

Для цитирования: Петерсен Е.В., Чудакова Д.А., Эрдынеева Д.Б., Калинин А.А., Кларос Р., Шабалина Е.Ю., Гудков Д.А., Мынбаев О.А., Решетов И.В. Неинвазивные методы молекулярной диагностики и клинического наблюдения и подходы к подбору персональной терапии при высокозлокачественных диффузных глиомах ствола мозга. Сибирский онкологический журнал. 2023; 22(3): 108–118. – doi: 10.21294/1814-4861-2023-22-3-108-118

For citation: Petersen E.V., Chudakova D.A., Erdynееva D.B., Kalinkin A.A., Claros R., Shabalina E.Y., Gudkov D.A., Mynbaev O.A., Reshetov I.V. Non-invasive methods of molecular diagnosis, clinical monitoring and approaches to the personalized therapy of diffuse midline glioma. Siberian Journal of Oncology. 2023; 22(3): 108–118. – doi: 10.21294/1814-4861-2023-22-3-108-118

НЕИНВАЗИВНЫЕ МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИАГНОСТИКИ И КЛИНИЧЕСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ И ПОДХОДЫ К ПОДБОРУ ПЕРСОНАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ВЫСОКОЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ДИФFUЗНЫХ ГЛИОМАХ СТВОЛА МОЗГА

Е.В. Петерсен¹, Д.А. Чудакова¹, Д.Б. Эрдынеева¹, А.А. Калинин²,
Р. Кларос¹, Е.Ю. Шабалина¹, Д.А. Гудков¹, О.А. Мынбаев¹, И.В. Решетов³

ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», г. Долгопрудный, Россия¹

Россия, 141701, г. Долгопрудный, Институтский переулок, 9. E-mail: daya-na@mail.ru¹

ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России», г. Москва, Россия²

115682, г. Москва, Ореховый бульвар, 28, Россия²

ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, г. Москва, Россия³

Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8/2³

Аннотация

Цель исследования – обобщение и анализ современных данных о неинвазивной молекулярной диагностике и соответствующих подходах к персонализированной терапии высокозлокачественных диффузных глиом ствола мозга (ДГСМ). **Материал и методы.** Поиск соответствующих источников производился в системах Google Scholar, Pubmed, Elsevier, Web of Science, Elibrary. В обзор включены публикации с 2011 по 2022 г. Из 102 найденных статей 59 были использованы для написания обзора. **Результаты.** В обзоре рассмотрены спектр соматических драйверных мутаций, присутствующих в опухолевых клетках ДГСМ, и их связь с чувствительностью опухолевых клеток к определенным видам терапии – фармакогенетический подход к подбору индивидуальных методов лечения (таргетная терапия). Обсуждаются новые методы таргетной терапии ДГСМ, находящиеся на стадии доклинической лабораторной разработки. Рассмотрены примеры использования 3D-клеточных культур для разработки таргетной терапии, в том числе с применением перфузионных систем. Описаны методы анализа жидкостной биопсии, позволяющие обнаружить опухоль-специфичные биомаркеры при неинвазивной диагностике ДГСМ, в том числе ряд методов, еще не протестированных в клинике. Приведен список опухоль-специфичных биомаркеров для диагностики, мониторинга и выбора таргетной терапии ДГСМ. В заключение обсуждается возможность внедрения данных методов в клинику, с представлением результатов нескольких клинических испытаний. **Заключение.** В онкологии новые методы молекулярной генетики, такие как анализ жидкостной биопсии, позволяют производить диагностику и мониторинг лечения в случаях, когда классические методы, требующие забора ткани, оказываются не применимы (к примеру, анализ генетически гетерогенных опухолей и опухолей хирургически недоступной локализации). К таким опухолям относится ДГСМ – первичная опухоль головного мозга, наиболее часто встречающаяся у детей. Имеющиеся данные подтверждают актуальность поиска новых специфических опухолевых биомаркеров, а также мишеней для таргетной терапии детских диффузных глиом.

Ключевые слова: неинвазивная диагностика, опухоли центральной нервной системы, диффузные глиомы ствола мозга, молекулярно-генетические маркеры, НЗК27М, цифровая капельная ПЦР, жидкостная биопсия, 3D-клеточные культуры, перфузионная система клеточного культивирования, биобанкинг.

NON-INVASIVE METHODS OF MOLECULAR DIAGNOSIS, CLINICAL MONITORING AND APPROACHES TO THE PERSONALIZED THERAPY OF DIFFUSE MIDLINE GLIOMA

E.V. Petersen¹, D.A. Chudakova¹, D.B. Erdyneeva¹, A.A. Kalinkin², R. Claros¹, E.Y. Shabalina¹, D.A. Gudkov¹, O.A. Mynbaev¹, I.V. Reshetov³

Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University), Dolgoprudny, Russia¹
9, Institutskiy per., 141701, Dolgoprudny, Russia. E-mail: daya-na@mail.ru¹

Federal Scientific and Clinical Centre for Specialized Types of Medical Care and Medical Technologies, Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow, Russia²
28, Orekhovy bulvar, 115682, Moscow, Russia²

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russia, Moscow, Russia³
8/2, Trubetskaya St., 119991, Moscow, Russia³

Abstract

The purpose of the study was to summarize and analyze modern data about non-invasive methods of molecular diagnosis and approaches to the personalized therapy of diffuse midline glioma (DMG). **Material and Methods.** The search and analysis of publications was carried out using Google Scholar, Pubmed, Elsevier, Web of Science, Elibrary systems. The review includes publications published from 2011 to 2022. Of the 102 articles found, 59 were used to write the review. **Results.** In this review, we discuss the spectrum of somatic driver mutations present in DMG tumor cells and their relationship with the sensitivity of tumor cells to certain types of therapy – a pharmacogenetic approach to the selection of individual treatments (targeted therapy). We provide examples of new methods of targeted therapy for DMG, which are currently at the stage of preclinical laboratory development. Also, we discuss examples of the use of 3D cell cultures for the development of targeted therapies, including the use of perfusion systems. The review describes the methods of analysis of liquid biopsy, which allow the detection of tumor-specific biomarkers in the non-invasive diagnosis of DMG, including a number of methods that have not yet been tested in the clinic. The following is a list of tumor-specific biomarkers for diagnosing, monitoring, and selecting targeted therapy for DMG. Finally, we discuss the possibility of implementing these methods in the clinic and present the results of several clinical trials. **Conclusion.** In oncology, new methods of molecular genetics, such as analysis of liquid biopsy, allow diagnosis and monitoring of treatment in cases where classical methods that require tissue sampling are not applicable (for example, the analysis of genetically heterogeneous tumors and tumors of surgically inaccessible localization). These tumors include DMG, a primary brain tumor most common in children. The available data confirm the relevance of the search for new specific tumor biomarkers, as well as targets for targeted therapy of the paediatric-type diffuse gliomas.

Key words: non-invasive diagnostics, tumors of the central nervous system, diffuse brainstem gliomas, molecular genetic markers, H3K27M, digital droplet PCR, liquid biopsy, ex-vivo 3D cell cultures, 3D cell models, biobanking.

Введение

Первичные опухоли центральной нервной системы (ЦНС) – самые распространенные опухоли в онкопедиатрии. К высокозлокачественным опухолям ЦНС относятся глиомы ствола мозга (ГСМ). Частота ГСМ составляет до 15 % от общего числа опухолей мозга. В зависимости от локализации опухоли ГСМ подразделяются на опухоли спинномедуллярные, среднего мозга, продолговатого мозга и моста, а в зависимости от данных МРТ – на ограниченные или диффузные [1]. Прогноз наиболее неблагоприятен для пациентов с диффузной опухолью, так как хирургическое удаление опухоли невозможно.

