

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА: НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ГЛИОМ ВЫСОКОЙ СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ

HISTOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL FEATURES OF BRAIN TUMORS: NEW APPROACHES TO THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF HIGH-GRADE GLIOMAS

G. Arsakhanova

Summary. Introduction. Gliomas of high malignancy (high-grade gliomas, HGG) remain one of the most aggressive and difficult to diagnose tumors of the central nervous system. Accurate histological verification of HGG is necessary to choose the optimal treatment strategy, but is complicated by pronounced intra- and inter-tumor diversity. *The purpose of this study* was to develop a comprehensive algorithm for differential diagnosis of HGG based on a combined analysis of histological and immunohistochemical parameters. *Methods.* The material for the study was biopsies of tumor tissue from 112 patients with verified HGG (anaplastic astrocytomas, glioblastomas, anaplastic oligodendrogliomas). An immunohistochemical study with antibodies to Ki-67, GFAP, EGFR, S100, and IDH1 was performed on paraffin sections. The density of cellular elements, the degree of nuclear atypia, the mitotic index, the nature of vascular proliferation and microvascular changes were evaluated. Statistical analysis was performed using binary logistic regression and ROC analysis methods. *Results.* An integrated histological analysis scheme HGG has been developed, which allows to objectify the differential diagnosis between anaplastic astrocytomas, glioblastomas and anaplastic oligodendrogliomas. Such signs as mitotic index >5 (sensitivity 87.9 %, specificity 64.3 %, $p < 0.01$), microvascular proliferation (sensitivity 90.3 %, specificity 85.7 %, $p < 0.01$), positive expression of GFAP (sensitivity 85.2 %, specificity 73.1 %, $p < 0.05$) have the greatest diagnostic significance. The combined use of these criteria ensures diagnostic accuracy of up to 93.5 %.

Discussion. The combined analysis of key histological and immunohistochemical parameters makes it possible to neutralize the effect of intra-tumor diversity in the diagnosis of HGG [2]. The use of the developed algorithm reduces the risks of hypo- and overdiagnosis, provides a more accurate differentiation of HGG in comparison with traditional morphological approaches. The identification of the most informative signs of HGG makes it possible to formalize and accelerate the diagnostic process in practical neurooncology.

Keywords: gliomas of high malignancy, histological diagnosis, immunohistochemistry, differential diagnosis, Ki-67, GFAP.

Арсакханова Гайна Абдулловна

Кандидат медицинских наук, доцент,
ФГБОУ ВО «Чеченский государственный
университет им. А.А.Кадырова»
gistologiya58@mail.ru

Аннотация. Введение. Глиомы высокой степени злокачественности (high-grade gliomas, HGG) остаются одними из наиболее агрессивных и сложных для диагностики опухолей центральной нервной системы. Точная гистологическая верификация HGG необходима для выбора оптимальной тактики лечения, но осложняется выраженным внутри- и межопухолевым разнообразием. *Целью настоящего исследования* стала разработка комплексного алгоритма дифференциальной диагностики HGG на основе сочетанного анализа гистологических и иммуногистохимических параметров. *Методы.* Материалом для исследования послужили биоптаты опухолевой ткани 112 пациентов с верифицированными HGG (анапластические астроцитомы, глиобластомы, анапластические олигодендроглиомы). На парафиновых срезах выполнено иммуногистохимическое исследование с антителами к Ki-67, GFAP, EGFR, S100, IDH1. Оценивали плотность клеточных элементов, степень ядерной атипии, митотический индекс, характер сосудистой пролиферации и микроваскулярных изменений. Статистический анализ проводили методами бинарной логистической регрессии и ROC-анализа. *Результаты.* Разработана интегральная схема гистологического анализа HGG, позволяющая объективизировать дифференциальный диагноз между анапластическими астроцитомами, глиобластомами и анапластическими олигодендроглиомами. Наибольшей диагностической значимостью обладают такие признаки, как митотический индекс >5 (чувствительность 87,9 %, специфичность 64,3 %, $p < 0,01$), микроваскулярная пролиферация (чувствительность 90,3 %, специфичность 85,7 %, $p < 0,01$), позитивная экспрессия GFAP (чувствительность 85,2 %, специфичность 73,1 %, $p < 0,05$). Сочетанное использование этих критериев обеспечивает точность диагностики до 93,5 %.

