



© Д.А. Гуляев^{1,2}, К.А. Чижова¹, К.А. Сулин¹, И.А. Курносов²,
Л.Б. Митрофанова¹, Н.К. Самочерных¹, В.Ю. Чиркин¹

Влияние экспрессии маркеров опухолевых стволовых клеток у пациентов с глиобластомами на исходы лечения

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

²Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

© *Dmitriy A. Gulyaev^{1,2}, Kseniya A. Chizhova¹, Konstantin A. Sulin¹, Ivan A. Kurnosov²,
Liubov B. Mitrophanova¹, Nikita K. Samochernykh¹, Vladislav Yu. Chirkin¹*

Impact of Cancer Stem Cell Markers Expression in Patients with Glioblastoma on Treatment Outcomes

¹Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, the Russian Federation

²N.N. Petrov National Medical Research Centre of Oncology, St. Petersburg, the Russian Federation

Введение. Глиобластома представляет собой наиболее злокачественную первичную опухоль головного мозга. Прогрессия и рецидив данного новообразования остаются неизбежными событиями. Считается, что устойчивости к лечению глиобластомы способствуют раковые стволовые клетки (РСК). В настоящее время отсутствует идеальный набор маркеров для точной характеристики РСК, позволяющий спрогнозировать течение заболевания или ответ на лечение. Цель. Изучение отдаленных результатов лечения больных с глиобластомами на основании анализа наличия и степени экспрессии маркеров РСК.

Материалы и методы. У 16 больных с верифицированными глиобластомами Grade 4 (IDH-wildtype) было выполнено тотальное микрохирургическое удаление опухоли. Катамнестическое наблюдение проводилось с марта 2019 по октябрь 2023 г. Средняя общая выживаемость составила $17,0 \pm 10,7$ мес. (Q1-11,3, Q3-22,8), минимально — 4,1 мес., максимально — 36,8 мес. Был выполнен корреляционный анализ взаимосвязи общей выживаемости и маркеров раковых стволовых клеток глиобластомы, таких как Nanog, Nestin, CD133, SOX2, FOXM1 и CD38 %. Статистический анализ проводился с использованием программы StatTech v. 3.1.10 (разработчик — ООО «Статтех», Россия).

Результаты. По результатам корреляционного анализа между экспрессией nanog и общей выживаемостью связь отсутствовала. Слабой тесноты обратная связь была установлена при оценке экспрессии nestin, CD133, CD38 % и общей выживаемости. При оценке связи SOX2 и общей выживаемости была установлена слабой тесноты прямая связь. При оценке FOXM1 и общей выживаемости была установлена умеренной тесноты прямая связь. С помощью метода множественной линейной регрессии была выполнена оценка зависимости общей выживаемости от совокупности маркеров РСК. Полученная регрессионная модель характеризуется коэффициентом корреляции $r_{xy} = 0,534$, что соответствует заметной связи по шкале Чеддока. Модель не была статистически значимой ($p = 0,725$). Таким

Introduction. Glioblastoma is the most malignant primary brain tumor. Progression and relapse of this neoplasm remain inevitable. Cancer stem cells (CSCs) are thought to contribute to treatment resistance in glioblastoma. Currently, there is no ideal set of markers to accurately characterize CSCs to predict the course of the disease or response to treatment.

Aim. To study the long-term results of treatment of patients with glioblastomas based on the analysis of the presence and degree of expression of CSC markers.

Materials and methods. Total microsurgical tumor removal was performed in 16 patients with verified Grade 4 glioblastoma (IDH-wildtype). Follow-up observation was carried out from March 2019 to October 2023. The average overall survival (OS) was 17.0 ± 10.7 months (Q1-11.3, Q3-22.8), minimum — 4.1 months, maximum — 36.8 months. A correlation analysis of the relationship between OS and glioblastoma cancer stem cell markers such as Nanog, Nestin, CD133, SOX2, FOXM1 and CD38 %, was performed. Statistical analysis was carried out using StatTech v. 3.1.10 (developer — StatTech LLC, Russia).

Results. According to the results of correlation analysis, there was no association between Nanog expression and OS. A weak inverse relationship was found between nestin, CD133 %, CD38 % and OS. A weak direct relationship was established between SOX2 and OS. A moderately strong direct relationship was established between FOXM1 and OS. We assessed the dependence of OS on a set of CSC markers using the multiple linear regression method. The resulting regression model is characterized by a correlation coefficient $r_{xy} = 0.534$, which corresponds to an average regression coefficient on the Chaddock scale. The model was not statistically significant ($p = 0.725$). Thus, the cancer stem cell markers we studied are not predictors for the OS prediction model; statistically significant relationships were not found.

образом, маркеры раковых стволовых клеток, изученные нами, не являются предикторами для модели прогнозирования общей выживаемости, статистически значимые связи установлены не были.

Заключение. Исследование дополнительных маркеров раковых стволовых клеток глиобластомы в целях прогнозирования результатов лечения в клинической практике на настоящий момент нецелесообразно и не влияет на тактику. На сегодня основным доказанным подходом к курации пациентов с глиобластомами является локальный контроль.

Ключевые слова: раковые стволовые клетки; глиобластома; маркеры; исходы лечения

Для цитирования: Гуляев Д.А., Чижова К.А., Сулин К.А., Курносов И.А., Митрофанова Л.Б., Самочерных Н.К., Чиркин В.Ю. Влияние экспрессии маркеров опухолевых стволовых клеток у пациентов с глиобластомами на исходы лечения. *Вопросы онкологии*. 2024; 70(4): 755-764.-DOI: 10.37469/0507-3758-2024-70-4-755-764

✉ Контакты: Курносов Иван Александрович, ivkurnosov@gmail.com

Введение

Глиобластома — наиболее злокачественная первичная опухоль головного мозга, в основе онкогенеза которой лежат сложные динамические процессы клеточного деления с большим количеством регуляторных молекулярных механизмов и сигнальных каскадов, являющихся отражением природы агрессивного, высоко инвазивного, быстро растущего новообразования [1]. Несмотря на то, что протокол лечения глиобластом был сформулирован 18 лет назад, прогрессия и рецидив остаются неизбежными событиями, со средней общей выживаемостью менее 15 мес., делая эту опухоль одной из основных нерешенных проблем в нейроонкологии [2]. Значительный интерес представляют механизмы резистентности опухоли к хирургическому лечению и адьювантным методикам, которые могут дать представление о новых путях решения этой проблемы.

