

DOI: 10.17650/2222-1468-2021-11-1-101-108



Причины лекарственной устойчивости и рецидивов глиобластом

А.А. Митрофанов¹, Д.Р. Насхлеташвили¹, В.А. Алешин¹, Д.М. Белов¹, А.Х. Бекашев¹, В.Б. Карахан¹, Н.В. Севян², Е.В. Прозоренко², К.Е. Рощина¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 23;

²ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России; Россия, 119991 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

Контакты: Алексей Андреевич Митрофанов mitrofanov-aa@list.ru

Мультиформные глиобластомы остаются одними из наиболее агрессивных злокачественных новообразований, стандарты лечения которых существенно не менялись за последнее десятилетие, а средняя продолжительность жизни пациентов с момента постановки диагноза до смерти не превышает 2 лет в самых оптимистичных исследованиях. В обзоре рассматриваются вопросы особенностей микроокружения глиобластомы, ее генетической гетерогенности, развития рецидивирующей глиобластомы, формирования лекарственной устойчивости, влияния гематоэнцефалического барьера и лимфатической системы центральной нервной системы на развитие иммунотерапии и таргетной терапии. Проанализированы молекулярные подгруппы глиобластом с предполагаемым прогностическим значением. Определено, что многочисленные взаимосвязи клеток глиобластомы и микроокружения направлены на обеспечение прогрессии опухоли, а также вызывают состояние пониженной эффекторной функции Т-клеток. Обобщены данные о разработке будущей молекулярно-направленной терапии для 4 типов раковых клеток на основе их различных свойств и реакции на терапию: первичных GSC, RISC, а также пролиферирующих и постмитотических фракций не-GSC. Проникновение через гематоэнцефалический барьер химиотерапевтических препаратов и антител в настоящее время остается основным ограничением при лечении глиобластом. Результирующий анализ причин сводится к следующим выводам: детальное понимание эволюционной динамики прогрессирования опухоли сможет дать представление о связанных молекулярно-генетических механизмах, лежащих в основе рецидива глиобластомы; наиболее перспективной для лечения глиобластомы представляется комбинированная терапия с использованием ингибиторов контрольных точек иммунитета в сочетании с новыми методами – вакцинотерапией, CAR-T-клеточной и вирусной терапией; более глубокое изучение механизмов лекарственной устойчивости, обретения резистентности, биологии клональных и субклональных популяций глиобластомы и ее микроокружения при активном изучении комбинированных подходов к лечению опухоли позволит увеличить выживаемость пациентов, и, возможно, привести к стойкой ремиссии заболевания.

Ключевые слова: рецидив глиобластомы, иммунотерапия, таргетная терапия, лекарственная устойчивость, обзор генетической гетерогенности

Для цитирования: Митрофанов А.А., Насхлеташвили Д.Р., Алешин В.А. и др. Причины лекарственной устойчивости и рецидивов глиобластом. Опухоли головы и шеи 2021;11(1):101–8.

Causes of drug resistance and glioblastoma relapses

A.A. Mitrofanov¹, D.R. Naskhletashvili¹, V.A. Aleshin¹, D.M. Belov¹, A.Kh. Bekyashev¹, V.B. Karakhan¹, N.V. Sevyantsev², E.V. Prozorenko², K.E. Roshchina¹

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia; 23 Kashirskoe Hwy, Moscow 115478, Russia;

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

Contacts: Alexey Andreevich Mitrofanov mitrofanov-aa@list.ru

Glioblastoma multiforme is one of the most aggressive malignancies, with standard of treatment not changed over the past decade, and the average life expectancy from diagnosis to death does not exceed two years in the most

optimistic trials. The review examines the features of the glioblastoma microenvironment, its genetic heterogeneity, the development of recurrent glioblastoma, the formation of drug resistance, the influence of the blood-brain barrier and the brain lymphatic system on the development of immunotherapy and targeted therapy. Molecular subgroups of glioblastomas with an assumed prognostic value were analyzed. It was determined that numerous relationships between glioblastoma cells and the microenvironment are aimed at ensuring tumor progression, and also cause a state of reduced effector function of T cells. Data on the development of future molecular-targeted therapies for four types of cancer cells based on their different properties and response to therapy are summarized: primary GSC, RISC cells, and proliferating and postmitotic non-GSC fractions. The penetration of blood-brain barrier with chemotherapeutic drugs and antibodies currently remains the main limitation in the treatment of glioblastoma. The resulting analysis of the causes is reduced to the following conclusions. A detailed understanding of the evolutionary dynamics of tumor progression can provide insight into the related molecular and genetic mechanisms underlying glioblastoma recurrence. The most promising methods of treatment for glioblastoma are combined therapy using immune checkpoint inhibitors in combination with new treatment methods – vaccine therapy, CAR-T-cell therapy and viral therapy. A deeper study of the mechanisms of drug resistance and acquisition resistance, biology and subcloning clonal populations of glioblastoma and its microenvironment, with active consideration of combined trips to the treatment will increase the survival rate of patients, and may lead to stable remission of the disease.

Key words: glioblastoma relapse, immunotherapy, targeted therapy, drug resistance, review of genetic heterogeneity

For citation: Mitrofanov A.A., Naskhletashvili D.R., Aleshin V.A. et al. Causes of drug resistance and glioblastoma relapses. *Opukholi golovy i shei* = Head and Neck Tumors 2021;11(1):101–8. (In Russ.).

