

# СЛУЧАЙ ДЛИТЕЛЬНОЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ (более 10 лет) У ПАЦИЕНТА С ПЕРВИЧНОЙ ГЛИОБЛАСТОМОЙ С МУТАЦИЕЙ В ГЕНЕ IDH1 (R132H) ПОСЛЕ ЛУЧЕВОЙ И ХИМИОТЕРАПИИ БЕЗ ХИРУРГИЧЕСКОГО УДАЛЕНИЯ ОПУХОЛИ

Мацко М. В.<sup>1,2,3,4</sup>, Мацко Д. Е.<sup>1,2,3,4</sup>, Имянитов Е. Н.<sup>5,6,7</sup>, Иевлева А. Г.<sup>5,7</sup>

<sup>1</sup>«РНХИ им. проф. А. Л. Поленова» — филиал ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, <sup>2</sup>ГБУЗ Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический),

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»,

<sup>4</sup>ЧОУ ВПО «Санкт-Петербургский медико-социальный институт»,

<sup>5</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России,

<sup>6</sup>ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава России, <sup>7</sup>ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

**АКТУАЛЬНОСТЬ:** Больные с неоперабельными глиобластомами (ГБ) без лучевой терапии (ЛТ) и химиотерапии (ХТ) как правило, живут 2–4 месяца. Проведение ЛТ увеличивает выживаемость до 5 мес., проведение ХТ — от 5 до 26 мес. (в зависимости от статуса гена MGMT). Тем не менее, в отдельных случаях ЛТ и ХТ позволяет продлить жизнь более этого срока. Одним из механизмов, улучшающих прогноз таких больных является повышенная чувствительность к лекарственной терапии, которая обусловлена индивидуальными особенностями молекулярно-генетического статуса конкретной опухоли.

**МЕТОД И ОПИСАНИЕ СЛУЧАЯ:** На основании материала, полученного у больного 39 лет при стереотаксической биопсии, гистологически и иммуногистохимически (GFAP (+) и Ki-67 18–20%) была верифицирована глиобластома с мутацией в гене IDH1 (R132H). Наличие мутации в генах IDH1 (экзон 4) и IDH2 (экзон 4) в опухолевой ткани определяли при помощи методики анализа кривых плавления ПЦР-продуктов с высоким разрешением (HRMA — High Resolution Melting Analysis) с последующим секвенированием ДНК. С помощью ПЦР в режиме реального времени в образце, выделенном из залитого в парафин фрагмента опухоли, определен уровень экспрессии гена MGMT, который оказался одним из самых низких ( $\Delta Ct=7,7$ ) среди серии исследований, насчитывающих более 250 больных с разными опухолями головного мозга, которые были выполнены в нашей лаборатории.

**РЕЗУЛЬТАТ:** Больному проведена протонная терапия в СОД (70 Гр) и ХТ темозоломидом (15 циклов) в адьювантном режиме с полным ответом на терапию. По данным МРТ безрецидивный период от момента диагностики на настоящий момент не достигнут и составляет 9 лет 2 мес., а ОВ — 10 лет 2 мес.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** Исключительно низкий уровень экспрессии мРНК гена MGMT (который способствует активному восстановлению опухолевых клеток после ХТ темозоломидом при его высоком уровне экспрессии) определил успешный результат химиолучевой терапии у неоперабельного больного с достижением чрезвычайно длительной продолжительности жизни свыше 10 лет. Случай не окончен.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** первичная глиобластома, длительная продолжительность жизни при глиобластоме, прогностические факторы, мутации в генах IDH1/2, ген MGMT.