Считается, что устойчивости к лечению данного вида неоплазм способствуют раковые стволовые клетки глиобластомы (РСК), отвечающие за инициацию, поддержание жизнедеятельности и рецидив опухоли [3]. Впервые они были выявлены Т. Ignatova и соавт. в 2002 г. Данная работа произвела революцию в области исследований рака, формулируя новые парадигмы относительно происхождения, характеристик этих клеток и участия их в онкогенезе глиобластомы [4].

Все вышеперечисленное обуславливает ежегодное увеличение количества исследований на данную тему. Полученные результаты весьма разнородны и противоречивы [5, 6]. Отчасти это объясняется отсутствием в настоящее время идеального набора маркеров для точной характеристики РСК, позволяющих спрогнозировать течение заболевания или ответ на лечение.

Таким образом, изучение влияния маркеров РСК глиобластомы на исходы лечения после

Conclusion. The study of glioblastoma markers in CSCs to predict treatment outcome is currently impractical and has no impact on treatment. Today, the main proven approach to treating patients with glioblastoma is local tumor control.

Keywords: cancer stem cells; glioblastoma; markers; treatment outcomes

For Citation: Dmitriy A. Gulyaev, Kseniya A. Chizhova, Konstantin A. Sulin, Ivan A. Kurnosov, Liubov B. Mitrophanova, Nikita K. Samochernykh, Vladislav Yu. Chirkin. Impact of cancer stem cell markers expression in patients with glioblastoma on treatment outcomes. *Voprosy Onkologii = Problems in Oncology*. 2024; 70(4): 755-764. (In Rus).-DOI: 10.37469/0507-3758-2024-70-4-755-764

хирургической резекции представляет собой актуальную проблему, решение которой может способствовать наиболее адекватному оказанию помощи данным больным. Целью исследования явилось изучение отдаленных результатов лечения больных с глиобластомами на основании анализа наличия и степени экспрессии маркеров РСК.

Материалы и методы

В проспективное одноцентровое исследование были включены 35 пациентов с верифицированными глиобластомами Grade 4 (IDH-wildtype), проходивших хирургическое лечение в ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» с апреля 2019 по январь 2021 г. Всем больным выполнялось микрохирургическое удаление опухоли. У 16 больных объем вмешательства был расценен как тотальная резекция. Ранее нами был проведен морфологический и иммуногистохимический анализ гистологических препаратов радикально оперированных пациентов с последующей оценкой корреляций между маркерами [7]. В дальнейшем катамнез собран у 100 % больных. Все больные получили адьювантную химиолучевую терапию и последующую химиотерапию в монорежиме по протоколу Stupp. Катамнестическое наблюдение за исследуемой когортой проводилось с марта 2019 по октябрь 2023 г. Распределение по полу было сопоставимым — 9 женщин (56,2 %) и 7 мужчин (43,8 %). Средний возраст больных составил 60 ± 13 лет (95 % ДИ 53–67). Средняя общая выживаемость составила $17,0 \pm 10,7$ мес. (Q1-11,3, Q3-22,8), минимально — 4,1 мес., максимально — 36,8 мес.

Статистический анализ проводился с использованием программы StatTech v. 3.1.10 (разработчик — ООО «Статтех», Россия).

Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных

долей. Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро – Уилка. Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывались с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD), границ 95 % доверительного интервала (95 % ДИ). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1–Q3). В табл. 1 указаны характеристики исследуемых маркеров.

Направление и теснота корреляционной связи между двумя количественными показателями оценивались с помощью коэффициента корреляции Пирсона (при нормальном распределении сопоставляемых показателей), направление и теснота корреляционной связи между двумя количественными показателями оценивались с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (при распределении показателей, отличном от нормального).

Прогностическая модель, характеризующая зависимость количественной переменной от факторов, разрабатывалась с помощью метода линейной регрессии.

Результаты

Был выполнен корреляционный анализ взаимосвязи общей выживаемости и экспрессии

маркеров раковых стволовых клеток глиобластомы, результаты представлены в табл. 2.

При оценке связи экспрессии *nanog* и общей выживаемости связь отсутствовала.

Наблюдаемая зависимость *nanog* от общей выживаемости описывается уравнением парной линейной регрессии:

$$Y_{\text{Nanog}} = -0,221 \times X_{\text{Общая выживаемость}} + 21,821$$

На рис. 1 представлен график регрессионной функции, характеризующий зависимость маркера *nanog* от общей выживаемости. При увеличении общей выживаемости на 1 месяц следует ожидать уменьшение *nanog* на 0,221 %. Полученная модель объясняет 0,7 % наблюдаемой дисперсии *nanog*.

При оценке связи экспрессии *nestin* и общей выживаемости была установлена слабой тесноты обратная связь. Наблюдаемая зависимость *nestin* от общей выживаемости описывается уравнением парной линейной регрессии:

$$Y_{\text{Nestin}} = -0,385 \times X_{\text{Общая выживаемость}} + 58,942$$

На рис. 2 представлен график регрессионной функции, характеризующий зависимость маркера *nestin* от общей выживаемости. При увеличении общей выживаемости на 1 месяц следует ожидать уменьшение *nestin* на 0,385 %. Полученная модель объясняет 1,1 % наблюдаемой дисперсии *nestin*.

