

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Омельчук Е.П., Тимошкина Н.Н., Росторгуев Э.Е., Дженкова Е.А.

ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ БИОМАРКЕРЫ ГЛИОМ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава РФ, 344037, Ростов-на-Дону, Россия

Глиомы являются наиболее распространенными первичными опухолями центральной нервной системы, которые чрезвычайно агрессивны и имеют неутешительный прогноз. Инвазивная диагностика глиальных опухолей несет значительные риски для пациента и не всегда целесообразна, а магнитно-резонансная томография не дает возможности дифференциальной диагностики заболевания. В связи с этим активно развивается направление малоинвазивной диагностики глиом. Целью настоящего обзора стала систематизация имеющихся данных о циркулирующих биомаркерах глиом для потенциального клинического применения. Поиск литературы за последние 10 лет был проведен по ключевым словам «glioma liquid biomarkers» с использованием баз данных PubMed, Elsevier, Российской научной электронной библиотеки eLIBRARY и поисковой системы Google Scholar. Было выявлено более 5000 ссылок, после их проверки проанализировано 277 статей, из которых 62 источника были выбраны для написания настоящего обзора. Согласно литературным данным идентификация потенциальных циркулирующих биомаркеров глиом, включая опухолевые клетки, внеклеточные везикулы, протеины, а также ДНК и РНК, проводится в основном в крови и спинномозговой жидкости. Чувствительность и специфичность отдельных биомаркеров характеризуется высокой вариабельностью. Среди наиболее перспективных выделяют отдельные микро-РНК, экзосомы и внеклеточную ДНК. Проблема низких концентраций биомаркеров решается благодаря быстрому развитию методологической базы. Несомненным преимуществом жидкостной биопсии является возможность многократного отбора образцов, что позволяет осуществлять мониторинг заболевания. Тем не менее, на сегодняшний день ни один маркер глиом не внедрен в повседневную клиническую практику. Возможно, что панели нескольких типов биомаркеров станут в будущем стандартом диагностики и мониторинга глиом, поскольку биомаркеры, задействованные в различных молекулярных онко-ассоциированных путях, будут актуальны для большего количества пациентов, а также смогут суммарно повысить чувствительность и специфичность тестирования.

Ключевые слова: глиомы; циркулирующие маркеры; циркулирующие опухолевые клетки; внеклеточные везикулы; цДНК; цРНК, обзор

Для цитирования: Омельчук Е.П., Тимошкина Н.Н., Росторгуев Э.Е., Дженкова Е.А.

Циркулирующие биомаркеры глиом (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (8): 411-420. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-8-411-420>

Для корреспонденции: Омельчук Екатерина Петровна, мл. науч. сотр. лаб. молекулярной онкологии; e-mail: ekaterina.omelchuck@yandex.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации (тема № 123030200082-9).

Благодарности. Авторы выражают благодарность Гвалдину Дмитрию Юрьевичу за помощь в оформлении работы.

Поступила	31.05.2024
Принята к печати	18.06.2024
Опубликовано	01.08.2024

Omel'chuk E.P., Timoshkina N.N., Rostorguev E.E., Dzhenkova E.A.

CIRCULATING BIOMARKERS OF GLIOMAS (REVIEW OF LITERATURE)

National Medical Research Centre for Oncology, 344037, Rostov-on-Don, Russia

Gliomas are the most common primary tumors of the central nervous system, which are extremely aggressive and have a poor prognosis. Invasive diagnosis of glial tumors is not always advisable and carries significant risks for the patient, and magnetic resonance imaging does not allow differential diagnosis of the disease. Therefore, the direction of minimally invasive diagnosis of gliomas is actively developing. The purpose of this review was to systematize the available data on circulating glioma biomarkers for potential clinical application. A literature search over the last 10 years was carried out using the keywords "glioma liquid biomarkers" using the PubMed and Elsevier databases, the Russian Scientific Electronic Library eLIBRARY and the Google Scholar search engine. More than 5000 references were identified, and after verifying, 277 articles were analyzed, of which 62 sources were selected for this review. According to the literature, the identification of potential circulating glioma biomarkers, including tumor cells, extracellular vesicles, proteins, as well as DNA and RNA, is mainly performed in the blood and cerebrospinal fluid. The sensitivity and specificity of individual biomarkers are characterized by high variability; individual microRNAs, exosomes, and extracellular DNA are considered more promising. The problem of low concentrations of biomarkers is being solved due to the rapid development of the methodological framework. An undoubted advantage of liquid biopsy is the possibility of multiple sampling, which allows for disease monitoring. However, to date, no glioma marker has been introduced into everyday clinical practice. It is possible that panels of several types of biomarkers will become the future standard for diagnosing and monitoring gliomas, since biomarkers involved in different molecular cancer-associated pathways will be relevant for a larger number of patients and can also cumulatively increase the sensitivity and specificity of testing.

Key words: glioma; circulating biomarkers; circulating tumor cells; extracellular vesicles; ctDNA; ctRNA; review

For citation: Omel'chuk E.P., Timoshkina N.N., Rostorguev E.E., Dzhenkova E.A.

Circulating biomarkers of gliomas (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (8): 411-420 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-8-411-420>

For correspondence: *Omel'chuk E.P.*, junior researcher of the Laboratory of Molecular Oncology; e-mail: ekaterina.omelchuck@yandex.ru

Information about authors:

Omel'chuk E.P., <https://orcid.org/0000-0003-0786-9684>;

Timoshkina N.N., <https://orcid.org/0000-0001-6358-7361>;

Rostorguev E.E., <https://orcid.org/0000-0003-2937-0470>;

Dzhenkova E.A., <https://orcid.org/0000-0002-3561-098X>.