## A CASE OF EXCEPTIONALLY LONG PROGRESSION-FREE SURVIVAL (MORE THAN 10 YEARS) IN THE PATIENT WITH PRIMARY GLIOBLASTOMA AFTER RADIATION AND CHEMOTHERAPY WITH MUTATION IDH1(R132H) WITHOUT SURGICAL RESECTION

Matsko M. V.<sup>1,2,3,4</sup>, Matsko D. E.<sup>1,2,3,4</sup>, Imyanitov E. N.<sup>5,6,7</sup>, Ievleva A. G.<sup>5,7</sup>

<sup>1</sup> Polenov Russian Neurosurgical Institute — the branch of Almazov NMRC, <sup>2</sup> Clinical scientific-practical center of oncology, <sup>3</sup> Saint-Petersburg State University, <sup>4</sup> Saint-Petersburg Medico-Social Institute, <sup>5</sup> N. N. Petrov NMRC of Oncology, <sup>6</sup> I. I. Mechnikov North-Western Medical University, <sup>7</sup> Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia

**BACKGROUND:** Overall survival (OS) of untreated patients with glioblastoma (GB) typically does not exceed 2–4 months. Radiation without surgery prolongs OS up to 5 months and chemotherapy enables further prolongation up to 5–26 months (depending on MGMT status). In particular cases both modalities exert very long-lasting responses leading to survival times of the patients far beyond average values. These cases are thought to be at least in part characterized by very high sensitivity of the tumor to cytostatics which is due to certain individual molecular features of malignant cells.

**METHOD AND CASE REPORT:** 39 years old male patient was diagnosed with glioblastoma with mutation IDH1(R132H) on the basis of stereotaxic core biopsy specimen histologic (microscopic appearance, endothelium proliferation, necrosis) and IHC (GFAP+, Ki-67 18–20%) features. Mutations in IDH1 (exon 4) and IDH2 (exon 4) were tested by High Resolution Melting Analysis (HRMA) with subsequent sequencing. MGMT mRNA expression was assessed by RT-PCR in formalin fixed paraffin embedded tumor tissue. The expression level of the gene in this case appeared to be one of the lowest among series of more than 250 brain tumors which were evaluated in our laboratory ( $\Delta C_t=7,7$ ).

**RESULTS:** The patient undergone 70Gy radiation (proton therapy) and 15 cycles of temozolomide monotherapy with a complete response to therapy. Until now the patient is still alive and response is ongoing. Progression-free survival is 9 years 2 months up to date and OS — 10 years 2 months.

**CONCLUSIONS:** We propose that in this case remarkably low expression of MGMT (which is when highly expressed considered to be the powerful tool for tumor cell recovery after temozolomide treatment) caused unprecedented success of radiochemotherapy without surgery with 10+ years OS.

**KEY WORDS:** glioblastoma, long-term survival glioblastoma, prognostic factors, mutations IDH1/2, gene MGMT.

### Введение

Глиобластома (ГБ) — самая злокачественная опухоль ЦНС у человека. Несмотря на современную агрессивную терапию, больные по-прежнему имеют плохие перспективы. По данным Регистра опухолей мозга США (Central Brain Tumor Registry of the United States CBTRUS) среди всех опухолей ЦНС первичная ГБ составляет 14,9%, среди злокачественных новообразований нервной системы — 47,1%, а ее доля в «глиальных опухолях» 56,1% [1]. При этом частота заболевания первичной ГБ неуклонно растет с возрастом населения, что говорит о постепенном накоплении активирующих мутаций в ключевых генах на протяжении жизни человека. Вопреки несомненным успехам в лечении, достигнутым за последние 15 лет, только у небольшого числа больных удается достичь 3-х летней продолжительность жизни, а 5-летняя продолжительность жизни составляет всего 5,5% [1].

В качестве примера персонализированного подхода в лечении приводим собственное наблюдение из практики больного с первичной ГБ. В 2011 году в журнале «Вопросы онкологии» (№ 2) нами был опубликован этот случай, когда выживаемость больного превысила 16 мес. и опухоль продолжала уменьшаться в размерах на фоне терапии. Коллектив авторов посчитал возможным повторно привести данный случай с учетом появления новых данных этого уникального случая.

Пациент А.В. 1970 г.р. (39 лет) заболел 9 июня 2009 г., когда развился эпилептический приступ с клонико-тоническими судорогами и потерей сознания, появились головная боль и головокружение, изменения настроения, ухудшилась память. Результаты МРТ с внутривенным контрастированием выявили объемное образование глубоких отделов левой лобной доли (рис. 1 а, б). Размеры образования находились в пределах — 55×48×56 мм, неправильной формы, неоднородной структуры с нечеткими контурами и выраженным неравномерным перифокальным отеком.