Согласно новой классификации ВОЗ 2021 г. (табл. 1), диффузные глиомы подразделяются на те, что преимущественно встречаются у взрослых

либо у детей, при этом опухоли детского типа иногда могут встречаться у взрослых и наоборот [2]. Тем не менее разделение опухолей на данные типы необходимо ввиду наличия значимых прогностических и молекулярно-биологических различий. Классификация 2021 г. отражает текущее состояние молекулярной диагностики опухолей головного мозга, поэтому некоторые опухоли характеризуются конкретными генетическими нарушениями, позволяющими поставить полный диагноз, а некоторые – более общими молекулярными характеристиками (изменения сигнального пути MAPK). К детским диффузным глиомам ствола мозга относятся диффузная срединная глиома с повреждением H3K27 и диффузная глиома высокой степени злокачественности, H3-дикий тип и IDH-дикий тип. При этом в новой класси-

Таблица 1/Table 1

Классификация детских диффузных глиом [3]
Classification of paediatric-type diffuse gliomas [3]

Тип опухоли/Tumor type	Генетический профиль опухоли/ Genetic profile of tumor
Диффузные глиомы низкой степени злокачественности, детский тип/Paediatric-type diffuse low-grade gliomas	
Диффузная астроцитома, с альтерацией MYB- или MYBL1/ Diffuse astrocytoma, MYB- or MYBL1-altered	MYB, MYBL1
Ангиоцентрическая глиома/Angiocentric glioma	MYB
Полиморфная нейроэпителиальная опухоль низкой степени злокачественности молодого возраста/ Polymorphous low-grade neuroepithelial tumor of the young	BRAF, гены семейства FGFR/ FGFR gene family
Диффузная глиома низкой степени злокачественности с повреждением МАРК-сигнального пути/ Diffuse low-grade glioma, MAPK pathway-altered	FGFR1, BRAF
Диффузные глиомы высокой степени злокачественности, детский тип/Paediatric-type diffuse high-grade gliomas	
Диффузная срединная глиома с повреждением H3K27/ Diffuse midline glioma, H3 K27-altered	H3K27, TP53, ACVR1, PDGFRA, EGFR, EZHIP
Диффузная полушарная глиома, H3G34-мутантный тип/ Diffuse hemispheric glioma, H3 G34-mutant	H3G34, TP53, ATRX
Диффузная глиома высокой степени злокачественности, детский тип, H3-дикий тип и IDH-дикий тип/ Diffuse pediatric-type high-grade glioma, H3-wildtype and IDH-wildtype)	IDH-дикий тип/ IDH-wildtype, H3-дикий тип/ H3-wildtype, PDGFRA, MYCN, EGFR (метилом/methylome)
Инфантильная полушарная глиома/Infant-type hemispheric glioma	ALK, ROS, MET, гены семейства NTRK/ NTRK gene family

Таблица 2/Table 2

Диагностические критерии детских ДГСМ
Diagnostic criteria of paediatric-type diffuse gliomas

Тип опухоли/ Tumor Type	Критерии/Criteria	
	Основные/Essential	Вспомогательные/ Desirable
Диффузная срединная глиома с повреждением H3K27/ K27 M-altered diffuse glioma	Диффузная глиома срединной линии с потерей K27me3, подтвержденная иммуногистохимией/diffuse midline glioma with loss of K27me3 by immunohistochemistry И/AND ; Мутация K27M для H3K27-мутантного подтипа/ K27M mutation for H3 K27-mutant subtype ИЛИ/OR ; Патогенная мутация или амплификация EGFR для EGFR-мутантного подтипа/ pathogenic mutation or amplification of EGFR for the EGFR-mutant subtype ИЛИ/OR ; Гиперэкспрессия EZHIP для подтипа с гиперэкспрессией EZHIP, H3-дикий тип/ overexpression of EZHIP for the H3-wildtype with EZHIP overexpression subtype ИЛИ/OR ; Профиль метилирования одного из подтипов диффузной глиомы срединной линии/methylation profile of one of the subtypes of diffuse midline glioma	Результаты молекулярно- биологических исследований, отличающие подтип H3.1 или H3.2 от подтипа H3.3/ Results of molecular-biological analysis discriminating the H3.1 or H3.2 subtype from the H3.3 subtype
Диффузная глиома высокой степени злокачественности, детский тип, H3-дикий тип и IDH-дикий тип/ Diffuse paediatric-type high-grade glioma H3-wildtype and IDH-wildtype	Диффузная глиома у детей или молодых людей с высокой митотической активностью/a diffuse glioma in a child or young adult with high mitotic activity И/AND ; Отсутствие мутаций IDH1 или IDH2 /absence of IDH1 or IDH2 mutations И/AND ; Отсутствие мутаций в гене, кодирующем H3/absence of H3 mutations И/AND ; Профиль метилирования: pHGG RTK1, RTK2 или MYCN/ methylation profile: pHGG RTK1, RTK2 or MYCN ИЛИ/OR ; Повреждение генов PDGFRA, EGFR или амплификация гена MYCN/PDGFRA alteration, EGFR alteration, or MYCN amplification	– микроваскулярная пролифе- рация/ microvascular prolifera- tion; – некроз (обычно с наличием палисадных структур)/necrosis (generally palisading); – сохранено триметилирование гистона H3 (K27me3)/K27me3 retained

фикации первый тип изменил свое название с H3 K27M-mutant на H3 K27-altered, чтобы отразить дополнительные механизмы повреждения H3 в данных опухолях.

При H3 K27-altered и глиоме инфантильного типа иногда может быть обнаружена морфология низкой степени злокачественности. Однако в целом диффузные глиомы высокой степени злокачественности детского типа являются агрессивными опухолями с неблагоприятным прогнозом с присвоением 4-й степени (за исключением инфантильной полушарной глиомы) вне зависимости от морфологии опухоли [4].

Основной метод лечения диффузных злокачественных ГСМ (ДГСМ) – радиотерапия в сочетании с химиотерапией (адьювантной, неoadьювантной и другими типами химиотерапии) [5]. В большинстве случаев после такого лечения наблюдается прогрессирование. На данный момент сочетание классической химиотерапии с радиотерапией при ДГСМ особых преимуществ не дает и мало отличается по результату от радиотерапии. В настоящее время ДГСМ неизлечимы, но активно ведутся разработки новых методов лечения, в том числе основанных на новаторских технологиях. Также известны случаи долговременного выживания пациентов, и они не единичны [6].

Основной метод диагностики ДГСМ – МРТ или КТ и комплексное клиническое обследование пациента. Мониторинг течения болезни может проводиться с использованием МРТ, также применяется позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) [7]. В ряде случаев диагноз ДГСМ, поставленный на основании МРТ и клинических данных, не подтверждался после биопсии. Хотя забор биопсийного материала при ДГСМ возможен и во многих случаях безопасен [7], при любом инвазивном методе забора ткани существует вероятность диссеминации клеток опухоли [8], а многократная биопсия может существенно снижать качество жизни. Кроме того, в ряде случаев генотипирование опухолевой ткани при ДГСМ не выполнимо из-за невозможности получения биопсии, особенно в случае метастатической опухоли. Наконец, из-за генетической гетерогенности клеток опухоли, характерной для ДГСМ, необходимо определять весь спектр присутствующих в ней соматических онкогенных мутаций, что затруднительно при анализе биопсии ткани [9]. Таким образом, становятся актуальными разработка и клиническая апробация принципиально новых, неинвазивных подходов к молекулярной диагностике и клиническому наблюдению больных ДГСМ.

Существует несколько методов в молекулярной диагностике заболеваний, в том числе подходы, основанные на обнаружении онкомаркеров в крови, спинномозговом ликворе или любой другой биологической жидкости (жидкостной биопсии). Онкомаркеры, присутствующие в жидкостной

биопсии, – циркулирующие клетки опухоли (цКО), внеклеточная циркулирующая ДНК и РНК опухолевых клеток (цвоДНК и цвоРНК), циркулирующие нуклеосомы опухоли (цНО) и другие опухоль-специфичные биомаркеры [10–12]. Анализ жидкостной биопсии имеет ряд очевидных преимуществ по сравнению с классическим анализом тканевой биопсии, жидкостная биопсия менее инвазивна и позволяет оценить спектр мутаций во всех субпопуляциях генетически гетерогенной опухоли.

Применимость молекулярного анализа жидкостной биопсии в клинической диагностике ДГСМ продемонстрирована в нескольких исследованиях, проведенных в ряде стран [13, 14]. Данное направление активно развивается, с момента недавней публикации подробного обзора, посвященного молекулярной диагностике на основе жидкостной биопсии в нейроонкопедиатрии [14], менее чем за год опубликованы результаты десятков клинических и лабораторных исследований на эту тему.

Молекулярная характеристика высокозлокачественных ДГСМ

Детские ДГСМ можно подразделить на типы, которые отличаются профилем экспрессии генов и/или набором онкогенных мутаций: диффузная срединная глиома с повреждением H3K27 (Diffuse midline glioma, H3 K27-altered) и диффузная глиома высокой степени злокачественности, H3-дикий тип и IDH-дикий тип (Diffuse pediatric-type high-grade glioma, H3-wildtype and IDH-wildtype). В классификации ВОЗ 2021 г. представлены критерии диагностики данных типов (табл. 2) [4].

Выявление сигнальных путей клеток опухоли и медикаментозное воздействие на мишени в таких путях – основа таргетной терапии. Например, один из основных сигнальных путей при ДГСМ – это сигнальный каскад PI3K/AKT/mTOR, также важную роль играет MEK/ERK путь, терапевтический потенциал ингибирования этих путей при ДГСМ продемонстрирован в нескольких исследованиях. Онкогенная активация или инактивация сигнальных путей в большинстве случаев связана с наличием мутаций в генах, кодирующих белки данных сигнальных путей. К настоящему времени охарактеризован спектр мутаций, присутствующих в опухолях ДГСМ, и этот список мутаций растет. Наиболее часто соматические мутации при ДГСМ встречаются в генах *H3F3A*, *HIST1H3B/C*, *HIST2H3A/C*, *ACVR1*, *TP53*, *PDGFRA*, *PIK3CA* и *MYC* [15], также обнаружены мутации в генах *PPM1D*, *EGFR*, *BRAF*, *PDGFRA*, *MED12*, *KIT*, *MET*, *ARID1B*, *CHEK2*, *FGFR1*, *PIK3R1*, *ASXL1* [16].

