cycles	1 (4,8 %)	-	
Другая терапия/Other therapy	-	9 (42,9 %)	
Не получали терапию/Received no therapy	-	4 (19,1 %)	

(47,5 %). Всем больным выполнялось оперативное вмешательство с разным объемом циторедукции: макроскопически тотальное удаление, субтотальное и частичное. Под макроскопически тотальным удалением понималась резекция 95 % опухоли и более, под субтотальным – 80–94 % и частичным – 79–50 % и открытой биопсией – <50 % [18]. У всех больных объем циторедукции во время первой и второй операции был более 50 %. Оценка степени резекции опухоли проводилась по данным послеоперационных МРТ с контрастным усилением на 2–3-е сут после операции.

После первой операции лучевая терапия (ЛТ) проводилась в 100 %, из них в 71,4 % (15/21) случаев – на фоне ежедневного приема темозоломида. Все пациенты в адьювантном режиме получали химиотерапию (ХТ) темозоломидом от 2 до 18 циклов. Число циклов зависело от эффективности лечения, переносимости ХТ и степени гематологической токсичности. При рецидиве заболевания больные повторно оперировались с последующей ЛТ или радиохирургией в 33,4 %, а также 2-й линии терапии у большинства больных (80,9 %).

Гистологический диагноз ставился в соответствии с классификацией ВОЗ опухолей ЦНС (2016). Иммуногистохимическое исследование (ИГХ) выполнялось с использованием антител GFAP (poly, DakoCytomation), Ki67 (MIB-1, DakoCytomation), при необходимости – Syn (27G12, DakoCytomation), NB (NB84A, Leica). При оценке цитоплазматического окрашивания антителами (GFAP, Syn, NB) пользовались полуколичественным методом: 0 – окрашивание отсутствует, 1+ – слабое окрашивание, 2+ – умеренное окрашивание, 3+ – интенсивное окрашивание. При ядерном окрашивании (антитело Ki67) определялся процент окрашенных клеток.

У всех пациентов в материалах от первой и второй операций определялась относительная экспрессия мРНК гена *MGMT* при помощи ПЦР в режиме реального времени на оборудовании CFX96 Real-Time PCR Detection System (BioRad Laboratories, США). Выделение мРНК и обратная транскрипция проводились по изложенной ранее методике [19]. Источником мРНК служили патоморфологические образцы опухолевой ткани, залитые в парафин (замороженный материал не включался в работу) с содержанием опухолевых клеток более 85 %. Пороговые уровни для разграничения низкой, средней и высокой экспрессии гена (выраженные в ΔC_t относительно гена-нормализатора *SDHA*) определялись как 20 и 80 перцентили значений относительной экспрессии соответствующих генов в группе из 50 солидных опухолей, отобранных случайным образом. Мутации в генах *IDH1* (экзон 4) и *IDH2* (экзон 4) в опухолевой ткани детектировали при помощи анализа кривых плавления ПЦР-продуктов с высоким разрешением (HRMA – High Resolution Melting Analysis) с последующим секвенированием ДНК.

В процессе анализа эффективности проводимой терапии и длительности выживаемости все больные были разделены на два биологических подтипа по уровню экспрессии мРНК гена *MGMT*: 1-й подтип – с низкой экспрессией гена (ΔC_t , равной 2 и выше) и 2-й подтип – с высокой экспрессией гена (ΔC_t , равной 1,9 и ниже).

Оценка эффективности терапии осуществлялась по данным МРТ с контрастным усилением каждые два цикла химиотерапии и каждые 2–4 мес после ее окончания по критериям RANO (Response Assessment in Neuro-Oncology Working Group) [20]. Части пациентов проводилось ПЭТ с метионином для оценки эффективности лечения и исключения псевдопрогрессии опухоли.

Клинические результаты анализировались с помощью программы STATISTICA for Windows (версия 10 Лиц. ВХХR310F964808FA-V). Для определения влияния на безрецидивный период (БРП) степени резекции опухоли, экспрессии мРНК гена *MGMT* (до и после рецидива), а также проводимой терапии использовался модуль «анализ выживаемости» (Cox's F-test и Gehan's Wilcoxon test). В соответствии с руководством к модулю выживаемости в разделе статистика выбиралось большее значение «p» из результатов этих двух тестов. Оценка функции выживания проводилась с помощью метода Каплана–Мейера на основе исследования цензурированных данных с определением ее медианы. Все различия считались достоверными при доверительной вероятности не менее 95 % (уровень значимости $p < 0,05$).

Результаты

Аберрации в генах *IDH1* и *IDH2* определялись в 20 образцах опухолевой ткани, полученных во время первой операции. В 10 % (2/20) случаев выявлена мутация в гене *IDH1(R132H)*. При повторном хирургическом вмешательстве после ЛТ и ХТ обнаружены мутации в обоих генах (*IDH1* и *IDH2*). В 2 случаях повреждение сохранилось в гене *IDH1(R132H)*, и у одного пациента появилась мутация в гене *IDH2(R159G)*, которой в материале от первой операции не было (материал перепроверен).

При анализе влияния разных факторов на продолжительность первого БРП были получены следующие результаты. В нашем исследовании мы не получили зависимость длительности первого БРП от пола ($p=0,17$), возраста (больше 50 и меньше 50 лет, $p=0,64$), функционального статуса по шкале Карновского ($p=0,43$), объема поражения (1 доля vs 2 доли и более) ($p=0,41$) и степени циторедукции ($p=0,27$). На первый БРП оказало влияние число циклов адьювантной ХТ темозоломидом с тенденцией к достоверности ($p=0,07$) (рис. 1а). Медиана БРП при проведении 6 циклов ХТ темозоломидом и более составила 65 нед, при терапии 5 циклами и менее – всего 21,5 нед.