Введение

Глиобластома является наиболее частой первичной злокачественной опухолью головного мозга и характеризуется крайне неблагоприятным прогнозом [1]. Анализ собственных данных и результатов клинических исследований по лечению глиобластомы свидетельствует о низкой выживаемости пациентов [2]. Средняя общая выживаемость составляет 15–23 мес, а 5-летняя выживаемость не достигает 6 %, что является самым низким показателем 5-летней выживаемости при злокачественных опухолях головного мозга [3].

Стандарт лечения глиобластом включает максимально безопасную хирургическую резекцию, последующую химиотерапию (темозоломидом) и лучевую терапию [4].

Темозоломид входит в состав комплексного лечения глиобластом. У части пациентов наблюдаются нежелательные явления, и при этом у подавляющего большинства больных отмечается рецидив/прогрессирование болезни. Таргетная терапия в качестве альтернативного подхода может уменьшить риск токсичности лечения и увеличить показатели контроля опухолевого процесса [2].

Одной из возможностей в лечении является использование бевацизумаба, моноклонального антитела против фактора роста эндотелия сосудов. Препарат был одобрен в США Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA) в 2004 г. для лечения метастатического колоректального рака, а в 2009 г. — для нескольких различных типов рака, включая глиобластому.

Вместе с тем клиническое исследование B012990 AVAglio III фазы (результаты опубликованы в 2012 г.)

с участием 921 пациента с впервые диагностированной глиобластомой не выявило увеличения общей выживаемости пациентов, получавших бевацизумаб, по сравнению с пациентами, получавшими плацебо (медиана общей выживаемости составила 16,8 мес для пациентов, получавших бевацизумаб, и 16,7 мес для пациентов, получавших плацебо), при увеличении безрецидивной выживаемости [5].

Согласно результатам ряда исследований, практически у всех пациентов с глиобластомой после терапии 1-й линии отмечаются рецидивы заболевания. Не существует стандартного подхода для успешного лечения рецидивов глиобластомы. Лечение 2-й линии может иметь несколько направлений в зависимости от таких факторов, как размер и расположение опухоли, схема предыдущей терапии, возраст пациента и время от момента постановки первоначального диагноза. Лечение может включать повторную хирургическую резекцию, повторное облучение, использование производных нитрозомочевины, повторное применение темозоломида, применение бевацизумаба или ингибиторов тирозинкиназ [6] и др.

Тем не менее при использовании этих вариантов лечения медиана общей выживаемости после выявления рецидива составляет 6,2 мес [7].

TTF-терапия (tumor treating fields) — метод лечения глиобластомы, одобренный в США в качестве стандарта лечения. Суть метода заключается в локальном воздействии на область расположения опухоли электрическими полями. По результатам III фазы клинического исследования, результаты которого были опубликованы в 2012 г., медиана общей выживаемости у больных глиобластомой в группе с TTF-терапией составила

20,5 мес. ТТФ-терапия получила одобрение как по причине улучшения медианы общей выживаемости, так и в связи с увеличением пятилетней выживаемости до 13 % в сравнении с 5 % в группе стандартного лечения [8].

Длительные ответы на иммунотерапию, наблюдаемые при многих злокачественных опухолевых заболеваниях, придали новый импульс исследованиям, посвященным иммунотерапии при глиобластоме, предопределив разработку альтернативных методик лечения. Однако при этом применение таргетной терапии и иммунотерапии при глиобластоме не было успешным, в отличие от лечения ряда других солидных опухолей. Проведен ряд исследований причин лекарственной устойчивости глиобластом. Большинство авторов выделяют следующие причины низкой эффективности терапии: высокая гетерогенность опухоли, микроокружение глиобластомы, стволовые клетки глиомы (GSC), инициирующие рецидив стволовые раковые клетки (RISC), наличие гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и лимфатическая система центральной нервной системы (ЦНС).

Целью настоящего обзора было охарактеризовать и обобщить причины низкой эффективности терапии глиобластом и причины возникновения рецидивов.

При написании обзора поиск литературы производился в базе данных PubMed преимущественно за последние 5 лет.

Генетическая гетерогенность опухолей

Молекулярная классификация глиобластом, введенная в Атласе генома рака (TCGA), дала представление о генетической регуляции глиобластом с идентификацией молекулярных подгрупп и с предполагаемым прогностическим значением [9, 10]. Согласно TCGA с учетом данных транскрипционного профилирования больших образцов опухолей и на основе доминантных генов, экспрессируемых в каждой группе, были идентифицированы и выделены 4 типа глиобластом: классическая, нейральная, пронеуральная и мезенхимальная [10].

Классическая подгруппа характеризуется амплификациями или мутациями рецептора эпидермального фактора роста (EGFR); нейральная подгруппа характеризуется экспрессией нейрональных генов; пронеуральная подгруппа экспрессирует гены нервных стволовых клеток, такие как *Sox2* (определяющая полость *Y-box2*) и *Olig2* (фактор транскрипции олигодендроцитов 2), и управляется передачей сигналов рецептора фактора роста тромбоцитов альфа (PDGFRA); мезенхимальный подтип отчетливо идентифицируется мутациями в гене нейрофиброматоза 1.

Несмотря на четко различимые профили транскрипции 4 подгрупп глиобластом, клинический прогноз для всех подгрупп оставался одинаковым, с небольшим

преимуществом выживаемости при агрессивной химиолучевой терапии для пронеуральной подгруппы.