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Funding. *The research was carried out within the state assignment of Ministry of Health of the Russian Federation (theme №123030200082-9).*

Acknowledgments. *The authors express their gratitude to Dmitry Yurievich Gvaldin for his help in preparing the article.*

Received 31.05.2024

Accepted 18.06.2024

Published 01.08.2024

Введение. Глиомы являются наиболее распространенными инвазивными первичными опухолями мозга у взрослых, которые характеризуются высокими уровнями смертности и рецидивирования после хирургического удаления, с частотой встречаемости около 5 пациентов в год на 100 000 человек в мире. Глиомы поражают головной и спинной мозг и возникают в результате онкотрансформации глиальных клеток. Приблизительно 70% всех глиом относятся к злокачественным; 5-летний рубеж выживаемости преодолевают лишь 20% пациентов с данным заболеванием [1, 2].

Низкая эффективность лечения глиом объясняется, прежде всего, высокой морфогенетической гетерогенностью клеток опухоли и инвазивностью процесса, а также часто встречающейся на практике поздней постановкой диагноза, когда уже появляются явно выражен-

ные симптомы заболевания. Не решены вопросы скрининговой диагностики данных новообразований. Даже глиомы высокой степени злокачественности часто диагностируют тогда, когда процесс распространился за пределы возможностей эффективной хирургической резекции. Вследствие этого решение проблемы ранней диагностики глиом путем различных модальностей МРТ, РКТ, ПЭТ-КТ нейровизуализации в перспективе должно быть основано на изучении предиктивных диагностических молекулярных маркеров, что является весьма актуальной задачей будущих исследований [3].

В настоящее время наиболее точными прогностическими и предиктивными маркерами по сравнению с гистологическими типами глиом признаны их молекулярно-генетические особенности, влияющие на клиническое течение и выживаемость. Прогностические

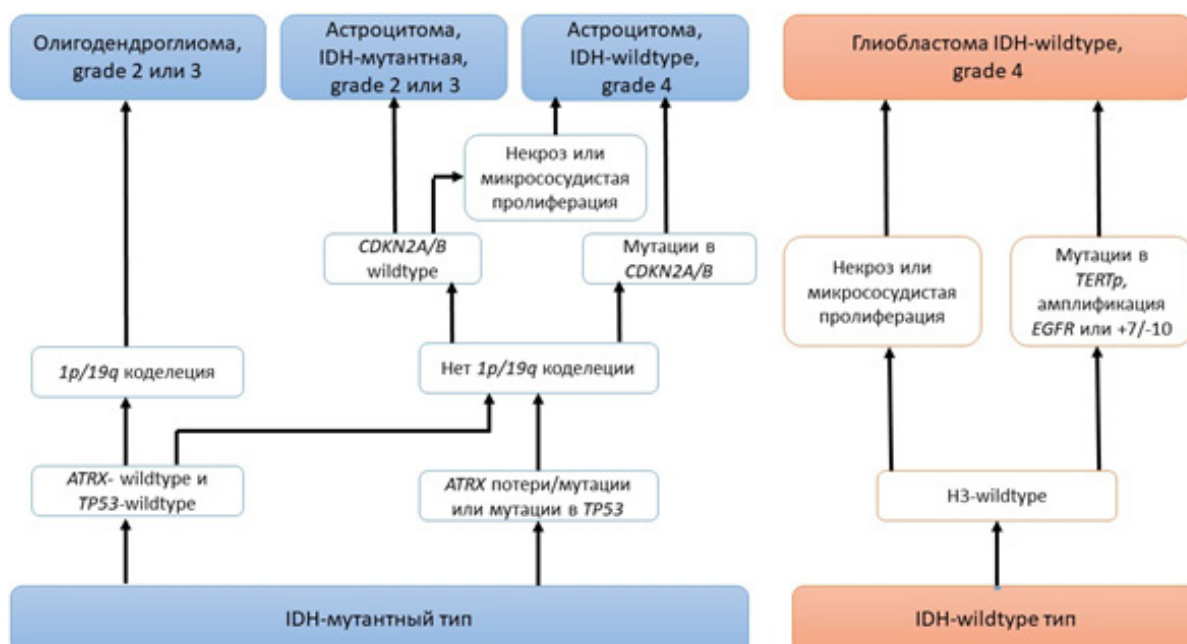


Рис. 1. Классификация диффузных глиом (взрослые) согласно ВОЗ 2021 года, 5-я версия.

факторы существенно различаются в зависимости от типа глиальной опухоли, что привело к значительной реструктуризации в классификации опухолей ЦНС (WHO 2021) (рис. 1) [4].

Опухоль-специфичные биомаркеры, обнаруживаемые в крови, моче, спинномозговой жидкости, то есть при так называемой «жидкостной биопсии», имеют преимущества в своей минимально инвазивной природе и обладают огромным потенциалом в области ранней диагностики, генотипирования опухолей, выявления минимальной остаточной болезни после радикального лечения, прогнозирования ответа на терапию и выявления рецидивов [5]. Важно, что по сравнению с исследованием опухолевой ткани жидкостная биопсия может быть проведена многократно, что обеспечит мониторинг заболевания [6]. В настоящем обзоре мы рассмотрели текущие разработки и перспективы использования в клинике циркулирующих биомаркеров.

Жидкостная биопсия. Биологические жидкости человека (кровь, спинномозговая жидкость и моча) могут содержать компоненты опухоли, а именно циркулирующие опухолевые клетки, внеклеточные везикулы, нуклеиновые кислоты, белки и метаболиты.