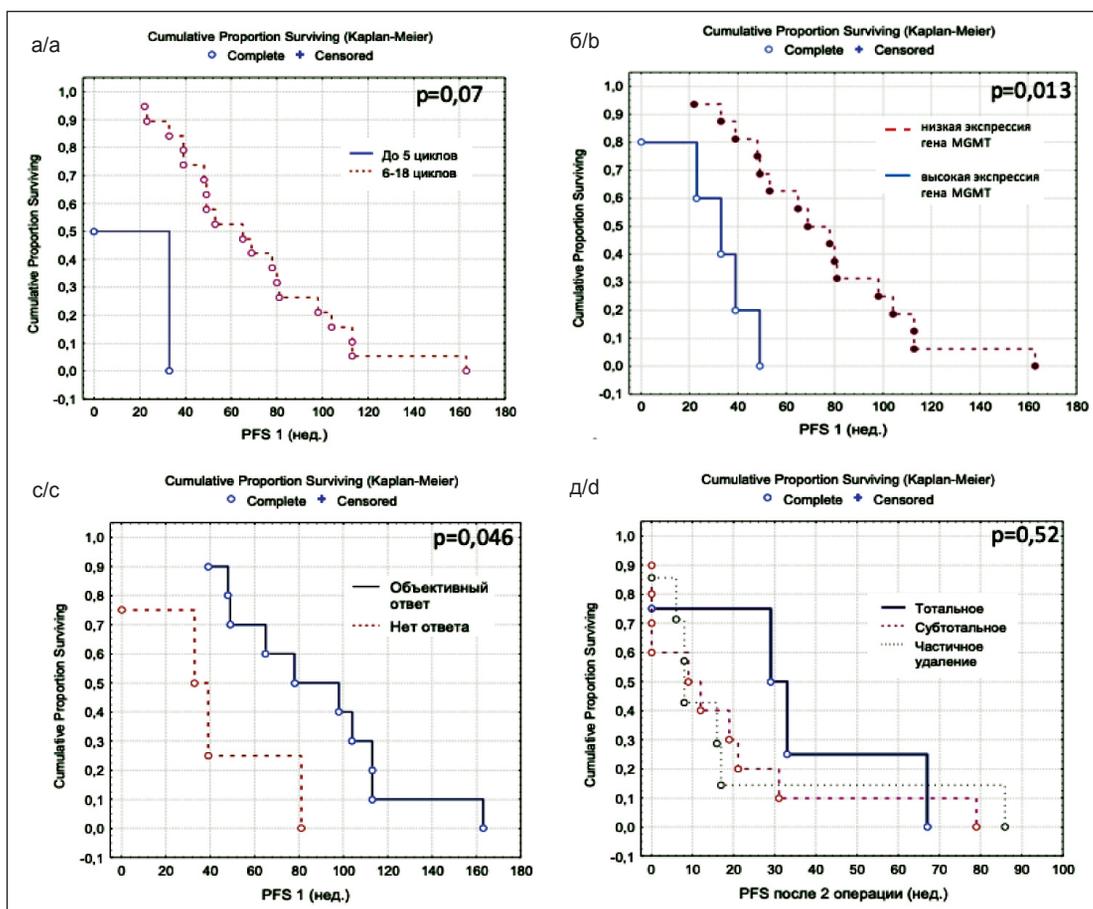


Рис. 1. а. Первый БРП в зависимости от числа циклов ХТ темозоломидом. Прерывистая линия – от 6 до 18 циклов, сплошная линия – 5 циклов и менее ($p=0,07$); б. Первый БРП в зависимости от уровня экспрессии мРНК гена *MGMT*. Прерывистая линия – низкая экспрессия (ΔCt равной 2 и выше), сплошная линия – высокая экспрессия (ΔCt равной 1,9 и ниже) ($p=0,013$); в. Первый БРП в зависимости от ответа опухоли на терапию первой линии. Сплошная линия – полный и частичный ответ, прерывистая линия – отсутствие объективного ответа ($p=0,046$); г. Второй БРП в зависимости от степени циторедукции ($p=0,52$)
 Fig. 1. a. The first PFS according to the number of cycles of chemotherapy with temozolomide. Broken line – from 6 to 18 cycles, solid line – 5 cycles or less ($p=0,07$). b. The first PFS according to the level of mRNA expression of the *MGMT* gene. Broken line – low expression (ΔCt equal to 2 and higher), solid line – high expression (ΔCt equal to 1.9 and lower) ($p=0,013$). c. The first PFS according to the response of the tumor to first-line therapy. Solid line – a complete and partial response, broken line – the absence of an objective response ($p=0,046$). d. The second PFS according to the extent of resection ($p=0,52$)

Длительность первого БРП при терапии темозоломидом со статистической достоверностью зависела от экспрессии мРНК гена *MGMT*. Все пациенты по уровню экспрессии были разделены на два биологических подтипа: 1-й подтип – с низкой экспрессией мРНК гена *MGMT* (16 больных) и 2-й подтип – с высокой экспрессией (5 больных). Безрецидивная выживаемость оказалась выше на 40,5 нед в группе с низкой экспрессией мРНК гена *MGMT* (73,5 нед vs 33 нед, $p=0,013$) (рис. 1б).

Развитие полного и частичного ответа опухоли на терапию темозоломидом было связано с низкой экспрессией гена *MGMT* на уровне тенденции, увеличивая продолжительность жизни на 9,3 мес (по χ^2 Пирсона – $p=0,02$, по F-критерию Фишера – $p=0,08$). При высокой экспрессии гена полный ответ на терапию не наблюдался ни в одном случае, частичный ответ был только у 1 пациента. В конечном итоге была выявлена статистическая зависимость первого БРП от наличия объективного

ответа (полный + частичный vs стабилизация + продолженный рост) на терапию первой линии (88 нед vs 36 нед, $p=0,046$) (рис. 1в).

При рецидиве заболевания пациенты снова оперировались с пересмотром гистологических препаратов и дальнейшим анализом влияния некоторых параметров на выживаемость. У всех пациентов при повторном хирургическом вмешательстве объем циторедукции составил более 50%. При этом тотальное удаление рецидивной опухоли выполнено 4 (19,1%), субтотальное – 10 (47,5%), частичное – 7 (33,4%) больным (табл. 1). Медиана второго БРП при тотальном удалении составила 31 нед, при субтотальном удалении – 10,5 нед, при частичном – 7,8 нед, однако значимых различий не получено ($p=0,52$) (рис. 1г).

Уровень экспрессии мРНК гена *MGMT* повторно определялся в материале от второй операции. С наступлением рецидива (после проведенной ЛТ и ХТ в первой линии) экспрессия гена *MGMT* оста-

Таблица 2/ Table 2

**Клиническая и молекулярно-генетическая характеристика больных с первичной ГБГIV до и после рецидива
Clinical and molecular genetic characteristics of patients with primary GB (grade-IV) before and after relapse**