Вторичные глиобластомы — опухоли, которые прогрессируют от ранее существовавшей глиомы низкой степени злокачественности до глиобластомы. Они преимущественно составляют пронеуральную подгруппу. Вторичные глиобластомы характеризуются мутациями в генах *IDH1* и *IDH2* (изоцитратдегидрогеназа), а также активацией передачи сигналов PDGFRA.

Исследование А. Р. Patel и соавт. показало, что при разрешении секвенирования ПНК одной клетки одна опухоль состоит из гетерогенной смеси клеток, представляющих все различные подгруппы глиобластом [11].

Подтверждение этого мы также находим в работе А. Голанова и А. Коршунова, опубликованной в 2002 г. Они изучили 302 образца глиобластомы для оценки возможной связи между клиническим исходом и показателями ряда иммуногистохимических переменных. Исследованные опухоли были подразделены на 3 цитологические подгруппы — мелкоклеточные (SGB), плеоморфноклеточные (PGB) и гемистоцитарные (GGB). Иммуногистохимические переменные различались между различными подгруппами: было обнаружено, что количество p53-положительных опухолей преобладает среди PGB, тогда как количество опухолей с EGFR- и mdm2-положительностью было значительно больше в SGB. GGB содержал значительно более низкий средний индекс мечения ядерного антигена пролиферирующих клеток (PCNA), большее количество p21ras-положительных случаев и более высокий средний апоптотический индекс (AI). Время выживания у пациентов с SGB-, EGFR- и mdm2-позитивностью и LI PCNA >40 % было значительно короче, тогда как наличие p21ras и AI >0,5 % было связано с более длительным выживанием. Многомерный анализ показал, что время выживания связано с SGB-, EGFR-позитивностью и AI ($p = 0,0023, 0,0035$ и $0,0029$ соответственно). Авторы пришли к выводу, что, хотя некоторые иммуногистохимические переменные оказались значимыми для исхода глиобластомы, они, по-видимому, тесно связаны с биологией отдельных цитологических подмножеств. Кроме того, эти переменные не имели прогностической ценности, когда их анализировали в пределах каждой цитологической подгруппы отдельно [12].

Метаанализ всех недавних клинических исследований пациентов с глиобластомами также предсказал неэффективность монотерапии, что, вероятнее всего, связано с генетической гетерогенностью глиобластомы [13] и подчеркивает важность комплексной терапии.

Внутриопухолевая генетическая гетерогенность популяций клональных клеток представляет собой корень неудач терапии, движущую силу развития устойчивости к лечению и в конечном итоге приводит к рецидиву злокачественного новообразования.

Основное ограничение данных TCGA заключается в дизайне исследования с одной биопсией, где 4 подгруппы создавали иллюзию клональности. Клональная или субклональная природа событий-драйверов должна быть четко определена перед биопсией или операцией путем проведения множественных исследований из различных участков опухоли, а также разработки моделей на основе биологии опухоли, которая определяет устойчивость к терапии и рецидивам глиобластом.

Кроме того, терапия одним препаратом приводит к отбору субклональных популяций глиобластом, формированию устойчивых к терапии клонов, которые затем обуславливают рецидив глиобластомы [14].

Однако эффективная идентификация мишеней для этих методов лечения была ограничена тем фактом, что большие группы геномных и транскриптомных исследований включали только образцы первичных опухолей с ограниченной информацией о повторяющихся, резистентных к лечению популяциях клеток. Для определения конвергентных и кооперативных сигнальных путей, которые поддерживают рост глиобластомы посредством терапии и приводят к рецидиву, крайне необходимо собрать значительное количество образцов ткани рецидивирующих глиобластом (геномной, транскриптомной и протеомной) и объединить их с экспериментальными моделями для изучения глиобластомы на субклональном уровне за счет использования многопараметрических технологий и/или анализа отдельных клеток [15].

В обзоре литературы А.А. Ставровской и соавт. приведены подробные данные о роли генов и белков *MGMT*, *IDH1/2*, *YB-1*, *MELK*, *MVP/LRP*, *MDR1 (ABCB1)* и генов других ABC-транспортеров, а также киназы Akt3 в развитии резистентности глиобластом к темозоломиду. Рассмотрены некоторые эпигенетические регуляторы устойчивости к темозоломиду — микроРНК и EZH2 [16].

Микроокружение глиобластомы

Многие опухоли, включая глиобластому, по мере роста и прогрессирования формируют иммуносупрессорное локальное микроокружение, защищающее новообразование от атаки иммунной системы [17].

Клетки глиобластом оказывают опосредованное воздействие на нормальные клетки мозга [18].

Поражаются почти все типы клеток в ближайшем окружении опухоли: она способна стимулировать ангиогенез и кооптировать существующую сосудистую сеть, подавлять функции иммунных клеток, обезвреживать микроглию и макрофаги, которые должны распознавать чужеродные элементы в головном мозге и бороться с ними, принудительно воздействовать на астроциты для присоединения к строме опухоли и даже изменять внеклеточный матрикс для облегчения инвазии [19–23].

Глиобластома организует нормальные клетки в своем окружении, что способствует росту, поддержанию и проникновению опухоли в мозг.

Микроокружение глиобластомы содержит разные типы клеток, в частности стромальные, эндотелиальные и иммунные клетки, которые поддерживают рост опухоли и особенно важны для развития химиорезистентности. Это разнообразие клеток в сочетании с внеклеточным матриксом, цитокинами, факторами роста и специфическими условиями, такими как гипоксия и ацидоз [24, 25], составляют микроокружение глиобластомы.