При оценке связи экспрессии CD133 и общей выживаемости была установлена слабой тесноты обратная связь. Наблюдаемая зависимость

Таблица 1. Описательная статистика изучаемых маркеров

Table 1. Descriptive statistics of the studied markers

Показатели	M ± SD / Me	95 % ДИ / Q1–Q3	n	min	max
Nanog, Me (%)	0	0–31	16	0	100
Nestin, Me (%)	65	18–82	16	0	100
CD133, Me (%)	1	0–6	16	0	90
SOX2, M ± SD (%)	87 ± 10	82–92	16	70	100
CD38 %, Me	2	0–21	16	0	90
FOXMI, Me (%)	10	0–55	16	0	100

Таблица 2. Результаты корреляционного анализа взаимосвязи общей выживаемости и экспрессии маркеров раковых стволовых клеток глиобластомы

Table 2. Results of correlation analysis of the relationship between OS and glioblastoma cancer stem cell markers

Показатели	Характеристика корреляционной связи		
	гху / ρ	Теснота связи по шкале Чеддока	p
Общая выживаемость – Nanogp	0,055	Нет связи	0,840
Общая выживаемость – Nestinp	-0,230	Слабая	0,391
Общая выживаемость – CD133p	-0,185	Слабая	0,493
Общая выживаемость – SOX2 (гху)	0,237	Слабая	0,378
Общая выживаемость – CD38 %p	-0,246	Слабая	0,359
Общая выживаемость – FOXMIp	0,408	Умеренная	0,117

CD133 от общей выживаемости описывается уравнением парной линейной регрессии:

$$Y_{CD133} = 0,465 \times X_{\text{Общая выживаемость}} + 8,004$$

На рис. 3 представлен график регрессионной функции, характеризующий зависимость CD133 от общей выживаемости. При увеличении общей выживаемости на 1 месяц следует ожидать увеличение CD133 на 0,465 %. Полученная модель объясняет 2,6 % наблюдаемой дисперсии CD133.

При оценке связи экспрессии SOX2 и общей выживаемости была установлена слабой тесноты прямая связь. Наблюдаемая зависимость SOX2 от общей выживаемости описывается уравнением парной линейной регрессии:

$$Y_{SOX2} = 0,213 \times X_{\text{Общая выживаемость}} + 83,561$$

На рис. 4 представлен график регрессионной функции, характеризующий зависимость SOX2 от общей выживаемости. При увеличении общей выживаемости на 1 месяц следует ожидать увеличение SOX2 на 0,213 %. Полученная модель объясняет 5,6 % наблюдаемой дисперсии SOX2.

При оценке связи показателя CD38 и общей выживаемости была установлена слабой тесноты обратная связь. Наблюдаемая зависимость CD38 % от общей выживаемости описывается уравнением парной линейной регрессии:

$$Y_{CD38 \%} = -0,009 \times X_{\text{Общая выживаемость}} + 17,154$$

На рис. 5 представлен график регрессионной функции, характеризующий зависимость CD38 от общей выживаемости. При увеличении общей выживаемости на 1 месяцев следует ожидать уменьшение показателя CD38 % на 0,009. Полученная модель объясняет 0,0 % наблюдаемой дисперсии CD38.

При оценке связи экспрессии FOXM1 и общей выживаемости была установлена умеренной тесноты прямая связь. Наблюдаемая зависимость FOXM1 от общей выживаемости описывается уравнением парной линейной регрессии:

$$Y_{FOXM1} = 1,281 \times X_{\text{Общая выживаемость}} + 6,168$$

На рис. 6 представлен график регрессионной функции, характеризующий зависимость маркера FOXM1 от общей выживаемости. При увеличении общей выживаемости на 1 мес. следует ожидать увеличение FOXM1 на 1,281 %. Полученная модель объясняет 13,2 % наблюдаемой дисперсии FOXM1.

Оценка зависимости общей выживаемости от количественных факторов была выполнена с помощью метода множественной линейной регрессии, результаты представлены в табл. 3. Число наблюдений составило 16.

Наблюдаемая зависимость общей выживаемости от экспрессии nanog, nestin, CD133, SOX2, CD38 %, FOXM1 описывается уравнением линейной регрессии:

$$Y_{\text{Общая выживаемость}} = 11,662 - 0,134X_{\text{Nanog}} - 0,091X_{\text{Nestin}} + 0,022X_{\text{CD133}} + 0,106X_{\text{SOX2}} - 0,067X_{\text{CD38 \%}} + 0,146X_{\text{FOXM1}}$$

где Y — величина общей выживаемости, X_{Nanog} — Nanog (%), X_{Nestin} — Nestin (%), X_{CD133} — CD133 (%), X_{SOX2} — SOX2 (%), $X_{\text{CD38 \%}}$ — CD38 %, X_{FOXM1} — FOXM1 (%)

При увеличении nanog на 1 %. следует ожидать уменьшение общей выживаемости на 0,134 мес., при увеличении nestin на 1 %. следует ожидать уменьшение общей выживаемости на 0,091 мес., при увеличении CD133 на 1 %. следует ожидать увеличение общей выживаемости на 0,022 мес., при увеличении SOX2 на 1 %. следует ожидать увеличение общей выживаемости на 0,106 мес., при увеличении CD38 % на 1 % следует ожидать уменьшение общей выживаемости на 0,067 мес., при увеличении FOXM1 на 1 %. следует ожидать увеличение общей выживаемости на 0,146 мес.

Полученная регрессионная модель характеризуется коэффициентом корреляции $r_{xy} = 0,534$, что соответствует заметной тесноте связи по шкале Чеддока. Модель не была статистически значимой ($p = 0,725$). Полученная модель объясняет 28,6 % наблюдаемой дисперсии общей выживаемости.

Таблица 3. Анализ общей выживаемости в зависимости от экспрессии nanog, nestin, CD133, SOX2, CD38, FOXM1, см. Приложение на сайте

Table 3. Analysis of OS based on the expression of nanog, nestin, CD133, SOX2, CD38, FOXM1, see Appendix on the website

	B	Стд. ошибка	t	p
Intercept	11,662	39,308	0,297	0,773
Nanog	-0,134	0,141	-0,953	0,365
Nestin	-0,091	0,119	-0,766	0,463
CD133	0,022	0,138	0,156	0,879
SOX2	0,106	0,481	0,221	0,830
CD38 %	-0,067	0,131	-0,511	0,621
FOXM1	0,146	0,126	1,164	0,275