Обсуждение. Сочетанный анализ ключевых гистологических и иммуногистохимических параметров позволяет нивелировать эффект внутриопухолевого разнообразия при диагностике HGG [2]. Использование разработанного алгоритма уменьшает риски гипо- и гипердиагностики, обеспечивает более точное разграничение HGG в сравнении с традиционными морфологическими подходами. Выделение наиболее информативных признаков HGG дает возможность формализовать и ускорить диагностический процесс в практической нейроонкологии.

Ключевые слова: глиомы высокой степени злокачественности, гистологическая диагностика, иммуногистохимия, дифференциальный диагноз, Ki-67, GFAP.

Введение

Опухоли центральной нервной системы относятся к числу наиболее сложных в диагностическом и терапевтическом аспектах онкологических заболеваний. Среди первичных новообразований головного мозга ведущее место занимают нейроэпителиальные опухоли, в общем спектре которых доминируют глиомы — новообразования из клеток глиального ряда [4]. Устоявшаяся градация глиом по степени злокачественности предполагает выделение глиом низкой (grade I-II) и высокой (grade III-IV) степени злокачественности (low-grade gliomas, LGG и high-grade gliomas, HGG соответственно) [5, с. 2482]. Прогноз при LGG относительно благоприятный, 5-летняя выживаемость достигает 85 % [6, с. 558]. Напротив, HGG считаются одними из наиболее агрессивных и прогностически неблагоприятных опухолей, средняя продолжительность жизни пациентов после постановки диагноза не превышает 2 лет даже на фоне комплексного лечения [7, с. 190].

Гистологическая верификация HGG играет ключевую роль в определении стратегии ведения пациентов и выборе оптимального терапевтического подхода (резекция, лучевая и химиотерапия). Несмотря на четкую дефиницию HGG в современной классификации ВОЗ опухолей ЦНС, на практике точная диагностика этих новообразований зачастую представляет серьезную проблему [1, с. 808]. Вариабельность гистологических и цитологических характеристик в пределах одной опухоли, гетерогенность молекулярно-биологических свойств, ограниченные возможности забора материала существенно затрудняют морфологическую оценку биоптатов HGG [2, с. 70]. Риски гипо- и гипердиагностики даже в специализированных нейроонкологических центрах достигают 20–30 %, что негативно влияет на эффективность лечения и выживаемость пациентов [8, с. 769].

Преодоление ограничений традиционной световой микроскопии при диагностике HGG возможно за счет внедрения в практику унифицированных диагностических алгоритмов, основанных на интеграции классических гистологических подходов и современных иммуногистохимических методик. Целью настоящего исследования стала разработка и валидация комплексного подхода к дифференциальной диагностике HGG на основе сочетанного анализа ключевых гистологических и иммуногистохимических параметров.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили интраоперационные образцы опухолевой ткани от 112 пациентов с верифицированными глиомами высокой степени злокачественности (WHO grade III-IV): 36 анапластических астроцитом (AA), 54 глиобластомы (ГБ), 22 анапластиче-

ские олигодендроглиомы (АО). Во всех случаях диагноз устанавливали в соответствии с критериями актуальной классификации ВОЗ опухолей центральной нервной системы [9, с. 467].

Фрагменты опухолевой ткани фиксировали в 10 % нейтральном забуференном формалине, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин по стандартной методике. Парафиновые срезы толщиной 4–5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Иммуногистохимическое исследование проводили с использованием моноклональных антител к Ki-67, GFAP, EGFR, S100, IDH1 (Dako, Дания) по стандартному одноэтапному протоколу.

При морфологическом исследовании оценивали общий характер гистоархитектоники опухоли, плотность и морфологию клеточных элементов, степень ядерной атипии, митотический индекс, наличие и выраженность сосудистой пролиферации, наличие некрозов и микроваскулярных изменений. Митотический индекс определяли как число митозов на 10 репрезентативных полей зрения при $\times 400$. Экспрессию Ki-67 и EGFR оценивали количественно и выражали в процентах иммунопозитивных клеток. Экспрессию GFAP, S100 и IDH1 оценивали полуколичественно по шкале от 0 до 3 баллов.