Вариабельность микросреды в пределах одной опухоли определяется различным расположением ключевых факторов в глиобластоме [26].

Таким образом, взаимодействие опухоли и ее микроокружения происходит следующим образом [18]:

1. Опухолевые клетки при глиобластоме используют многочисленные формы коммуникации для захвата множества различных типов клеток в перифокальной мозговой ткани с целью поддержания прогрессирования опухоли.
2. Пути коммуникации включают секретируемые белки и молекулы, щелевые соединения между клетками, внеклеточные везикулы, туннельные нанотрубки и микротрубки.
3. Опухолевые клетки используют микроглию и инфилтрирующие макрофаги ради собственной выгоды за счет высвобождения цитокинов и внеклеточных пузырьков.
4. Клетки глиобластомы и перициты вызывают состояние пониженной эффекторной функции Т-клеток, которое обычно называют истощением, или дисфункцией, Т-клеток.
5. Взаимодействие опухолевых клеток с нормальными клетками мозга, такими как нейроны, приводит к нарушению активности нейронов, что способствует прогрессированию глиобластомы.

GSC и RISC

GSC определяются как опухолевые клетки, способные образовывать гетерогенные глиальные опухоли. Они наделены определенными свойствами, включая высокую канцерогенность, неограниченный потенциал самообновления и способность к мультипотентной дифференцировке, например к созданию различного потомства [27, 28]. Признано существование иерархии клеток внутри глиом, в том числе некоторых с характеристиками GSC [29].

Одноклеточный анализ глиобластом показывает, что большая субпопуляция клеток (до 40 %) имеет признак стволовости [11].

Послеоперационная химио- и лучевая терапия могут уменьшить опухолевую массу вокруг послеоперационной полости. Однако даже небольшая часть

опухолевых клеток выживает и инициирует образование рецидивирующей опухоли. Длина каждой популяции опухоли пропорциональна количеству мутаций, полученных между каждым клоном, и ветвление указывает на приобретение расходящихся мутаций. S. Osuka и E.G. Van Meir предложили назвать эти выжившие клетки RISC [29].

Перспективный анализ молекулярных особенностей RISC в опухолях человека является сложной задачей. Глиобластома характеризуется инфильтративным ростом. Ткань, окружающая полость резекции, имеет вид нормальной паренхимы головного мозга, и, хотя исследования материала аутопсий показали, что она содержит инфильтрирующие клетки [30, 31], их количество невелико, поэтому дальнейшее хирургическое удаление не может считаться оправданным. Биологические характеристики глубоко инфильтрированных клеток могут отличаться от таковых в резецированной первичной опухоли [30, 32].

S. Osuka и E.G. Van Meir в своем исследовании предлагают разработать будущую молекулярно-направленную терапию по крайней мере для 4 типов раковых клеток на основе их различных свойств и реакции на терапию: первичные GSC, RISC, а также пролиферирующие и постмитотические фракции не-GSC.

Согласно этой схеме лечения, лучевая и химиотерапия — подходящие методы лечения пролиферативных не-GSC-клеток, чувствительных к агентам, повреждающим ДНК. Проапоптотические агенты можно оценивать для более медленно растущих, окончательно дифференцированных не-GSC-клеток [33]. Чтобы еще больше сократить делящуюся популяцию, не относящуюся к GSC, после операции следует проводить радио- и химиотерапию в качестве адъювантного лечения. Адъювантная химиотерапия является одним из вариантов поддержания подавления цикличности не-GSC-клеток в промежуточной фазе и фазе ремиссии, как и молекулярная терапия, нацеленная на многообразие путей передачи сигналов роста.

Существующие ингибиторы путей Wnt, SHN и Notch — отличный вариант для лечения всех GSC. Молекулярные методы лечения, нацеленные на эпигенетическое репрограммирование (метилирование ДНК и модификация гистонов) [34, 35], пути, активируемые гипоксией, ангиогенез и метаболическое перепрограммирование/перепрограммирование — все они перспективны для GSC [36–38]. Их следует применять начиная с конца начальной терапевтической фазы и непрерывно в течение промежуточной фазы, когда появляется популяция RISC.

Для устранения популяций RISC необходим дополнительный тип таргетной терапии, которую следует начать как можно раньше, чтобы устранить устойчивые клетки-предшественники RISC. Нацеливание на механизмы адаптивного сопротивления и блокиро-

вание иммуносупрессии может быть выполнено на промежуточной фазе [39–41]. Можно также рассмотреть творчески разработанные методы виротерапии, направленные на все GSC, включая RISC [42–44].

Гематоэнцефалический барьер

Фактически ГЭБ ограничивает диффузию из кровотока в паренхиму головного мозга 100 % крупномолекулярных и 98 % низкомолекулярных лекарственных препаратов посредством плотных контактов между эндотелиальными клетками капилляров и активности переносчиков ABC [45–47]. Эти данные свидетельствуют о том, что доставка терапевтических агентов через ГЭБ важна для достижения значительного прогресса в лечении глиобластомы. Именно наличие ГЭБ определило выбор стандартной на сегодняшний день терапии глиобластомы алкилирующими соединениями, поскольку они не задерживаются ГЭБ [47]. Однако существуют противоположные данные о проницаемости ГЭБ. Нормализация целостности сосудистой сети опухоли, которая серьезно нарушена при глиобластоме, представляет собой одну терапевтическую стратегию для улучшения доставки лекарств [48]. Проникающие клетки глиобластомы вызывают физическое смещение астроцитов от эндотелиальных клеток и, таким образом, нарушают глиоваскулярное соединение ГЭБ [49]. Фактор роста эндотелия сосудов может также увеличивать доступ лекарств к глиобластоме через ГЭБ [50].