При неврологическом осмотре выявлялась лишь шаткость походки, некоторые мнестические нарушения и незначительное снижение критики.

По данным ЭЭГ определялся очаг патологической

активности в глубоких отделах левой лобно-височной области головного мозга.

В ФГУ ГВКГ им. акад. Н.Н. Бурденко больному 20.08.2009 г. была выполнена операция — стереотаксическая биопсия опухоли левой лобной доли (гистологическое заключение — глиобластома). Послеоперационный период прошел без осложнений.

В научно-практическом центре протонной лучевой терапии и радиохирургии г. Дубна с 24.09 по 10.12.2009 пациенту была проведена мелкофракционированная трехмерно-конформная протонная лучевая терапия с суммарной дозой в точке изоцентра — 70 Гр-экв. на фоне ежедневного приема темозоломида по 140 мг в день за 2 часа до сеанса облучения. Из побочных явлений отмечалась только эпилепсия в полях облучения. После пересмотра гистологических препаратов (рис. 2 а, б) в НИИ Онкологии им. Н.Н. Петрова было проведено молекулярно-генетическое исследование биопсийного материала для определения уровня экспрессии мРНК гена MGMT.

Экспрессию мРНК гена MGMT в опухолевой ткани определяли методом ПЦР в режиме реального времени. Для оценки уровня экспрессии вычислялось соотношение относительных количеств копий кДНК гена-мишени и гена-рефери; данные значения определялись при помощи построения стандартных кривых (рис. 3 а). Наличие мутации в генах IDH1 (экзон 4) и IDH2 (экзон 4) в опухолевой ткани определяли при помощи методики анализа кривых плавления ПЦР-продуктов с высоким разрешением (HRMA — High Resolution Melting Analysis) с последующим секвенированием ДНК (рис. 3 б).

В опухоли была обнаружена мутация в гене IDH1(R132H). Уровень экспрессии MGMT у пациента оказался исключительно низким ( $DC_t = 7,7$ ), в связи с чем, больному было рекомендовано продолжить химиотерапию (ХТ) темозоломидом в адьювантном режиме (360 мг/сут с первого по пятый дни, цикл 28 дней). Пациент получил 15 циклов ХТ темозоломидом. Каждые два-три месяца проводился МРТ-контроль с контрастным усилением. На протяжении всего курса лечения состояние больного оставалось удовлетворительным, несколько улучшилась память, перестала беспокоить головная боль.

По данным первых четырех МРТ (до 02.04.2010 г.) размеры образования не изменялись и находились в пределах — 55×48×56 мм. После протонной терапии размеры опухоли также остались прежними (рис. 4 а, б).

После седьмого и восьмого цикла химиотерапии, по данным МРТ с контрастным усилением (спустя 7 мес. после лучевой терапии), размеры опухоли стали уменьшаться и сократились до: 48×33×36 мм (30.07.2010 г.) и 33×29×37 мм (13.09.2010 г.) соответственно, смещение срединных структур мозга уменьшилось с 9 мм до 5 мм (рис. 5 а, б).

До мая 2011 г. пациент получил 15 циклов МХТ темозоломидом с полным ответом на лечение. Данные МРТ-контроля спустя 6 лет и 3 месяцев после окончания терапии представлены на рисунке 6 а, б.

Данные МРТ с контрастом спустя 7 лет и 5 мес. после окончания терапии представлены на рисунке 7 а, б.

Длительный безрецидивный интервал у пациента сподвиг на неоднократный пересмотр гистологического материала, однако всякий раз подтверждался диагноз «первичная глиобластома». Спустя несколько лет от момента диагностики дополнительно был выполнен анализ на наличие мутации в генах IDH1/2 с выявлением повреждения в гене IDH1(R132H). Общая продолжительность жизни больного составляет на данный момент 10 лет 2 месяца. Пациент ведет активный образ жизни. Случай не закончен.