В обзоре мы подробно рассматриваем H3K27-altered тип диффузной глиомы с локализацией в стволе головного мозга. Диффузные срединные глиомы детского типа характеризуются потерей триметилирования лизина 27 гистона H3

Значимые мутации при высокозлокачественных ДГСМ
Significant mutation of paediatric-type diffuse high-grade gliomas

Ген/Gene	Мутации/Mutations
<i>H3F3A</i>	K27M, K27I
<i>ACVR1</i>	G356D, G328W, R206H, Q207E, R258G, G328E, G328V
<i>PIK3CA</i>	H1047R
<i>TP53</i>	C135W, R248W, R273H, V157F, R273, R273L, R282W, R141C, R116W
<i>PDGFRA</i>	D842V, G79D, C235Y, T276P, T345H, W449C, R479Q, T281P, N659K, T281P, A341T, A529fs
<i>PPM1D</i>	Мутации, приводящие к укороченной форме белка/ Mutations leading to a truncated protein

(H3K27me3) и делятся на 3 подтипа: 1) ДГСМ с мутацией H3K27M/I, 2) ДГСМ с гиперэкспрессией *EZH1P*, H3-дикий тип, т.е. отсутствием мутации в гене гистона H3, 3) диффузные глиомы таламуса ДГСМ с повреждением (в т.ч. амплификацией) гена *EGFR* [4].

Прогноз течения болезни наиболее неблагоприятен для пациентов с ДГСМ с повреждением H3K27, у которых в опухоли присутствует соматическая мутация, приводящая к аминокислотной замене лизина на метионин в позиции 27 белковой цепи гистонов H3.1 и H3.3 (K27M мутация в генах *H3F3A*, *HIST1H3B/C*, *HIST2H3A/C*) [17] или, в редких случаях, замене лизина на изолейцин (H3.3-K27I) [16]. Мутация H3K27M встречается в ~ 80 % случаев ДГСМ. Данная мутация приводит к ингибированию комплекса эпигенетической регуляции PRC2, вовлеченного в модификацию хроматина [18]. При этом механизм подтипа ДГСМ со сверхэкспрессией *EZH1P* также связан с потерей триметилирования H3K27 посредством ингибирования активности PRC2 [4]. Так как при отсутствии мутации лизин гистона H3 в позиции 27 (K27) подвергается эпигенетическим модификациям, в клетках опухоли с заменой K27M происходят глобальные и локальные изменения профиля метилирования и ацетилирования этого сайта, в свою очередь, приводящие к изменению экспрессии множества генов. Таким образом, гистон становится «онкогистоном» [19].

Мутация K27M при ДГСМ часто встречается вместе с мутациями (табл. 3) в онкосупрессорных генах и генах регуляции клеточного цикла (*TP53*, *PPM1D*) или генах, кодирующих белки сигнальных путей (*ACVR1*, *PIK3CA*), и считается, что одна мутация инициирует опухоль, но наличие второй мутации необходимо для развития опухоли [9, 20]. Например, показано, что мутация R206H гена *ACVR1* «кооперирует» с K27M и наличие этих двух мутаций стимулирует и ускоряет развитие глиомы [17]. Присутствие K27M приводит к фенотипу, характерному для менее дифференцированных стволовых клеток [21], в то время как удаление K27M из клеток ДГСМ приводит к дифференциации и снижению уровня виментина – маркера клеток с мезенхимальным (метастатическим) фенотипом [22]. Еще одна мутация в генах

гистона H3.3 при ДГСМ – мутация, приводящая к аминокислотной замене G34R/V (также обнаружен в глиобластомах у детей) [23]. Примечательно, что K27M тоже встречается в ряде других опухолей, т.е. область клинического применения методов детекции этих мутаций не ограничивается ДГСМ [24]. Наиболее часто встречающиеся при ДГСМ соматические мутации гена *ACVR1*, кодирующего ALK2-киназу, – это мутации, приводящие к аминокислотным заменам G356D, G328W, R206H, Q207E, R258G, G328E, G328V (некоторые из них также характерны для оссифицирующей прогрессирующей фибродисплазии) [25]. Мутации гена *ACVR1* присутствуют у ~ 30 % пациентов с ДГСМ [26]. Ген *PIK3CA* кодирует одну из субъединиц фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K). При ДГСМ в нем наиболее часто обнаружена мутация H1047R, которая приводит к гиперактивации PI3K-киназы и по некоторым фенотипическим характеристикам приближает клетки к стволовым [27]. Мутации в гене *TP53*, кодирующем белок p53, вовлеченный в процессы распознавания поврежденной ДНК, регуляции клеточного цикла и запуска апоптоза, встречаются во многих видах опухолей. При ДГСМ в гене *TP53* обнаружены мутации, приводящие к аминокислотным заменам C135W, R248W, R273H, V157F, R273, R273L, R282W, R141C, R116W и ряда других [28]. Также при ДГСМ часто происходит амплификация гена *PDGFRA* и обнаружены мутации, приводящие к аминокислотным заменам D842V, G79D, C235Y, T276P, T345H, W449C, R479Q, T281P, N659K, T281P, A341T, A529fs (и ряда других) в *PDFRA* [29, 30]. Соматические мутации в гене *PPM1D*, кодирующем протеинфосфатазу 1D, обнаружены у ~ 25 % ДГСМ, чаще всего это мутация, приводящая к образованию укороченной формы белка (*PPM1D truncated*) [31].

Таргетная терапия ДГСМ

В рамках персонализированной медицины таргетная химиотерапия подбирается с учетом молекулярных характеристик конкретного новообразования, в зависимости от присутствующих мутаций опухоль по-разному отвечает на химиотерапию. Этот подход применяется, в том числе, и при опухолях ЦНС. Например, исследование, проведенное на группе из семи пациентов с ДГСМ

и наличием мутации H3K27M, чей возраст был менее 20 лет, указывает на возможную перспективность адьювантной химиотерапии малой молекулой ONC201 (селективный антагонист рецептора дофамина DRD2/3) [32]. Так как клетки ДГСМ с мутацией H3K27M экспрессируют большое количество дисиалоганглиозида GD2, предполагается, что для иммунотерапии ДГСМ с данной мутацией можно использовать Т-клетки с химерным антигенным рецептором (CAR-T) GD2 [33]. Также ингибирование синтеза ганглиозидов с помощью элиглустага (ингибитора глюкозилцерамидсинтазы, используемого для лечения детей с болезнью Гоше) полностью ингибировало пролиферацию H3K27M клеток *in vitro*, и GD2 может оказаться терапевтической мишенью при данном заболевании [34]. В случае ДГСМ с мутацией H3K27M перспективной может оказаться и иммунотерапия CAR-T, направленная на комплекс $\alpha_v\beta_3$ -интегринов [35]. Также в клетках ДГСМ с H3K27M наблюдается усиление гликолиза, глутаминолиза и метаболизма трикарбоновых кислот с повышенной продукцией альфа-кетоглутарата, при этом на животных моделях было показано, что ингибирование ключевых ферментов гликолиза или глутаминолиза увеличивало выживаемость [36]. Недавние исследования, в том числе клинические, показали эффективность малой молекулы ONC201 (ингибитора Akt- и ERK-киназ) при H3K27M ДГСМ, общая выживаемость пациентов, получавших терапию ONC201, – 18 мес, а если они дополнительно получали повторное облучение, то 22 мес, в то время как средняя общая выживаемость при данном заболевании составляет 9–11 мес [37].

Предполагается, что для пациентов с ДГСМ с мутациями гена *PPM1D* может оказаться успешной терапия ингибиторами белка PPM1D в сочетании с радиотерапией [31], а также терапия ингибиторами PARP [38]. Наличие мутации в гене *PPM1D* при ДГСМ приводит к подавлению экспрессии гена *NAPRT*, кодирующего никотинат фосфорибозил трансферазу – один из ключевых ферментов, осуществляющих биосинтез НАД, поэтому клетки с такой мутацией особенно чувствительны к ингибированию этого фермента [39]. Предполагается, что в случае пациентов с ДГСМ с мутациями гена *ACVR1* можно применять терапию ингибиторами ALK2 (например, LDN-193189 и LDN-214117, проходящими через гемато-энцефалический барьер), хотя предполагается, что наиболее эффективной она будет в сочетании с другими видами терапии, например, ингибиторами mTOR в случае, если в опухоли также присутствуют мутации в сигнальном пути PI3K/mTOR [40].