Инвазивные методы для увеличения доставки лекарств в мозг включают микродиализ мозга, внутримозговую имплантацию (carmustine wafer) и внутривенное введение препаратов [51–53]. Однако эти подходы могут вызвать повреждение окружающей здоровой ткани и серьезные побочные эффекты у пациентов.

Существуют различные неинвазивные подходы для улучшения доставки лекарств через ГЭБ и ограничения побочных эффектов. Ранее было опубликовано несколько данных об использовании пролекарств, методов на основе нанотехнологий [54, 55] и рецепторопосредованных транспортных методов, которые изменяют структуру или способ применения лекарств. Но наиболее интересным и наименее инвазивным подходом является прямая фармакологическая модуляция проницаемости ГЭБ посредством модуляторов ГЭБ (осмотические агенты, в частности ингибиторы оттока) [26].

ГЭБ имеет решающее значение для поддержания стабильной микросреды, но он также представляет собой серьезное препятствие для доставки противоопухолевых агентов в мозг. Проникновение через ГЭБ химиотерапевтических препаратов и антител в настоящее время остается основным ограничением при лечении глиобластом [56].

Лимфатическая система ЦНС

Представление о том, что ЦНС является иммунно-привилегированной системой, сегодня устарело [57]. Р.В. Medawar в 1948 г. было продемонстрировано, что приживление чужеродных клеток в мозг грызунов предотвращалось вакцинацией животных против тех же чужеродных клеток перед имплантацией [58].

Более того, было описано, что лимфатический отток проходит параллельно дуральным венозным синусам и что антигенпрезентирующие клетки могут перемещаться в глубокие шейные лимфатические узлы. Активированные Т-клетки могут быть примированы против опухолеспецифических антигенов и пересекают ГЭБ через маркеры адгезии (VLA-4), позволяя им проникать в опухоль [59].

Дендритные клетки также могут проходить вдоль глубоких шейных лимфатических узлов и представлять антиген, способствуя адаптивному противоопухолевому иммунному ответу [60].

Согласно этим концепциям, иммунотерапия может иметь преимущество перед другими методами, эффективность которых ограничена вследствие затрудненного проникновения препаратов через ГЭБ.

Заключение

По нашему мнению, глиобластома представляет собой сложную генетически гетерогенную среду, что может предопределить и объяснить негативный прогноз и неизбежный рецидив опухоли. Детальное изучение динамики прогрессирования опухоли сможет

дать представление о взаимосвязанных молекулярно-генетических механизмах, лежащих в основе рецидива глиобластомы.

Концепция таргетной терапии, основанная на молекулярной стратификации глиобластом, привлекательна и научно обоснована. Вместе с тем таргетная монотерапия глиобластомы способствует развитию лекарственной устойчивости путем селекции опухолевых клонов и, как следствие, развитию рецидива.

Будущая иммунотерапия глиобластом представляется наиболее обнадеживающим методом комбинированной терапии, управляемой биомаркерами, для соответствующей когорты пациентов. Текущие клинические испытания оценивают использование ингибиторов контрольных точек иммунитета в сочетании с новыми методами лечения, включая вакцинотерапию, CAR-T-клеточную и вирусную терапию, и, по нашему мнению, они являются наиболее перспективными.

Феномен резистентности глиобластом к стандартным методам лечения связан с их биологической сложностью и различными клеточными и молекулярными механизмами, активируемыми во время онкогенеза и прогрессирования болезни.