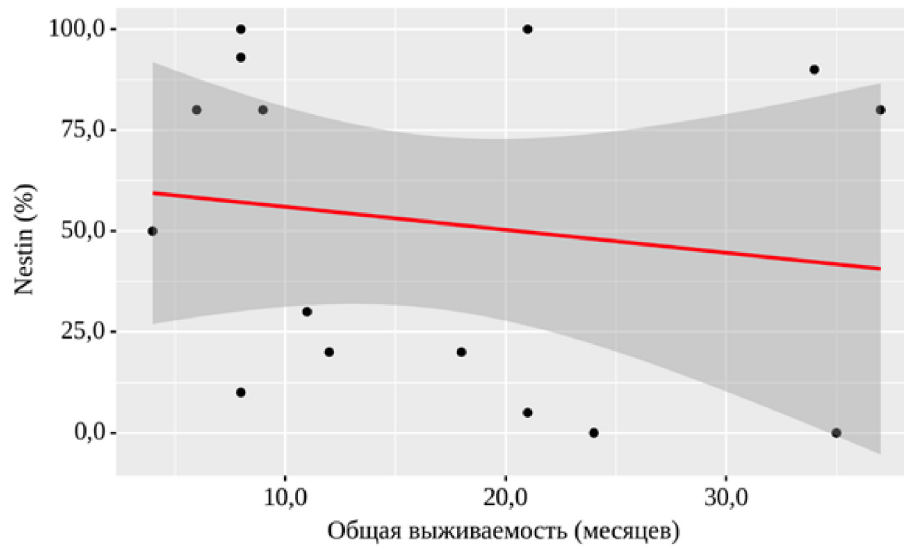


Рис. 1. График регрессионной функции, характеризующий зависимость panog от общей выживаемости
 Fig. 1. Graph of the regression function characterizing the dependence of panog on OS

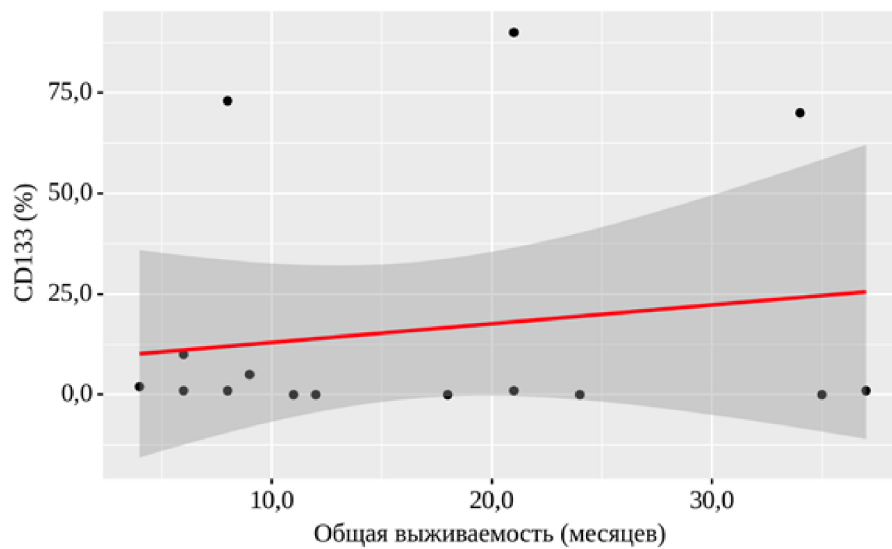


Рис. 2. График регрессионной функции, характеризующий зависимость nestin от общей выживаемости
 Fig. 2. Graph of the regression function characterizing the dependence of nestin on OS

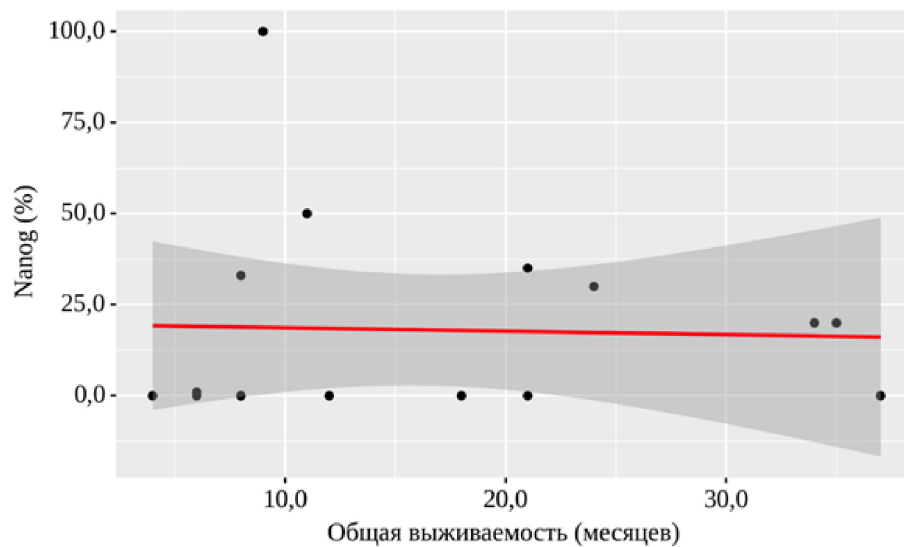


Рис. 3. График регрессионной функции, характеризующий зависимость CD133 от общей выживаемости
 Fig. 3. Graph of the regression function characterizing the dependence of CD133 on OS

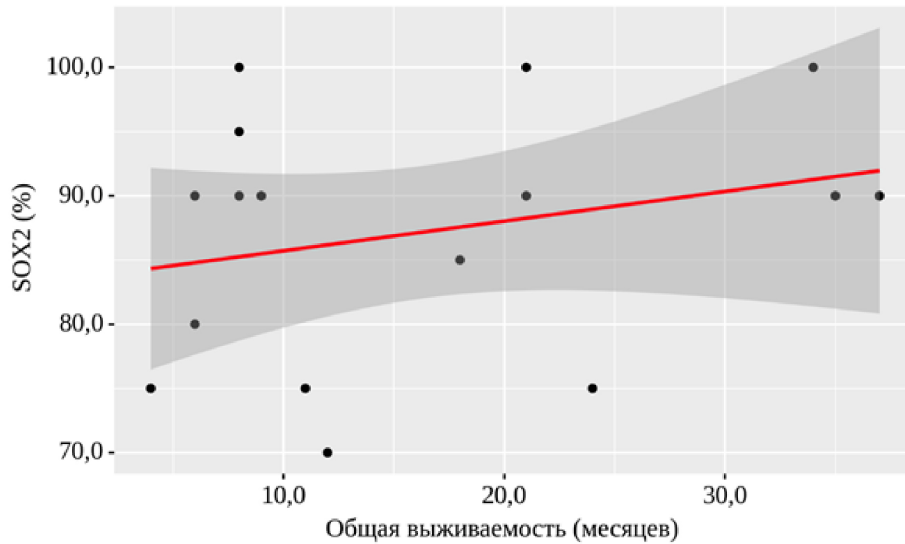


Рис. 4. График регрессионной функции, характеризующий зависимость SOX2 от общей выживаемости
Fig. 4. Graph of the regression function characterizing the dependence of SOX2 on OS

