Южно-Российский онкологический журнал. 2024. Т. 5, № 3. С. 64-75
https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-3-6
https://elibrary.ru/mzrjgd
3.1.6. Онкология, лучевая терапия
ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

BY 4.0

Изменения концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК и ДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M) в крови и люмбальном ликворе у детей с диффузными срединными глиомами на фоне курса лучевой терапии

О. С. Регентова[1]✉, В. К. Боженко[1], Е. А. Кудинова[1], Т. М. Кулинич[1], Е. Л. Джикия[1], В. В. Каминский[1], Ф. Ф. Антоненко[1], Р. А. Пархоменко[1,2], Н. И. Зелинская[1], Н. Сидибе[1], П. В. Полушкин[1], А. И. Шевцов[1], М. А. Близниченко[1], В. А. Солодкий[1]

[1] ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
[2] ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Российская Федерация
✉ olgagraudensh@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучить выявляемость свободно циркулирующей ДНК гена *H3F3A* (K27M) в плазме крови и люмбальном ликворе у детей с диффузными срединными глиомами (ДСГ) на фоне курса лучевой терапии (ЛТ).
Материалы и методы. Молекулярно-генетические исследования проводились методом цифровой полимеразной цепной реакции (ПЦР). Проанализировано 96 образцов люмбального ликвора и 288 образцов плазмы периферической крови 96 пациентов детского возраста. В исследуемом материале определялась концентрация циркулирующей опухолевой (цоДНК) мутантной ДНК и ДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M) на фоне проводимого курса ЛТ. Забор люмбального ликвора проводился однократно в начале ЛТ, забор крови – трижды: 1-я проба – до начала ЛТ, 2-я проба – на фоне суммарной очаговой дозы (СОД) 10–15 Грей (Гр), и 3-я – после завершения курса ЛТ. Пациенты, которые получили лучевую или химиолучевую терапию, были разделены на следующие группы: 1-я группа включала в себя пациентов со стабилизацией роста опухоли головного мозга в сроки раннего магнитно-резонансного (МР) контроля, 2-я группа – пациентов с прогрессированием заболевания.
Результаты. При стабилизации заболевания после проведенного курса ЛТ на фоне лечения уровень концентрации как мутантного варианта цоДНК, так и цоДНК дикого типа достоверно снижался в анализе крови при третьем заборе. Отсутствие изменений или увеличение уровня концентрации мутантной цоДНК и цоДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M) к концу курса ЛТ было характерно для пациентов продолженным ростом опухоли с прогрессированием заболевания в виде появления метастатических очагов в центральной нервной системе. При этом концентрация ДНК дикого типа гена H3F3A (K27M) в группе пациентов с прогрессированием была более высокой как в люмбальном ликворе, так в анализе крови при первом заборе.
Заключение. Определение концентрации и динамики циркулирующей опухолевой ДНК мутантного и дикого типа гена *H3F3A* (K27M) в плазме крови и люмбальном ликворе у детей с диффузными срединными глиомами головного мозга в процессе ЛТ является перспективным с точки зрения прогноза эффективности проводимой терапии.

Ключевые слова: глиома, диффузные срединная глиома, цифровая капельная ПЦР, ген *H3F3A*, мутация K27M, циркулирующая опухолевая ДНК (цоДНК)

Для цитирования: Регентова О. С., Боженко В. К., Кудинова Е. А., Кулинич Т. М., Джикия Е. Л., Каминский В. В., Антоненко Ф. Ф., Пархоменко Р. А., Зелинская Н. И., Сидибе Н., Полушкин А. И., Близниченко М. А., Солодкий В. А. Изменения концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК и ДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M) в крови и люмбальном ликворе у детей с диффузными срединными глиомами на фоне курса лучевой терапии. Южно-Российский онкологический журнал. 2024; 5(3): 64-75. https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-3-6, https://elibrary.ru/mzrjgd

Для корреспонденции: Регентова Ольга Сергеевна – к.м.н., заведующий отделением лучевой терапии детей с койками онкологии, ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
Адрес: 117997, Российская Федерация, г. Москва, ул. Профсоюзная, д. 86
E-mail: olgagraudensh@mail.ru
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0219-7260
SPIN: 9657-0598, AuthorID:1011228

Соблюдение этических стандартов: в работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ред. 2013). Исследование обсуждено и одобрено на заседании Ученого совета ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (научный протокол № 3/2022 от 12.12.2022 г., протокол № 7). Информированное согласие получено от всех участников исследования

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Статья поступила в редакцию 22.07.2024; одобрена после рецензирования 19.08.2024; принята к публикации 25.08.2024

© Регентова О. С., Боженко В. К., Кудинова Е. А., Кулинич Т. М., Джикия Е. Л., Каминский В. В., Антоненко Ф. Ф., Пархоменко Р. А., Зелинская Н. И., Сидибе Н., Полушкин А. И., Близниченко М. А., Солодкий В. А., 2024

South Russian Journal of Cancer. 2024. Vol. 5, No. 3. P. 64-75
https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-3-6
https://elibrary.ru/mzrjgd
ORIGINAL ARTICLE

Changes in the concentration of freely circulating mutant DNA and wild-type DNA of the *H3F3A* (K27M) gene in the blood and cerebrospinal fluid of children with diffuse midline gliomas during a course of radiation therapy

O. S. Regentova[1]✉, V. K. Bozhenko[1], E. A. Kudinova[1], T. M. Kulinich[1], E. L. Dzhikiya[1], V. V. Kaminskiy[1], F. F. Antonenko[1], R. A. Parkhomenko[1,2], N. I. Zelinskaya[1], N. Sidibe[1], P. V. Polushkin[1], A. I. Shevtsov[1], M. A. Bliznichenko[1], V. A. Solodkiy[1]

[1] Russian Scientific Center of Roentgenoradiology, Moscow, Russian Federation
[2] RUDN University, Moscow, Russian Federation
✉ olgagraudensh@mail.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. To study the possibility of detecting freely circulating DNA of the *H3F3A* (K27M) gene in blood plasma and cerebrospinal fluid in the lumbar spine in children with diffuse midline gliomas (DMG) during a course of radiation therapy (RT).
Materials and methods. Molecular genetic studies were carried out by digital PCR. 96 samples of lumbar cerebrospinal fluid and 288 samples of peripheral blood plasma from 96 pediatric patients were analyzed. The concentration of circulating tumor (ctDNA) mutant DNA and wild-type DNA of the *H3F3A* (K27M) gene was determined in the studied material against the background of a course of RT. Lumbar cerebrospinal fluid sampling was performed once at the beginning of therapy, blood sampling was performed three times: The 1st test before the start of RT, the 2nd against the background of a total dose 10–15 Gy, and the 3rd after the completion of the RT course. Patients are divided into the following groups: patients with stabilization of brain tumor growth during early magnetic resonance (MR) control 3 months after completion of the course of RT; patients with disease progression during the same follow-up period who underwent radiation or chemoradiotherapy.
Results. When the disease stabilized after a RT course during treatment, the concentration level of both the mutant variant of ctDNA and wild-type ctDNA significantly decreased in the third blood fraction. The absence of changes or an increase in the concentration of mutant ctDNA and wild-type ctDNA of the *H3F3A* (K27M) gene by the end of the course of radiation therapy was typical for patients with disease progression in the form of the appearance of metastatic foci in the central nervous system or continued tumor growth. At the same time, the concentration of wild-type DNA of the *H3F3A* (K27M) gene in the group of patients with progression was higher both in the lumbar cerebrospinal fluid and in the first fraction of blood plasma.
Connclusion. Determination of the concentration and dynamics of circulating tumor DNA of the mutant and wild type of the *H3F3A* (K27M) gene in blood plasma and lumbar cerebrospinal fluid in children with diffuse median gliomas of the brain during radiation therapy is promising from the point of view of predicting the effectiveness of therapy.