### Обсуждение

Единого мнения, в каких случаях пациентов с первичной ГБ можно отнести к категории, принятой за рубежом — «long term survival», на сегодня нет. В научной литературе под «долгоживущими» пациентами с ГБ подразумеваются больные, продолжительность жизни которых составляет от 1 года до 5 лет [2–6]. Большинство же исследователей считает более верным использовать трехлетний порог для определения этого понятия [7–10]. Однозначного ответа на вопрос о том, какие именно факторы в наибольшей степени влияют на продолжительность жизни больных с ГБ свыше трех лет, пока нет. В ряде исследований показано, что высокой продолжительности жизни способствуют более радикальное хирургическое вмешательство, молодой возраст, женский пол, высокий функциональный статус по шкале Карновского, локализация опухоли вне субвентрикулярной зоны, метилирование промотора гена MGMT и наличие мутации в генах IDH1/2 [6; 8; 9]. В большинстве работ исследователи пришли к заключению, что основными являются: возраст, статус по шкале Карновского и активность гена MGMT [5; 11; 12]. В случае нашего наблюдения из перечисленных выше факторов на высокие показатели выживаемости могли оказать влияние молодой возраст больного, низкий уровень экспрессии гена MGMT, наличие мутации в гене IDH1(R132H) и интенсивная протонная и химиотерапия.

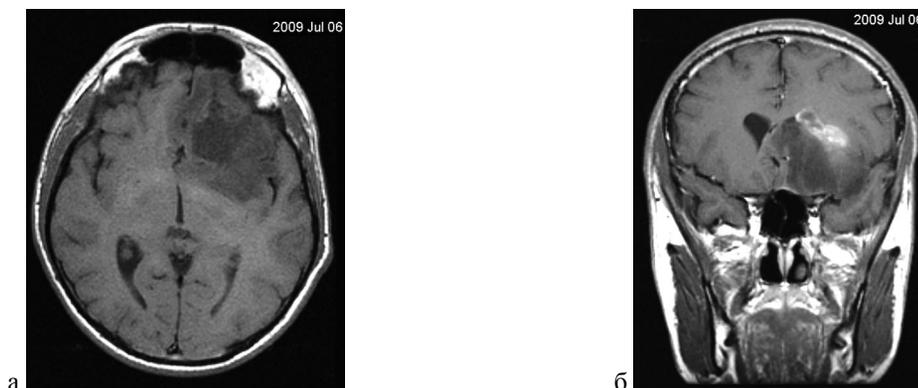


Рисунок 1. Глиобластома глубоких отделов левой лобной доли. МРТ. а — аксиальная проекция; б — фронтальная проекция.

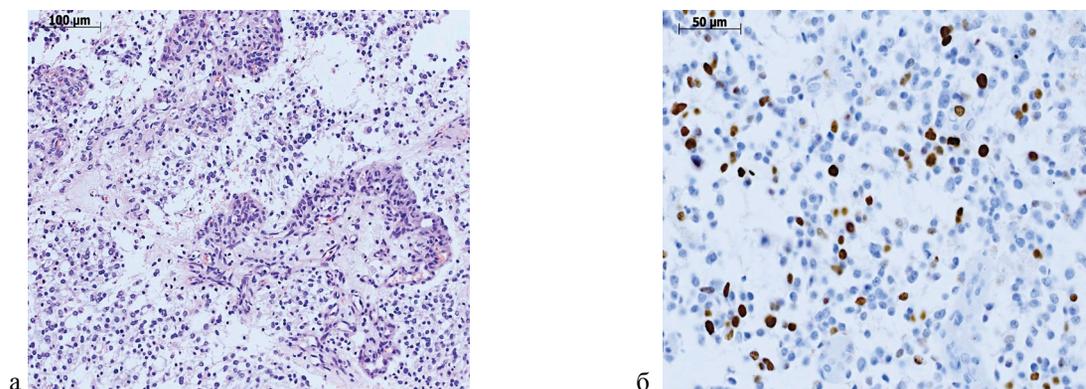


Рисунок 2. Гистологическая картина глиобластомы. а — выраженная пролиферация сосудов и эндотелия. Окраска гематоксилином и эозином; X100. б — иммуногистохимия, ядерное окрашивание антителом Ki-67; X200.