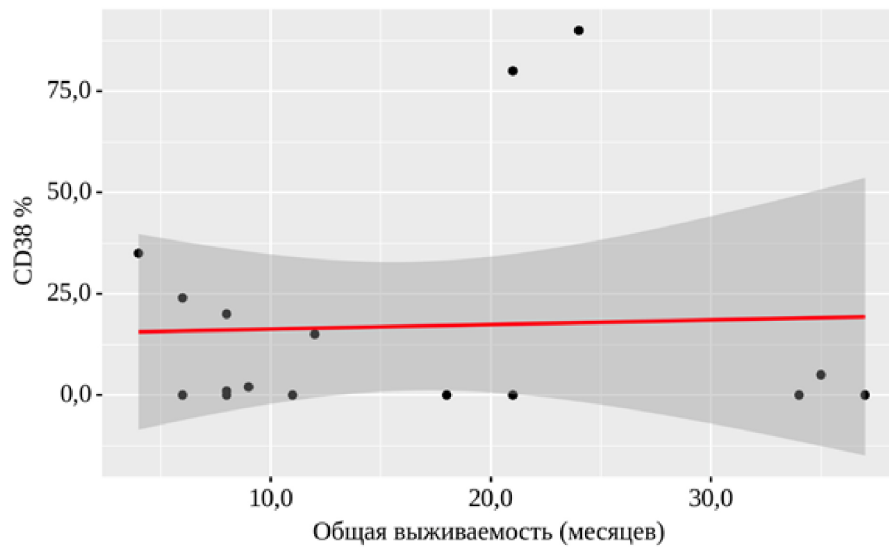


Рис. 5. График регрессионной функции, характеризующий зависимость показателя CD38 от общей выживаемости, см. Приложение на сайте
Fig. 5. Graph of the regression function characterizing the dependence of the CD38 marker on OS, see Appendix on the website

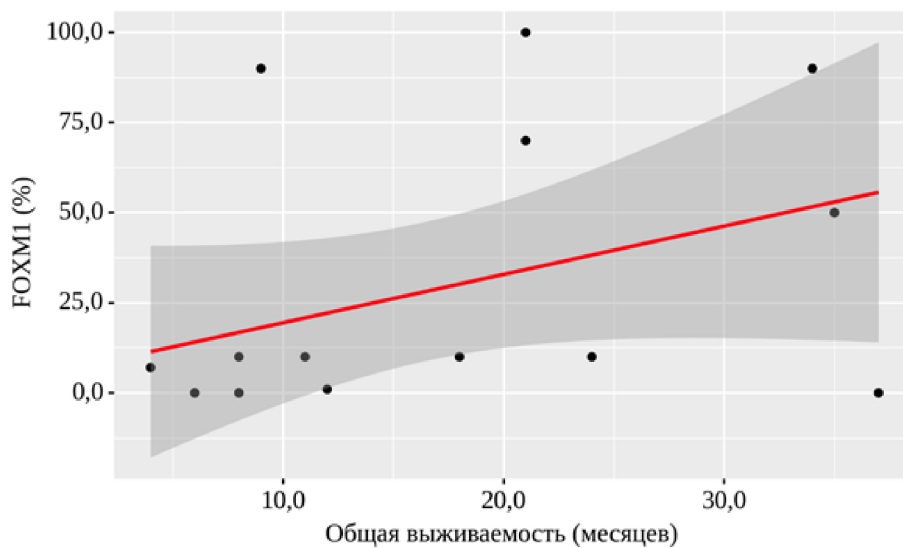


Рис. 6. График регрессионной функции, характеризующий зависимость FOXM1 от общей выживаемости, см. Приложение на сайте
Fig. 6. Graph of the regression function characterizing the dependence of FOXM1 on OS, see Appendix on the website

Маркеры раковых стволовых клеток, изученные нами, не являются предикторами для модели прогнозирования общей выживаемости, статистически значимые связи установлены не были.

Обсуждение

Накопление доказательств существования небольшой популяции стволовых клеток, способных привести к росту глиобластомы, привело к теории, что неизбежный рецидив глиобластомы обусловлен сохранением этих клеток, несмотря на мультимодальное лечение. Широкий спектр клинических исследований посвящен механизмам действия предполагаемых маркеров РСК и связанных с ними особенностей в опухолях, а также их прогностическому значению [6]. Последние, как правило, основываются на небольших когортах пациентов и зачастую фокусируются только на одном или двух маркерах. Результаты подтверждают их взаимосвязь с биологическими особенностями поведения глиобластомы, но в том, что касается их влияния на клинический исход, однозначное мнение отсутствует.

Первым маркером, используемым для идентификации РСК в опухолях головного мозга, был CD133 (также известный как Prominin-1). Несмотря на то, что CD133 тесно связан со стволовыми клетками, остаются споры о его пригодности в качестве маркера РСК, поскольку он частично гликозилируется, что приводит к маскировке необходимого для выявления эпитопа AC133 [8]. Кроме того, Barrantes-Freer и соавт. установили, что уровень экспрессии CD133 на поверхности РСК изменяется в течение клеточного цикла. Таким образом, этот маркер является критерием определенных стадий деления, а не статичным показателем. Это подтверждается и другими фактами: ранее считалось, что только CD133+ клетки способны вызывать рост опухоли *in vivo* и *in vitro*, но позже оказалось, что трансплантация клеток CD133-отрицательной глиомы также может приводить к образованию опухолей, содержащих долю CD133-положительных опухолевых клеток. Исследования относительно корреляции между уровнем экспрессии CD133 и продолжительностью жизни больных с глиомами многочисленны и весьма различны по результатам. Так, по данным Nan и соавт., пациенты с CD133+ имели меньший безрецидивный период, чем пациенты с отсутствием экспрессии [9]. С другой стороны, в крупном исследовании, включающем 433 больных, Dahlrot и соавт. пришли к выводу, что общая выживаемость и степень злокачественности не коррелируют со статусом экспрессии CD133 в глиомах. Таким образом, в контексте противоречивых

сообщений относительно корреляции между уровнем экспрессии CD133 с выживаемостью и безрецидивным периодом, кажется обоснованным считать указанный маркер ненадежным для диагностики и прогнозирования течения заболевания. Однако все же нам представляется разумным связывать агрессивность глиобластомы с количеством экспрессируемого CD133 в частных случаях субвентрикулярно расположенных опухолей (Ю.С. Лахина) [10].