№	Возраст/ Age	Пол/ Gender	ИК KPS	Локализация/ Location	Объем удаления (1 оп)/ Extent of resection (1st sur)	Мутация IDH1/2 (1 оп)/ Mutation IDH1/2 (1st sur)	Экспрессия мРНК гена MGMT (ACT) (1 оп)/ mRNA expression of MGMT gene	ЛТ/ RT	ХТ 1 линия (Тем, число циклов/ First-line CH, number of cycles	Ответ на ХТ (1 линия)/ Response to first-line CH	1-й БРП (нед)/ First disease-free survival (weeks)	Объем удаления (2 оп)/ Resection (2-nd sur)	Мутация IDH1/2 (2 оп)/ Mutation IDH1/2 (2nd sur)	Экспрессия мРНК гена MGMT (ACT) (2 оп)/ mRNA expression of MGMT gene (2-nd sur)	ЛТ после 2 оп/ RT after 2nd sur	2-я линия терапии (число циклов)/ second-line CH number of cycles	Ответ на ХТ (2 линия)/ response to second-line CH	2-й БРП (нед)/ Second disease-free survival (weeks)	Об (нед)/ OS (w)
1	44	м/м	70	В, Т/ Т, Р	Ст/ St	IDH1 (R132H)	н/л(7,6)	без Тем/ without Tem	15	ЧО/ PR	98	Ст/Ст	IDH1 (R132H)	н/л(5,0)	-	Тем (2ц) Tem (2 c)	ПП/PR	21	143
2	47	м/м	90	В, Т/ Т, Р	Ст/Ст	Нет/но	н/л(3,2)	с Тем/ with Tem	10	ПО/ CR	65	Ч/Р	Нет/но	н/л(7,6)	-	Ав+Ири (4ц)/ Av+Iri (4c)	ПП/PR	0	93
3	56	ж/ф	80	В/Т	Ч/Р	Нет/но	н/л(2,2)	с Тем/ with Tem	5	С/С	33	Ст/Ст	Нет/но	н/л(2,4)	Клибер нож/ Cyber knife	Тем (2ц)/ Tem (2 c)	ПП/PR	9	71
4	48	ж/ф	70	В/Т	Ст/Ст	Нет/но	н/л (5,0)	с Тем/ with Tem	9	ПО/CR	104	Ст/Ст	Нет/но	в/л (1,4)	ЛТ/RT	-	-	0	141
5	62	ж/ф	90	В/Т	Ст/Ст	Нет/но	н/л (3,0)	с Тем/ with Tem	12	ПО/CR	78	Ч/Р	Нет/но	в/л (1,9)	Клибер нож/ cyber knife	PCV (1ц)/1 c	ПП/PR	17	109
6	56	ж/ф	80	Л/Ф	Ч/Р	Нет/но	н/л (2,6)	с Тем/ with Tem	6	ПО/CR	163	Т/Т	Нет/но	н/л(4,2)	ЛТ/RT	Тем (4ц)/ Tem (4 c)	нет РО/ no RT	29	191
7	32	ж/ф	50	МТ, две Л/ CC, two F	Ч/Р	Нет/но	в/л (1,0)	без Тем/ without Tem	2	ПП/PR	0	Ст/Ст	Нет/но	в/л (0,0)	-	PCV (6ц)/6 c	С/С	19	153
8	46	м/м	80	Т, В/ Р, Т	Т/Т	Нет/но	в/л (1,7)	с Тем/ with Tem	6	нет РО/ noRT	33	Т/Т	Нет/но	н/л(2,1)	ЛТ/RT	Ав+Ири (11ц) Av+Iri (11c)	нет РО/ no RT	67	193
9	35	ж/ф	70	В/Р	Т/Т	Нет/но	н/л (3,8)	без Тем/ without Tem	6	нет РО/ no RT	69	Т/Т	Нет/но	в/л (1,5)	-	Тем (4ц) Tem (4 c)	нет РО/ no RT	33	157

Окончание таблицы 2/End of Table 2

10	53	м/м	70	две Т, В/ two P, T	Т/Т	Нет/но	н/л (2,9)	без Тем/ without Tem	9	нет РО/ no RT	80	С _т /St	Нет/но	н/л (4,5)	ЛП/RT	Тем+Ав (9л) Тем+Ав (9 с)	31	173
11	40	ж/ф	80	Т/Р	Ч/Р	Нет/но	н/л (7,6)	с Тем/ with Tem	6	ПО/CR	113	С _т /St	Нет/но	в/л (1,0)	–	Тем (8л) Тем (8 с)	79	387
12	43	м/м	80	Т/Р	С _т /St	Нет/но	в/л (0,8)	с Тем/ with Tem	13	ЧО/PR	39	Ч/Р	Нет/но	н/л (2,1)	–	Ав+Ири (11л) Ав+Ири (11с)	86	191
13	47	м/м	90	МТ, Л/ CC, F	Ч/Р	Нет/но	н/л (2,3)	с Тем/ with Tem	14	C/S	81	Ч/Р	Нет/но	н/л (2,1)	ЛП/RT	–	16	128
14	37	ж/ф	80	Т/Р	Т/Т	–	в/л (0,6)	с Тем/ with Tem	6	нет РО/ no RT	23	Ч/Р	–	в/л (0,3)	–	–	8	56
15	54	ж/ф	80	МТ, Л, Т/ SS,F,P	Ч/Р	Нет/но	н/л (2,2)	с Тем/ with Tem	9	ЧО/PR	49	С _т /St	IDH2 (R159G)	в/л (1,4)	ЛП/RT	Ав+Ири (5л) Ав+Ири (5с)	12	98
16	49	ж/ф	70	Т, В/ P, T	С _т /St	Нет/но	н/л (7,6)	с Тем/ with Tem	10	ПО/CR	48	С _т /St	Нет/но	н/л (7,6)	–	–	0	73
17	38	ж/ф	80	Т, В/ P, T	Ч/Р	Нет/но	н/л (3,5)	без Тем/ without Tem	7	C/S	39	С _т /St	Нет/но	н/л (2,6)	–	Тем (2л) Тем (2 с)	0	57
18	37	ж/ф	80	В/Р	Т/Т	Нет/но	в/л (0,2)	с Тем/ with Tem	8	нет РО/ no RT	49	Ч/Р	Нет/но	в/л (-0,2)	–	Ав+Ири (3л) Ав+Ири (3с)	8	93
19	28	ж/ф	80	В/Р	С _т /St	IDH1 (R132H)	н/л (3,0)	с Тем/ with Tem	18	ПО/CR	113	Т/Т	IDH1 (R132H)	н/л (3,6)	–	Тем (3л) Тем (3 с)	0	126
20	63	ж/ф	80	В/Р	Т/Т	Нет/но	н/л (5,0)	без Тем/ without Tem	6	нет РО/ no RT	22	С _т /St	Нет/но	н/л (2,8)	–	Тем (2л) Тем (2 с)	0	45
21	47	м/м	80	Л, Т/ F, P	С _т /St	Нет/но	н/л (5,0)	с Тем/ with Tem	6	нет РО/ no RT	53	Ч/Р	Нет/но	н/л (4,6)	–	Ав+Ири (2л) Ав+Ири (2с)	6	95

Примечание: м – мужской; ж – женский; ИК – функциональный статус по шкале Карновского; оп – операция; Тем – темозоломид; АВ – общая выживаемость; В – височная доля; Т – темная доля; Л – лобная доля; МТ – мозолистое тело; С_т – субтотальное удаление; Ч – частичное удаление; Т – тотальное удаление; н – низкий уровень экспрессии мРНК гена MGMT; в – высокий уровень экспрессии мРНК гена MGMT; ЧО – частичный ответ; ПО – полный ответ; С – стабилизирующая; PR – продолженный рост; нет РО – резидуальная опухоль отсутствует; Ав – авастин; Ири – иринотекан; PCV – схема химиотерапии (прокарбазин, ломустин, винкристин).