Препятствием в разработке тестирования на базе циркулирующих биомаркеров может выступать их низкие уровни из-за наличия гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) [7]. Однако появление таких методов как цифровая капельная ПЦР (ddPCR) и секвенирование следующего поколения (NGS) предоставили возможность анализировать крайние низкие концентрации маркеров. С помощью этих технологий проводится обнаружение мутаций, перестроек, изменений числа копий генов, эпигенетических модификаций и, с недавнего времени, фрагментации нуклеиновых кислот [8]. В тоже время проницаемость ГЭБ увеличивается по мере прогрессии опухоли за счет активности провоспалительных цитокинов, хемокинов и ангиогенных сигналов, экстрагируемым злокачественными клетками. В итоге, закономерно повышается концентрация опухолевых компонентов в биологических жидкостях на поздних стадиях заболевания [1]. Дополнительно вносит вклад характерная черта глиом - накопление мутаций в генах, кодирующих клаудины, которые в основном и определяют целостность ГЭБ. Глиомы high-grade имеют более высокие показатели обнаружения циркулирующих биомаркеров и большую мутационную нагрузку, чем low-grade первичные опухоли [9].

Периферическая кровь является наиболее доступным биоматериалом, в котором детектируют аналиты с небольшой молекулярной массой, способных проникать через неповрежденный ГЭБ [10].

Спинномозговая жидкость (СМЖ) обеспечивает более эффективное обнаружение опухолевых компонентов в связи с анатомической близостью к первичному очагу [9]. Очень низкая клеточность ликвора (до 5 клеток мм³) по сравнению с плазмой позволяет с большей чувствительностью определить опухолевую ДНК [11]. Возможности СМЖ были использованы для количественного анализа опухолевой ДНК с целью оценки тяжести заболевания и прогноза [9]. Жидкостная биопсия посредством люмбальной пункции является вариантом выбора для пациентов, имеющих противопоказания к хирургическому вмешательству [10].

Моча также является возможным источником биомаркеров глиом. Показано, что в моче можно обнаружить метаболические изменения, характерные для ткани глиобластомы [12], реже некоторые онкоспецифические микро-РНК [13].

Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) обнаруживают преимущественно в крови, их рассматривают как источник биомаркеров, и одновременно, как биомаркер злокачественного новообразования. Присутствие ЦОК в биологических жидкостях связывают с неблагоприятным прогнозом [1]. Интересно, что ЦОК обнаруживают в крови пациентов с глиобластомой в 20-40% случаев, однако при этом отсутствует ассоциация с метастазированием [14]. ЦОК отличает повышенный миграционный потенциал и мезенхимальный фенотип вследствие эпителиально-мезенхимального перехода, однако они сохраняют многие генетические и фенотипические признаки исходной опухоли [15]. Например, обнаружены молекулярные сигнатуры ЦОК, позволяющие разграничить первичные и вторичные опухоли головного мозга [16], а также отличить лучевой некроз от истинного рецидива глиомы [17].

Внеклеточные везикулы представляют собой ограниченные мембраной пузырьки с цитоплазмой, которые выделяются клетками при различных физиологических и патологических состояниях, играя важную роль в межклеточной коммуникации. Они могут содержать в себе нуклеиновые кислоты, белки, липиды, метаболиты и другие молекулы. При онкогенезе роль везикул злокачественных клеток распространяется на поддержание роста и выживаемости опухоли, стимуляции миграции и инвазии путем индукции ангиогенеза, участие в метаболическом перепрограммировании здоровых клеток путем активации гликолитических путей, на модуляцию противоопухолевых иммунных реакций, иммуносупрессии и химиорезистентности [18].

Внеклеточные везикулы подразделяют на экзосомы, микровезикулы и апоптотические тельца, различающиеся, главным образом, размерами и происхождением [19]. Апоптотические тельца имеют размер 1-5 мкм и образуются в результате фрагментации клетки при апоптозе. Микровезикулы размером от 50 до 1300 нм, ограничены, как и апоптотические тельца, клеточной мембраной [20].

Экзосомы происходят из эндосом и имеют размер от 40 до 150 нм, что позволяет им проникать через интактный ГЭБ и циркулировать в жидкостях организма [1]. Подтверждена способность внеклеточных везикул проникать через неповрежденный ГЭБ путем трансцитоза [21]. В целом, доля экзосом, выделяемых глиальными опухолями, составляет менее 10% от всех циркулирующих экзосом [22]. Тем не менее, они более стабильны и их концентрация в крови выше по сравнению с ЦОК, а также по сравнению со здоровыми донорами и пациентами с другими заболеваниями ЦНС. Положительная динамика уровня экзосом ассоциирована с рецидивом и прогрессией глиобластом [18]. Как и ЦОК внеклеточные везикулы могут быть изолированы из биологических жидкостей человека, что дает возможность валидировать опухоль-специфичность биомаркеров в виде нуклеиновых кислот, белков и т.п. [23].

С диагностической точки зрения в качестве биомаркеров наибольший интерес представляют циркулирующие

щие нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК). Высвобождаясь из опухолевых клеток, они могут обнаруживаться в составе либо липидных/белковых структур, либо внеклеточных везикул. У здоровых людей циркулирующие нуклеиновые кислоты быстро элиминируются из кровотока. Напротив, у онкологических пациентов фиксируют накопление ДНК и РНК в кровотоке [24].

Циркулирующая опухолевая ДНК (цоДНК) обнаруживается у 50% пациентов с первичными опухолями головного мозга [25], в том числе при отсутствии в крови ЦОК [16], при этом показано соответствие мутационного статуса опухолевой ткани и цоДНК [6, 26]. По сравнению с ЦОК цоДНК обладает более высокой чувствительностью и предоставляет более широкий спектр опухолевых маркеров [1]. Уровень внеклеточной ДНК может варьировать в зависимости от типа, расположения и размера опухоли, что необходимо учитывать при дизайне и анализе результатов исследования [11]. Интересно, что характер фрагментации цоДНК в плазме/СМЖ (<145 п.н.) и моче (<82 п.н.) отличается [8].