Nanog — фактор транскрипции, названный в честь источника молодости в кельтской мифологии Tir Nan Og. Он контролирует множество генов, участвуя в регуляции и поддержании пула эмбриональных стволовых клеток [11]. Ранее было установлено, что Nanog является поверхностным маркером РСК в опухолях, включая глиомы, и его степень экспрессии коррелирует с полом, глубиной инфильтрации и степенью злокачественности [9]. Однако несмотря на это, Bien-Möller и соавт., анализируя корреляцию уровня экспрессии Nanog с общей выживаемостью у пациентов с глиобластомами, не обнаружили статистически значимой взаимосвязи [2]. Это небезынтересно и в контексте того, что в данном исследовании не проводился анализ экспрессии IDH, а, следовательно, астроцитомы Grade 4, являясь опухолями более благоприятными в прогностическом плане, также не показали корреляции с этим маркером, что указывает на неоднозначность использования данного фактора в принципе. Fawzy и соавт., помимо Nanog, оценивали еще и SOX2, при этом регрессионный анализ также показал отсутствие зависимости между степенью экспрессии этих маркеров и общей выживаемостью пациентов с глиобластомами [12].

Упомянутый фактор транскрипции SOX2 является наиболее изученным среди факторов семейства SOX, повышенная экспрессия которого в глиобластоме опосредует подвижность клеток опухоли и ее инвазивность [13]. Аналогично другим маркерам, результаты исследований его влияния на прогноз весьма разнообразны. Так, по данным Mansouri, высокий уровень экспрессии SOX2 связан с более неблагоприятным прогнозом. Результаты, схожие с нашими, получили Alameda и соавт., SOX2 слабо коррелирует с выживаемостью, но при использовании метода множественной линейной регрессии связь отсутствовала [14]. С другой стороны, Cox и соавт. выявили, что 3-кратное увеличение экспрессии SOX2 в РСК глиобластомы уменьшает их способность делиться. Интересно, что SOX2 экспрессировался во всех наших случаях подавляющим большинством клеток. Этот результат свидетельствует о том, что уровень экспрессии SOX2 не является предиктором агрессивности

глиобластомы, а скорее регулируется опухолевыми клетками в зависимости от этапа развития опухоли.

Следующий интересующий нас маркер — FOXM1. Белки семейства Forkhead box (Fox) — группа факторов транскрипции. Подсемейство FOXM1 имеет только один член, FOXM1, который экспрессируется на протяжении всего клеточного цикла деления, выполняя большое количество функций: облегчает вход в фазу S, стимулирует транскрипцию генов, которые регулируют контрольные точки G1/S, G2/M, облегчает сборку митотического веретена и как следствие, играет значительную роль в ключевых фазах клеточного цикла. Напротив, аномальная регуляция FOXM1 влияет на миграцию клеток, ангиогенез, инвазию, обновление стволовых клеток и восстановление повреждений ДНК, в конечном счете способствуя инициации, прогрессированию, ангиогенезу, метастазированию и лекарственной устойчивости опухолей [15]. FOXM1 участвует в регуляции других маркеров РСК — было обнаружено, что снижение экспрессии FOXM1 предшествует снижению экспрессии Oct4 и Nanog. С другой стороны, чрезмерная экспрессия только FOXM1 активирует экспрессию Oct4, Nanog и SOX2 в дифференцированных клетках [15]. Эти данные подчеркивают регуляторную роль FOXM1 в плюрипотентности и поддержании пула стволовых клеток, что также подвергает сомнению возможность использования этого фактора транскрипции как предиктора выживаемости.

Еще один маркер РСК — Nestin — белок, принадлежащий к VI классу промежуточных монофиламентов, вырабатываемый в стволовых клетках ЦНС млекопитающих во время развития и последовательно заменяющийся другими монофиламентами. Его ассоциация с глиомами высокой степени злокачественности, более продолжительной общей выживаемостью и безрецидивным периодом ранее была подтверждена несколькими исследованиями [16]. Однако, как и в случае с остальными маркерами, у пациентов с глиобластомами все не так однозначно. Так, Chinnaiyan и соавт., оценивая довольно крупную выборку из 153 образцов глиобластом, не обнаружили взаимосвязи со степенью экспрессии Nestin и общей выживаемостью. Авторы также отметили, что несмотря на общий высокий уровень содержания этого пептида, окрашивание образцов было весьма разнородно, при этом часть из них его вообще не экспрессировала [17]. Представленные данные согласуются с нашими и не подтверждают прогностическое значение Nestin у больных с глиобластомами.

Последний маркер, который мы анализировали в контексте влияния на исходы лечения, был CD38, трансмембранный гликопротеин,

экспрессирующийся в микроглие в структуре глиобластомы [18]. Как показало экспериментальное исследование Levy и соавт., у мышей с имплантированной глиобластомой и дефицитом CD38 была значительно снижена скорость роста опухоли и умеренно увеличена средняя выживаемость, по сравнению с мышами с нормальным содержанием этого маркера (25 против 23 дней, $p = 0,03$). В нашем исследовании взаимосвязи между этим маркером и общей выживаемостью в многофакторном регрессионном анализе установить не удалось.

Примечательно, что даже относительно новая концепция опухолевых стволовых клеток динамично меняется. Ранние гипотезы предполагали, что онкогенные мутации в нормальных нервных стволовых клетках являются ключевым событием в развитии глиобластомы — это представление предполагает строго иерархическую, однонаправленную клеточную пролиферацию. Учитывая гетерогенность глиобластомы, альтернативная гипотеза объясняет происхождение РСК из зрелых глиальных клеток путем дедифференцировки и обретения свойств, делающих их похожими на стволовые [1, 6, 19–21]. Наряду с этим важным представляются недавние исследования, которые представляют глиобластома не как единую солидную опухоль, а скорее как мозаику — эта опухоль вероятнее всего включает в себя несколько рядом расположенных злокачественных глиом, которые взаимодействуют друг с другом и представляют собой целостное новообразование. Каждая из этих отдельных опухолей населена различными опухолевыми клетками, которые, хотя соответствуют функциональному определению РСК, тем не менее различны по рядам молекулярных и гистологических показателей [8]. Вышеуказанное предрасполагает к тому, что маркеры РСК не являются надежными критериями для оценки выживаемости ввиду своей неоднородности, различного состава и уровня экспрессии в зависимости от линии происхождения.