Таким образом, определение мутационного статуса клеток опухоли ДГСМ имеет значение в клинике. Так как люмбальная пункция для анализа ликвора более инвазивна по сравнению с забором периферической крови, врачей привлекают мето-

ды, основанные на анализе крови. Метод цифровой капельной ПЦР (цкПЦР) позволяет обнаруживать крайне малые количества ДНК в образце. Показано, что с помощью метода цкПЦР можно обнаружить внеклеточную циркулирующую опухолевую ДНК (цвоДНК) в жидкостной биопсии пациента, в том числе в цереброспинальной жидкости и крови при ДГСМ [13, 14, 41]. Также продемонстрировано, что мутацию H3K27M в цвоДНК, выделенной из спинномозгового ликвора, можно обнаружить с использованием секвенирования по Сэнгеру либо методом nested-ПЦР [42]. Секвенирование цвоДНК для обнаружения в жидкостной биопсии мутаций, специфичных для опухоли, было использовано еще в одном исследовании. В нем было проведено сравнение результатов генотипирования тканевой биопсии опухоли и жидкостной биопсии в группе пациентов с ДГСМ и мутациями K27M и *ACVR1* G328E. Чувствительность и специфичность секвенирования с использованием платформы Nanopore – 100 и 98,8 % соответственно [43]. Глубокое секвенирование цвоДНК, выделенной из плазмы крови или спинномозгового ликвора пациентов с ДГСМ, показало, что метод секвенирования более чувствителен в случае использования спинномозгового ликвора, нежели плазмы [44].

Помимо применения в диагностике, определение мутационного статуса цвоДНК и количественное измерение опухоль-специфичной цвоДНК в ходе терапии позволяют подобрать персонализированный курс лечения и по изменению уровня цвоДНК проводить мониторинг ответа опухоли на терапию. Известно, что один из побочных эффектов многих видов терапии – это стимулирование «эволюции опухоли» (изменение спектра соматических мутаций опухоли, за счет чего она приобретает устойчивость к терапии). Более того, изменения в геноме происходят в клетках опухоли ДГСМ намного чаще в ходе лечения, чем на стадии диагностики. Поэтому целесообразно использование жидкой биопсии для мониторинга эволюции опухоли ДГСМ, так как спектр присутствующих в ней мутаций может меняться в ходе лечения. Так, количественное измерение цвоДНК в ходе лечения позволило пронаблюдать за снижением уровня цвоДНК в ответ на терапию [41, 45, 46]. Важно отметить, что на количество цвоДНК может влиять ряд факторов, таких как терапия или местоположение опухоли, и их надо учитывать при мониторинге цвоДНК у пациента [47]. Недавняя работа показала, что лучшие результаты по детекции H3K27M цифровой ПЦР достигаются при вентрикулярном взятии ликвора, нежели люмбальном, в связи с большей концентрацией цвоДНК [48].

Возможно также использование циркулирующих микроРНК как биомаркеров. Описано 13 микроРНК, которые могут быть использованы в качестве биомаркеров для неинвазивной прогностики ДГСМ по образцам крови. Повышенная

экспрессия miR-4714-3p, miR-551b и miR-4505 связана с лучшим прогнозом выживаемости пациентов. Напротив, повышенная экспрессия miR-6090, miR-6089, miR-3960, miR-936, miR-1207-5p, miR-202-3p, miR-3676-5p, miR-4634, miR-4539 и miR-4299 ассоциирована с худшим прогнозом. Однако важно учитывать, что изменения уровней экспрессии данных микроРНК встречаются и при других опухолевых и неопухолевых заболеваниях головного мозга [49].

Особого внимания заслуживают внеклеточные везикулы опухоли (вВо). Внеклеточные везикулы секретируются как нормальными, так и опухолевыми клетками, и их молекулярный состав (молекулярное карго) динамично меняется в зависимости от протекающих в клетке процессов [12]. Поэтому они могут быть использованы как диагностические и прогностические маркеры, в том числе и при злокачественных новообразованиях головного мозга, включая ДГСМ. Внеклеточные везикулы подразделяют на несколько классов, например экзосомы, микровезикулы, апоптотические тельца. Обнаружено, что репертуар белков и микроРНК в составе экзосом, секретируемых клетками ДГСМ, отличается от состава экзосом, секретируемых нормальными тканями [50], что также можно использовать для неинвазивной диагностики. Наконец, анализ протеома спинномозгового ликвора у пациентов с ДГСМ с использованием масс-спектрометрии выявил 528 уникальных опухоль-специфичных белков [27]. Практическое применение этого подхода в клинике станет возможным при удешевлении и упрощении методов масс-спектрометрического анализа.

Использование клеточных моделей

Учитывая важность 3D-архитектуры опухоли, ее микроокружения и внеклеточного матрикса (ВКМ) в патогенезе злокачественных новообразований [51], ведутся разработки клеточных и тканевых моделей ДГСМ, которые позволяют изучать поведение клеток опухоли *ex vivo* в 3D-культуральных моделях и тканевом микроокружении опухоли, выявлять новые диагностические и прогностические биомаркеры, проводить скрининг биологически активных веществ для таргетной терапии [52]. Так, 3D-система, состоящая из клеток ДГСМ, астроцитов мыши, выделенных из ствола головного мозга, а также синтетического внеклеточного матрикса (сВКМ), воспроизводящего некоторые особенности ВКМ мозга, была использована для изучения инвазии клеток ДГСМ и поисков терапевтических подходов, нацеленных на их инвазивное поведение [53]. Разработана система совместного культивирования клеток нейробластомы и 3D-органоидов DMG для персонализированной оценки новых противоопухолевых иммунотерапевтических подходов [54]. Скрининг 400 одобренных химиотерапевтических препаратов

и малых молекул на первичных культурах клеток, полученных от пациентов с ДГСМ, в том числе 3D-культурах (нейросферы), выявил индивидуальную чувствительность клеток к некоторым протестированным веществам в зависимости от носительства специфических молекулярных маркеров. Так, на чувствительность к ингибиторам АТМ/DNA-РК влияла амплификация гена *MYCN*, на ответ на ингибиторы MDM2 или PARP1 – транскирирующие мутации в гене *PPM1D*, а некоторые мутации в гене *PDGFRA* придавали чувствительность к ряду ингибиторов RTK [55]. Не только клетки опухоли, но и компоненты опухолевого микроокружения являются мишенями для терапии и потенциальными диагностическими и прогностическими маркерами [51]. Биоинформатический анализ выявил гены, кодирующие компоненты ЕСМ и дифференциально экспрессирующиеся при ДГСМ [56, 57], их потенциальная роль в качестве биомаркеров нуждается в дальнейшей оценке.

Наконец, 3D-культуральные системы позволяют *ex vivo* изучать биологию цКО, а также проводить подбор персонализированной терапии на основе анализа ответа цКО пациента на различные терапевтические препараты, как было продемонстрировано на раке молочной железы в недавней работе [58]. Выделение цКО из крови или спинномозгового ликвора пациента относительно неинвазивно по сравнению с игольной биопсией, что делает такой подход особенно привлекательным. Гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) препятствует выходу большинства онкомаркеров в кровотоки, поэтому, к примеру, опухоль-специфичная цвоДНК обнаруживается в крови, как правило, на поздних стадиях болезни. Эта проблема может быть решена за счет применения сверхчувствительных методов обнаружения онкомаркеров, а также за счет воздействий на ГЭБ, временно изменяющих его проницаемость. Многокомпонентные 3D-системы, моделирующие ГЭБ [59], в особенности системы с проточными ячейками (перфузионные системы), включающие в себя опухоль, опухолевое микроокружение, ГЭБ и циркулирующую среду, позволяют подобрать подходы, временно меняющие проницаемость ГЭБ. Эти же системы могут быть использованы для оценки индивидуальных характеристик цКО пациента, их метастатического потенциала, чувствительности к терапии, особенностей взаимодействия с другими клетками и тканями-мишенями при метастазировании.

Заключение

Неинвазивное определение молекулярно-генетического профиля опухоли ДГСМ на этапах диагностики и лечения, а также использование 3D-клеточных моделей ДГСМ для разработки таргетной терапии и поиска опухоль-специфичных маркеров позволяют: 1) подбирать таргетную терапию в зависимости от мутационного статуса клеток

опухоли, 2) менять терапию в случае «эволюции» опухоли и 3) обнаружить новые биомаркеры и новые терапевтические мишени. Все это указывает на актуальность разработки и внедрения в

клинику тест-систем для диагностики, клинического наблюдения и подбора персональной терапии ДГСМ на основе анализа жидкостной биопсии и 3D-клеточных моделей.

ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

1. Хухлаева Е.А., Коновалов А.Н., Пронин И.Н., Корниенко В.Н., Гаврюшин А.В. Нейрорадиология и принципы классификации опухолей ствола головного мозга. Медицинская визуализация. 2011; 6: 62–74. [Khuhlaeva E.A., Kononov A.N., Pronin I.N., Kornienko V.N., Gavryushin A.V. Neuroradiology and Classification Principles of Brain Stem Tumors. Medical Visualization. 2011; 6: 62–74. (in Russian)].
2. Louis D.N., Perry A., Wesseling P., Brat D.J., Cree I.A., Figarella-Branger D., Hawkins C., Ng H.K., Pfister S.M., Reifenberger G., Soffiotti R., von Deimling A., Ellison D.W. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro Oncol.* 2021; 23(8): 1231–51. doi: 10.1093/neuonc/noab106.
3. Динкина Ю.В., Белогурова М.Б. Особенности новой классификации опухолей центральной нервной системы ВОЗ 2021: взгляд клинициста. Российский журнал персонализированной медицины. 2022; 2(4): 77–90. [Dinikina Y.V., Belogurova M.B. Major features of the 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: clinician's view. *Russian Journal for Personalized Medicine.* 2022; 2(4): 77–90. (in Russian)]. doi: 10.18705/2782-3806-2022-2-4-77-90.
4. Gianno F., Giovannoni I., Cafferata B., Diemedi-Camassei F., Minasi S., Barresi S., Buttarelli F.R., Alesi V., Cardoni A., Antonelli M., Puggioni C., Colafati G.S., Carai A., Vinci M., Mastronuzzi A., Miele E., Alaggio R., Giangaspero F., Rossi S. Paediatric-type diffuse high-grade gliomas in the 5th CNS WHO Classification. *Pathologica.* 2022; 114(6): 422–35. doi: 10.32074/1591-951X-830.
5. Регентова О.С., Щербенко О.И. Современное состояние проблемы диагностики и лечения диффузно растущих глиом ствола мозга у детей и подростков. Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии Минздрава России. 2019; 19(1): 95–130. [Regentova O.S., Shcherbenko O.I. The current state of the problem of diagnosing and treating diffusely growing gliomas of the brainstem in children and adolescents. *Vestnik of Russian Scientific Center of Roentgenoradiology.* 2019; 19(1): 95–130. (in Russian)].
6. Hoffman L.M., Veldhuijzen van Zanten S.E.M., Colditz N., et al. Clinical, Radiologic, Pathologic, and Molecular Characteristics of Long-Term Survivors of Diffuse Intrinsic Pontine Glioma (DIPG): A Collaborative Report From the International and European Society for Pediatric Oncology DIPG Registries. *J Clin Oncol.* 2018; 36(19): 1963–72. doi: 10.1200/JCO.2017.75.9308.
7. Veldhuijzen van Zanten S.E.M., Sewing A.C.P., van Lingen A., Hoekstra O.S., Wesseling P., Meel M.H., van Vuurden D.G., Kaspers G.J.L., Hulleman E., Bugiani M. Multiregional Tumor Drug-Uptake Imaging by PET and Microvascular Morphology in End-Stage Diffuse Intrinsic Pontine Glioma. *J Nucl Med.* 2018; 59(4): 612–5. doi: 10.2967/jnumed.117.197897.
8. Lobon-Iglesias M.J., Santa-Maria Lopez V., Puerta Roldan P., Candela-Cantó S., Ramos-Albiac M., Gomez-Chiari M., Puget S., Bolle S., Goumnerova L., Kieran M.W., Cruz O., Grill J., Morales La Madrid A. Tumor dissemination through surgical tracts in diffuse intrinsic pontine glioma. *J Neurosurg Pediatr.* 2018; 22(6): 678–83. doi: 10.3171/2018.6.PEDS17658.
9. Hoffman L.M., DeWire M., Ryall S., Buczkowicz P., Leach J., Miles L., Ramani A., Brudno M., Kumar S.S., Drissi R., Dexheimer P., Salloum R., Chow L., Hummel T., Stevenson C., Lu Q.R., Jones B., Witte D., Aronow B., Hawkins C.E., Fouladi M. Spatial genomic heterogeneity in diffuse intrinsic pontine and midline high-grade glioma: implications for diagnostic biopsy and targeted therapeutics. *Acta Neuropathol Commun.* 2016; 4: 1. doi: 10.1186/s40478-015-0269-0. Erratum in: *Acta Neuropathol Commun.* 2016; 4: 13.
10. Bronkhorst A.J., Ungerer V., Holdenrieder S. The emerging role of cell-free DNA as a molecular marker for cancer management. *Biomol Detect Quantif.* 2019; 17. doi: 10.1016/j.bdq.2019.100087.
11. Lu V.M., Power E.A., Zhang L., Daniels D.J. Unlocking the translational potential of circulating nucleosomes for liquid biopsy in diffuse intrinsic pontine glioma. *Biomark Med.* 2019; 13(8): 597–600. doi: 10.2217/bmm-2019-0139.
12. Garnier D., Jabado N., Rak J. Extracellular vesicles as prospective carriers of oncogenic protein signatures in adult and paediatric brain tumours. *Proteomics.* 2013; 13(10-11): 1595–607. doi: 10.1002/pmic.201200360.
13. Nobre L., Zapotocky M., Johnson M., Wasserman J., Abila O., Whitlock J., Tabori U., Hawkins C. Abstract 2226: Validation of a liquid biopsy tool to identify point mutations in pediatric brain tumor patients. *Cancer Res.* 2019; 79: 2226. doi: 10.1158/1538-7445.AM2019-2226.
14. Назарян Д., Друй А., Ясько Л., Папуша Л., Новичкова Г. Жидкостные биопсии в детской нейроонкологии: в преддверии возможностей тераностики. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2018; 17(1): 133–5. [Nazarian J., Druy A.E., Yasko L.A., Papusha L.I., Novichkova G.A. Liquid Biopsy in Pediatric Brain Cancers: A Theragnostic Opportunity. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology.* 2018; 17(1): 133–5. (in Russian)]. doi: 10.24287/1726-1708-2018-17-1-133-135.
15. Lapin D.H., Tsoli M., Ziegler D.S. Genomic Insights into Diffuse Intrinsic Pontine Glioma. *Front Oncol.* 2017; 7: 57. doi: 10.3389/fonc.2017.00057.
16. Dufour C., Vasseur R., Perbet R., Leblond P., Vinchon M., Reyns N., Touzet G., Maura C.A., Fabienne E., Florence R. DIPG-44. Molecular And Chromosomal Characterization Of A Unique Series Of Diffuse Midline Gliomas In Children And Young Adults. *Neuro Oncol.* 2018; 20s2: 57–8. doi: 10.1093/neuonc/ny059.137.
17. Wu G., Broniscer A., McEachron T.A., Lu C., Paugh B.S., Becksfors J., Qu C., Ding L., Huether R., Parker M., Zhang J., Gajjar A., Dyer M.A., Mullighan C.G., Gilbertson R.J., Mardis E.R., Wilson R.K., Downing J.R., Ellison D.W., Zhang J., Baker S.J.; St. Jude Children's Research Hospital–Washington University Pediatric Cancer Genome Project. Somatic histone H3 alterations in pediatric diffuse intrinsic pontine gliomas and non-brainstem glioblastomas. *Nat Genet.* 2012; 44(3): 251–3. doi: 10.1038/ng.1102.
18. Lewis P.W., Müller M.M., Koletsky M.S., Cordero F., Lin S., Banaszynski L.A., Garcia B.A., Muir T.W., Becher O.J., Allis C.D. Inhibition of PRC2 activity by a gain-of-function H3 mutation found in pediatric glioblastoma. *Science.* 2013; 340(6134): 857–61. doi: 10.1126/science.1232245.
19. Mohammad F., Helin K. Oncohistones: drivers of pediatric cancers. *Genes Dev.* 2017; 31(23–24): 2313–24. doi: 10.1101/gad.309013.117.
20. Salloum R., McConechy M.K., Mikael L.G., Fuller C., Drissi R., DeWire M., Nikbakht H., De Jay N., Yang X., Boue D., Chow L.M.L., Finlay J.L., Gayden T., Karamchandani J., Hummel T.R., Olshefski R., Osorio D.S., Stevenson C., Kleinman C.L., Majewski J., Fouladi M., Jabado N. Characterizing temporal genomic heterogeneity in pediatric high-grade gliomas. *Acta Neuropathol Commun.* 2017; 5(1): 78. doi: 10.1186/s40478-017-0479-8.
21. Park Y., An P., Ding D., Eberhart C.G., Raabe E.H. DIPG-34. A Human Neural Stem Cell Dipg Model Identifies The Relative Contribution Of Different Oncogenic Elements To Invasive Malignant Transformation. *Neuro Oncol.* 2018; 20 (s2): 55–6. doi: 10.1093/neuonc/ny059.127.
22. Silveira A.B., Kasper L.H., Fan Y., Jin H., Wu G., Shaw T.I., Zhu X., Larson J.D., Easton J., Shao Y., Yergeau D.A., Rosencrance C., Boggs K., Rusch M.C., Ding L., Zhang J., Finkelstein D., Noyes R.M., Russell B.L., Xu B., Broniscer A., Weimore C., Pounds S.B., Ellison D.W., Zhang J., Baker S.J. H3.3 K27M depletion increases differentiation and extends latency of diffuse intrinsic pontine glioma growth in vivo. *Acta Neuropathol.* 2019; 137(4): 637–55. doi: 10.1007/s00401-019-01975-4. Erratum in: *Acta Neuropathol.* 2019; 137(6): 1021.
23. Chan K.M., Fang D., Gan H., Hashizume R., Yu C., Schroeder M., Gupta N., Mueller S., James C.D., Jenkins R., Sarkaria J., Zhang Z. The histone H3.3K27M mutation in pediatric glioma reprograms H3K27 methylation and gene expression. *Genes Dev.* 2013; 27(9): 985–90. doi: 10.1101/gad.217778.113.
24. Louis D.N., Giannini C., Capper D., Paulus W., Figarella-Branger D., Lopes M.B., Batchelor T.T., Cairncross J.G., van den Bent M., Wick W., Wesseling P. cIMPACT-NOW update 2: diagnostic clarifications for diffuse midline glioma, H3 K27M-mutant and diffuse astrocytoma/anaplastic astrocytoma, IDH-mutant. *Acta Neuropathol.* 2018; 135(4): 639–42. doi: 10.1007/s00401-018-1826-y.
25. Han H.J., Jain P., Resnick A.C. Shared ACVR1 mutations in FOP and DIPG: Opportunities and challenges in extending biological and clinical implications across rare diseases. *Bone.* 2018; 109: 91–100. doi: 10.1016/j.bone.2017.08.001.
26. Carvalho D., Taylor K.R., Olaciregui N.G., Molinari V., Clarke M., Mackay A., Ruddle R., Henley A., Valenti M., Hayes A., Brandon A.H., Eccles S.A., Raynaud F., Boudhar A., Monje M., Popov S., Moore A.S., Mora J., Cruz O., Vinci M., Brennan P.E., Bullock A.N., Carcaboso A.M., Jones C. ALK2 inhibitors display beneficial effects in preclinical models of ACVR1 mutant diffuse intrinsic pontine glioma. *Commun Biol.* 2019; 2: 156. doi: 10.1038/s42003-019-0420-8.
27. Saratsis A.M., Yadavilli S., Magge S., Rood B.R., Perez J., Hill D.A., Hwang E., Kilburn L., Packer R.J., Nazarian J. Insights into pediatric dif-