Проблемы разработки биомаркеров на основе цоДНК связаны низкой представленностью молекул в жидкостной биопсии [25] и неоднозначной специфичностью: в цоДНК обнаруживают опухолеспецифичные генетические изменения при подозрении на злокачественное новообразование головного мозга и при доброкачественных опухолях ЦНС [11]. Ряд исследователей сообщают, что чувствительность цоДНК-тестов варьирует в зависимости от опухолевой нагрузки и grade [12]. Противоречивая информация связана, очевидно, с методическими проблемами анализа внеклеточной ДНК: нет общепризнанных рекомендаций по её сбору и хранению [11], отсутствуют оптимальные высокочувствительные подходы для обнаружения и определения порога выявления мутаций в цоДНК [1]. Для преодоления трудностей, в частности для повышения чувствительности тестирования на базе цоДНК, предлагается использовать образцы СМЖ [11]. Предложено также использовать молекулярное профилирование цоДНК ликвора для выявления групп высокого риска среди low-grade глиом и для дифференциации глиом согласно классификации ВОЗ [24].

Количественное определение внеклеточной ДНК в плазме крови больных с глиомами также может стать биомаркером, например, показано, что уровни вкДНК до лучевой терапии коррелируют с результатами лечения независимо от других прогностических факторов [17]. Отметим, что с большей вероятностью в жидкостях организма можно обнаружить митохондриальную ДНК (мтДНК) благодаря её высокой копияности в клетке [16]. Выявлена достоверная корреляция уровня циркулирующей мтДНК с объемом опухоли и рецидивированием [27], опухолевой нагрузкой [16], общей выживаемостью и выживаемостью без прогрессирования [28]. Предложено на базе количественной оценки мтДНК осуществлять мониторинг терапевтического ответа и прогрессирования заболевания [16].

Развитие молекулярных технологий обещает повысить чувствительность и надежность анализа цоДНК: высокопроизводительное и нанопоровое секвенирование, количественная ПЦР, а также цифровая капельная ПЦР уже используются для анализа вкДНК, цоДНК и мтДНК [6]. Кроме того, для выявления и количествен-

ного определения соматических мутаций в цоДНК предложено применить BEAMing технологию, представляющую собой высокочувствительный метод цифровой ПЦР, сочетающий эмульсионную ПЦР и проточную цитометрию [29].

Генетические маркеры. Как уже упоминалось ранее, глиомы классифицируют в соответствии с их генетическим профилем (см. рис. 1), что предполагает перспективность генетических маркеров для разработки дифференциальной диагностики опухолей. Принципиальным маркером, подразделяющим все глиомы взрослых на два класса, является мутантный статус гена изоцитатдегидрогеназы (*IDH1/2*) – фермента цикла трикарбоновых кислот, который связан с лучшим прогнозом течения заболевания [4]. Закономерно определение статуса генов *IDH1/2* в различных биологических жидкостях предлагается рассматривать в качестве диагностического и прогностического биомаркера [30]. Аналогично биомаркерами могут быть генетические изменения, дифференцирующие олигодендроглиомы и астроцитомы (grade 2 или 3), такие как 1p/19q или потеря/мутацией в *ATRX*, мутации в *TP53*, *CDKN2A/B* (рис.1).

Наиболее полно разработаны циркулирующие генетические маркеры глиобластом, генетические профили которых дифференцируют группу на подтипы [31]. В частности, мутации в генах опухолевых супрессоров *NF1*, *PTEN* и *TP53* типизируют мезенхимальный подтип; мутации в гене *EGFR*, но не в *TP53* – классический подтип; мутации в *TP53*, *PDGFRA* и *IDH1* – пронеуральный подтип; сверхэкспрессия генов *NEFL*, *GABRA1*, *SYT1* и *SLC12A5* – нейральный подтип. Опухоли вышеописанных подтипов способны изменять свои молекулярные характеристики в результате прогрессирования или под действием лечения [32]. Q. Wang и соавторы [33] показали возможность перехода классического подтипа в пронеуральный или мезенхимальный после рецидива заболевания.

В цоДНК были выявлены опухолеспецифичные мутации генов *JAK2*, *NF1*, *NRAS* (*G12D*, *G13R*, *Q61K*, *Q61R*), *GNAS*, *ATM* (*K342*, *R3008H*, *R3012*), *BRCA1* (*Q380*, *R1835*), *PTEN*, *RB1*, *CDKN2A/B*, *CIC*, *PDGFRA* (*PIK3CA*, *PIK3R1*, *MSH6*, *HER2*, *MET* и *POU3F3*) [25]. V. Palande и соавторы [34] обнаружили в вкДНК из плазмы пациентов с глиобластомой слияния генов *KDR*-*PDGFRA*, *NCDN*-*PDGFRA*, *BCR*-*ABL1*, *COL1A1*-*PDGFB*, *NIN*-*PDGFRB*, *FGFR1*-*BCR*, *CEP85L*-*ROS1* и *GOPC*-*ROS1*. Комбинация выявления наличия генных мутаций и слияний в перспективе поможет в первичном обнаружении глиобластомы.

Изменение геномного профиля опухоли может быть связано с лечением. Например, у пациентов, перенесших химио- и лучевую терапию, мутации в *TP53*, *ATM*, *GNAS* и *JAK2* встречаются чаще и коррелируют с неблагоприятным прогнозом [35], что можно использовать для мониторинга заболевания. Мониторинг изменения числа мутантных аллелей *pTERT* в цоДНК показал ассоциацию с клиническим течением заболевания, в том числе с ответом на терапию и прогрессированием [17].

Параллельно новый метод классификации глиом TeloDIAG, предложенный P. Billard и соавторами [36], оказался эффективен для разработки малоинвазивной диагностики глиом на базе цоДНК. TeloDIAG основан на анализе механизма альтернативного удлинения

теломер (ALT – мутация промотора *TERT* и потеря *ATRX*), мутационного статуса IDHmt и гистологического типа опухоли. Эта классификация определила пять подтипов: tOD (олигодендроглиома), tLGA (low-grade астроцитома с мутацией IDH), tGBM_IDHmt (глиобластома с мутацией IDH), tGBM (глиобластома без мутации IDH), tAIV (ALT+ глиобластома без мутации IDH). Она соответствует классификации ВОЗ на 99% и дополняет её.