Keywords: glioma, diffuse median glioma, digital drip PCR, *H3F3A*, K27M, circulating tumor DNA (ctDNA)

For citation: Regentova O. S., Bozhenko V. K., Kudinova E. A., Kulinich T. M., Dzhikiya E. L., Kaminskiy V. V., Antonenko F. F., Parkhomenko R. A., Zelinskaya N. I., Sidibe N., Polushkin P. V., Shevtsov A. I., Bliznichenko M. A., Solodkiy V. A. Changes in the concentration of freely circulating mutant DNA and wild-type DNA of the *H3F3A* (K27M) gene in the blood and cerebrospinal fluid of children with diffuse midline gliomas during a course of radiation therapy. South Russian Journal of Cancer. 2024; 5(3):64-75. (In Russ.). https://doi.org/10.37748/2686-9039-2024-5-3-6, https://elibrary.ru/mzrjgd

For correspondence: Olga S. Regentova – Cand. Sci. (Med.), MD, head of pediatric radiation oncology department with beds for oncology patients, Russian Scientific Center of Roentgen Radiology, Moscow, Russian Federation
Address: 86 Profsoyuznaya Street, Moscow 117997, Russian Federation
E-mail: olgagraudensh@mail.ru
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0219-7260
SPIN: 9657-0598, AuthorID:1011228

Compliance with ethical standards: this research has been carried out in compliance with the ethical principles set forth by the World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ed. 2013. The study was discussed and approved at a meeting by the Scientific Council of the Russian Scientific Center of Roentgenoradiology (Scientific Protocol No. 3/2022, 12/12/2022, Protocol No. 7). Informed consent was received from all the participants of the study

Funding: this work was not funded

Conflict of interest: the authors declare that there are no obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article

The article was submitted 22.07.2024; approved after reviewing 19.08.2024; accepted for publication 25.08.2024

ВВЕДЕНИЕ

За последние 10 лет произошел фундаментальный сдвиг парадигмы в области диагностики диффузных срединных глиом (ДСГ), где среди наиболее значимых открытий – мутация K27M в генах *H3F3A* или *HIST1H3B*, которые кодируют варианты гистона H3, H3.3 и H3.1. Мутация H3K27M дает фору к глиомагенезу за счет стойкой клоногенности и аберрантной дифференцировки и определяет связанные с этим изменения в метилировании гистонов и ДНК [1]. Сохранение пролиферативных клоногенных состояний увеличивает вероятность приобретения дополнительных мутаций в зарождающихся неоморфных клетках. Кроме того, аберрантная дифференцировка может изменить организацию тканей и создать микроокружение, способствующее развитию опухолей. Оба фактора являются потенциальными последствиями мутации H3K27M и могут способствовать возникновению ДСГ [1]. На сегодняшний день выявление мутации K27M в гене *H3F3A* рекомендуется в ряде зарубежных стран для оценки прогноза течения заболевания и выбора тактики лечения [2–4]. Выявление мутации при ДСГ сопряжено с крайне агрессивным клиническим течением и неблагоприятным прогнозом [5–8] независимо от данных гистологического исследования, поэтому при обнаружении мутации K27M в гене *H3F3A* опухоль относят к 4-й степени злокачественности [4, 6, 7].

При сравнении пациентов взрослого и детского возраста с опухолями центральной нервной системы (ЦНС) было выявлено, что у взрослых мутация K27M с наибольшей частотой встречается в глиомах высокой степени злокачественности (ГВСЗ) таламуса и спинного мозга, а у детей – при диффузных срединных глиомах головного мозга, при этом частота мутации K27M в гене *H3F3A* может достигать 94 % [6, 9, 10]. Важным отличием является то, что у детей, страдающих ДСГ, наличие мутации K27M – крайне неблагоприятный прогностический фактор, а для супратенториальных глиом у взрослых данное изменение гена не является клинически значимым. Достоверных отличий в выживаемости и клиническом течении заболевания для взрослых пациентов с мутацией K27M и без не выявлено, H3K27M может присутствовать как в гистологически верифицированных ГВСЗ, так и в глиомах низкой степени злокачественности (ГНСЗ) [9].

У детей с ГВСЗ с мутацией K27M обладают более агрессивным клиническим течением в сравнении с ГВСЗ другой генетической природы, в связи с чем выявление мутантных форм имеет прогностическую ценность, и большинство исследований сосредоточены именно на изучении мутантной ДНК гена *H3F3A* при ДСГ, в особенности среди детей [2]. При этом практически отсутствует информация о прогностической роли определения изменения концентрации ДНК дикого типа в процессе лечения и соотношении концентраций мутантной ДНК и дикого типа гена *H3F3A* [11] среди опухолей срединных структур, хотя для опухолей других локализаций возрастание концентрации ДНК дикого типа является плохим прогностическим фактором [12, 13].

При ДСГ вследствие особенностей анатомического расположения опухолей затруднено получение гистологического материала с помощью хирургического вмешательства. К сожалению, использование прицельной стереотаксической биопсии не всегда позволяет получить адекватное количество и качество материала для гистологического и молекулярного исследования [14, 15]. При биопсии диффузной опухоли проводится забор ткани из нескольких точек, что не всегда позволяет выявить внутриопухолевую гетерогенность для точного диагноза [16]. Использование метода жидкостной биопсии, нацеленное на выявление биологических маркеров по анализу циркулирующих опухолевых ДНК (цоДНК) в образцах плазмы крови и люмбального ликвора, позволяет определить молекулярный профиль опухоли без использования травмирующих инвазивных методик. Современные подходы к мониторингу течения болезни, соответствующие мировым стандартам, включают в себя рентгенографическую визуализацию – магнитно-резонансную томографию (МРТ) для определения ответа опухоли на лечение. Стоит отметить, что проведение МРТ-исследования является дорогостоящей процедурой, и зачастую, в случае исследования пациентов детского возраста, требует применения анестезиологического пособия, что труднодоступно в регионах. В случае ДСГ H3K27M диффузный рост опухоли и вызванный радиацией отек усложняют интерпретацию изображений при динамическом наблюдении. Исследования показали, что уровни биомаркеров опухоли в биологических средах, например, крови или спинномозговой жидкости, коррелируют с течением заболевания. Таким образом, последовательная количественная оценка этих биомаркеров может помочь заранее выявить

прогрессирование заболевания. Диагностический потенциал использования жидкостной биопсии при ДСГ у детей не раскрыт до конца, хотя исследования в этом направлении активно ведутся [7, 17]. Кроме того, применение жидкостной биопсии в детской нейроонкологии отстает от аналогичных методов у взрослых, тем не менее, эти исследования показывают, что технология обладает значительным потенциалом [7, 17–19].