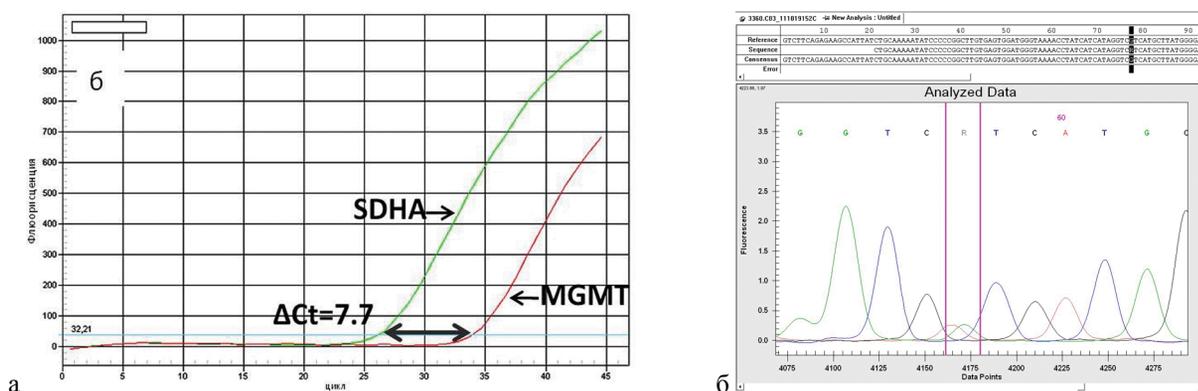


Рисунок 3. Методы определения уровня экспрессии мРНК гена MGMT и мутаций в генах IDH1/2. а — кривые ПЦР-амплификации. низкий уровень экспрессии гена MGMT, б — секвенирование ДНК. мутация в гене IDH1 определена в результате замены аминокислоты аргинина на гистидин и характеризуется заменой пары оснований гуанина на аденин.

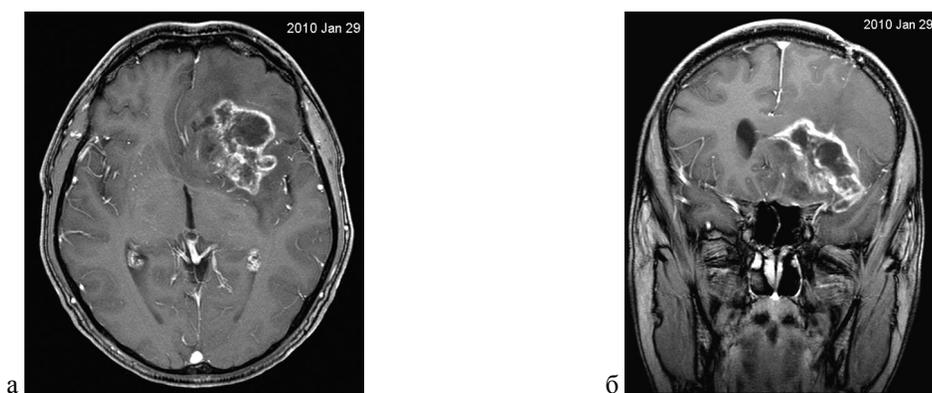


Рисунок 4. Глиобластома глубоких отделов левой лобной доли. МРТ с контрастным усилением после протонной терапии с темозоломидом. а — аксиальная проекция; б — фронтальная проекция.

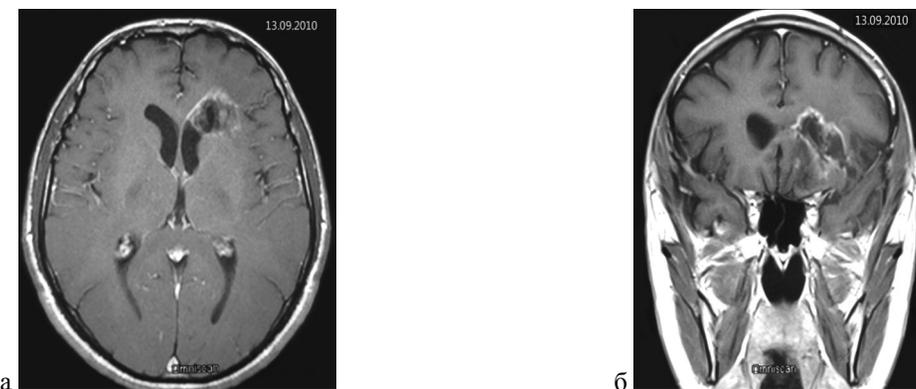


Рисунок 5. Глиобластома глубоких отделов левой лобной доли. МРТ с контрастным усилением после протонной терапии с темозоломидом и 8 циклов МХТ темозоломидом (частичный ответ на терапию). а — аксиальная проекция; б — фронтальная проекция.