Более глубокое изучение механизмов лекарственной устойчивости, обретения резистентности, биологии клональных и субклональных популяций глиобластомы и ее микроокружения при активном изучении комбинированных подходов к лечению опухоли позволит увеличить выживаемость пациентов и, возможно, привести к стойкой ремиссии заболевания.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Яковленко Ю.Г. Глиобластомы: современное состояние проблемы. Медицинский вестник Юга России 2019;10(4):28–35. [Yakovenko Yu.G. Glioblastoma: current state of the problem. Meditsinsky vestnik Yuga Rossii = Medical Bulletin of the South of Russia 2019;10(4):28–35. DOI: 10.21886/2219-8075-2019-10-4-28-35. (In Russ.)].
2. Shergalis A., Bankhead A. 3rd, Luesakul U. et al. Current Challenges and Opportunities in Treating Glioblastomas. Pharmacol Rev 2018;70(3):412–45. DOI: 10.1124/pr.117.014944.
3. Ostrom Q.T., Gittleman H., Xu J. et al. CBTRUS Statistical report: primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2009–2013. Neurooncol 2016;18(5):v1–75. DOI: 10.1093/neuonc/now207.
4. Stupp R., Mason W.P., van den Bent M.J. et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. N Engl J Med 2005;352(10):987–96. DOI: 10.1056/NEJMoa043330.
5. Chinot O.L., Wick W., Mason W. et al. Bevacizumab plus radiotherapy-temozolomide for newly diagnosed glioblastoma. N Engl J Med 2014;370(8):709–22. DOI: 10.1056/NEJMoa1308345.
6. Tosoni A., Franceschi E., Poggi R., Brandes A.A. Relapsed glioblastoma: treatment strategies for initial and subsequent recurrences. Curr Treat Options Oncol 2016;17(9):49. DOI: 10.1007/s11864-016-0422-4.
7. Gorlia T., Stupp R., Brandes A.A. et al. New prognostic factors and calculators for outcome prediction in patients with recurrent glioblastoma: a pooled analysis of EORTC Brain Tumour Group Phase I and II clinical trials. Eur J Cancer 2012;48(8):1176–84. DOI: 10.1016/j.ejca.2012.02.004.
8. Stupp R., Taillibert S., Kanner A. et al. Effect of tumor-treating fields plus maintenance temozolomide vs maintenance temozolomide alone on survival in patients with glioblastoma: a randomized clinical trial. JAMA 2017;318(23):2306–16. DOI: 10.1001/jama.2017.18718.
9. McLendon R., Friedman A., Bigner D. et al. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. Nature 2008;455(7216):1061–8. DOI: 10.1038/nature07385.
10. Verhaak R.G.W., Hoadley K.A., Purdom E. et al. Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1. Cancer Cell 2010;17(1):98–110. DOI: 10.1016/j.ccr.2009.12.020.
11. Patel A.P., Tirosh I., Trombetta J.J. et al. Single-cell RNA-seq highlights intratumoral heterogeneity in primary glioblastoma. Science 2014;344(6190):1396–1401. DOI: 10.1126/science.1254257.