Note: m – male; w – female; KPS – Karnovsky Performance Status; sur – surgery; RT – radiation therapy; Тем – temozolomide; DFS – disease-free survival; OS – overall survival; Т – temporal lobe; P – parietal lobe; F – frontal lobe; CC – corpus callosum; St – subtotal resection; Н – partial resection; Т – total resection; н – low level of mRNA expression of the MGMT gene; с – high level of mRNA expression of the MGMT gene; PR – partial response; С – complete response; S – stabilization; PR – progression; no RT – no residual tumor; w – week; Av – avastin; Iri – irinotecan; PCV – chemotherapy regimen (procarbazine, lomustine, vincristine).

лась прежней в 66,7% (14/21), повышение экспрессии мРНК наблюдалось в 23,8 % (5/21), снижение экспрессии гена отмечено только в 9,5 % (2/21). Подробная характеристика больных с данными о терапии в первой и второй линиях, результатами лечения и молекулярно-генетическими характеристиками до и после рецидива представлена в табл. 2.

Повторная ЛТ/радиохирургия проведена 7 пациентам (33,4 %, 7/21). Вторую линию ХТ получили 17 больных, из них 8 – темозоломид. Влияния уровня экспрессии мРНК гена *MGMT* на медиану второго БРП на всем массиве больных, которые получали ХТ во 2-й линии, не выявлено ($p=0,39$). Отдельно проанализирована группа больных, которая во второй линии получала темозоломид (табл. 2, выделено цветом). Только у 1 пациента наблюдался частичный ответ на терапию, при этом уровень экспрессии мРНК гена *MGMT* в этом случае был высоким. У 5 больных с низкой экспрессией гена вместо ожидаемого положительного ответа на терапию наблюдался продолженный рост опухоли при первом же МРТ-контроле.

Обсуждение

С появлением темозоломида и бевацизумаба в практической деятельности нейроонколога и с применением персонализированного подхода стало понятно, что на продолжительность жизни больных в большой степени оказывают влияние молекулярные особенности самой опухоли и проведенное лечение, чем степень поражения головного мозга и объем циторедукции при условии удовлетворительного состояния пациента (оценка функционального статуса по шкале Карновского и шкале ECOG) [21, 22].

На данный момент основным и пока единственным предиктивным маркером в лечении пациентов с ГБ остается ген *MGMT* [8, 11]. Исследователи пришли к заключению, что у пациентов с низкой активностью гена *MGMT* в опухоли (наличие метилирования промотора гена или низкий уровень экспрессии) при стандартном комплексном лечении показатели выживаемости были выше, чем у больных с высокой его активностью [8, 13]. Безрецидивная продолжительность жизни у оперированных больных с первичной ГБ при комплексной терапии (лучевая и химиотерапия) при высокой активности гена *MGMT*, по данным разных источников, составляет от 2,7 до 10,5 мес [23, 24], а при низкой активности гена – от 8,2 до 24 мес [13, 23, 24]. В настоящем исследовании мы получили схожие результаты: медиана первого БРП у пациентов с низкой экспрессией мРНК гена *MGMT* при комплексной терапии была выше на 9,6 месяцев, чем у пациентов с высокой экспрессией мРНК данного гена (73,5 нед vs 33 нед, $p=0,013$).

С наступлением рецидива, когда опухоль претерпела множество преобразований в геноме, перед

нейроонкологами возникает целый ряд вопросов. Для определения лекарственной тактики во 2-й линии и целесообразности повторного назначения темозоломида при рецидиве ГБ необходимо учитывать не только клинические аспекты течения заболевания, но и данные повторного молекулярно-генетического исследования. По данным литературы, при рецидивировании глиобластомы после стандартного лечения, включающего ЛТ и ХТ темозоломидом, экспрессия мРНК гена *MGMT* может меняться. Крайне редко она снижается, чаще всего остается на прежнем уровне или повышается (табл. 3). При анализе собственных данных мы пришли к похожим результатам: в 66,7 % экспрессия мРНК гена *MGMT* осталась прежней, при этом не было выявлено зависимости уровня экспрессии от числа циклов химиотерапии, проведенных в первой линии. Остается неясным, сохраняет ли свои предиктивные свойства ген *MGMT* после рецидива в случае, когда его экспрессия остается или становится низкой? Исследований по этой проблеме очень мало, и единого мнения нет. В одних исследованиях подтверждается предиктивная роль гена *MGMT* после рецидивирования ГБ [35, 36], в других работах – нет [37, 38]. По результатам нашего исследования эффективность 2-й линии терапии не зависела от уровня экспрессии гена *MGMT*. В современной литературе описываются возможные причины, объясняющие потерю предиктивной значимости гена *MGMT* после рецидива ГБ даже в случае низкого уровня его экспрессии. Во-первых, под воздействием различных факторов, в том числе химиотерапии, в ГБ происходят перестройки молекулярно-генетического статуса с появлением новых альтераций (амплификация в гене *EGFR*; мутации в генах *TP53*, *PTEN* и *PDGFRA*; делеции в генах *RBI*, *NF1*, *CDKN2A* и *CDKN2B*, и др.); в том числе могут возникнуть мутации в генах системы репарации неспаренных нуклеотидов ДНК (в первую очередь в системе MMR гены *MSH2*, *MSH6*, *MLH1*, *MLH3* и *PMS2*), что приводит к нарушению их работы и сопровождается появлением еще большего количества мутаций [16, 17]. Во-вторых, в процессе лечения все доминантные клоны первичной опухоли, чувствительные к проводимой терапии, гибнут, а сохранившиеся клетки-предшественники, имея повышенный потенциал к самообновлению с неизвестной дифференцировкой, образуют опухолевую массу, резистентную к цитостатикам, которые назначались в первой линии [17].