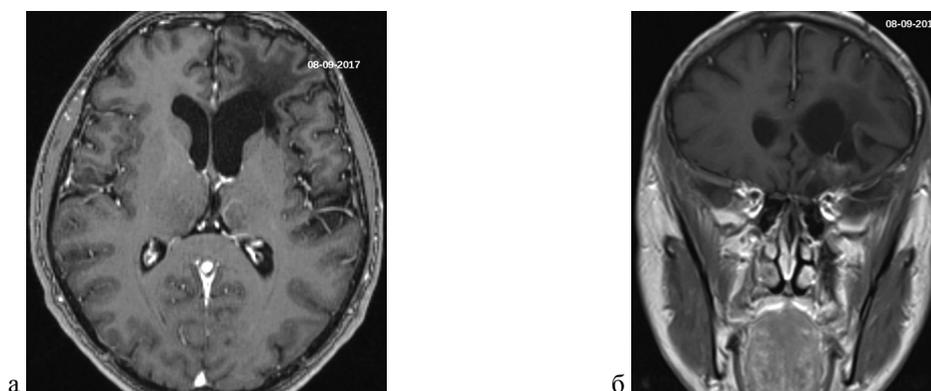


Рисунок 6. Глиобластома глубоких отделов левой лобной доли. МРТ с контрастным усилением после протонной терапии с темозоломидом и 15 циклов МХТ темозоломидом (сохраняется полный ответ на терапию). а — аксиальная проекция; б — фронтальная проекция.

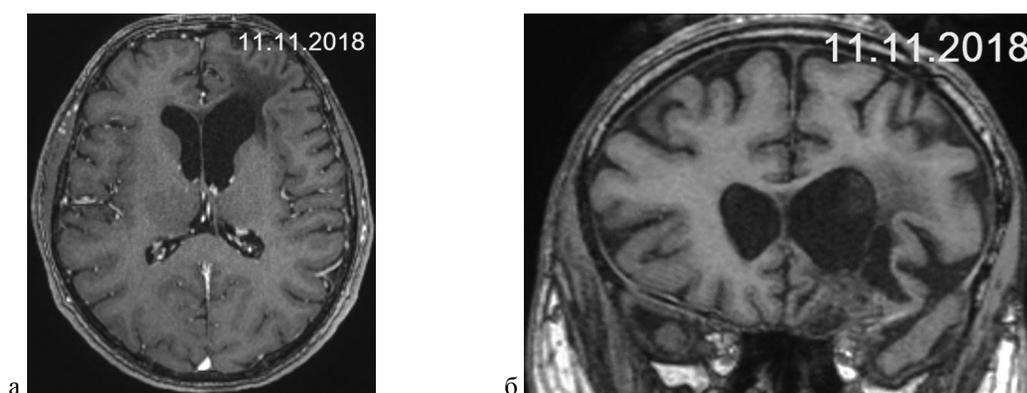


Рисунок 7. Глиобластома глубоких отделов левой лобной доли. МРТ с контрастным усилением после протонной терапии с темозоломидом и 15 циклов МХТ темозоломидом (сохраняется полный ответ на терапию). а — аксиальная проекция; б — фронтальная проекция.