Наиболее доступным материалом для метода жидкостной биопсии является плазма крови, и для многих солидных новообразований определение цоДНК в плазме является важным диагностическим методом [6, 7]. Однако при ДСГ гемато-энцефалический барьер (ГЭБ) значительно ограничивает поступление цоДНК в кровь [20], поэтому альтернативным источником цоДНК является люмбальный ликвор [7, 21]. При опухолях ЦНС у детей молекулярное исследование люмбального ликвора также может быть значимой альтернативой морфологической верификации при высоких рисках или невозможности получения биопсийного материала [19].

На сегодняшний день наиболее чувствительным методом оценки цоДНК, позволяющим получить адекватные результаты при малом количестве материала, является метод цифровой капельной полимеразной цепной реакции (ПЦР) [7]. За последние годы количество исследований, проводимых этим методом, многократно возросло, в том числе при опухолях ЦНС [7, 11].

Комплексный подход в исследованиях методом жидкостной биопсии, особенно при ДСГ, должен включать в себя сочетание выбора материала исследования и методов молекулярного анализа [6, 7]. В последние годы золотым стандартом стало исследование цоДНК как в плазме, так и в ликворе, что позволяет получить наиболее точные молекулярные данные, необходимые для диагностики и прогноза течения заболевания.

В данной работе мы исследовали цоДНК гена *H3F3A* (K27M) как в плазме крови, так и в люмбальном ликворе у детей с опухолями срединных структур на фоне проведения лучевой терапии (ЛТ). Особое внимание было уделено не только выявляемости мутантной цоДНК, но и соотношению количества мутантной цоДНК к цоДНК дикого типа – вариантная аллельная фракция (ВАФ), изменению ВАФ H3.3K27M с течением времени («дельта ВАФ»), а также ее корреляции с различными клиническими параметрами [22]. На наш взгляд, немаловажным, но малоизученным является исследование пациентов без мутации H3.3K27M. На сегодняшний день в доступных литературных источниках мы не нашли сведения об изменении концентрации ДНК дикого типа гена *H3F3A* на фоне ЛТ у детей, что подтверждает актуальность нашей работы и необходимость дальнейшего развития молекулярной диагностики и персонализированной терапии ДСГ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 96 детей с опухолями срединных структур головного мозга, которые проходили курс лучевой или химиолучевой терапии на базе отделения лучевой терапии детей ФГБУ «Российского научного центра рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации в период с 2022 по 2024 гг. Исследуемая когорта состояла из 53 (55 %) мальчиков и 43 (45 %) девочек в возрасте от 18 месяцев до 18 лет, средний возраст на момент постановки диагноза составлял 8 лет. Клинические показатели включали в себя пол, возраст, характер прогрессирование болезни – появление метастатических отсевов в ЦНС или продолженный рост опухоли, но они не имели достоверных отличий в исследуемых группах и связей с концентрациями ДНК в плазме крови и люмбальном ликворе ($p > 0,05$). При проведении инструментального обследования больных по результатам МРТ головного мозга нативно и с контрастным усилением (КУ) до начала терапии было установлено, что у всех пациентов опухоли имели диффузный рост и срединное расположение. Гистологическое исследование опухолей в 18 случаях продемонстрировало, что в основном преобладали ГВСЗ, у 6 из них имела место мутация K27M в гене *H3F3A*. Оценка групп с продолженным ростом и стабилизацией заболевания проводилось на основании данных МРТ головного мозга нативно и с КУ, выполненной в сроки через 3–4 месяца после завершения курса ЛТ.

Схема проведения лучевой терапии

ЛТ проводилась с использованием линейных ускорителей Varian Clinac 2100, True Beam, системы дозиметрическихз расчетов «Varian Eclipse». В ходе терапии применялся традиционный вариант

фракционирования дозы по 1,8–2 Грея (Гр) с подведением суммарной дозы до 54 Гр. При наличии выраженного перифокального отека и симптомах формирующейся внутричерепной гипертензии, лечение начиналось в режиме мультифракционирования разовыми дозами 1,0–1,1 Гр 2 раза в день с интервалом между фракциями 4–6 часов с постепенным переходом на обычный режим фракционирования по мере стабилизации состояния, но с коррекцией суммарной дозы за период мультифракционирования в сторону ее повышения эквивалентной 54 Гр. У больных с гистологически подтвержденным диагнозом ГВСЗ курс ЛТ проводился с параллельной радиомодификацией темозоломидом, 75 мг/м^2, ежедневно на фоне всего курса ЛТ.

Получение материала для исследования

В ходе исследования мы получили образцы плазмы периферической крови и люмбального ликвора от 97 пациентов. Образцы люмбального ликвора были взяты однократно на фоне ЛТ. Забор плазмы крови производился на трех этапах: до начала терапии, в процессе ЛТ и после завершения курса ЛТ.

Выделение циркулирующей ДНК из люмбального ликвора

Для выделения цоДНК из люмбального ликвора мы использовали наборы фирмы Sileks, которые основаны на использовании частиц SileksMagNA-Direct (частицы для избирательного связывания нуклеиновых кислот). Процедуру извлечения проводили согласно протоколу, предоставленному производителем. Забор ликвора и начало процедуры выделения циркулирующей опухолевой ДНК не превышали 30 мин. Люмбальный ликвор центрифугировали при 1500 оборотов в минуту в течение 5 мин., и надосадочную фракцию объемом от 0,7 до 2 мл использовали для выделения цоДНК. В нашей работе из 96 образцов ликвора в 33 была выделена мутантная цоДНК гена *H3F3A*, цоДНК дикого типа гена *H3F3A* была выделена во всех 96 образцах ликвора (рис. 1).

Выделение циркулирующей ДНК из плазмы крови

Подготовка плазмы. Плазма отделялась сразу после получения образца крови. Для выделения циркулирующей ДНК из плазмы крови использовали наборы фирмы Sileks на основе частиц SileksMagNA-Direct. Процедуру выделения проводили по протоколу фирмы производителя. Из полученных 288 образцов плазмы периферической крови, у 29 была выделена мутантная цоДНК гена *H3F3A*, цоДНК дикого типа гена *H3F3A* выделена во всех исследуемых образцах.