Изменение числа копий (CNV) некоторых генов является одним из ранних признаков канцерогенеза, свидетельствуя о геномной нестабильности. CNV целых хромосом или их частей приводит к модификации кариотипов клеток и является источником генетической гетерогенности [31]. Идентичность профилей CNV во внеклеточных везикулах и тканях глиобластомы продемонстрировали С.Л. Maïge и соавторы [23].

Кратное увеличение копийности гена *EGFR* с лиганд-независимой активностью наблюдается примерно у 40% пациентов с глиобластомой, обосновывая диагностическую и прогностическую ценность биомаркера [30]. D. Piccioni и соавт. [25] выявили во вкДНК амплификацию генов *ERBB2/HER2*, *MET*, *KIT*, *BRAF*, *EGFR*, *CCND1*, *CCND2*, *CDK6* и *PDGFRA* у пациентов с первичными опухолями головного мозга.

Противоположный процесс (потеря гетерозиготности (LOH) вследствие делеций) также распространено событие при опухолях головного мозга. Так, LOH длинного плеча 10 хромосомы характерно для 60-80% первичных и вторичных опухолей головного мозга. В частности, утрачивается участок 10q23-24, на котором локализован важный онкосупрессор *PTEN*. Для первичных опухолей головного мозга характерна делеция локуса 22q12.3, которая приводит к LOH гена-супрессора опухоли *TIMP-3*. Кроме того, LOH ещё ряда генов *CDKN2A/B*, *MXI1*, *DMBT1*, *LGII*, *FGFR2* и *WDR11* имеет клиническое значение и ассоциировано с прогрессированием и переходом от 2-3 к 4 grade [30].

Метилирование ДНК. Наряду с генетическими альтерациями в индукции канцерогенеза принимают участие эпигенетические изменения. Метилирование ДНК является основным эпигенетическим изменением, характерным для глиальных опухолей, как на ранних, так и на более поздних стадиях онкогенеза [37]. Эпигенетическая дифференцировка глиом имеет высокую прогностическую ценность независимо от других известных предикторов общей выживаемости, таких как возраст и грейд [38]. Известно, что профиль метилирования ДНК во вкДНК соответствует таковому в опухолевой ткани и позволяет дифференцировать глиомы разных подтипов друг от друга и от других экстракраниальных онкологических заболеваний, метастазов экстракраниальных опухолей в головной мозг и условно здоровых людей [39].

Гипометилирование промоторов генов *CXCR6* и *PVT1* (и соответственно их сверхэкспрессия) наблюдается в IDHwt опухолях и ассоциировано с плохим прогнозом. Помимо этого, уровни их метилирования были ассоциированы с прогрессией, псевдопрогрессией и с ответом на лечение [40].

Хорошо известно клиническое значение метилирования промотора *MGMT*, кодирующего фермент репарации ДНК. Метилирование *MGMT* наблюдается в

45-75% случаев глиомных опухолей и расценивается как положительный прогностический фактор для применения лекарственной терапии. Гиперметилирование промотора *MGMT* приводит к сайленсингу гена, что повышает эффективность цитостатического препарата темозоломида [15]. Исследования продемонстрировали возможность малоинвазивного анализа метилирования *MGMT*, используя цоДНК крови и ликвора, причем специфичность в обоих случаях составляет 100%, а чувствительность – 37% и 65% соответственно [38].

Гипометилирование мобильных элементов генома часто описывается как механизм реализации генетической нестабильности в ходе канцерогенеза. В частности, ДНК, выделенная из плазмы пациентов с глиобластомой, имела более низкие уровни метилирования Alu последовательностей, чем у здоровых доноров, отрицательно коррелируя с тяжестью заболевания и продолжительностью жизни пациентов [40]. Кроме того, низкие уровни метилирования Alu в цоДНК положительно коррелировали с отсутствием мутаций в *IDH1/2* и наличием мутации в *TERT* [41]. По результатам полногеномного метилирования цоДНК спинномозговой жидкости L. Dai и соавторам [42] удалось идентифицировать 8 генов-кандидатов для диагностики рецидивирующей глиобластомы и прогноза (*FLRT2*, *ETV1*, *NTRK3*, *C1orf226* – высокий риск, *NKD1*, *GNB5*, *COMMD1*, *CH13L2* – низкий риск).

Таким образом, определение профиля метилирования ДНК глиом является источником потенциальных биомаркеров жидкостной биопсии, которые будут ценны при выборе терапии, для диагностики, мониторинга минимальной остаточной болезни и ответа на лечение.

Циркулирующие опухолевые РНК (цоРНК) являются многообещающими биомаркерами глиом и могут обнаруживаться как в свободном виде (периферической крови, СМЖ и моче), так и в составе внеклеточных везикул [19]. Несмотря на то, что нет единого мнения насчет наиболее приемлемой биологической жидкости для анализа цоРНК, наиболее оптимальным источником цоДНК считается СМЖ [15]. Из всего многообразия типов РНК выделяют некодирующие короткие микро-РНК (18-25 п.н.), которые регулируют экспрессию множества генов-мишеней либо путем разрушения специфических мРНК, либо подавлением трансляции, таким образом участвуя в многих физиологических и патологических процессах [19]. В отличие от многих потенциальных биомаркеров микро-РНК способны проникать через неповрежденный ГЭБ и обнаруживаться в биологических жидкостях с высокой чувствительностью и специфичностью [43]. Ожидаемо уровень микро-РНК отличается в нормальных и онкоконформированных клетках мозга. Для характеристики глиальных опухолей в биологических жидкостях разрабатываются диагностические панели [44]. Изменение экспрессии микро-РНК предполагает связь с опухолевой нагрузкой и прогнозом пациента, но никак не связано с полом и возрастом [43]. Кроме того, циркулирующие микро-РНК могут быть использованы с целью диагностики, мониторинга и прогнозирования заболевания (см. таблицу).