fuse intrinsic pontine glioma through proteomic analysis of cerebrospinal fluid. *Neuro Oncol.* 2012; 14(5): 547–60. doi: 10.1093/neuonc/nos067.

28. *Werbrouck C., Evangelista C.C.S., Lobón-Iglesias M.J., Barret E., Le Teuff G., Merlevede J., Brusini R., Kergrohen T., Mondini M., Bolle S., Varlet P., Beccaria K., Boddaert N., Puget S., Grill J., Debily M.A., Castel D.* TP53 Pathway Alterations Drive Radioresistance in Diffuse Intrinsic Pontine Gliomas (DIPG). *Clin Cancer Res.* 2019; 25(22): 6788–6800. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-0126.

29. *Paugh B.S., Broniscer A., Qu C., Miller C.P., Zhang J., Tatevosian R.G., Olson J.M., Geyer J.R., Chi S.N., da Silva N.S., Onar-Thomas A., Baker J.N., Gajjar A., Ellison D.W., Baker S.J.* Genome-wide analyses identify recurrent amplifications of receptor tyrosine kinases and cell-cycle regulatory genes in diffuse intrinsic pontine glioma. *J Clin Oncol.* 2011; 29(30): 3999–4006. doi: 10.1200/JCO.2011.35.5677.

30. *Paugh B.S., Zhu X., Qu C., Endersby R., Diaz A.K., Zhang J., Bax D.A., Carvalho D., Reis R.M., Onar-Thomas A., Broniscer A., Wetmore C., Zhang J., Jones C., Ellison D.W., Baker S.J.* Novel oncogenic PDGFRA mutations in pediatric high-grade gliomas. *Cancer Res.* 2013; 73(20): 6219–29. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-1491.

31. *Akamandisa M.P., Nie K., Nahta R., Hambardzumyan D., Castellino R.C.* Inhibition of mutant PPM1D enhances DNA damage response and growth suppressive effects of ionizing radiation in diffuse intrinsic pontine glioma. *Neuro Oncol.* 2019; 21(6): 786–99. doi: 10.1093/neuonc/noz053.

32. *Chi A.S., Tarapore R.S., Hall M.D., Shonka N., Gardner S., Umemura Y., Sumrall A., Khatib Z., Mueller S., Kline C., Zaky W., Khatua S., Weathers S.P., Odia Y., Niazi T.N., Daghistani D., Cherrick I., Korones D., Karajannis M.A., Kong X.T., Minturn J., Waanders A., Arillaga-Romany I., Batchelor T., Wen P.Y., Merdinger K., Schalop L., Stogniew M., Allen J.E., Oster W., Mehta M.P.* Pediatric and adult H3 K27M-mutant diffuse midline glioma treated with the selective DRD2 antagonist ONC201. *J Neurooncol.* 2019; 145(1): 97–105. doi: 10.1007/s11060-019-03271-3.

33. *Mount C.W., Majzner R.G., Sundaresh S., Arnold E.P., Kadapakkam M., Haile S., Labanieh L., Hulleman E., Woo P.J., Rietberg S.P., Vogel H., Monje M., Mackall C.L.* Potent antitumor efficacy of anti-GD2 CAR T cells in H3-K27M+ diffuse midline gliomas. *Nat Med.* 2018; 24(5): 572–9. doi: 10.1038/s41591-018-0006-x.

34. *Wingertner A., El Malki K., Sandhoff R., Seidmann L., Wagner D.C., Lehmann N., Vewinger N., Frauenknecht K.B.M., Sommer C.J., Traub F., Kindler T., Russo A., Otto H., Lollert A., Staatz G., Roth L., Paret C., Faber J.* Exploiting Gangliosides for the Therapy of Ewing's Sarcoma and H3K27M-Mutant Diffuse Midline Glioma. *Cancers (Basel).* 2021; 13(3): 520. doi: 10.3390/cancers13030520.

35. *Cobb D.A., de Rossi J., Liu L., An E., Lee D.W.* Targeting of the alpha v beta 3 integrin complex by CAR-T cells leads to rapid regression of diffuse intrinsic pontine glioma and glioblastoma. *J Immunother Cancer.* 2022; 10(2). doi: 10.1136/jitc-2021-003816.

36. *Chung C., Sweha S.R., Pratt D., Tamrazi B., Panwalkar P., Banda A., Bayliss J., Hawes D., Yang F., Lee H.J., Shan M., Cieslik M., Qin T., Werner C.K., Wahl D.R., Lyssiotis C.A., Bian Z., Shotwell J.B., Yadav V.N., Koschmann C., Chinnaiyan A.M., Blüml S., Judkins A.R., Veneti S.* Integrated Metabolic and Epigenomic Reprogramming by H3K27M Mutations in Diffuse Intrinsic Pontine Gliomas. *Cancer Cell.* 2020; 38(3): 334–49. doi: 10.1016/j.ccell.2020.07.008.

37. *Duchatel R.J., Mannan A., Woldu A.S., Hawtrey T., Hindley P.A., Douglas A.M., Jackson E.R., Findlay I.J., Germon Z.P., Staudt D., Kearney P.S., Smith N.D., Hindley K.E., Cain J.E., André N., La Madrid A.M., Nixon B., De Iulius G.N., Nazarian J., Irish K., Alvaro F., Eisenstat D.D., Beck A., Vitanza N.A., Mueller S., Morris J.C., Dun M.D.* Preclinical and clinical evaluation of German-sourced ONC201 for the treatment of H3K27M-mutant diffuse intrinsic pontine glioma. *Neurooncol Adv.* 2021; 3(1). doi: 10.1093/naojnl/vdab169.

38. *Mackay A., Molinari V., Carvalho D., Pemberton H., Temelso S., Burford A., Clarke M., Fojana M., Boulton J., Izquierdo E., Taylor K., Bjerke L., Salom J.F., Kessler K., Rogers R., Chandler C., Zebian B., Martin A., Stapleton S., Hettige S., Marshall L., Carceller F., Mandeville H., Vaidya S., Bridges L., Al-Sarraj S., Pears J., Mastronuzzi A., Carai A., del Bufalo F., de Torres C., Sunol M., Cruz O., Mora J., Moore A., Robinson S., Lord C., Carcaboso A.M., Vinci M., Jones C.* HGG-23: drug screening linked to molecular profiling identifies novel dependencies in patient-derived primary cultures of paediatric high grade glioma and dipg. *Neuro Oncol.* 2018; 20(S2): 93–4. doi: 10.1093/neuonc/nyo059.295.