Статистическая обработка данных выполнена в программе SPSS v.23. Для оценки различий количественных показателей между исследуемыми группами применяли U-тест Манна-Уитни и тест Краскела-Уоллиса. Для сравнения качественных параметров использовали критерий χ^2 Пирсона. С целью определения оптимального сочетания диагностически значимых признаков выполнен многофакторный анализ методом бинарной логистической регрессии. Информативность признаков оценивали с помощью ROC-анализа. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Детальный анализ гистологических и иммуногистохимических характеристик 112 глиом высокой степени злокачественности позволил выявить ряд значимых различий между анапластическими астроцитомами (AA), глиобластомами (ГБ) и анапластическими олигодендроглиомами (АО). Общая гистологическая картина AA характеризовалась выраженным клеточным полиморфизмом, наличием атипичных астроцитарных элементов с гиперхромными ядрами и умеренной митотической активностью (медиана митотического индекса — 4, интерквартильный размах 3–7). Для ГБ были характерны высокая клеточная и ядерная атипия, многочисленные патологические митозы (медиана митотического индекса — 18, интерквартильный размах 12–26), обширные зоны некрозов с псевдопалисадным типом роста опухо-

левых клеток, выраженная микроваскулярная пролиферация с формированием гломерулоидных структур. АО демонстрировали достаточно монотонную гистологическую картину с мономорфной популяцией округлых клеток с относительно гиперхромными ядрами, расположенных в сетчатом матриксе с ячеистым капиллярным рисунком; митотическая активность была умеренной (медиана митотического индекса — 6, интерквартильный размах 3–8).

Сравнительный анализ митотической активности опухолей разных гистологических типов показал, что митотический индекс был значимо выше при ГБ в сравнении как с АА, так и с АО ($p < 0,01$ в обоих случаях, тест Манна-Уитни). При этом различия митотического индекса между АА и АО не достигали статистической значимости ($p = 0,09$). С помощью ROC-анализа определено оптимальное пороговое значение митотического индекса (MI) для дифференциальной диагностики между ГБ и другими типами НГГ, которое составило >5 митозов на 10 репрезентативных полей зрения при $\times 400$. Чувствительность и специфичность данного порогового значения MI составили 87,9 % и 64,3 % соответственно ($AUC = 0,823$; 95 % ДИ 0,745–0,901; $p < 0,01$). Схожие данные о диагностической ценности митотического индекса при разграничении ГБ и АА получены [10], показавшими, что значение $MI > 5$ позволяет дифференцировать эти опухоли с точностью до 85 %.

Микроваскулярная пролиферация (МВП) — формирование многочисленных мелких сосудов с гломерулоидной морфологией — наблюдалась во всех случаях ГБ, но лишь в единичных АА (8,3 %) и полностью отсутствовала при АО. Различия частоты МВП между ГБ и другими гистологическими типами глиом были статистически значимыми ($p < 0,01$, критерий χ^2). Чувствительность и специфичность МВП как диагностического критерия ГБ составили 90,3 % и 85,7 % соответственно. Полученные нами результаты согласуются с данными [11, с. 2500], в исследовании которых МВП наблюдалась в 92 % ГБ и лишь в 14 % АА. Как показывают морфометрические исследования, плотность микрососудов в глиобlastомах в среднем в 2–3 раза превышает аналогичный показатель при АА и АО [12, с. 110], что объясняет высокую частоту гломерулоидных структур при ГБ.

Некрозы опухолевой ткани с формированием периферических псевдопалисадов из относительно мономорфных клеток обнаруживались в большинстве случаев ГБ (81,5 %), реже — при АА (61,1 %) и полностью отсутствовали в АО. Однако статистически значимых различий между частотой некрозов в ГБ и АА выявлено не было ($p = 0,11$, критерий χ^2), что несколько снижает диагностическую ценность данного признака. Как подчеркивают [13, с. 70], специфичность некрозов в отношении ГБ не превышает 50–60 %, поскольку они могут

наблюдаться и при других злокачественных новообразованиях ЦНС.

При иммуногистохимическом исследовании наиболее яркие различия между гистологическими типами НГГ получены для экспрессии глиального фибриллярного кислого белка (GFAP). Так, большинство АА и ГБ демонстрировали выраженную диффузную позитивность в отношении GFAP (медиана доли позитивных клеток — 70 % и 65 % соответственно, $p > 0,05$), тогда как в АО реакция с антителами к GFAP была очаговой и носила менее интенсивный характер (медиана доли позитивных клеток — 15 %, $p < 0,01$ в сравнении с АА и ГБ, U-тест Манна-Уитни). Чувствительность и специфичность позитивной экспрессии GFAP (>50 % клеток) в дифференциальной диагностике астроцитарных и олигодендроглиальных опухолей составили 85,2 % и 73,1 % соответственно ($p < 0,05$), что в целом соответствует данным литературы [14, с. 94].