Благодаря уже имеющимся многочисленным исследованиям стало понятно, что опухолевые клетки, избегая собственной гибели под воздействием лучевой и лекарственной терапии, эволюционируют и приобретают генотип, устойчивый к дальнейшему лечению. Положение усугубляется еще и тем, что единственный на сегодняшний день предиктивный маркер (ген *MGMT*) при рециди-

Таблица 3/Table 3

Сравнительная характеристика изменения активности гена MGMT у больных с первичной ГБ GIV до и после рецидива. Обзор литературы и результаты собственного исследования

Comparative characteristics of changes in the activity of the MGMT gene in patients with primary GB GIV before and after relapse. Literature review and results of our own research

Исследование/ Authors	Число больных/ Number of patients	Средний возраст/ Median age	Пол/Gender	Метод исследования/ Study method	Лечение первичной опухоли/ Treatment of the primary tumor	Активность гена MGMT/ Activity of MGMT gene		
						Без изме- нений/ Without changes	Повыше- ние/ Increase	Сниже- ние/ Decrease
Parkinson J.F. et al., 2008 [25]	8	56,5	7/1	МС-ПЦР/ MS-PCR	ЛТ с Тем (2 случая + Прокарбазин, 1 случай + Целекоксиб)/ RT with Tem (2 cases + Procarbazine, 1 case + Celecoxib)	6 (75 %)	–	2 (25 %)
	7	55,2	6/1	ИГХ/ИНС	ЛТ, МХТ Тем/ RT, МСТ Tem	1 (14,4 %)	3 (42,8 %)	3 (42,8 %)
Metellus P. et al., 2009 [26]	18	59	м>ж	МС-ПЦР/ MS-PCR	ЛТ с Тем (75 мг/м ² /сут) + МХТ Тем/ RT with Tem (75 mg/m ² / day) + МСТ Tem	18 (100 %)	–	–
Christmann M. et al., 2010 [27]	9	–	–	МС-ПЦР/ MS-PCR	ЛТ + МХТ Тем/RT/RT with Tem	1 (11,1 %)	6 (66,7 %)	2 (22,2 %)
Jung Tae-Young et al., 2010 [28]	16	52,06	7/9	МС-ПЦР/ MS-PCR	ЛТ/ЛТ с Тем (75 мг/м ² / сут) + МХТ Тем (150 RT/ RT with Tem 200 мг/м ² , 5/28)/	12 (75 %)	3 (18,75 %)	1 (6,25 %)
				ИГХ/ИНС	RT/RT with Tem (75 mg/ m ² /day) + МСТ Tem (150 RT/RT with Tem 200 мг/ m ² , 5/28)	2 (12,5 %)	14 (87,5 %)	–
Felsberg J. et al., 2011 [29]	64	57,4	м>ж	МС-ПЦР/ MS-PCR	ЛТ с Тем + МХТ Тем/ЛТ с Тем/	57 (89 %)	5 (7,9%)	2 (3,1 %)
	48			Пиросеквениро- вание/ Pyrosequencing	RT with Tem + МСН Tem/ RT with Tem	43 (89,6 %)	5 (10,4 %)	–
	29			ИГХ/ИНС		8 (27,6 %)	12 (41,4 %)	9 (31 %)
Park Chul-Kee et al., 2012 [30]	24	60,1	15/9	МС-ПЦР/ MS-PCR	Протокол Stupp/ЛТ с Тем/ ЛТ+МХТ Тем/ protocol Stupp/RT with Tem / RT + МСТ Tem	22 (91,6 %)	1 (4,2 %)	1 (4,2 %)
				ИГХ/ИНС		19 (79,2 %)	4 (16,7 %)	1 (4,1 %)
Brandes A.A. et al., 2010 [31]	38	49	28/10	МС-ПЦР/ MS-PCR	Протокол Stupp/ Protocol Stupp	24 (63,2 %)	8 (21 %)	6 (15,8 %)
Brandes A.A. et al., 2017 [32]	108	50,8	69/39	МС-ПЦР/ MS-PCR	Протокол Stupp/ Protocol Stupp	81 (75 %)	16 (14,9 %)	11 (10,1 %)
O'Regan C.J. et al., 2017 [33]	22	49,5	12/10	Пиросеквениро- вание/ Pyrosequencing	Протокол Stupp/ Protocol Stupp	14 (63 %)	5 (23 %)	3 (14 %)
Hudson A.M. et al., 2018 [34]	19	60	12/7	МС-ПЦР/ MS-PCR	Протокол Stupp/ ЛТ + МХТ Тем/ protocol Stupp/RT + МСН Tem	17 (89,5 %)	2 (10,5 %)	–
Настоящее исследование/ Present study	21	47	7/14	ПЦР в режи- ме реального времени/ Real-time PCR	Протокол Stupp/ ЛТ + МХТ Тем/ protocol Stupp/RT + МСН Tem	14 (66,7 %)	5 (23,8 %)	2 (9,5 %)

Примечание: МС-ПЦР – метилспецифическая полимеразная цепная реакция; ИГХ – иммуногистохимия; Тем – темозоломид; МХТ – монохимиотерапия; протокол Stupp – ЛТ с Тем (75 мг/м²/сут) + МХТ Тем (150–200 мг/м², 6 циклов, 5/28)

Note: MS-PCR – methyl-specific polymerase chain reaction; ИНС – immunohistochemistry; RT – radiation therapy; Тем – temozolomide; МСТ – monochemotherapy; Stupp protocol – RT with Tem (75 mg/m²/day) + МСТ Tem (150–200 mg/m², 6 cycles, 5/28)

вировании может терять свою функцию. В этой ситуации стоит больше ориентироваться на уровень экспрессии других генов: *VEGF* (сосудисто-эндотелиальный фактор роста) и *ERCC1* (ген эксцизионной репарации ДНК) с целью назначения