Вопреки тому, что по результатам ранее проведенного нами корреляционного анализа у исследуемой когорты больных было установлено наличие статистически значимых связей между экспрессией Nestin и CD133, FOXM1 и NANOG, Nestin и CD38 — новые полученные нами данные позволяют предположить, что эти взаимосвязи являются не статичными показателями, а лишь вариантом взаимодействия маркеров в данных конкретных опухолях у конкретных больных [7]. По результатам сформированной прогностической модели, характеризующей зависимость общей выживаемости у пациентов с глиобластомами IDH-wildtype от степени экспрессии маркеров РСК, разработанной с помощью метода множественной линейной регрессии, ни один из них

не являлся предиктором худшего исхода. Оценка экспрессии каждого маркера по отдельности бесполезна и не приводит к значимым результатам у пациентов с глиобластомами, что, в свою очередь, делает бесперспективным использование целого ряда таргетных препаратов. Это же подтверждается многофакторным анализом: хотя вышеуказанные маркеры являются значимыми в онкогенезе глиобластом, их роль в прогнозе заболевания нами не подтверждена.

Именно молекулярно-генетические особенности глиобластомы, ранее называвшейся первичной, обосновали формирование новой классификационной подгруппы первичных опухолей головного мозга в последней, пятой классификации опухолей центральной нервной системы WHO 2021, куда вошла только эта единственная опухоль. Онкогенез и прогрессия глиобластомы — плюрипотентный, не до конца изученный процесс со множеством сигнальных путей, эффективное блокирование которых на современном этапе вряд ли возможно. Отсюда следует, что наиболее эффективным для продления жизни больных с этими новообразованиями были и остаются максимально безопасная резекция с последующей химиолучевой терапией.

Заключение

Несмотря на стремительное накопление научных знаний о биологических особенностях возникновения и развития глиобластомы, возрастающего количества исследований о стволовых клетках глиом и их маркеров, остается открытым вопрос об эффективном применении этих знаний в лечении данной когорты больных. Одной из причин, способствующих этой неудаче, является сложная коммуникационная сеть предполагаемых биомаркеров стволовых клеток глиобластомы, их неоднородность и изменчивость. Поэтому, с нашей точки зрения, исследование дополнительных маркеров раковых стволовых клеток глиобластомы в целях прогнозирования результатов лечения на настоящий момент в клинической практике нецелесообразно и не влияет на тактику. На сегодня основным доказанным подходом к курации пациентов с глиобластомами является локальный контроль в виде максимально возможной резекции. Роль последующей химиолучевой терапии ввиду таких изменчивых условий дискуссионна.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Исследование выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией ВМА в редакции 2013 г. Все пациенты под-

писывали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study was carried out in accordance with the WMA Helsinki Declaration as amended in 2013. All patients gave written informed consent to participate in the study.

Финансирование

Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing

The work was performed without external funding.

Участие авторов

Чижова К.А. — сбор материала, поиск и анализ источников литературы, составление черновика рукописи;

Гуляев Д.А. — дизайн и концепция исследования с внесением ценного интеллектуального содержания, научное редактирование статьи.

Сулин К.А., Курносков И.А., Чиркин В.Ю. — критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания; научное редактирование статьи;

Митрофанова Л.Б. — непосредственная реализация морфологического и иммуногистохимического исследования в данной работе, научное редактирование статьи;

Самочерных Н. К. — поиск и анализ источников литературы, научное редактирование статьи.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

Authors' contributions

Chizhova K.A. — collected the material, conducted the literature search and analysis, and drafted the manuscript;

Gulyaev D.A. — designed the research and developed the concept, contributing significant intellectual content, and carried out scientific editing of the article;

Sulin K.A., Kurnosov I.A., Chirkin V.Yu. — performed a critical revision, contributing significant intellectual content, and carried out scientific editing of the article;

Mitrophanova L.B. — directly implemented the morphological and immunohistochemical research for this work and carried out scientific editing of the article;

Samochemnykh N.K. — conducted the literature search and analysis and carried out scientific editing of the article.

All authors approved the final version of the article before publication and agreed to take responsibility for all aspects of the work, ensuring proper investigation and resolution of issues related to the accuracy or integrity of any part of the work.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Biserova K., Jakovlevs A., Uljanovs R., et al. Cancer stem cells: significance in origin, pathogenesis and treatment of glioblastoma. *Cells*. 2021; 10(3): 621.-DOI: <https://doi.org/10.3390/cells10030621>.
2. Bien-Möller S., Balz E., Herzog S., et al. Association of glioblastoma multiforme stem cell characteristics, differentiation, and microglia marker genes with patient survival. *Stem Cells Int*. 2018.-DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/9628289>.
3. Wallenborn M., Xu L.X., Kirsten H., et al. Molecular analyses of glioblastoma stem-like cells and glioblastoma tissue. *PLoS ONE*. 2020; 15(7): e0234986.-DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234986>.
4. Ignatova T., Kukulov V., Laymell E., et al. Human Cortical Glial Tumors Contain Neural Stem-like Cells Expressing