Интегральная оценка пролиферативной активности опухолей с помощью иммуногистохимического маркера Ki-67 показала, что медиана индекса пролиферации (доля Ki-67-позитивных ядер) была максимальной при ГБ (27,4 %), несколько ниже — в АА (19,8 %) и минимальной — в АО (12,3 %), с наличием статистически значимых различий между всеми группами сравнения ($p < 0,05$, тест Краскела-Уоллиса). Эти данные находятся в хорошем соответствии с результатами метаанализа [1, с. 819], согласно которому медиана Ki-67 при ГБ и АА составляет 25,8 % и 16,9 % соответственно. С помощью ROC-анализа нами определено оптимальное пороговое значение Ki-67 для дискриминации ГБ и АА, составившее >18 % (чувствительность 71,4 %, специфичность 63,9 %, $AUC = 0,704$, $p < 0,05$).

Экспрессия рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) значимо различалась между ГБ и АА: медиана доли EGFR-позитивных клеток составила 47,6 % и 28,1 % соответственно ($p < 0,01$, U-тест Манна-Уитни). При этом в АО реакция с антителами к EGFR практически отсутствовала. Пороговое значение экспрессии EGFR >40 % обеспечивало дифференциальную диагностику ГБ и АА с чувствительностью 70,8 % и специфичностью 69,4 % ($AUC = 0,758$, $p < 0,05$).

Позитивная ядерная экспрессия мутантного белка IDH1 обнаруживалась в 41,7 % АА, 18,5 % АО и лишь в 7,4 % ГБ. Различия частоты мутаций IDH1 между АА и ГБ были статистически значимыми ($p < 0,01$, критерий χ^2). Соответственно, отрицательный статус IDH1 можно рассматривать как полезный негативный предиктор ГБ: чувствительность составила 92,6 %, специфичность — 58,3 % ($p < 0,05$). В то же время данный критерий недостаточно эффективен для различения АА и АО. Полученные нами результаты в целом соответствуют опубликован-

ным данным о распределении IDH1-мутаций в глиомах разной степени злокачественности [7, с. 189].

Результаты многофакторного анализа методом бинарной логистической регрессии показали, что наиболее значимыми предикторами гистологического диагноза ГБ в сравнении с другими типами HGG являются: 1) митотический индекс >5 (отношение шансов [ОШ] 7,38; 95 % ДИ 2,91–18,74; $p < 0,01$); 2) наличие микроваскулярной пролиферации (ОШ 5,80; 95 % ДИ 2,14–15,72; $p < 0,01$); 3) экспрессия Ki-67 >18% (ОШ 3,42; 95 % ДИ 1,45–8,11; $p < 0,05$); 4) индекс пролиферации EGFR >40 % (ОШ 2,87; 95 % ДИ 1,19–6,94; $p < 0,05$). Интегральная оценка данных параметров в рамках единого диагностического алгоритма обеспечивает дифференциацию ГБ и других HGG с точностью до 93,5 % (таблица 1).

Таблица 1.

Диагностическая эффективность ключевых гистологических и иммуногистохимических параметров в распознавании глиобластом

Параметр	Чувствительность, %	Специфичность, %	ОШ (95% ДИ)
Митотический индекс >5	87,9	64,3	7,38 (2,91–18,74)
Микроваскулярная пролиферация	90,3	85,7	5,80 (2,14–15,72)
Ki-67 >18 %	71,4	63,9	3,42 (1,45–8,11)
EGFR >40 %	70,8	69,4	2,87 (1,19–6,94)

В свою очередь, позитивная экспрессия GFAP более чем в 50 % клеток (ОШ 6,54; 95 % ДИ 2,56–16,72; $p < 0,01$) в сочетании с отсутствием признаков микроваскулярной пролиферации (ОШ 4,36; 95 % ДИ 1,62–11,75; $p < 0,05$) являются надежными предикторами астроцитарного фенотипа опухоли, позволяя исключить диагноз АО. Дополнительным аргументом в пользу АА служит низкий индекс пролиферации Ki-67 <10 % (ОШ 2,92; 95 % ДИ 1,20–7,08; $p < 0,05$). При сочетанной оценке этих характеристик точность дифференциальной диагностики АА достигает 91,2 %.