Длинные некодирующие РНК (днкРНК) имеют длину от 200 нуклеотидов до 100 тыс. нуклеотидов; по сравнению с белок-кодирующими генами, экспресси-

руются тканеспецифично. При развитии глиом показано функциональное участие ряда днкРНК в индукции пролиферации, инвазии, миграции, ангиогенезе, эпителиально-мезенхимальном переходе, метастазировании, развитии лекарственной устойчивости [45]. Циркулирующие днкРНК предлагается использовать в качестве маркеров диагностики, химиорезистентности и прогноза для пациентов с первичными опухолями головного мозга [46] (см. таблицу).

Развитие глиом также сопровождается изменением паттерна экспрессии кольцевых РНК (кцРНК), которыми богаты нейрональные ткани. Кольцевые РНК высо-

костабильны, консервативны и тканеспецифичны. Согласно данным литературы, кцРНК, участвующие в онкогенезе, в основном блокируют действие микро-РНК, связываясь с ними [19]. Первичные опухоли головного мозга обнаруживают aberrantную экспрессию кцРНК [47], которая ассоциирована с иницированием и прогрессированием глиального онкогенеза через контроль метаболизма, миграции, пролиферации, инвазии, ангиогенеза и апоптоза. Уровни кцРНК показывают разнонаправленную корреляцию с прогрессией, рецидивом, радио- и химиорезистентностью, а также выживаемостью пациентов [48] (см. таблицу).

Циркулирующие РНК маркеры глиом

Маркер	Применение	Ссылка
микро-РНК		
miR-21, miR-128, miR-342, miR-15b, miR-376a,b,c, miR-210, miR-320, miR-125b, miR-454, miR-29, miR-182, miR-133a, miR-548b-5p, miR-205, miR-221, miR-222, miR-16-5p, miR-130, miR-181b-5p, miR-208a, miR-100, miR-17-5p, miR-3180, miR-3180-3p, miR-6782-5p, miR-133b, miR-670-3p, miR-9, miR-92b, miR-124, miR-219-5p, miR-451a, miR-10b, miR-301a, miR-218-5p, miR-193b-3p, miR-331-3p, miR-374a-5p, 548c-3p, miR-520f-3p, miR-27b-3p, miR-30b-3p, miR-180, miR-574-4p, RNU6-1 (малая ядерная РНК)	Диагностика	[14, 49-51]
miR-574, miR-497, miR-125b, miR-342, miR-454-3p, miR-21, miR-15b, miR-23a, miR-150, miR-197, miR-548b-5p, miR-221, miR-222, miR-16, miR-19a-3p, miR-20a-5p, miR-106a-5p, miR-130, miR-181b-5p, miR-208a, miR-124-3p, miR-210, miR-301, miR-122-5p, miR-93, miR-593-3p, miR-133a, miR-486-3p, miR-107, miR-151a, miR-148a, miR-5096,	Дифференциальная диагностика	[49, 51-53]
miR-128, miR-454, miR-21, miR-182, miR-205, miR-221, miR-222, miR-210	Прогрессирование	[14, 49, 51]
miR-125b, miR-128, miR-342, miR-221, miR-222	Ответ на лечение	[49, 51]
miR-21, miR-125b, miR-454, miR-182, miR-221, miR-222, miR-20, miR-210, miR-301a	Прогноз	[49, 51]
кцРНК		
circSMARCA5, circHIPK3, circ0075828, circ0003828, circ0002976, circPINTexon2, circU2AF1, circCFH, circ104948, circ0001445, circWDR62, circMMP1, circ0012381, circ0024108,	Диагностика	[54-56]
CircNFIХ, CircPOSTN, CircHEATR5B, CircCPA4, circ-E-Cad, Circ-SHPRH, Circ-FBXW7, Circ-RPL15, CircMMP9, CircGLIS3, CircSFMBT2, Hsa_circ0001017, Circ-ATXN1, CircNT5E, Circ-DICER1, CDR1as, CircPIP5K1 A, Circ-MAPK4, CircNEIL3, circKIF18Aм, circBTG2, circMMP1, circ0001445, circ-METRN, circ0046701, circ001946, circ0012129, cZNF292, circTTBK2, circ14359, circSHKBP1, circ002136, circDICER1, circ0074362	Прогрессирование	[48, 56]
circRNA-ATP8B4, circ-METRN	Радиорезистентность	[57]
circ0055202, circ0074920, circ0043722, circ0005019, circ0000880, circ0006365, circ0001649, circHIPK3, circ0076248, circ0034642, circSMARCA5, circSHPRH, circFBXW7, circ0000177, circBRAF, circ0074362, circITCH, circCPA4, circ0051680	Прогноз	[15, 55, 56, 58]
днкРНК		
HOTAIR, LncRNA565, LncRNA641, DLX6-AS1, ELF3-AS1, ASB16-AS1, NEF, ANRIL, GSCAR, LINC00941	Диагностика	[15, 45, 46, 59, 60]
SBF2-AS1	Химиорезистентность	[61]
HOTAIR, GAS5, MALAT1, H19, LncRNA565, LncRNA641, HOXA11-AS, TUSC7, MCM3AP-AS, PART1, MIAT, RP11-838N2.4, NR_002809, XLOC_010967, BC002811, TPT1-AS1, AGAP2-AS1, LINC01198, SPRY4-IT1, ZEB1-AS1, KIAA0495	Прогноз	[45, 46, 59]

Основной проблемой разработки диагностических и прогностических тестов на базе оценки циркулирующих РНК остается высокая вариабельность свободных или везикулярных РНК и отсутствие стандартизированной методологии анализа [47].