во 2-й линии терапии препаратов бевацизумаб и цисплатин/карбоплатин соответственно. Снижение предиктивной значимости гена *MGMT* побуждает искать новые эффективные и безопасные для пациента терапевтические опции.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Ostrom Q.T., Gittleman H., Truitt G., Boscia A., Kruchko C., Barnholtz-Sloan J.S. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2011–2015. *Neuro Oncol.* 2018 Oct 1; 20(suppl_4): iv1–iv86. doi: 10.1093/neuonc/noy131.
- Noroxe D.S., Poulsen H.S., Lassen U. Hallmarks of glioblastoma: a systematic review. *ESMO Open.* 2017 Feb 22; 1(6): e000144. doi: 10.1136/esmoopen-2016-000144.
- Gilbert M.R., Dignam J.J., Armstrong T.S., Wefel J.S., Blumenthal D.T., Vogelbaum M.A., Colman H., Chakravarti A., Pugh S., Won M., Jeraj R., Brown P.D., Jaeckle K.A., Schiff D., Stieber V.W., Brachman D.G., Werner-Wasik M., Tremont-Lukats I.W., Sulman E.P., Aldape K.D., Curran W.J.Jr., Mehta M.P. A randomized trial of bevacizumab for newly diagnosed glioblastoma. *N Engl J Med.* 2014 Feb 20; 370(8): 699–708. doi: 10.1056/NEJMoa1308573.
- Amelot A., De Cremoux P., Quillien V., Polivka M., Adle-Biasette H., Lehmann-Che J., Francoise L., Carpentier A.F., George B., Mandonnet E., Froelich S. IDH-Mutation Is a Weak Predictor of Long-Term Survival in Glioblastoma Patients. *PLoS One.* 2015 Jul 9; 10(7): e0130596. doi: 10.1371/journal.pone.0130596.
- Мацко М.В., Мацко Д.Е., Волков Н.М., Улитин А.Ю., Моисеенко В.М., Имянитов Е.Н., Иевлева А.Г. Морфологические и молекулярно-генетические особенности первичных глиобластом у пациентов с необычно высокой продолжительностью жизни. *Сибирский онкологический журнал.* 2019; 18(3): 34–44. [Matsko M.V., Matsko D.E., Volkov N.M., Ulitin A.Yu., Moiseenko V.M., Imyanitov E.N., Iyevleva A.G. Morphologic and molecular features of primary glioblastoma in patients surviving more than 3 years. *Siberian Journal of Oncology.* 2019; 18(3): 34–44. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-3-34-44.
- Stupp R., Hegi M.E., Mason W.P., van den Bent M.J., Taphoorn M.J., Janzer R.C., Ludwin S.K., Allgeier A., Fisher B., Belanger K., Hau P., Brandes A.A., Gijtenbeek J., Marosi C., Vecht C.J., Mokhtari K., Wesseling P., Villa S., Eisenhauer E., Gorlia T., Weller M., Lacombe D., Cairncross J.G., Mirimanoff R.O.; European Organisation for Research and Treatment of Cancer Brain Tumour and Radiation Oncology Groups; National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol.* 2009 May; 10(5): 459–66. doi: 10.1016/S1470-2045(09)70025-7.
- Zagzag D., Esencay M., Mendez O., Yee H., Smirnova I., Huang Y., Chiriboga L., Lukyanov E., Liu M., Newcomb E.W. Hypoxia- and vascular endothelial growth factor-induced stromal cell-derived factor-1 α /CXCR4 expression in glioblastomas: one plausible explanation of Scherer's structures. *Am J Pathol.* 2008 Aug; 173(2): 545–60. doi: 10.2353/ajpath.2008.071197.
- Hegi M.E., Diserens A.C., Gorlia T., Hamou M.F., de Tribolet N., Weller M., Kros J.M., Hainfellner J.A., Mason W., Mariani L., Bromberg J.E., Hau P., Mirimanoff R.O., Cairncross J.G., Janzer R.C., Stupp R. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med.* 2005 Mar 10; 352(10): 997–1003. doi: 10.1056/NEJMoa043331.
- Perry J.R., Laperriere N., O'Callaghan C.J., Brandes A.A., Menten J., Phillips C., Fay M., Nishikawa R., Cairncross J.G., Roa W., Osoba D., Rossiter J.P., Sahgal A., Hirte H., Laigle-Donadey F., Franceschi E., Chinot O., Golfinoopoulos V., Fariselli L., Wick A., Feuvret L., Back M., Tills M., Winch C., Baumert B.G., Wick W., Ding K., Mason W.P.; Trial Investigators. Short-Course Radiation plus Temozolomide in Elderly Patients with Glioblastoma. *N Engl J Med.* 2017; 376(11): 1027–1037. doi: 10.1056/NEJMoa1611977.
- Matsko M.V., Imyanitov E.N. Predictive role of O⁶-methylguanine DNA methyltransferase status for the treatment of brain tumors. *Epigenet Terr Cancer.* 2015. 251–279. doi: 10.1007/978-94-017-9639-2_9.
- Louis D.N., Perry A., Reifenberger G., von Deimling A., Figarella-Branger D., Cavenee W.K., Ohgaki H., Wiestler O.D., Kleihues P., Ellison D.W. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol.* 2016 Jun; 131(6): 803–20. doi: 10.1007/s00401-016-1545-1.
- Samson L., Cairns J. A new pathway for DNA repair in *Escherichia coli*. *Nature.* 1977; 267: 281–283.
- Park C.K., Lee S.H., Kim T.M., Choi S.H., Park S.H., Heo D.S., Kim I.H., Jung H.W. The value of temozolomide in combination with radiotherapy during standard treatment for newly diagnosed glioblastoma. *J Neurooncol.* 2013 Apr; 112(2): 277–83. doi: 10.1007/s11060-013-1060-3.
- Chen C., Xu T., Lu Y., Chen J., Wu S. The efficacy of temozolomide for recurrent glioblastoma multiforme. *Eur J Neurol.* 2013 Feb; 20(2): 223–30. doi: 10.1111/j.1468-1331.2012.03778.x.
- Campos B., Olsen L.R., Urup T., Poulsen H.S. A comprehensive profile of recurrent glioblastoma. *Oncogene.* 2016 Nov 10; 35(45): 5819–5825. doi: 10.1038/ncr.2016.85.
- Kim J., Lee I.H., Cho H.J., Park C.K., Jung Y.S., Kim Y., Nam S.H., Kim B.S., Johnson M.D., Kong D.S., Seol H.J., Lee J.I., Joo K.M., Yoon Y., Park W.Y., Lee J., Park P.J., Nam D.H. Spatiotemporal Evolution of the Primary Glioblastoma Genome. *Cancer Cell.* 2015 Sep 14; 28(3): 318–28. doi: 10.1016/j.ccell.2015.07.013.
- Kim H., Zheng S., Amini S.S., Virk S.M., Mikkelsen T., Brat D.J., Grimsby J., Sougnez C., Muller F., Hu J., Sloan A.E., Cohen M.L., Van Meir E.G., Scarpace L., Laird P.W., Weinstein J.N., Lander E.S., Gabriel S., Getz G., Meyerson M., Chin L., Barnholtz-Sloan J.S., Verhaak R.G. Whole-genome and multisector exome sequencing of primary and post-treatment glioblastoma reveals patterns of tumor evolution. *Genome Res.* 2015 Mar; 25(3): 316–27. doi: 10.1101/gr.180612.114.
- NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines). Central Nervous System Cancers. Version 2.2019.
- Mitiushkina N.V., Iyevleva A.G., Poltoratskiy A.N., Ivantsov A.O., Togo A.V., Polyakov I.S., Orlov S.V., Matsko D.E., Novik V.I., Imyanitov E.N. Detection of EGFR mutations and EML4-ALK rearrangements in lung adenocarcinomas using archived cytological slides. *Cancer Cytopathol.* 2013 Jul; 121(7): 370–6. doi: 10.1002/cncy.21281.
- Wen P.Y., Macdonald D.R., Reardon D.A., Cloughesy T.F., Sorensen A.G., Galanis E., Degroot J., Wick W., Gilbert M.R., Lassman A.B., Tsien C., Mikkelsen T., Wong E.T., Chamberlain M.C., Stupp R., Lamborn K.R., Vogelbaum M.A., van den Bent M.J., Chang S.M. Updated response assessment criteria for high-grade gliomas: response assessment in neuro-oncology working group. *J Clin Oncol.* 2010 Apr 10; 28(11): 1963–72. doi: 10.1200/JCO.2009.26.3541.
- Zhang C., Yao Y., Wang Y., Chen Z., Wu J., Mao Y., Zhou L. Temozolomide for adult brain stem glioblastoma: case report of a long-term survivor. *Int J Neurosci.* 2010 Dec; 120(12): 787–91. doi: 10.3109/002071454.2010.520377.
- Marchi F., Sahnane N., Cerutti R., Cipriani D., Barizzi J., Stefanini F.M., pistolio S., Cerati M., Balbi S., Mazzucchelli L., Sessa F., Pesce G.A., Reinert M., Frattini M. The Impact of Surgery in IDH 1 Wild Type Glioblastoma in Relation With the MGMT Deregulation. *Front Oncol.* 2020 Jan 24; 9: 1569. doi: 10.3389/fonc.2019.01569.
- Felsberg J., Rapp M., Loeser S., Fimmers R., Stummer W., Goepfert M., Steiger H.J., Friedensdorf B., Reifenberger G., Sabel M.C. Prognostic significance of molecular markers and extent of resection in primary glioblastoma patients. *Clin Cancer Res.* 2009 Nov 1; 15(21): 6683–93. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2801.
- Quillien V., Lavenu A., Sanson M., Legrain M., Dubus P., Karayan-Tapon L., Mosser J., Ichimura K., Figarella-Branger D. Outcome-based determination of optimal pyrosequencing assay for MGMT methylation detection in glioblastoma patients. *J Neurooncol.* 2014 Feb; 116(3): 487–96. doi: 10.1007/s11060-013-1332-y.
- Parkinson J.F., Wheeler H.R., Clarkson A., McKenzie C.A., Biggs M.T., Little N.S., Cook R.J., Messina M., Robinson B.G., McDonald K.L. Variation of O(6)-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) promoter methylation in serial samples in glioblastoma. *J Neurooncol.* 2008 Mar; 87(1): 71–8. doi: 10.1007/s11060-007-9486-0.
- Metellus P., Coulibaly B., Nanni I., Fina F., Eudes N., Giorgi R., Barrie M., Chinot O., Fuentes S., Dufour H., Ouafik L., Figarella-Branger D. Prognostic impact of O6-methylguanine-DNA methyltransferase silencing in patients with recurrent glioblastoma multiforme who undergo surgery and carmustine wafer implantation: a prospective patient cohort. *Cancer.* 2009 Oct 15; 115(20): 4783–94. doi: 10.1002/ncr.24546.
- Christmann M., Nagel G., Horn S., Krahn U., Wiewrodt D., Sommer C., Kaina B. MGMT activity, promoter methylation and immunohistochemistry of pretreatment and recurrent malignant gliomas: a comparative study on astrocytoma and glioblastoma. *Int J Cancer.* 2010 Nov 1; 127(9): 2106–18. doi: 10.1002/ijc.25229.
- Jung T.Y., Jung S., Moon K.S., Kim I.Y., Kang S.S., Kim Y.H., Park C.S., Lee K.H. Changes of the O6-methylguanine-DNA methyltransferase promoter methylation and MGMT protein expression after