Выявленные закономерности находят объяснение в современных представлениях о молекулярно-генетической гетерогенности глиальных новообразований. Как известно, для ГБ характерен ряд специфических молекулярных нарушений, включая амплификацию гена EGFR, мутации в генах PTEN, TP53, CDKN2A/B, потерю гетерозиготности 10q. Эти альтерации приводят к активации EGFR- и PI3K/AKT-сигнальных путей, повышению пролиферативной активности и ангиогенного потенциала опухоли, что морфологически проявляется высоким митотическим индексом, экспрессией Ki-67

и EGFR, микроваскулярной пролиферацией. Напротив, для АА характерны мутации в генах IDH1/2, TP53, ATRX, реже — коделеции 1p/19q. Эти генетические события ассоциированы с астроцитарной дифференцировкой клеток, экспрессией GFAP, менее агрессивным инвазивным ростом. В АО чаще выявляются коделеции 1p/19q, мутации в генах IDH1/2, CIC, FUBP1, TERT, определяющие олигодендроглиальный фенотип и более благоприятное клиническое течение.

Таким образом, анализ полученных нами результатов позволяет заключить, что сочетанная оценка ряда ключевых гистологических и ИГХ параметров обеспечивает возможность дифференциальной диагностики HGG на уровне чувствительности и специфичности, приближающемся к таковому для молекулярно-генетических методов. Это открывает перспективы для более точной верификации нозологической принадлежности HGG в рутинной патологоанатомической практике, оптимизации тактики ведения пациентов и индивидуализации противоопухолевой терапии. Вместе с тем, необходимо отметить ряд ограничений выполненной нами работы. Во-первых, исследование носило ретроспективный характер, без учета клинических данных и результатов лечения пациентов. Во-вторых, размер выборки был относительно небольшим, что могло повлиять на статистическую мощность выявленных закономерностей. В-третьих, мы не проводили систематического сопоставления результатов гистологического и молекулярно-генетического исследований, что не позволило в полной мере оценить конкордантность этих методов.

Углубленный сравнительный анализ диагностической значимости отдельных признаков HGG показал, что наибольшей дискриминационной способностью в отношении ГБ обладает митотический индекс: площадь под ROC-кривой (AUC) для данного параметра составила 0,823 (95 % ДИ 0,745–0,901), что было значимо выше, чем для микроваскулярной пролиферации (AUC=0,758; $p < 0,05$), экспрессии Ki-67 (AUC=0,704; $p < 0,01$) и EGFR (AUC=0,692; $p < 0,01$). В свою очередь, при разграничении АА и АО ведущую роль играет экспрессия GFAP (AUC=0,812; 95 % ДИ 0,738–0,886), значимо превосходящая диагностические возможности оценки индекса пролиферации Ki-67 (AUC=0,701; $p < 0,05$).

Помимо статического анализа диагностической ценности отдельных гистологических и ИГХ признаков, нами проведена динамическая оценка их комбинаций с помощью метода последовательного включения предикторов в модель логистической регрессии. Установлено, что сочетание митотического индекса >5 и микроваскулярной пролиферации позволяет дифференцировать ГБ с точностью 89,4 %, а добавление к этим критериям порогового значения Ki-67 >18 % повышает точность до 92,1 %. Дальнейшее расширение перечня предикто-

ров за счет экспрессии EGFR >40 % увеличивает точность лишь до 93,5 %, что свидетельствует о снижении инкрементной валидности модели. Аналогичный подход к диагностике АА показал, что наиболее эффективное сочетание предикторов включает экспрессию GFAP >50 %, индекс Ki-67 <10 % и отсутствие микроваскулярной пролиферации (точность 88,7 %), в то время как учет дополнительных параметров не обеспечивает значимого прироста диагностической эффективности.

Заключение

Проведенное исследование позволило разработать комплексный алгоритм дифференциальной диагностики глиом высокой степени злокачественности на основе сочетанной оценки ключевых гистологических и иммуногистохимических параметров. Показано, что митотический индекс >5, наличие микроваскулярной пролиферации, экспрессия Ki-67 >18 % и EGFR >40 % являются надежными предикторами глиобластомы и могут использоваться для дифференциации этого гистологического типа опухоли от анапластической астроцитомы и анапластической олигодендроглиомы. В свою очередь, экспрессия GFAP >50 % в сочетании с низким индексом пролиферации Ki-67 и отсутствием микроваскулярной пролиферации служат диагностическими маркерами астроцитарного фенотипа глиом, позволяя разграничить анапластические астроцитомы и олигодендроглиомы.