Белки. На сегодняшний день не выявлен белковый маркер, специфичный для глиомных опухолей, поэтому протеомные исследования сосредоточены на анализе уровней циркулирующих белков, выделяемых опухолевыми клетками. Предполагается, что в этом случае белковыми маркерами глиом могут выступать участники/регуляторы воспалительного ответа, пролиферации,

гипоксии, ангиогенеза, деградации и ремоделирования внеклеточного матрикса.

Протеомное профилирование внеклеточных везикул повторяет специфичный для глиобластом паттерн, в частности отражает амплификацию *EGFR*, фиксирует мутантные *PTEN*, *IDH1/2* и *TP53* [18].

В исследовании Т. Pienkowski и соавторов [62] уровни циркулирующих в плазме белков GFAP, EGFR, VEGF и 2-HG дифференцировали low-grade и high-grade глиомы, коррелировали с размером опухоли, прогрессией, рецидивом, выживаемостью и прогнозом пациентов.

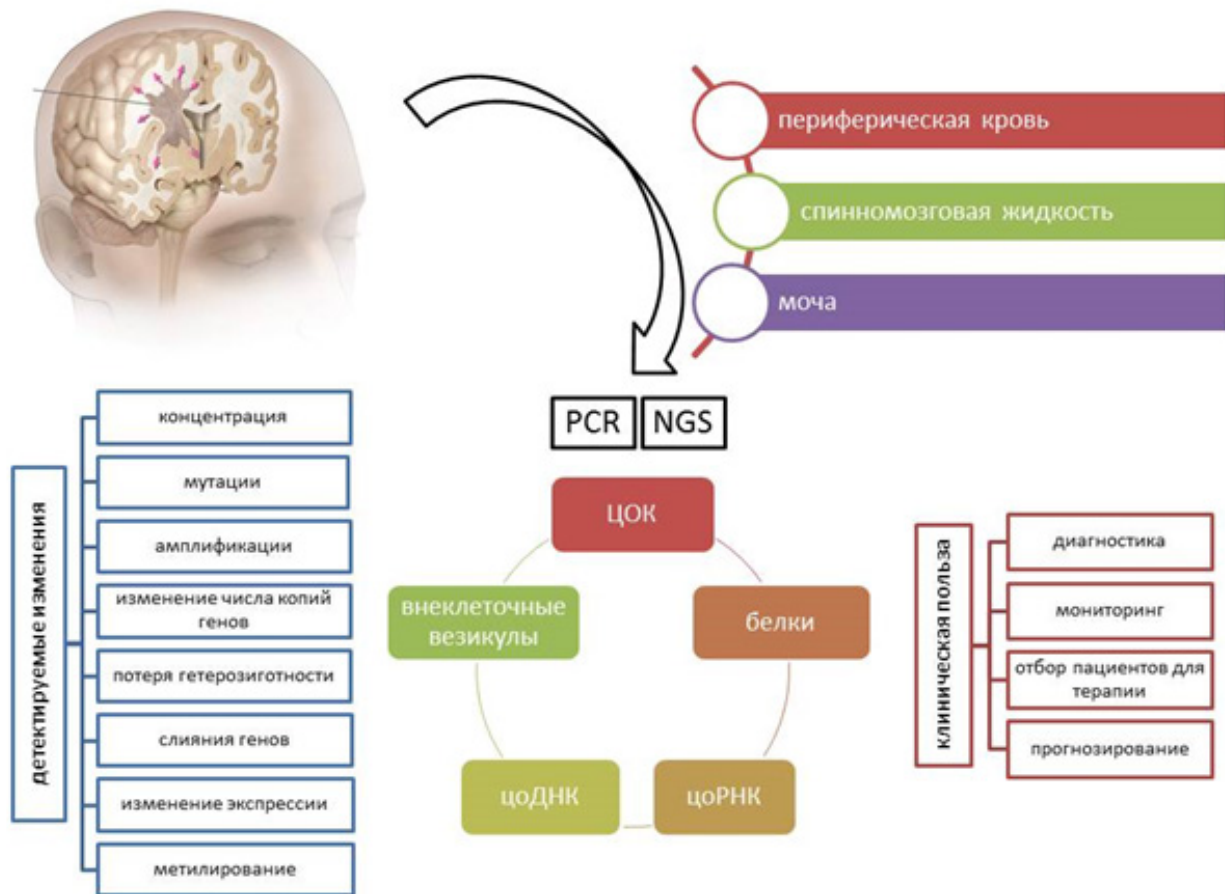


Рис. 2. Жидкостная биопсия глиальных опухолей.

Отметим, что определение циркулирующих белков методически является относительно простым и недорогим методом. Однако ограничения протеомных исследований являются высокий уровень фонового шума и нестандартизированные методики проведения анализа и оценки результатов [24].

Заключение. Золотым стандартом неинвазивной диагностики и мониторинга глиом головного мозга остается МРТ, однако дифференциальную и окончательную диагностику проводят на основании гистологического анализа опухолевого образца, отбор которого осложнен анатомическими особенностями локализации и гетерогенностью опухоли. В тоже время биомаркеры жидкостной биопсии значительно доступнее благодаря минимально инвазивной процедуре отбора, что позволяет определять их уровень многократно, в том числе в целях мониторинга заболевания и оценки эволюции опухоли. Однако не один циркулирующий биомаркер глиом не доведен до стадии внедрения в клиническую практику. Основными проблемами разработки тестов жидкостной биопсии являются: гетерогенная природа глиом, которая препятствует отбору общих для всех типов опухолей молекул-кандидатов, низкая частота глиом, а также физические препятствия для попадания маркеров в кровотоки и ликвор в виде ГЭБ также не способствует прогрессу выявления биомаркеров. Кроме того, частота обнаружения биомаркеров может зависеть от хронологического

изменения концентрации молекул, от типа образца, от типа опухоли, её классификации.