Определение мутации K27M в гене *H3F3A* методом цифровой капельной ПЦР (ddPCR)

Применялся высокочувствительный скрининг мутации *H3F3A* (K27M) с использованием техно-

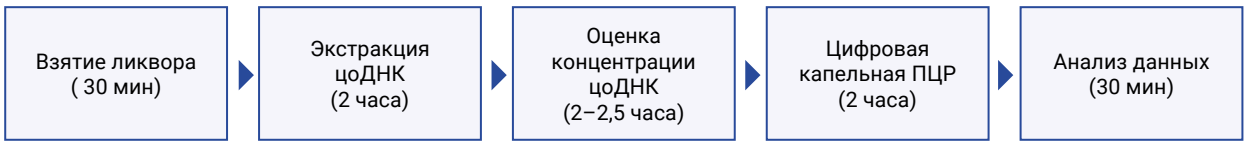

Рис. 1. Выделение циркулирующей опухолевой ДНК методом капельной ПЦР из люмбального ликвора

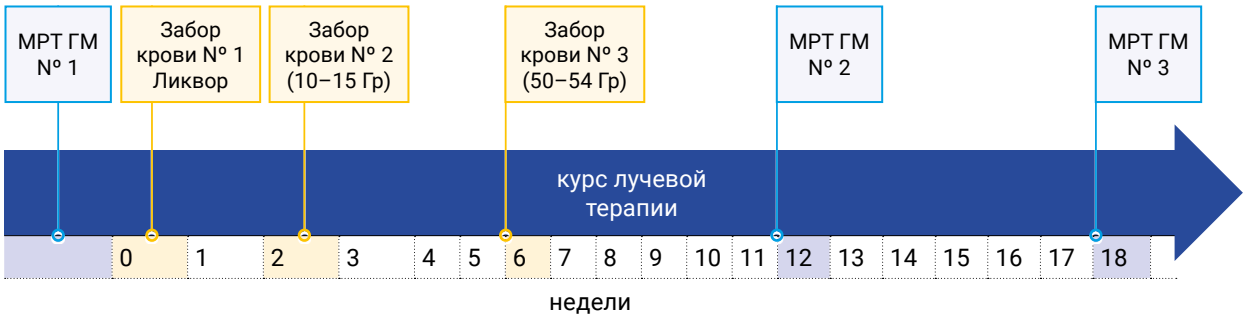

Рис. 2. Дизайн исследования

логии Digital Droplet PCR (ddPCR) с применением набора для скрининга *H3F3A* (K28M) Screening Kit (Bio-Rad, США) и системы QX100 Droplet Digital PCR System (Bio-Rad, США).

Для постановки ddPCR применяли реактивы фирмы «BioRad» согласно протоколу исследования. ДНК-зонды, использовавшиеся для детекции продуктов амплификации исследуемых и нормировочных генов, были помечены FAM и HEX. ПЦР смесь помещали в генератор капель, где из 20 мкл образца, в котором требуется определить количество исследуемой ДНК, создают водно-масляную эмульсию, в каждой пробирке образуется до 20 000 капель объемом 1 нл. При этом генетический материал распределяется по каплям случайным образом: в них попадают как ДНК-мишени, так и фоновая ДНК. Процесс распределения целевой ДНК по каплям чисто случайный и подчиняется закону распределения малых чисел Пуассона. Перед разделением образца на капли не обязательно разводить его до концентрации, чтобы в каждой капле было либо 0, либо 1 копия ДНК-мишени: при анализе результатов учитываются ситуации, когда в одной капле находится более одной копии мишени. По распределению Пуассона в каплю либо попадает одна матричная цепь, либо не попадает ни одной. Из генератора капель образцы переносили в амплификатор. Амплификацию осуществляли в режиме «реального времени». После амплификации планшет помещали в прибор «BIO-RAD QX 100TM DROPLET READER», где происходило считывание сигнала от флюоресцентных меток. В капле с матрицей амплификация идет во много раз эффективнее, чем при других видах ПЦР, что связано с нахождением всех компонентов смеси для ПЦР в нанообъеме. Во время амплификации происходит энзиматическое расщепление TaqMan-зондов, в результате чего многократно увеличивается эффективность флюоресценции капли. Накопленный в ходе амплификации продукт детектируется в каждой капле отдельно, со скоростью 1500 капель/с. По соотношению общего количества микрокапель и количества микрокапель, в которых уровень флюоресценции превышает фоновый, ридер рассчитывает абсолютное количество ДНК в одном микролитре образца. Учет результатов производился в программе «Quanta Self 16».

База клинических случаев формировалась с использованием электронных баз таблиц Microsoft Excel. Статистическая обработка проводилась с применением программного обеспечения SPSS для Windows, версия 26.0 (SPSS, Чикаго, Иллинойс, США) и Statistica, версия 13.

Проверку нормальности распределения выборки проводили с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Достоверность различий определяли с помощью критерия Манна-Уитни. Для оценки качественных признаков применяли точный односторонний критерий Фишера. Результаты сравнения количественных данных считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Анализ мутаций

В последние годы ученые сосредоточили свое внимание на H3.3K27M-мутантных ДСГ [19], поскольку мутация *H3F3A* (K27M) чаще встречается, чем мутации G34V/R, у детей с высоко злокачественными диффузными глиомами [23–25]. Эта мутация рассматривается как потенциальный диагностический маркер для определения этих опухолей, аналогично использованию мутаций IDH1/2 для диагностики диффузных глиом у взрослых.

Все мутации H3K27M, описанные при ДСГ, в большинстве случаев имеют одинаковые эпигеномные последствия для комплекса PRC2 (PRC2 – Polycomb repressive complex 2 – консервативный белковый комплекс) в целом [26, 27], несмотря на различные функции и геномное распределение множества вариантов. Важно отметить, что именно от типа гистона, где присутствует мутация K27M, в значительной степени зависит продолжительность жизни пациентов. Еще в 2014 г. Wu и соавт. установили, что опухоли с мутацией в гистоне H3.1 лучше поддаются ЛТ, имеют менее агрессивное течение и реже дают метастазы [28]. Поэтому оценка типа мутации гистона может быть использована в качестве прогностического фактора стратификации в будущих проспективных исследованиях [4].

В настоящем исследовании оценивались ВАФ H3.3K27M – соотношение концентрации свободно циркулирующей мутантной ДНК к ДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M) в пробах люмбального ликвора, а также в плазме крови. При этом забор образцов плазмы крови проводился до начала проведения ЛТ (проба 1), в процессе проведения ЛТ (проба 2) и после окончания ЛТ (проба 3) (рис. 2). Всего оценивалось 8 параметров. Тем самым мы определили

концентрацию и оценили динамику изменения, на фоне ЛТ не только мутантной ДНК, но и ДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M). Необходимо понимание молекулярных особенностей развития ДСГ с различных сторон, чтобы стало возможным совершенствование и создание новых терапевтических стратегий.