Мацко Марина Витальевна — ORCID-0000-0003-1564-0943

Имянитов Евгений Наумович — ORCID-0000-0003-4529-7891

Иевлева Аглая Геннадиевна — ORCID-0000-0001-5454-5186

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов

### Список литературы

- Ostrom Q. T., Gittleman H., Truitt G., Boscia A., Kruchko C, Barnholtz-Sloan J. S. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2011–2015. *Neuro Oncol.* 2018 Oct 1;20(suppl\_4): iv1-iv86. doi:10.1093/neuonc/noy131/
- Bähr O, Herrlinger U, Weller M, Steinbach JP. Very late relapses in glioblastoma long-term survivors. *J Neurol.* 2009 Oct;256(10):1756–8. doi: 10.1007/s00415-009-5167-6.
- Johnson DR, Ma DJ, Buckner JC, Hammack JE. Conditional probability of long-term survival in glioblastoma: a population-based analysis. *Cancer.* 2012 Nov 15;118(22):5608–13. doi:10.1002/cncr.27590.
- Gerber NK, Goenka A, Turcan S, Reynold M, Makarov V, Kannan K, Beal K, Omuro A, Yamada Y, Gutin P, Brennan CW, Huse JT, Chan TA. Transcriptional diversity of long-term glioblastoma survivors. *Neuro Oncol.* 2014 Sep; 16(9):1186–95. doi:10.1093/neuonc/nou043.
- Shannon S, Vaca C, Jia D, Entersz I, Schaer A, Carcione J, Weaver M, Avidar Y, Pettit R, Nair M, Khan A, Foty RA. Dexamethasone-Mediated Activation of Fibronectin Matrix Assembly Reduces Dispersal of Primary Human Glioblastoma Cells. *PLoS One.* 2015 Aug 18;10(8): e0135951. doi:10.1371/journal.pone.0135951.
- Millward CP, Brodbelt AR, Haylock B, Zakaria R, Baborie A, Crooks D, Husband D, Shenoy A, Wong H, Jenkinson MD The impact of MGMT methylation and IDH-1 mutation on long-term outcome for glioblastoma treated with chemoradiotherapy. *Acta Neurochir (Wien).* 2016 Oct;158(10):1943–53. doi:10.1007/s00701-016-2928-8.
- Shinawi T, Hill VK, Krex D, Schackert G, Gentle D, Morris MR, Wei W, Cruickshank G, Maher ER, Latif F. DNA methylation profiles of long- and short-term glioblastoma survivors. *Epigenetics.* 2013 Feb;8(2):149–56. doi: 10.4161/epi.23398.
- Adeberg S, Bostel T, König L, Welzel T, Debus J, Combs SE. A comparison of long-term survivors and short-term survivors with

- glioblastoma, subventricular zone involvement: a predictive factor for survival? *Radiat Oncol.* 2014 Apr 23;9:95. doi:10.1186/1748-717X-9-95.
9. Reifenberger G, Weber RG, Riehm V, Kaulich K, Willscher E, Wirth H, Gietzelt J, Hentschel B, Westphal M, Simon M, Schackert G, Schramm J, Matschke J, Sabel MC, Gramatzki D, Felsberg J, Hartmann C, Steinbach JP, Schlegel U, Wick W, Radlwimmer B, Pietsch T, Tonn JC, von Deimling A, Binder H, Weller M, Loeffler M. Molecular characterization of long-term survivors of glioblastoma using genome- and transcriptome-wide profiling. *Int J Cancer.* 2014 Oct 15;135(8):1822–31. doi:10.1002/ijc.28836.
  10. Amelot A, De Cremoux P, Quillien V, Polivka M, Adle-Biassette H, Lehmann-Che J, Françoise L, Carpentier AF, George B, Mandonnet E, Froelich S. IDH-Mutation Is a Weak Predictor of Long-Term Survival in Glioblastoma Patients. *PLoS One.* 2015 Jul 9;10(7):e0130596. doi:10.1371/journal.pone.0130596.
  11. Sonoda Y, Kumabe T, Watanabe M, Nakazato Y, Inoue T, Kanamori M, Tominaga T. Long-term survivors of glioblastoma: clinical features and molecular analysis. *Acta Neurochir (Wien).* 2009 Nov;151(11):1349–58. doi: 10.1007/s00701-009-0387-1.
  12. Hartmann C, Hentschel B, Simon M, Westphal M, Schackert G, Tonn JC, Loeffler M, Reifenberger G, Pietsch T, von Deimling A, Weller M, German Glioma Network. Long-term survival in primary glioblastoma with versus without isocitrate dehydrogenase mutations. *Clin Cancer Res.* 2013 Sep 15; 19(18):5146–57. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0017.