12. Korshunov A., Golanov A., Sycheva R. Immunohistochemical markers for prognosis of cerebral glioblastomas. *J Neurooncol* 2002;58(3):217–36. DOI: 10.1023/a:1016218117251.
13. Scorsetti M., Navarria P., Pessina F., Ascolese A.M. Multimodality therapy approaches, local and systemic treatment, compared with chemotherapy alone in recurrent glioblastoma. *BMC Cancer* 2015;15:486. DOI: 10.1186/s12885-015-1488-2.
14. Wei W., Shin Y.S., Xue M. et al. Single-cell phosphoproteomics resolves adaptive signaling dynamics and informs targeted combination therapy in glioblastoma. *Cancer Cell* 2016;29(4):563–73. DOI: 10.1016/j.ccell.2016.03.012.
15. Qazi M.A., Vora P., Venugopal C. et al. Intratumoral heterogeneity: pathways to treatment resistance and relapse in human glioblastoma. *Ann Oncol* 2017;28(7):1448–56. DOI: 10.1093/annonc/mdx169.
16. Ставровская А.А., Шушанов С.С., Рыбалкина Е.Ю. Проблемы устойчивости глиобластом к лекарственной терапии. Обзор. *Биохимия* 2016;81(2):179–90. [Stavrovskaya A.A., Rusanov S.S., Rybalkina E.Yu. Problems of glioblastoma resistance to drug therapy. Review. *Biokhimiya = Biochemistry* 2016;81(2):179–90. (In Russ.)].
17. Воронина Е.И., Агеева Т.А., Рыжова М.В. Особенности микроокружения и возможности иммунотерапии злокачественных глиальных опухолей. Клиническая и экспериментальная морфология 2020;9(2):5–10. [Voroni-na E.I., Ageeva T.A., Ryzhova M.V. Features of the microenvironment and possibilities of immunotherapy of malignant glial tumors. *Klinicheskaya i eksperimentalnaya morfologiya = Clinical and Experimental Morphology* 2020;9(2):5–10. DOI: 10.31088/CEM2020.9.2.5-10. (In Russ.)].
18. Broekman M.L., Maas S.L.N., Abels E.R. et al. Multidimensional communication in the microenviroms of glioblastoma. *Nat Rev Neurol* 2018;14(8):482–95. DOI: 10.1038/s41582-018-0025-8.
19. Jhaveri N., Chen T.C., Hofman F.M. Tumor vasculature and glioma stem cells: contributions to glioma progression. *Cancer Lett* 2016;380(2):545–51. DOI: 10.1016/j.canlet.2014.12.028.
20. See A.P., Parker J.J., Waziri A. The role of regulatory T cells and microglia in glioblastoma associated immunosuppression. *J Neurooncol* 2015;123(3):405–12. DOI: 10.1007/s11060-015-1849-3.
21. Roesch S., Rapp C., Dettling S., Herold-Mende C. When immune cells turn bad-tumor-associated microglia/macrophages in glioma. *Int J Mol Sci* 2018;19(2):E436. DOI: 10.3390/ijms19020436.
22. Okolie O., Bago J.R., Schmid R.S. et al. Reactive astrocytes potentiate tumor aggressiveness in a murine glioma resection and recurrence model. *Neuro Oncol* 2016;18(12):1622–33. DOI: 10.1093/neuonc/now117.
23. Pencheva N., de Gooijer M.C., Vis D.J. et al. Identification of a druggable pathway controlling glioblastoma invasiveness. *Cell Rep* 2017;20(1):48–60. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.06.036.
24. Seano G. Targeting the perivascular niche in brain tumors. *Curr Opin Oncol* 2018;30(1):54–60. DOI: 10.1097/CCO.0000000000000417.
25. De Vleeschouwer S., Bergers G. Glioblastoma to target the tumor cell or the microenvironment? In: De Vleeschouwer S., editor. *Glioblastoma*. Codon Publications, Brisbane, Australia, 2017. Chapter 16. Pp. 315–40. DOI: 10.15586/codon.glioblastoma.2017.ch16.
26. Da Ros M., De Gregorio V., Iorio A.L. et al. Glioblastoma chemoresistance: the double play by microenvironment and blood-brain barrier. *Int J Mol Sci* 2018;19(10):2879. DOI: 10.3390/ijms19102879.
27. Lathia J.D., Mack S.C., Mulkearns-Hubert E.E. et al. Cancer stem cells in glioblastoma. *Genes Dev* 2015;29(12):1203–17. DOI: 10.1101/gad.261982.115.
28. Hadjipanayis C.G., Van Meir E.G. Tumor initiating cells in malignant gliomas: biology and implications for therapy. *J Mol Med (Berl)* 2009;87(4):363–74. DOI: 10.1007/s00109-009-0440-9.
29. Osuka S., Van Meir E.G. Overcoming therapeutic resistance in glioblastoma: the way forward. *J Clin Invest* 2017;127(2):415–26. DOI: 10.1172/JCI89587.
30. Sabit H., Nakada M., Furuta T. et al. Characterizing invading glioma cells based on IDH1-R132H and Ki-67 immunofluorescence. *Brain Tumor Pathol* 2014;31(4):242–46. DOI: 10.1007/s10014-013-0172-y.
31. Scherer H.J. Structural development in gliomas. *Am J Cancer* 1938;34(3):333–51.
32. Munthe S., Petterson S.A., Dahlrot R.H. et al. Glioma Cells in the Tumor Periphery Have a Stem Cell Phenotype. *PLoS One* 2016;11(5). DOI: 10.1371/journal.pone.0155106.
33. Ziegler D.S., Kung A.L., Kieran M.W. Anti-apoptosis mechanisms in malignant gliomas. *J Clin Oncol* 2008;26(3):493–500. DOI: 10.1200/JCO.2007.13.9717.
34. Ceccarelli M., Barthel F.P., Malta T.M. et al. Molecular profiling reveals biologically discrete subsets and pathways of progression in diffuse glioma. *Cell* 2016;164(3):550–63. DOI: 10.1016/j.cell.2015.12.028.
35. Suvà M.L., Rheinbay E., Gillespie S.M. et al. Reconstructing and reprogramming the tumor-propagating potential of glioblastoma stem-like cells. *Cell* 2014;157(3):580–94. DOI: 10.1016/j.cell.2014.02.030.
36. Mao P., Joshi K., Li J. et al. Mesenchymal glioma stem cells are maintained by activated glycolytic metabolism involving aldehyde dehydrogenase 1A3. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110(21):8644–49. DOI: 10.1073/pnas.1221478110.
37. Kathagen A., Schulte A., Balcke G. et al. Hypoxia and oxygenation induce a metabolic switch between pentose phosphate pathway and glycolysis in glioma stem-like cells. *Acta Neuropathol* 2013;126(5):763–80. DOI: 10.1007/s00401-013-1173-y.
38. Vlashi E., Lagadee C., Vergnes L. et al. Metabolic state of glioma stem cells and nontumorigenic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108(38):16062–7. DOI: 10.1073/pnas.1106704108.
39. Kim H., Siyuan Zheng S., Amini S.S. et al. Whole-genome and multisector exome sequencing of primary and post-treatment glioblastoma reveals patterns of tumor evolution. *Genome Res* 2015;25(3):316–27. DOI: 10.1101/gr.180612.114.
40. Wang J., Cazzato E., Ladewig E. et al. Clonal evolution of glioblastoma under therapy. *Nat Genet* 2016;48(7):768–76. DOI: 10.1038/ng.3590.
41. Bouffet E., Larouche V., Campbell B.B. et al. Immune checkpoint inhibition for hypermutant glioblastoma multiforme resulting from germline biallelic mismatch repair deficiency. *J Clin Oncol* 2016;34(19):2206–11. DOI: 10.1200/JCO.2016.66.6552.
42. Chiocca E.A., Blair D., Mufson R.A. Oncolytic viruses targeting tumor stem cells. *Cancer Res* 2014;74(13):3396–8. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0290.
43. Post D.E., Devi N.S., Li Z. et al. Cancer therapy with a replicating oncolytic adenovirus targeting the hypoxic microenvironment of tumors. *Clin Cancer Res* 2004;10(24):8603–12. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-04-1432.
44. Post D.E., Sandberg E.M., Kyle M.M. et al. Targeted cancer gene therapy using a hypoxia inducible factor dependent oncolytic adenovirus armed with interleukin-4. *Cancer Res* 2007;67(14):6872–81. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3244.
45. Hitchcock S.A. Blood-brain barrier permeability considerations for CNS-targeted compound library design. *Curr Opin Chem Biol* 2008;12(3):318–23. DOI: 10.1016/j.cbpa.2008.03.019.
46. Pardridge W.M. Blood-brain barrier delivery. *Drug Discov Today* 2007;12(1–2):54–61. DOI: 10.1016/j.drudis.2006.10.013.
47. Weiss N., Miller F., Cazaubon S., Couraud P.O. The blood-brain barrier in brain homeostasis and neurological diseases. *Biochim Biophys Acta* 2009;1788(4):842–57. DOI: 10.1016/j.bbamem.2008.10.022.
48. Chen L., Li X., Liu L. et al. Erastin sensitizes glioblastoma cells to temozolomide by restraining xCT and cystathionine-γ-lyase function. *Oncol Rep*