2. Корреляционный статус гена *H3F3A* (K27M) и клинико-патологическая характеристика

В ранее проведенных исследованиях было показано, что K27M-мутантные ДСГ связаны со значительно более краткосрочной выживаемостью [29]. Более того, в многофакторном анализе, учитывающем также эффект лечения, тип мутации гистона H3 был более точным предиктором продолжительности выживаемости, чем оценка клинико-радиологического риска ДСГ [11, 30].

При анализе полученных нами данных мы установили наличие достоверной корреляционной зависимости между прогрессированием и мутантной цоДНК гена *H3F3A* (K27M), полученной из фракции люмбального ликвора (табл. 1).

В недавнем доклиническом исследовании Grasso и соавт., исследуя эффективность применения препарата панобиностата при ДСГ, установили его эффективность против клеток, содержащих как мутантную ДНК, так и ДНК дикого типа для гена *H3F3A* (K27M) *in vitro*, хотя клетки с мутацией H3K27M развили устойчивость к панобиностату в течение нескольких недель после воздействия низкими дозами препарата. Стоит отметить, что лечение панобиностатом значительно продлевает выживаемость мышей с опухолями без мутации в гене *H3F3A* [31]. Эти результаты привели к инициированию NCT02717455 (clinaltrials.gov), клинического испытания панобиностата (I фаза – LBH589), проводимого Педиатрическим консорциумом по опухолям головного мозга (PBTC) для лечения детей с рецидивирующими или прогрессирующими ГВСЗ.

В связи с этим, мы обратили особое внимание на изменение концентрации ДНК дикого типа для гена *H3F3A* (K27M), предполагая, что данное явление может стать одним из эффек-

Таблица 1. Корреляционная зависимость между мутантной ДНК гена *H3F3A* (K27M) и прогрессированием заболевания

Переменная	Корреляции значимы на уровне $p < 0,05$
	Прогрессирование
K27Mmut в ликворе	0,271440

Таблица 2. Корреляционная зависимость между мутантной ДНК гена *H3F3A* (K27M) в ликворе и первых двух пробах крови на фоне ЛТ

Переменная	Отмеченные корреляции значимы на уровне $p < 0,05$
	mut(K27M ликвор)
mut(K27M забор 1)	0,555019
mut(K27M забор 2)	0,384082

Таблица 3. Корреляционная зависимость между мутантной ДНК гена *H3F3A* (K27M) во втором заборе крови и ликворе, первой и третьей пробах крови на фоне ЛТ мутантного варианта гена, а также гена дикого типа в третьей пробе

Переменная	Отмеченные корреляции значимы на уровне $p < 0,05$
	mut(K27M забор 2)
mut(K27M ликвор)	0,384082
mut(K27M забор 1)	0,211165
mut(K27M забор 3)	0,360417
wt(K27M забор 3)	0,390472

тивных прогностических маркеров прогрессии опухоли и эффективности проводимой терапии. Анализ взаимных корреляций концентраций ДНК дикого и мутантного типа этого гена в разных фракциях плазмы крови показал ряд интересных зависимостей: так, концентрация мутантной ДНК K27M в люмбальном ликворе имела высоко достоверные корреляции с концентрацией этой же мутантной ДНК в первой и второй фракции плазмы крови (табл. 2).

Также имелась высокая корреляция концентрации мутантной ДНК гена *H3F3A* (K27M) во второй фракции крови с ликвором, с первой фракцией и третьей, а также с уровнем концентрации дикого типа гена в третьем заборе крови (табл. 3).

Оценка результатов исследования мутационного статуса в плазме крови и люмбальном ликворе больных методом ddPCR показала высокую информативность как плазмы крови, так и люмбального ликвора, что находит подтверждение в исследованиях, где при опухолях головного мозга в крови и люмбальном ликворе обнаруживается именно цоДНК, которая более чувствительна и может отражать различные типы мутаций в клетках глиомы [11, 32, 33]. При этом ранее существовало мнение о том, что: наличие ГЭБ означает, что ликвор может предоставить более детальную характеристику опухоли, чем плазма крови, и содержит определенные биомаркеры, которые вряд ли можно обнаружить в плазме [34]. Однако в нашем исследовании мы выявили высоко достоверные корреляции исследуемых ДНК в плазме крови и люмбальном ликворе. При этом концентрация мутантной ДНК гена *H3F3A* (K27M) в люмбальном ликворе также имела высоко достоверные корреляции с концентрацией ДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M) в первой фракции плазмы крови. Таким образом, оценка ВАФ в плазме крови имеет высокую прогностическую значимость при оценке эффективности проводимой терапии.

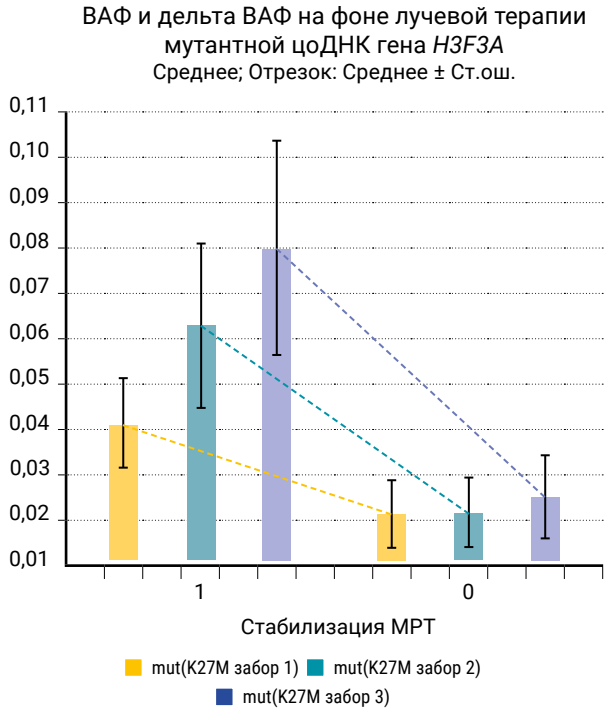

Рис. 3. ВАФ и дельта ВАФ на фоне лучевой терапии мутантной цоДНК гена *H3F3A* (K27M) в плазме крови в группе пациентов с продолженным ростом (группа 1) и со стабилизацией (группа 0) в зависимости от данных МР-исследования головного через 3 месяца после завершения лечения