adjuvant treatment in glioblastoma. *Oncol Rep.* 2010; 23(5): 1269–76. doi: 10.3892/or_00000760.

29. Felsberg J., Thon N., Eigenbrod S., Hentschel B., Sabel M.C., Westphal M., Schackert G., Kreth F.W., Pietsch T., Löffler M., Weller M., Reifenberger G., Tonn J.C.; German Glioma Network. Promoter methylation and expression of MGMT and the DNA mismatch repair genes MLH1, MSH2, MSH6 and PMS2 in paired primary and recurrent glioblastomas. *Int J Cancer.* 2011 Aug 1; 129(3): 659–70. doi: 10.1002/ijc.26083.

30. Felsberg J., Thon N., Eigenbrod S., Hentschel B., Sabel M.C., Westphal M., Schackert G., Kreth F.W., Pietsch T., Löffler M., Weller M., Reifenberger G., Tonn J.C.; German Glioma Network. Promoter methylation and expression of MGMT and the DNA mismatch repair genes MLH1, MSH2, MSH6 and PMS2 in paired primary and recurrent glioblastomas. *Int J Cancer.* 2011 Aug 1; 129(3): 659–70. doi: 10.1002/ijc.26083.

31. Brandes A.A., Franceschi E., Tosoni A., Bartolini S., Bacci A., Agati R., Ghimenton C., Turazzi S., Talacchi A., Skrap M., Marucci G., Volpin L., Morandi L., Pizzolitto S., Gardiman M., Andreoli A., Calbucci F., Ermani M. O(6)-methylguanine DNA-methyltransferase methylation status can change between first surgery for newly diagnosed glioblastoma and second surgery for recurrence: clinical implications. *Neuro Oncol.* 2010 Mar; 12(3): 283–8. doi: 10.1093/neuonc/nop050.

32. Brandes A.A., Franceschi E., Paccapelo A., Tallini G., De Biase D., Ghimenton C., Danielli D., Zuanarelli E., Lanza G., Silini E.M., Sturiale C., Volpin L., Servadei F., Talacchi A., Fioravanti A., Pia Foschini M., Bartolini S., Pession A., Ermani M. Role of MGMT Methylation Status at Time of Diagnosis and Recurrence for Patients with Glioblastoma: Clinical Implications. *Oncologist.* 2017 Apr; 22(4): 432–437. doi: 10.1634/theoncologist.2016-0254.

33. O'Regan C.J., Kearney H., Beausang A., Farrell M.A., Brett F.M., Cryan J.B., Loftus T.E., Buckley P.G. Temporal stability of MGMT promoter methylation in glioblastoma patients undergoing STUPP protocol. *J Neurooncol.* 2018 Apr; 137(2): 233–240. doi: 10.1007/s11060-017-2722-3.

34. Hudson A.L., Parker N.R., Khong P., Parkinson J.F., Dwight T., Ikin R.J., Zhu Y., Chen J., Wheeler H.R., Howell V.M. Glioblastoma Recurrence Correlates With Increased APE1 and Polarization Toward an Immuno-Suppressive Microenvironment. *Front Oncol.* 2018; 8: 314. doi: 10.3389/fonc.2018.00314.

35. Gutenberg A., Bock H.C., Brück W., Doerner L., Mehdorn H.M., Roggendorf W., Westphal M., Felsberg J., Reifenberger G., Giese A. MGMT promoter methylation status and prognosis of patients with primary or recurrent glioblastoma treated with carmustine wafers. *Br J Neurosurg.* 2013 Dec; 27(6): 772–8. doi: 10.3109/02688697.2013.791664.

36. Weller M., Tabatabai G., Kästner B., Felsberg J., Steinbach J.P., Wick A., Schnell O., Hau P., Herrlinger U., Sabel M.C., Wirsching H.G., Ketter R., Bähr O., Platten M., Tonn J.C., Schlegel U., Marosi C., Goldbrunner R., Stupp R., Homicsko K., Pichler J., Ninkovic J., Meixensberger J., Vajkoczy P., Kollias S., Hüsing J., Reifenberger G., Wick W.; DIRECTOR Study Group. MGMT Promoter Methylation Is a Strong Prognostic Biomarker for Benefit from Dose-Intensified Temozolomide Rechallenge in Progressive Glioblastoma: The DIRECTOR Trial. *Clin Cancer Res.* 2015 May 1; 21(9): 2057–64. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2737.