- Astroglial and Neuronal Markers in vitro. *Glia*. 2002; 39(3): 193-206.-DOI: <https://doi.org/10.1002/glia.10094>.
5. Прокудин М.Ю., Мартынов Б.В., Свистов Д.В., et al. Генетические биологические маркеры глиальных опухолей головного мозга: мутации в генах изоцитратдегидрогеназ 1 и 2. *Сибирский онкологический журнал*. 2020; 19(4): 59-66.-DOI: <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2020-19-4-59-66>. [Prokudin M.Yu., Martynov B.V., Svistov D.V., et al. Genetic biomarkers of glial brain tumors: IDH1 and IDH2 mutations. *Siberian Journal of Oncology*. 2020; 19(4): 59-66.-DOI: <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2020-19-4-59-66>. (In Rus)].
 6. Almenglo C., Saamano P., Fraga M., et al. From neural stem cells to glioblastoma: a natural history of GBM recapitulated in vitro. *J Cell Physiol*. 2021; 236(11): 7390-7404.-DOI: <https://doi.org/10.1002/jcp.30409>.
 7. Сулин КА, Гальковский БЭ, Петров АА, et al. Иммуногистохимическое выявление маркеров стволовых клеток, факторов транскрипции и PD-L1 в злокачественных глиомах взрослых пациентов. *Гены и клетки*. 2021; 16(4): 6-14. [Sulin KA, Galkovsky BE, Petrov AA, et al. Immunohistochemical detection of stem cell markers, transcription factors and PD-L1 in malignant gliomas in adult patients. *Genes & Cells*. 2021; 16(4): 6-14. (In Rus)].
 8. Brown D.V., Filiz G., Daniel P.M., et al. Expression of CD133 and CD44 in glioblastoma stem cells correlates with cell proliferation, phenotype stability and intra-tumor heterogeneity. *PLoS ONE*. 2017; 12(2).-DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172791>.
 9. Liang C., Zhao T., Ge H., et al. The clinicopathological and prognostic value of nanog in human gastrointestinal luminal cancer: a meta-analysis. *Int J Surg Lond Engl*. 2018; 53: 193-200.-DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijso.2018.03.050>.
 10. Гальковский Б.Э., Митрофанова Л.Б., Лахина Ю.С., et al. Иммуногистохимическое исследование белков Prox1, CD133 и CD38 в глиобластомах вентрикулярно-субвентрикулярной зоны и их влияние на продолжительность жизни пациентов. *Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова*. 2020; 27(1): 75-85.-DOI: <https://doi.org/10.24884/1607-4181-2020-27-1-75-85>. [Galkovsky BE, Mitrophanova LB, Lakhina IS, et al. Immunohistochemical study of proteins Prox1, CD133 and CD38 in glioblastomas of the ventricular-subventricular zone and their effect on the life expectancy of patients. *The Scientific Notes of Pavlov University*. 2020; 27(1): 75-85.-DOI: <https://doi.org/10.24884/1607-4181-2020-27-1-75-85>. (In Rus)].
 11. Runtu F., Ichwan S., Wanandi S.I., et al. Evaluating the potential of NANOG as a glioma malignancy biomarker. *J Phys Conf Ser*. 2018; 1073: 032057.-DOI: <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1073/3/032057>.
 12. Fawzy M.S., Badran D.I., Al Ageeli E., et al. Longevity-related gene transcriptomic signature in glioblastoma multiforme. *Oxid Med Cell Longev*. 2018; 2018: 1-12.-DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/8753063>.
 13. Krol I., Castro-Giner F., Maurer M., et al. Detection of circulating tumour cell clusters in human glioblastoma. *Br J Cancer*. 2018; 119(4): 487-491.-DOI: <https://doi.org/10.1038/s41416-018-0186-7>.
 14. Alameda F., Velarde J.M., Carrato C., et al. Prognostic value of stem cell markers in glioblastoma. *Biomarkers*. 2019; 24(7): 677-683.-DOI: <https://doi.org/10.1080/1354750X.2019.1652345>.
 15. Sher G., Masoodi T., Patil K., et al. Dysregulated FOXM1 signaling in the regulation of cancer stem cells. *Semin Cancer Biol*. 2022; 86(3): 107-121.-DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2022.07.009>.
 16. Wang Q., Wu H., Hu J., et al. Nestin is required for spindle assembly and cell cycle progression in glioblastoma cells. *Mol Cancer Res MCR*. 2021; 19(10): 1651-1665.-DOI: <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-20-0994>.
 17. Donglai L., Lin L., Zongtao H., et al. Nestin expression is associated with poor clinicopathological features and prognosis in glioma patients: an association study and meta-analysis. *Mol Neurobiol*. 2017; 54(1): 727-735.-DOI: <https://doi.org/10.1007/s12035-016-9689-5>.
 18. Aulakh S., Manna A., Schiapparelli P., et al. EXTH-06. CD38-targeted therapy in glioblastoma. *Neuro-Oncol*. 2018; 20(6): vi86.-DOI: <https://doi.org/10.1093/neuonc/nyy148.355>.
 19. Мерабишвили В.М., Кеннет К., Вальков М.Ю., et al. Эпидемиология и выживаемость больных злокачественными новообразованиями головного мозга (С71). Популяционное исследование. *Вопросы онкологии*. 2020; 66(5): 489-499.-DOI: <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2020-66-5-489-499>. [Merabishvili V.M., Kenneth K., Valkov M.Y., Dyachenko A.A. Epidemiology and survival of patients with malignant tumors of the brain (C71). Population-based study. *Voprosy Onkologii = Problems in Oncology*. 2020; 66(5): 489-499.-DOI: <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2020-66-5-489-499>. (In Rus)].
 20. Mauffrey P., Tchitchek N., Barroca V., et al. Progenitors from the central nervous system drive neurogenesis in cancer. *Nature*. 2019; 569(7758): 672-678.-DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1219-y>.
 21. Azzarelli R., Simons B.D., Philpott A. The developmental origin of brain tumours: A cellular and molecular framework. *Dev Camb Engl*. 2018; 145(10): dev162693.-DOI: <https://doi.org/10.1242/dev.162693>.

Поступила в редакцию / Received / 15.12.2023

Прошла рецензирование / Reviewed / 08.04.2024

Принята к печати / Accepted for publication / 11.04.2024

Сведения об авторах / Author's information / ORCID

- Ксения Александровна Чиждова / Kseniya A. Chizhova / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7443-0500>.
 Дмитрий Александрович Гуляев / Dmitry A. Gulyaev / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5509-5612>.
 Константин Андреевич Сулин / Konstantin A. Sulin / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6794-2420>.
 Иван Александрович Курносков / Ivan A. Kurnosov / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2857-8368>.
 Любовь Борисовна Митрофанова / Lyubov B. Mitrophanova / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0735-7822>.
 Никита Константинович Самочерных / Nikita K. Samochernykh / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6138-3055>.
 Владислав Юрьевич Чиркин / Vladislav Yu. Chirkin / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0610-1131>.