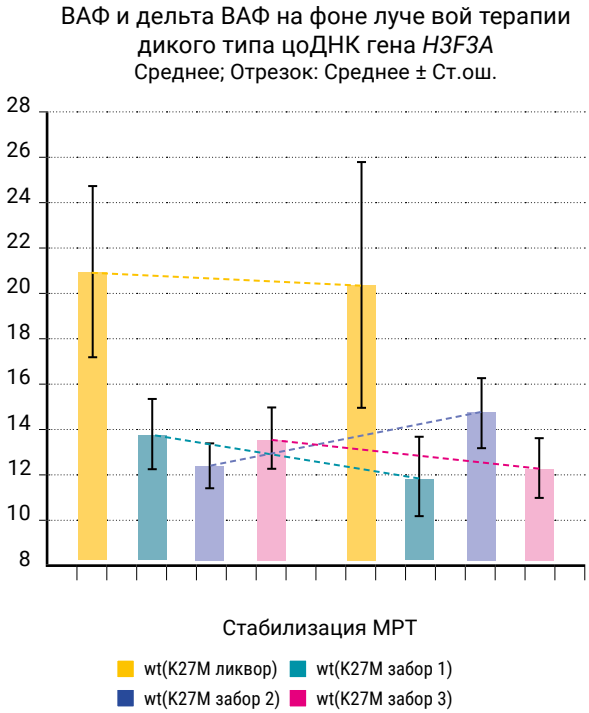

Рис. 4. ВАФ и дельта ВАФ на фоне лучевой терапии дикого типа цоДНК гена *H3F3A* (K27M) в ликворе и плазме крови в группе пациентов с продолженным ростом (группа 1) и со стабилизацией (группа 0) в зависимости от данных МР-исследования головного мозга через 3 месяца после завершения лечения

3. Анализ динамики изменения концентрации свободно циркулирующей ДНК гена *H3F3A* (K27M): дикий и мутантный тип в группе с и без прогрессирования на фоне лучевой терапии

ЛТ как стандартная стратегия лечения ДСГ улучшает качество жизни пациентов: после чего у 70–80 % пациентов наступает временное облегчение симптомов [24, 35, 36]. Однако в сроки 4–9 месяцев болезнь вновь прогрессирует. Ионизирующее излучение (ИИ), применяемое при ЛТ, способно ингибировать рост опухоли, индуцируя повреждение ДНК непосредственно или через активные формы кислорода (АФК) [37]. До сих пор для детей с ДСГ нет предикторов оценки раннего эффекта проводимой ЛТ в процессе лечения, только МРТ контроль головного мозга через 1,5–3 месяца позволит исключить или подтвердить прогрессирование заболевания. Соответственно, невозможно вовремя персонифицировать противорецидивную терапию.

В ходе проводимого исследования изучен уровень концентрации и ВАФ мутантной и дикой цоДНК гена *H3F3A* (K27M) для групп со стабилизацией и с прогрессированием на фоне проведения ЛТ. В группе пациентов со стабилизацией концентрация мутантной ДНК гена *H3F3A* (K27M) в крови была ниже в трех пробах плазмы крови в сравнении с уровнем концентрации мутантной цоДНК в группе с ранним прогрессированием. ВАФ не имела тенденции к достоверному увеличению на фоне ЛТ при стабилизации заболевания. Тогда как у детей с выявленным ранним прогрессированием уровень концентрации ВАФ в трех пробах плазмы был в 2–3 раза выше по сравнению с группой благоприятного прогноза, а дельта ВАФ увеличивалась в 2 раза при каждом последующем измерении на фоне ЛТ (рис. 3).

При анализе ВАФ и дельта ВАФ дикого типа цоДНК гена *H3F3A* (K27M) в ликворе и плазме крови, были выявлены следующие закономерности в группе пациентов с прогрессированием (группа 1) и без прогрессирования (группа 0) в зависимости от данных МР-исследования головного мозга через 3 месяца после завершения. Уровень концентрации цоДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M) в ликворе в начале курса ЛТ был идентичен в обеих группах пациентов. При этом в группе пациентов с ранним прогрессированием (рис. 4) ВАФ цоДНК дикого типа имела следующую картину: уменьшение в процессе ЛТ во второй пробе плазмы и увеличение в третьей пробе на фоне завершения курса ЛТ. Тогда как в группе больных со стабилизацией заболевания, ВАФ цоДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M) отличался в виде увеличения концентрации во второй пробе плазмы и достоверное ее снижение при завершении курса ЛТ. Дельта ВАФ в плазме крови, в первую очередь, свидетельствует о наличии достоверной завивисмости между данными показателями и течением заболевания.

Полученные данные доказывают диагностическую ценность цоДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M), позволяя существенным образом расширить возможности молекулярной диагностики и мониторинга эффективности лечения ДСГ. Кроме того, на основании анализа дельта ВАФ в процессе лечения возможно предсказание раннего рецидива опухоли после ЛТ и своевременного начала персонифицированной терапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Исследования ВАФ в плазме крови и люмбальном ликворе детей с опухолями срединных структур до начала проведения ЛТ сопоставимы и имеют равную диагностическую ценность.

2. Высокая концентрация в плазме крови ДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M) коррелирует с ранней прогрессией, что также влияет на показатели выживаемости.

3. Динамический контроль концентрации ДНК как мутантного, так и дикого типа гена *H3F3A* (K27M) в плазме крови и люмбальном ликворе у детей с глиомами срединных структур на фоне ЛТ может быть использован для прогноза эффективности ЛТ. Кроме того, на основании анализа динамики уровней концентрации ДНК дикого типа гена *H3F3A* (K27M) в процессе лечения, возможно предсказание раннего рецидива опухоли после ЛТ.

Список источников

1. Kfoury-Beaumont N, Prakasam R, Pondugula S, Lagas JS, Matkovich S, Gontarz P, et al. The H3K27M mutation alters stem cell growth, epigenetic regulation, and differentiation potential. BMC Biol. 2022 May 30;20(1):124. https://doi.org/10.1186/s12915-022-01324-0