37. Sadones J., Michotte A., Veld P., Chaskis C., Sciort R., Menten J., Joossens E.J., Strauven T., D'Hondt L.A., Sartenaer D., Califice S.F., Bierau K., Svensson C., De Grève J., Neyns B. MGMT promoter hypermethylation correlates with a survival benefit from temozolomide in patients with recurrent anaplastic astrocytoma but not glioblastoma. *Eur J Cancer.* 2009 Jan; 45(1): 146–53. doi: 10.1016/j.ejca.2008.09.002.

38. Quick J., Gessler F., Dützmann S., Hattingsen E., Harter P.N., Weise L.M., Franz K., Seifert V., Senft C. Benefit of tumor resection for recurrent glioblastoma. *J Neurooncol.* 2014 Apr; 117(2): 365–72. doi: 10.1007/s11060-014-1397-2.

Поступила/Received 16.07.2020
Принята в печать/Accepted 18.01.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Мацко Марина Витальевна, доктор медицинский наук, врач-онколог, ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)» (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 2014-2268. AuthorID (РИНЦ): 918790. ORCID: 0000-0003-1564-0943. Researcher ID (WOS): W-9626-2018.

Скляр Софья Сергеевна, младший научный сотрудник НИЛ нейроонкологии, «РНХИ им. проф. А.Л. Поленова» – филиал ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0002-3284-9688.

Улитин Алексей Юрьевич, доктор медицинских наук, руководитель НИЛ нейроонкологии, «РНХИ им. проф. А.Л. Поленова» – филиал ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0002-8343-4917.

Мацко Дмитрий Евгеньевич, доктор медицинских наук, профессор, ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)» (г. Санкт-Петербург, Россия).

Имянитов Евгений Наумович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, руководитель научного отдела биологии опухолевого роста, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 1909-7323. Author ID (Scopus): 7003644486. ORCID: 0000-0003-4529-7891.

Ивлева Аглия Геннадиевна, кандидат медицинский наук, старший научный сотрудник отдела биологии опухолевого роста, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). Researcher ID (WOS): P-8305-2016. Author ID (Scopus): 6506417697. ORCID: 0000-0001-5454-5186.

Ни Валерия Игоревна, лаборант-исследователь научной лаборатории молекулярной онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0002-2011-2224.

Волков Никита Михайлович, кандидат медицинских наук, начальник отдела организации клинических исследований, ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)» (г. Санкт-Петербург, Россия). SPIN-код: 1605-0256. AuthorID (РИНЦ): 883973.

Зрелов Андрей Андреевич, научный сотрудник НИЛ нейроонкологии, «РНХИ им. проф. А.Л. Поленова» – филиал ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0002-0307-7842.

Бакшеева Анастасия Олеговна, врач-нейрохирург, СПб ГБУЗ «Детский городской многопрофильный клинический центр высоких медицинских технологий им. К.А. Раухфуса» Минздрава России (г. Санкт-Петербург, Россия). ORCID: 0000-0001-9970-5841.

Галкина Дарья Владимировна, студент, ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет (г. Санкт-Петербург, Россия).

ВКЛАД АВТОРОВ

Мацко Марина Витальевна: концепция и дизайн исследования, сбор материала, написание текста.

Скляр Софья Сергеевна: сбор материала, написание текста.

Улитин Алексей Юрьевич: критический пересмотр рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Мацко Дмитрий Евгеньевич: концепция и дизайн исследования, обработка материала.

Имянитов Евгений Наумович: обработка материала.

Иевлева Аглая Геннадиевна: обработка материала.

Ни Валерия Игоревна: обработка материала.

Волков Никита Михайлович: написание текста.

Зрелов Андрей Андреевич: написание текста.

Бакшеева Анастасия Олеговна: написание текста.

Галкина Дарья Владимировна: написание текста.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-315-00437.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Marina V. Matsko, MD, DSc, Clinical Scientific-Practical Center of Oncology (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0003-1564-0943. Researcher ID (WOS): W-9626-2018.

Sofia S. Sklyar, MD, Researcher, Polenov Russian Neurosurgical Institute – the branch of Almazov NMRC (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-3284-9688.

Alexey Yu. Ulitin, MD, DSc, Head of Neurooncology Department, Polenov Russian Neurosurgical Institute – the branch of Almazov NMRC (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-8343-4917.

Dmitry E. Matsko, MD, Professor, Clinical Scientific-Practical Center of Oncology (St. Petersburg, Russia).

Evgeny N. Imyanitov, MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of Department of Tumor Growth Biology, N.N. Petrov NMRC of Oncology (St. Petersburg, Russia). Author ID (Scopus): 7003644486. ORCID: 0000-0003-4529-7891.

Aglaya G. Ievleva, MD, PhD, Senior Researcher, Department of Tumor Growth Biology, N.N. Petrov NMRC of Oncology (St. Petersburg, Russia). Researcher ID (WOS): P-8305-2016. Author ID (Scopus): 6506417697. ORCID: 0000-0001-5454-5186.

Valeria I. Ni, Researcher, Laboratory of Molecular Oncology, N.N. Petrov NMRC of Oncology (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-2011-2224.

Nikita M. Volkov, MD, PhD, Head of Department of Clinical Trials, Clinical Scientific-Practical Center of Oncology (St. Petersburg, Russia).

Andrey A. Zrelov, Researcher, Polenov Russian Neurosurgical Institute – the branch of Almazov NMRC (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0002-0307-7842.

Anastasia O. Baksheeva, MD, Neurosurgeon, Children's City Multidisciplinary Clinical Center of High Medical Technologies named after K.A. Raufus (St. Petersburg, Russia). ORCID: 0000-0001-9970-5841.

Daria V. Galkina, student, Saint-Petersburg State University (St. Petersburg, Russia).

AUTHOR CONTRIBUTION

Marina V. Matsko: study conception, data collection, writing of the manuscript.

Sofia S. Sklyar: data collection, writing of the manuscript.

Alexey Yu. Ulitin: critical revision of manuscript for important intellectual content.

Dmitry E. Matsko: study conception and design, data processing.

Evgeny N. Imyanitov: data processing.

Aglaya G. Ievleva: data processing.

Valeria I. Ni: data processing.

Nikita M. Volkov: writing of the manuscript.

Andrey A. Zrelov: writing of the manuscript.

Anastasia O. Baksheeva: writing of the manuscript.

Daria V. Galkina: writing of the manuscript.

Funding

The study was funded by RFBR, project number 18-315-00437.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.