39. *Fons N.R., Sundaram R.K., Breuer G.A., Peng S., McLean R.L., Kalathil A.N., Schmidt M.S., Carvalho D.M., Mackay A., Jones C., Carcaboso A.M., Nazarian J., Berens M.E., Brenner C., Bindra R.S.* PPM1D mutations silence NAPRT gene expression and confer NAMPT inhibitor sensitivity in glioma. *Nat Commun.* 2019; 10(1): 3790. doi: 10.1038/s41467-019-11732-6.

40. *Carvalho D., Olaciregui N.G., Ruddle R., Donovan A., Pal A., Raynaud F., Richardson P.J., Carcaboso A.M., Jones C.* DIPG-29: Pre-clinical efficacy of combined acvrl and PI3K/mTOR inhibition in diffuse

intrinsic pontine glioma (DIPG). *Neuro Oncol.* 2018; 20: 54–5. doi: 10.1093/neuonc/nyo059.122.

41. *Panditharatna E., Kilburn L.B., Aboian M.S., Kambhampati M., Gordish-Dressman H., Magge S.N., Gupta N., Myseros J.S., Hwang E.I., Kline C., Crawford J.R., Warren K.E., Cha S., Liang W.S., Berens M.E., Packer R.J., Resnick A.C., Prados M., Mueller S., Nazarian J.* Clinically Relevant and Minimally Invasive Tumor Surveillance of Pediatric Diffuse Midline Gliomas Using Patient-Derived Liquid Biopsy. *Clin Cancer Res.* 2018; 24(23): 5850–9. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-1345.

42. *Huang T.Y., Piunti A., Lulla R.R., Qi J., Horbinski C.M., Tomita T., James C.D., Shilatfard A., Saratsis A.M.* Detection of Histone H3 mutations in cerebrospinal fluid-derived tumor DNA from children with diffuse midline glioma. *Acta Neuropathol Commun.* 2017; 5(1): 28. doi: 10.1186/s40478-017-0436-6.

43. *Bruzek A.K., Tunkle L., Stallard S., Thamilselvan V., Qin T., Wolfe I., Mody R., Muraszko K.L., Robertson P.L., Maher C.O., Garton H.J.L., Koschmann C.* DIPG-06: rapid, ultra-deep sequencing of pediatric DIPG from cerebrospinal fluid using a novel hand-held electronic dna analysis platform. *Neuro Oncol.* 2019; 21s2: 69. doi: 10.1093/neuonc/noz036.027.

44. *Pan C., Diplas B.H., Chen X., Wu Y., Xiao X., Jiang L., Geng Y., Xu C., Sun Y., Zhang P., Wu W., Wang Y., Wu Z., Zhang J., Jiao Y., Yan H., Zhang L.* Molecular profiling of tumors of the brainstem by sequencing of CSF-derived circulating tumor DNA. *Acta Neuropathol.* 2019; 137(2): 297–306. doi: 10.1007/s00401-018-1936-6.

45. *Cantor E., Wierzbicki K., Tarapore R.S., Ravi K., Thomas C., Cartaxo R., Nand Yadav V., Ravindran R., Bruzek A.K., Wadden J., John V., May Babila C., Cummings J.R., Rahman Kawakibi A., Ji S., Ramos J., Paul A., Walling D., Leonard M., Robertson P., Franson A., Mody R., Garton H.J.L., Veneti S., Odia Y., Kline C., Vitanza N.A., Khatua S., Mueller S., Allen J.E., Gardner S.L., Koschmann C.* Serial H3K27M cell-free tumor DNA (cf-tDNA) tracking predicts ONC201 treatment response and progression in diffuse midline glioma. *Neuro Oncol.* 2022; 24(8): 1366–74. doi: 10.1093/neuonc/noac030.

46. *Регентова О.С., Щербенко О.И., Джикия Е.Л., Захаренко М.В., Сенчукова А.Л., Измайлов Т.Р., Кулинич Т.М., Боженко В.К.* Содержание и динамика в процессе лечения некоторых молекулярно-генетических маркеров в плазме крови у больных глиальными опухолями мозга по данным «жидкостной биопсии». *Вестник Российского научного центра рентгенодиагностики Минздрава России.* 2020; 20(2): 117–28. [Regentova O.S., Shcherbenko O.I., Dzhikiya E.L., Zakharenko M.V., Senchukova A.L., Izmailov T.R., Kulnich T.M., Bozhenko V.K. Content and dynamics of certain molecular genetic markers in blood plasma of patients with glial brain tumors during treatment according to “liquid biopsy” data. *Vestnik of Russian Scientific Center of Roentgenradiology.* 2020; 20(2): 117–28. (in Russian)].

47. *Wadden J., Ravi K., John V., Babila C.M., Koschmann C.* Cell-Free Tumor DNA (cf-tDNA) Liquid Biopsy: Current Methods and Use in Brain Tumor Immunotherapy. *Front Immunol.* 2022; 13. doi: 10.3389/fimmu.2022.882452.

48. *Zaytseva M., Usman N., Salnikova E., Sanakoeva A., Valiakhtemova A., Chervova A., Papusha L., Novichkova G., Druy A.* Methodological Challenges of Digital PCR Detection of the Histone H3 K27M Somatic Variant in Cerebrospinal Fluid. *Pathol Oncol Res.* 2022; 28. doi: 10.3389/pore.2022.1610024.

49. *Iannó M.F., Biassoni V., Schiavello E., Carenzo A., Boschetti L., Gandola L., Diletto B., Marchesi E., Vegetti C., Molla A., Kramm C.M., van Vuurden D.G., Gasparini P., Gianni F., Giangaspero F., Modena P., Bison B., Anichini A., Vennarini S., Pignoli E., Massimino M., De Cecco L.* A microRNA Prognostic Signature in Patients with Diffuse Intrinsic Pontine Gliomas through Non-Invasive Liquid Biopsy. *Cancers (Basel).* 2022; 14(17): 4307. doi: 10.3390/cancers14174307.

50. *Pericoli G., Galardi A., Lisa Petrilli L., Colletti M., Ferretti R., Paolini A., Masotti A., Levi Mortera S., Petrini S., de Billy E., Pascucci L., Court W., Caschione A., Carai A., Camassei F.D., Moore A., Carcaboso A.M., Jones C., Mastronuzzi A., Locatelli F., Di Giannatale A., Vinci M.* PD1M-09: diffuse intrinsic pontine glioma and pediatric glioblastoma derived-exosomes have specific oncogenic signatures. *Neuro Oncol.* 2018; 20 s6: 205. doi:10.1093/neuonc/nyo148.851.

51. *Petersen E.V., Chudakova D.A., Skorova E.Y., Anikin V., Reshetov I.V., Mynbaev O.A.* The Extracellular Matrix-Derived Biomarkers for Diagnosis, Prognosis, and Personalized Therapy of Malignant Tumors. *Front Oncol.* 2020; 10. doi: 10.3389/fonc.2020.575569.

52. *Li Z., Langhans S.A.* In Vivo and Ex Vivo Pediatric Brain Tumor Models: An Overview. *Front Oncol.* 2021; 11. doi: 10.3389/fonc.2021.620831.

53. *Rota C.M., Brown A.T., Addleson E., Ives C., Trumper E., Pelton K., Teh W.P., Schniederjan M.J., Castellino R.C., Buhrlage S., Lauffenburger D.A., Ligon K.L., Griffith L.G., Segal R.A.* Synthetic extracellular matrices and astrocytes provide a supportive microenvironment for the cultivation and investigation of primary pediatric gliomas. *Neurooncol Adv.* 2022; 4(1). doi: 10.1093/naojnl/vdac049.