2. Hauser P. Classification and Treatment of Pediatric Gliomas in the Molecular Era. Children (Basel). 2021 Aug 27;8(9):739. https://doi.org/10.3390/children8090739
3. Groves A, Cooney TM. Epigenetic programming of pediatric high-grade glioma: Pushing beyond proof of concept to clinical benefit. Front Cell Dev Biol. 2022;10:1089898. https://doi.org/10.3389/fcell.2022.1089898
4. Louis DN, Perry A, Wesseling P, Brat DJ, Cree IA, Figarella-Branger D, et al. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. Neuro Oncol. 2021 Aug 2;23(8):1231–1251. https://doi.org/10.1093/neuonc/noab106
5. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. Acta Neuropathol. 2016 Jun;131(6):803–820. https://doi.org/10.1007/s00401-016-1545-1
6. Louis DN, Wesseling P, Aldape K, Brat DJ, Capper D, Cree IA, et al. cIMPACT-NOW update 6: new entity and diagnostic principle recommendations of the cIMPACT-Utrecht meeting on future CNS tumor classification and grading. Brain Pathol. 2020 Jul;30(4):844–856. https://doi.org/10.1111/bpa.12832
7. Funakoshi Y, Hata N, Kuga D, Hatae R, Sangatsuda Y, Fujioka Y, et al. Pediatric Glioma: An Update of Diagnosis, Biology, and Treatment. Cancers (Basel). 2021 Feb 12;13(4):758. https://doi.org/10.3390/cancers13040758
8. Зайцева М. А., Шехтман А. П., Папуша Л. И., Валиахметова Э. Ф., Ясько Л. А., Друй А. Е. Анализ генетических аберраций в глиомах высокой степени злокачественности у детей. Успехи молекулярной онкологии. 2020;7(3):37-47. https://doi.org/10.17650/2313-805X-2020-7-3-37-47, EDN: HCZZEK
9. Meyronet D, Esteban-Mader M, Bonnet C, Joly MO, Uro-Coste E, Amiel-Benouaich A, et al. Characteristics of H3 K27M-mutant gliomas in adults. Neuro Oncol. 2017 Aug 1;19(8):1127–1134. https://doi.org/10.1093/neuonc/now274
10. Solomon DA, Wood MD, Tihan T, Bollen AW, Gupta N, Phillips JJJ, et al. Diffuse Midline Gliomas with Histone H3-K27M Mutation: A Series of 47 Cases Assessing the Spectrum of Morphologic Variation and Associated Genetic Alterations. Brain Pathol. 2016 Sep;26(5):569–580. https://doi.org/10.1111/bpa.12336
11. Cantor E, Wierzbicki K, Tarapore RS, Ravi K, Thomas C, Cartaxo R, et al. Serial H3K27M cell-free tumor DNA (cf-tDNA) tracking predicts ONC201 treatment response and progression in diffuse midline glioma. Neuro Oncol. 2022 Aug 1;24(8):1366–1374. https://doi.org/10.1093/neuonc/noac030
12. Полянская Е. М., Федянин М. Ю., Боярских У. А., Кечин А. А., Мороз Е. А., Храпов Е. А. и др. Прогностическое значение наличия в крови циркулирующей опухолевой ДНК как маркера минимального резидуального заболевания при колоректальном раке I–III стадии. Успехи молекулярной онкологии. 2022;9(2):32–42. https://doi.org/10.17650/2313-805X-2022-9-2-32-42
13. Li Q, Zhang W, Li J, Xiong J, Liu J, Chen T, et al. Plasma circulating tumor DNA assessment reveals KMT2D as a potential poor prognostic factor in extranodal NK/T-cell lymphoma. Biomark Res. 2020;8:27. https://doi.org/10.1186/s40364-020-00205-4
14. Hamisch C, Kickingereder P, Fischer M, Simon T, Ruge MI. Update on the diagnostic value and safety of stereotactic biopsy for pediatric brainstem tumors: a systematic review and meta-analysis of 735 cases. J Neurosurg Pediatr. 2017 Sep;20(3):261–268. https://doi.org/10.3171/2017.2.PEDS1665
15. He L, He D, Qi Y, Zhou J, Yuan C, Chang H, et al. Stereotactic Biopsy for Brainstem Lesions: A Meta-analysis with Noncomparative Binary Data. Cancer Control. 2021;28:10732748211059858. https://doi.org/10.1177/10732748211059858
16. Ng WH, Lim T. Targeting regions with highest lipid content on MR spectroscopy may improve diagnostic yield in stereotactic biopsy. J Clin Neurosci. 2008 May;15(5):502–506. https://doi.org/10.1016/j.jocn.2007.04.005
17. Azad TD, Jin MC, Bernhardt LJ, Bettegowda C. Liquid biopsy for pediatric diffuse midline glioma: a review of circulating tumor DNA and cerebrospinal fluid tumor DNA. Neurosurg Focus. 2020 Jan 1;48(1):E9. https://doi.org/10.3171/2019.9.FOCUS19699
18. Li D, Bonner ER, Wierzbicki K, Panditharatna E, Huang T, Lulla R, et al. Standardization of the liquid biopsy for pediatric diffuse midline glioma using ddPCR. Sci Rep. 2021 Mar 3;11(1):5098. https://doi.org/10.1038/s41598-021-84513-1
19. Tripathy A, John V, Wadden J, Kong S, Sharba S, Koschmann C. Liquid biopsy in pediatric brain tumors. Front Genet. 2022;13:1114762. https://doi.org/10.3389/fgene.2022.1114762
20. De Mattos-Arruda L, Mayor R, Ng CKY, Weigelt B, Martínez-Ricarte F, Torrejon D, et al. Cerebrospinal fluid-derived circulating tumour DNA better represents the genomic alterations of brain tumours than plasma. Nat Commun. 2015 Nov 10;6:8839. https://doi.org/10.1038/ncomms9839
21. Seoane J, De Mattos-Arruda L, Le Rhun E, Bardelli A, Weller M. Cerebrospinal fluid cell-free tumour DNA as a liquid biopsy for primary brain tumours and central nervous system metastases. Ann Oncol. 2019 Feb 1;30(2):211–218. https://doi.org/10.1093/annonc/mdy544