- 2015;33(3):1465–74.
DOI: 10.3892/or.2015.3712.
49. Watkins S., Robel S., Kimbrough I.F. et al. Disruption of astrocyte-vascular coupling and the blood-brain barrier by invading glioma cells. *Nat Commun* 2014;5:4196. DOI: 10.1038/ncomms5196.
 50. Wen L., Tan Y., Dai S. et al. VEGF-mediated tight junctions pathological fenestration enhances doxorubicin-loaded glycolipid-like nanoparticles traversing BBB for glioblastoma-targeting therapy. *Drug Deliv* 2017;24(1):1843–55. DOI: 10.1080/10717544.2017.1386731.
 51. Shannon R.J., Carpenter K.L., Guilfoyle M.R. et al. Cerebral microdialysis in clinical studies of drugs: Pharmacokinetic applications. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2013;40(3):343–58. DOI: 10.1007/s10928-013-9306-4.
 52. Liu S.J., Yang T.C., Yang S.T. et al. Biodegradable hybrid-structured nanofibrous membrane supported chemoprotective gene therapy enhances chemotherapy tolerance and efficacy in malignant glioma rats. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 2018;46(sup2):515–26. DOI: 10.1080/21691401.2018.1460374.
 53. Pompe R.S., von Bueren A.O., Mynarek M. et al. Intraventricular methotrexate as part of primary therapy for children with infant and/or metastatic medulloblastoma: Feasibility, acute toxicity and evidence for efficacy. *Eur J Cancer* 2015;51(17):2634–42. DOI: 10.1016/j.ejca.2015.08.009.
 54. Thomas E., Colombeau L., Gries M. et al. Ultrasmall AGuIX theranostic nanoparticles for vascular-targeted interstitial photodynamic therapy of glioblastoma. *Int J Nanomedicine* 2017;12:7075–88. DOI: 10.2147/IJN.S141559.
 55. Nafee N., Gouda N. Nucleic Acids-based Nanotherapeutics crossing the blood brain barrier. *Curr. Gene Ther* 2017;17(2):154–69. DOI: 10.2174/1566523217666170510155803.
 56. Miller J.J., Wen P.Y. Emerging targeted therapies for glioma. *Expert Opin Emerg*
 - Drugs 2016;21(4):441–52. DOI: 10.1080/14728214.2016.1257609.
 57. Sampson J.H., Heimberger A.B., Archer G.E. et al. Immunologic escape after prolonged progression-free survival with epidermal growth factor receptor variant III peptide vaccination in patients with newly diagnosed glioblastoma. *J Clin Oncol* 2010;28(31):4722–29. DOI: 10.1200/JCO.2010.28.6963.
 58. Medawar P.B. Immunity to homologous grafted skin; the fate of skin homografts transplanted to the brain, to subcutaneous tissue, and to the anterior chamber of the eye. *Br J Exp Pathol* 1948;29(1):58–69.
 59. Louveau A., Smirnov I., Keyes T.J. et al. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature* 2015;523(7560):337–41. DOI: 10.1038/nature14432.
 60. Greter M., Heppner F.L., Lemos M.P. et al. Dendritic cells permit immune invasion of the CNS in an animal model of multiple sclerosis. *Nat Med* 2005; 11(3):328–34. DOI: 10.1038/nm1197.

Вклад авторов

А.А. Митрофанов, Д.Р. Насхлеташвили, В.А. Алешин: концепция и дизайн исследования, написание текста статьи;
А.А. Митрофанов: сбор и обработка материала, статистическая обработка;
Д.М. Белов, А.Х. Бекашев, В.Б. Карахан, Н.В. Севян, Е.В. Прозоренко, К.Е. Рошина: редактирование текста статьи.

Authors' contributions

A.A. Mitrofanov, D.R. Naskhletashvili, V.A. Aleshin: the concept and design of the study, writing the text of the article;
A.A. Mitrofanov: collection and processing of material, statistical processing;
D.M. Belov, A.Kh. Bekyashev, V.B. Karakhan, N.V. Sevyan, E.V. Prozorenko, K.E. Roshchina: editing the text of the article.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.А. Митрофанов / A.A. Mitrofanov: <https://orcid.org/0000-0002-4125-7342>
Д.Р. Насхлеташвили / D.R. Naskhletashvili: <https://orcid.org/0000-0002-4218-9652>
В.А. Алешин / V.A. Aleshin: <https://orcid.org/0000-0003-1850-5595>
Д.М. Белов / D.M. Belov: <https://orcid.org/0000-0003-1766-0032>
А.Х. Бекашев / A.Kh. Bekyashev: <https://orcid.org/0000-0002-4160-9598>
В.Б. Карахан / V.B. Karakhan: <https://orcid.org/0000-0001-6325-716X>
Н.В. Севян / N.V. Sevyan: <https://orcid.org/0000-0001-5841-7480>
Е.В. Прозоренко / E.V. Prozorenko: <https://orcid.org/0000-0001-8880-1758>
К.Е. Рошина / K.E. Roshchina: <https://orcid.org/0000-0002-6792-967X>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflicts of interest.

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Financing. The work was performed without external funding.

Статья поступила: 18.01.2021. Принята к публикации: 15.05.2021.

Article submitted: 18.01.2021. Accepted for publication: 15.05.2021.