54. Kholosy M.W., Derieppe M., van den Ham F., Ober K., Su Y., Custers L., Schild L., van Zogchel M. J. L., M Wellens L., R Ariese H., Szanto C.L., Wienke J., Dierselhuys M.P., van Vuurden D., Dolman E.M., Molenaar J.J. Neuroblastoma and DIPG Organoid Coculture System for Personalized Assessment of Novel Anticancer Immunotherapies. *J Pers Med.* 2021; 11(9): 869. doi: 10.3390/jpm11090869.
55. Carvalho D.M., Temelso S., Mackay A., Pemberton H.N., Rogers R., Kessler K., Izquierdo E., Bjerke L., Salom J.F., Clarke M., Grabovska Y., Burford A., Olaciregui N.G., Boulton J.K.R., Molinari V., Fofana M., Proszek P., Potente E.F., Taylor K.R., Chandler C., Zebian B., Bhangoo R., Martin A.J., Dabbous B., Stapleton S., Hettige S., Marshall L.V., Carceller F., Mandeville H.C., Vaidya S.J., Al-Sarraj S., Bridges L.R., Johnston R., Cryan J., Farrell M., Crimmins D., Caird J., Pears J., Pericoli G., Miele E., Mastronuzzi A., Locatelli F., Carai A., Robinson S.P., Hubank M., Monje M., Moore A.S., Hassall T.E.G., Carcaboso A.M., Lord C.J., Vinci M., Jones C. Drug screening linked to molecular profiling identifies novel dependencies in patient-derived primary cultures of paediatric high grade glioma and DIPG. *bioRxiv.* 2020. doi:10.1101/2020.12.29.424674.
56. Kozhushko N., Jedrysik M., Fillmore H. OTME-22. Bioinformatic evaluation of ECM molecules and angiogenic associate genes in diffuse midline glioma (DMG): mapping the tumour microenvironment. *Neurooncol Adv.* 2021; 3(s2): 18. doi: 10.1093/oaajnl/vdab070.073.
57. Jedrysik M., Loveson K.L., Kozusko N., Singh P., Allison K., Fillmore H.L. OPTC-4. Bioinformatic analysis of COLX1a1 gene expression and its alternative splicing regulation in Paediatric Diffuse Intrinsic Pontine Gliomas (DIPGs). *Neurooncol Adv.* 2021; 3(S2): 6. doi: 10.1093/oaajnl/vdab070.025.
58. De T., Goyal S., Balachander G., Chatterjee K., Kumar P., Babu K.G., Rangarajan A. A Novel Ex Vivo System Using 3D Polymer Scaffold to Culture Circulating Tumor Cells from Breast Cancer Patients Exhibits Dynamic E-M Phenotypes. *J Clin Med.* 2019; 8(9): 1473. doi: 10.3390/jcm8091473.
59. Sherman H., Rossi A.E. A Novel Three-Dimensional Glioma Blood-Brain Barrier Model for High-Throughput Testing of Tumoricidal Capability. *Front Oncol.* 2019; 9: 351. doi: 10.3389/fonc.2019.00351.

Поступила/Received 28.11.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 10.04.2023

Принята к публикации/Accepted 24.04.2023

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Петерсен Елена Владимировна, кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией молекулярно-биологических и нейробиологических проблем и биоскрининга, ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)» (г. Долгопрудный, Россия). SPIN-код: 6309-6054. Researcher ID (WOS): L-2254-2013. Author ID (Scopus): 56496310300. ORCID: 0000-0002-8150-7553.

Чудакова Дарья Александровна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-биологических и нейробиологических проблем и биоскрининга, ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)» (г. Долгопрудный, Россия). ORCID: 0000-0002-9354-6824.

Эрдынеева Даяна Батоевна, аспирант лаборатории молекулярно-биологических и нейробиологических проблем и биоскрининга, ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)» (г. Долгопрудный, Россия). E-mail: daya-na@mail.ru. Author ID (Scopus): 57218872794. ORCID: 0000-0003-2279-0157.

Калинкин Александр Александрович, кандидат медицинских наук, нейрохирург, онкохирург, ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9919-5834. ORCID: 0000-0002-1605-9088.

Кларос Роберто, студент 3-го курса Физтех-школы биологической и медицинской физики, ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)» (г. Долгопрудный, Россия). ORCID: 0000-0002-2495-9772.

Шабалина Евгения Юрьевна, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-биологических и нейробиологических проблем и биоскрининга, ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)» (г. Долгопрудный, Россия). SPIN-код: 1868-1436. Researcher ID (WOS): AAB-2911-2019. Author ID (Scopus): 57212492791. ORCID: 0000-0002-8184-7363.

Гудков Денис Андреевич, кандидат химических наук, исполнительный директор Центра внедрения геномных технологий, ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)» (г. Долгопрудный, Россия). ORCID: 0000-0003-2582-1166.

Мынбаев Оспан Абдрахманович, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-биологических и нейробиологических проблем и биоскрининга, ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)» (г. Долгопрудный, Россия). SPIN-код: 1993-8183. Researcher ID (WOS): K-5326-2013. Author ID (Scopus): 6602811094. ORCID: 0000-0002-9309-1938.

Решетов Игорь Владимирович, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой онкологии, радиотерапии и реконструктивной хирургии, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0002-3888-8004.

ВКЛАД АВТОРОВ

Петерсен Елена Владимировна: планирование концепции обзора, анализ литературы по теме обзора, написание текста статьи, окончательное редактирование и утверждение публикуемой версии статьи.

Чудакова Дарья Александровна: планирование концепции обзора, поиск и анализ литературы по теме обзора, написание текста статьи, окончательное редактирование и утверждение публикуемой версии статьи.

Эрдынеева Даяна Батоевна: поиск и анализ литературы по теме обзора, оформление текста статьи.

Калинкин Александр Александрович: окончательное редактирование и утверждение публикуемой версии статьи

Кларос Роберто: поиск литературы по теме обзора.

Шабалина Евгения Юрьевна: планирование концепции обзора, оформление текста статьи.

Гудков Денис Андреевич: планирование концепции обзора, окончательное редактирование и утверждение публикуемой версии статьи.

Мынбаев Оспан Абдрахманович: планирование концепции обзора, окончательное редактирование и утверждение публикуемой версии статьи.

Решетов Игорь Владимирович: планирование концепции обзора, окончательное редактирование и утверждение публикуемой версии статьи.

Финансирование.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФ гранты №21-15-00411 и РФФ №18-15-00391.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Исследование было выполнено при использовании ресурсов ЦКП МФТИ «Прикладная генетика» (грант №075-15-2021-684, госзадание 730000Ф.99.1.БВ10АА00006).

ABOUT THE AUTHORS

Elena V. Petersen, MD, PhD, Head of the Laboratory of Molecular-Biological and Neurobiological Problems and Bioscreening, Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University) (Dolgoprudny, Russia). Researcher ID (WOS): L-2254-2013. Author ID (Scopus): 56496310300. ORCID: 0000-0002-8150-7553.

Daria A. Chudakova, PhD, Leading Researcher, Laboratory of Molecular-Biological and Neurobiological Problems and Bioscreening, Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University) (Dolgoprudny, Russia). ORCID: 0000-0002-9354-6824.

Daiana B. Erdyneeva, MD, Postgraduate, Laboratory of Molecular-Biological and Neurobiological Problems and Bioscreening, Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University) (Dolgoprudny, Russia). E-mail: daya-na@mail.ru. Author ID (Scopus): 57218872794. ORCID: 0000-0003-2279-0157.

Aleksandr A. Kalinkin, MD, PhD, neurosurgeon, oncosurgeon, Federal Scientific and Clinical Centre for Specialized Types of Medical Care and Medical Technologies, Federal Medical-Biological Agency of Russia (Moscow, Russia). SPIN-код: 9919-5834. ORCID: 0000-0002-1605-9088.

Roberto Claros, Student, Phystech School of Biological and Medical Physics, Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University) (Dolgoprudny, Russia). ORCID: 0000-0002-2495-9772.

Evgeniya Y. Shabalina, Postgraduate, Junior Researcher, Laboratory of Molecular-Biological and Neurobiological Problems and Bioscreening, Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University) (Dolgoprudny, Russia). Researcher ID (WOS): AAB-2911-2019 Author ID (Scopus): 57212492791. ORCID: 0000-0002-8184-7363.

Denis A. Gudkov, PhD, Executive Director of the Center for the Implementation of Genomic Technologies, Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University) (Dolgoprudny, Russia). ORCID: 0000-0003-2582-1166.

Ospan A. Mynbaev, MD, DSc, Leading Researcher, Laboratory of Molecular-Biological and Neurobiological Problems and Bioscreening, Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University) (Dolgoprudny, Russia). Researcher ID (WOS): K-5326-2013. Author ID (Scopus): 6602811094. ORCID: 0000-0002-9309-1938.

Igor V. Reshetov, MD, DSc, Head of the Department of Oncology, Radiotherapy and Reconstructive Surgery, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russia (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-3888-8004.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Elena V. Petersen: study conception and design, literature analysis, writing of the manuscript, final editing and approval of the manuscript.

Daria A. Chudakova: study conception and design, literature search and analysis, writing of the manuscript, final editing and approval of the manuscript.

Daiana B. Erdyneeva: literature search, formatting of the text of the manuscript.

Aleksandr A. Kalinkin: final editing and approval of the manuscript.

Roberto Claros: literature search.

Evgeniya Y. Shabalina: study conception, formatting of the text of the manuscript.

Denis A. Gudkov: study conception, final editing and approval of the manuscript.

Ospan A. Mynbaev: study conception, final editing and approval of the manuscript.

Igor V. Reshetov: study conception, final editing and approval of the manuscript.

Funding

The study was supported by the Russian Science Foundation (RSF) grant №21-15-00411 and grant №18-15-00391.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgments

The study was supported by resources of the MIPT Research Equipment Sharing Center «Applied Genetics» (grant №075-15-2021-684, state assignment 730000Ф.99.1.БВ10АА00006).