22. Cantor E, Wierzbicki K, Tarapore RS, Ravi K, Thomas C, Cartaxo R, et al. Serial H3K27M cell-free tumor DNA (cf-tDNA) tracking predicts ONC201 treatment response and progression in diffuse midline glioma. Neuro Oncol. 2022 Aug 1;24(8):1366–1374. https://doi.org/10.1093/neuonc/noac030
23. Rheinbay E, Louis DN, Bernstein BE, Suvà ML. A tell-tail sign of chromatin: histone mutations drive pediatric glioblastoma. Cancer Cell. 2012 Mar 20;21(3):329–331. https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.03.001
24. Schwartzentruber J, Korshunov A, Liu XY, Jones DTW, Pfaff E, Jacob K, et al. Driver mutations in histone H3.3 and chromatin remodelling genes in paediatric glioblastoma. Nature. 2012 Jan 29;482(7384):226–231. https://doi.org/10.1038/nature10833
25. Wu G, Broniscer A, McEachron TA, Lu C, Paugh BS, Becksfort J, et al. Somatic histone H3 alterations in pediatric diffuse intrinsic pontine gliomas and non-brainstem glioblastomas. Nat Genet. 2012 Jan 29;44(3):251–253. https://doi.org/10.1038/ng.1102
26. Chan KM, Fang D, Gan H, Hashizume R, Yu C, Schroeder M, et al. The histone H3.3K27M mutation in pediatric glioma reprograms H3K27 methylation and gene expression. Genes Dev. 2013 May 1;27(9):985–990. https://doi.org/10.1101/gad.217778.113
27. Lewis PW, Müller MM, Koletsky MS, Cordero F, Lin S, Banaszynski LA, et al. Inhibition of PRC2 activity by a gain-of-function H3 mutation found in pediatric glioblastoma. Science. 2013 May 17;340(6134):857–861. https://doi.org/10.1126/science.1232245
28. Wu G, Diaz AK, Paugh BS, Rankin SL, Ju B, Li Y, et al. The genomic landscape of diffuse intrinsic pontine glioma and pediatric non-brainstem high-grade glioma. Nat Genet. 2014 May;46(5):444–450. https://doi.org/10.1038/ng.2938
29. Karremann M, Gielen GH, Hoffmann M, Wiese M, Colditz N, Warmuth-Metz M, et al. Diffuse high-grade gliomas with H3 K27M mutations carry a dismal prognosis independent of tumor location. Neuro Oncol. 2018 Jan 10;20(1):123–131. https://doi.org/10.1093/neuonc/nox149
30. Jansen MH, Veldhuijzen van Zanten SE, Sanchez Aliaga E, Heymans MW, Warmuth-Metz M, Hargrave D, et al. Survival prediction model of children with diffuse intrinsic pontine glioma based on clinical and radiological criteria. Neuro Oncol. 2015 Jan;17(1):160–166. https://doi.org/10.1093/neuonc/nou104
31. Grasso CS, Tang Y, Truffaux N, Berlow NE, Liu L, Debily MA, et al. Functionally defined therapeutic targets in diffuse intrinsic pontine glioma. Nat Med. 2015 Jun;21(6):555–559. https://doi.org/10.1038/nm0715-827a
32. Wan JCM, Massie C, Garcia-Corbacho J, Mouliere F, Brenton JD, Caldas C, et al. Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA. Nat Rev Cancer. 2017 Apr;17(4):223–238. https://doi.org/10.1038/nrc.2017.7
33. Westphal M, Lamszus K. Circulating biomarkers for gliomas. Nat Rev Neurol. 2015 Oct;11(10):556–566. https://doi.org/10.1038/nrneurol.2015.171
34. De Mattos-Arruda L, Mayor R, Ng CKY, Weigelt B, Martínez-Ricarte F, Torrejon D, et al. Cerebrospinal fluid-derived circulating tumour DNA better represents the genomic alterations of brain tumours than plasma. Nat Commun. 2015 Nov 10;6:8839. https://doi.org/10.1038/ncomms9839
35. Frappaz D, Schell M, Thiesse P, Marec-Bérard P, Mottolese C, Perol D, et al. Preradiation chemotherapy may improve survival in pediatric diffuse intrinsic brainstem gliomas: final results of BSG 98 prospective trial. Neuro Oncol. 2008 Aug;10(4):599–607. https://doi.org/10.1215/15228517-2008-029
36. Long W, Yi Y, Chen S, Cao Q, Zhao W, Liu Q. Potential New Therapies for Pediatric Diffuse Intrinsic Pontine Glioma. Front Pharmacol. 2017;8:495. https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00495
37. Santivasi WL, Xia F. Ionizing radiation-induced DNA damage, response, and repair. Antioxid Redox Signal. 2014 Jul 10;21(2):251–259. https://doi.org/10.1089/ars.2013.5668

Информация об авторах:
Регентова Ольга Сергеевна ✉ – к.м.н., заведующий отделением лучевой терапии детей с койками онкологии, ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0219-7260, SPIN: 9657-0598, AuthorID: 1011228

Боженко Владимир Константинович – д.м.н., профессор, заведующий отделом молекулярной биологии и экспериментальной терапии опухолей, ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8351-8152, SPIN: 8380-6617, AuthorID: 97295

Кудинова Елена Александровна – д.м.н., заведующая клинико-диагностической лабораторией, ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5530-0591, SPIN: 3081-5481, AuthorID: 97295, Scopus Author ID: 24491955100

Кулинич Татьяна Михайловна – к.м.н., заведующая лабораторией иммунологии и онкоцитологии, ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2331-5753, SPIN: 4697-5143, AuthorID: 171802, Scopus Author ID: 22834710800

Джикия Екатерина Левановна – к.б.н., научный сотрудник лаборатории иммунологии, онкоцитологии и клеточных технологий в онкологии научно-исследовательского отдела молекулярной биологии и экспериментальной терапии опухолей, ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8369-2011, SPIN: 1423-4712, AuthorID: 146408

Каминский Валерий Васильевич – младший научный сотрудник лаборатории клеточной и генной терапии научно-исследовательского отдела молекулярной биологии и экспериментальной терапии опухолей, ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5702-6090, SPIN: 8709-6269, AuthorID: 1028900, Scopus Author ID: 57205879353

Антоненко Федор Федорович – д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией лучевой терапии и комплексных методов лечения онкологических заболеваний, ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5900-6755, SPIN: 6582-8081, AuthorID: 261007, Scopus Author ID: 6602615840

Пархоменко Роман Алексеевич – д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории лучевой терапии и комплексных методов лечения онкологических заболеваний, ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация; профессор кафедры онкологии и рентгенорадиологии Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Российская Федерация
ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9249-9272, SPIN: 9902-4244, AuthorID: 702112, Scopus Author ID: 6603021483

Зелинская Наталья Ивановна – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории лучевой терапии и комплексных методов лечения онкологических заболеваний, ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: https://orcid.org/0009-0000-5380-2056, SPIN: 4092-4845, AuthorID: 123005

Сидибе Нелли – к.м.н., врач-радиотерапевт отделения лучевой терапии детей с койками онкологии, ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5556-0166, SPIN: 3660-6207, AuthorID: 1108540

Полушкин Павел Владимирович – к.м.н., врач-радиотерапевт отделения лучевой терапии детей с койками онкологии, научный сотрудник лаборатории лучевой терапии и комплексных методов лечения онкологических заболеваний, ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6661-0280, SPIN: 7600-7304, AuthorID: 1099115

Шевцов Андрей Игоревич – к.м.н., врач-радиотерапевт отделения лучевой терапии детей с койками онкологии, ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4539-5187, SPIN: 5605-6768, AuthorID: 996411

Близниченко Мария Алексеевна – клинический ординатор по специальности радиотерапия отделения лучевой терапии детей с койками онкологии, ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: https://orcid.org/0009-0007-4300-5759

Солодкий Владимир Алексеевич – д.м.н., профессор, академик РАН, директор, ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1641-6452, SPIN: 9556-6556, AuthorID: 440543, ResearcherID: T-6803-2017

Вклад авторов:
Регентова О. С. – разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, интерпретация результатов, окончательное утверждение публикуемой версии рукописи, написание текста рукописи;
Боженко В. К. – разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, написание текста рукописи, интерпретация результатов;
Кудинова Е. А. – разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, написание текста рукописи, интерпретация результатов;
Кулинич Т. М. – разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, написание текста рукописи, интерпретация результатов;
Джикия Е. Л. – разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, написание текста рукописи, интерпретация результатов;
Каминский В. В. – обзор публикаций по теме статьи, набор клинического материала, интерпретация результатов;
Антоненко Ф. Ф. – обзор публикаций по теме статьи;
Пархоменко Р. А. – разработка дизайна исследования;
Зелинская Н. И. – обзор публикаций по теме статьи;
Сидибе Н. – обзор публикаций по теме статьи, техническое редактирование;
Полушкин П. В. – обзор публикаций по теме статьи, техническое редактирование;
Шевцов А. И. – обзор публикаций по теме статьи;
Близниченко М. А. – обзор публикаций по теме статьи;
Солодкий В. А. – разработка дизайна исследования, окончательное утверждение публикуемой версии рукописи.