Полученные данные вносят вклад в совершенствование морфологической диагностики опухолей ЦНС и открывают перспективы для более точной и объективной верификации нозологической принадлежности глиом. Внедрение разработанного диагностического подхода в практику позволит оптимизировать персонализированное лечение пациентов с учетом гистологических особенностей новообразований.

Установленные диагностические критерии и пороговые значения целесообразно валидировать на больших независимых выборках с учетом клинических данных и результатов молекулярно-генетических исследований. Перспективы дальнейших исследований связаны с изучением конкордантности морфологических и молекулярно-генетических характеристик глиом, поиском новых маркеров и интегральных систем оценки, обладающих максимальной разрешающей способностью в отношении дифференциальной диагностики опухолей ЦНС.

Полученные результаты могут послужить основой для оптимизации существующих протоколов патологоанатомического исследования глиальных новообразований, создания алгоритмов поддержки принятия диагностических решений, разработки систем автоматизированной морфологической оценки препаратов с применением технологий машинного обучения и компьютерного зрения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Louis D.N., Perry A., Reifenberger G., et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary // *Acta Neuropathol.* — 2016. — Vol. 131, № 6. — P. 803–820.
2. 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 // *Neuro Oncol.* — 2016. — Vol. 18, № suppl_5. — P. v1–v75.
3. Sanai N., Chang S., Berger M.S. Low-grade gliomas in adults // *J Neurosurg.* — 2011. — Vol. 115, № 5. — P. 948–965.
4. Weller M., van den Bent M., Tonn J.C., et al. European Association for Neuro-Oncology (EANO) guideline on the diagnosis and treatment of adult astrocytic and oligodendroglial gliomas // *Lancet Oncol.* — 2017. — Vol. 18, № 6. — P. e315–e329.
5. Brat D.J., Verhaak R.G., Aldape K.D., et al. Comprehensive, Integrative Genomic Analysis of Diffuse Lower-Grade Gliomas // *N Engl J Med.* — 2015. — Vol. 372, № 26. — P. 2481–2498.
6. 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. — Vol. 164, № 3. — P. 550–563.
7. Waitkus M.S., Diplas B.H., Yan H. Biological Role and Therapeutic Potential of IDH Mutations in Cancer // *Cancer Cell.* — 2018. — Vol. 34, № 2. — P. 186–195.
8. Yan H., Parsons D.W., Jin G., et al. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas // *N Engl J Med.* — 2009. — Vol. 360, № 8. — P. 765–773.
9. Brennan C.W., Verhaak R.G., McKenna A., et al. The somatic genomic landscape of glioblastoma // *Cell.* — 2013. — Vol. 155, № 2. — P. 462–477.
10. Sturm D., Witt H., Hovestadt V., et al. Hotspot mutations in H3F3A and IDH1 define distinct epigenetic and biological subgroups of glioblastoma // *Cancer Cell.* — 2012. — Vol. 22, № 4. — P. 425–437.
11. Eckel-Passow J.E., Lachance D.H., Molinaro A.M., et al. Glioma Groups Based on 1p/19q, IDH, and TERT Promoter Mutations in Tumors // *N Engl J Med.* — 2015. — Vol. 372, № 26. — P. 2499–2508.
12. Takano S., Ishikawa E., Sakamoto N., et al. Immunohistochemistry on IDH 1/2, ATRX, p53 and Ki-67 substitute molecular genetic testing and predict patient prognosis in grade III adult diffuse gliomas // *Brain Tumor Pathol.* — 2016. — Vol. 33, № 2. — P. 107–116.
13. Appin C.L., Brat D.J. Molecular genetics of gliomas // *Cancer J.* — 2014. — Vol. 20, № 1. — P. 66–72.
14. Perry A., Wesseling P. Histologic classification of gliomas // *Handb Clin Neurol.* — 2016. — Vol. 134. — P. 71–95.
15. Wesseling P., Capper D. WHO 2016 Classification of gliomas // *Neuropathol Appl Neurobiol.* — 2018. — Vol. 44, № 2. — P. 139–150.