На текущий момент опубликовано множество работ, в которых были идентифицированы потенциальные циркулирующие биомаркеры глиом (рис. 2). Благодаря растущей чувствительности методов исследования сейчас возможно анализировать клетки, микровезикулы и отдельные молекулы (ДНК, РНК, белки и метаболиты), высвобождающиеся из опухоли и циркулирующие в крови, спинномозговой жидкости и моче. По сравнению с исследованием опухолевой ткани жидкостная биопсия может быть легко повторена, в том числе у неоперабельных пациентов.

Прямое количественное измерение ЦОК и внеклеточных везикул, которое возможно совмещать с общим анализом крови, являются привлекательными биомаркерами. Однако ограничения по частоте встречаемости ЦОК/внеклеточных везикул у пациентов с глиомами разной степени злокачественности не позволяет рассматривать их как отдельные маркеры.

Уникальные признаки глиом, такие как генетические изменения (SNP, перестройки, делеции, амплификации и т.п.) и эпигенетический профиль (ДНК метилирование), обнаруживаемые в образцах жидкостной биопсии, могут однозначно идентифицировать опухоль. В отличие от этого уровень и профиль некодирующих РНК, цкДНК, белков и метаболитов в

жидкостях организма дополнительно может отражать местную или системную реакцию организма на присутствие опухоли. Поэтому предлагается исследование цкРНК, белковых маркеров в ЦОК и эписомах; уделяется больше внимания циркулирующей мтДНК, обладающей большей копийностью в клетке и устойчивостью к эндогенному воздействию по сравнению с ядерной ДНК.

Поскольку отдельные маркеры жидкостной биопсии имеют невысокую точность, для клинического внедрения наиболее перспективными являются панели биомаркеров. Такой подход реализован, например, для колоректального рака: тест-система Cologuard (Exact Sciences Co.), получившая одобрение FDA в 2014 году, включает анализ на фекальный гемоглобин, определение мутаций в *KRAS* и метилирование генов *NDRG4* и *BMP3*. Разработка панелей маркеров может решить и проблему дисрегуляции биомаркеров по мере прогрессии злокачественности опухоли, так как уровни биомаркеров часто положительно/отрицательно коррелируют с grade, объемом опухоли и худшей выживаемостью. Таким образом, применение нескольких типов биомаркеров в одной панели может синергически использовать преимущества и частично уменьшать недостатки друг друга.

В целом для большинства известных в настоящее время биомаркеров глиом требуется дополнительная валидация, после которой они смогут существенно дополнить методы диагностики и/или мониторинга глиом.

ЛИТЕРАТУРА (П.П. 1, 4-49, 51, 53-62 СМ.
REFERENCES)

- Кузнецова Н.С., Гурова С.В., Гончарова А.С., Заикина Е.В., Гусарева М.А., Зинькович М.С. Современные подходы к терапии глиобластомы. *Южно-Российский онкологический журнал*. 2023; 4(1): 52–64. DOI: 10.37748/2686-9039-2023-4-1-6.
- Кит О.И., Водолажский Д.И., Росторгуев Э.Е., Франциянц Е.М., Панина С.Б. Молекулярно-генетические маркеры глиом. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2017; 35(4): 132–40. DOI: 10.18821/0208-0613-2017-35-4-132-140.
- Пушкин А.А., Гвалдин Д.Ю., Тимошкина Н.Н., Росторгуев Э.Е., Владимирова Л.Ю., Дженкова Е.А. Анализ данных высокопроизводительного секвенирования базы Gene Expression Omnibus для идентификации микрорибонуклеиновых кислот в плазме крови пациентов с глиобластомой. *Res. Pract. Med. J.* 2022; 9(1): 54–64. DOI: 10.17709/2410-1893-2022-9-1-5.
- Аллилуев И.А., Пушкин А.А., Кузнецова Н.С., Кавицкий С.Э., Росторгуев Э.Е. Оценка диагностической значимости циркулирующих микроРНК в плазме крови пациентов с глиомами высокой степени злокачественности. *Современные проблемы науки и образования*. 2020; 6: 135. DOI: 10.17513/spno.30309.

REFERENCES

- Müller Bark J., Kulasinghe A., Chua B., Day B.W., Punyadeera C. Circulating biomarkers in patients with glioblastoma. *Br. J. Cancer*. 2020; 122(3): 295–305. DOI: 10.1038/s41416-019-0603-6.
- Kuznetsova N.S., Gurova S.V., Goncharova A.S., Zaikina E.V., Gusareva M.A., Zinkovich M.S. Modern approaches to glioblastoma therapy. *Yuzhno-Rossiyskiy onkologicheskiy zhurnal*. 2023; 4(1): 52–64. DOI: 10.37748/2686-9039-2023-4-1-6. (in Russian)

- Kit O.I., Vodolazhskiy D.I., Rostorguyev E.Ye., Frantsiyants Ye.M., Panina S.B. Molecular genetic markers of gliomas. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya*. 2017; 35(4): 132–40. DOI: 10.18821/0208-0613-2017-35-4-132-140. (in Russian)
- Louis D.N., Perry A., Wesseling P., Brat D.J., Cree I.A., Figarella-Branger D. et al. The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Neuro-Oncol*. 2021; 23(8): 1231–51. DOI: 10.1093/neuonc/noab106.
- Pasqualetti F., Rizzo M., Franceschi S., Lessi F., Paiar F., Buffa F.M. New perspectives in liquid biopsy for glioma patients. *Curr. Opin. Oncol*. 2022; 34(6): 705–12. DOI: 10.1097/CCO.0000000000000902.
- Díaz Méndez A.B., Tremante E., Regazzo G., Brandner S., Rizzo M.G. Time to focus on circulating nucleic acids for diagnosis and monitoring of gliomas: a systematic review of their role as biomarkers. *Neuropathol. Appl. Neurobiol*. 2021; 47(4): 471–87. DOI: 10.1111/nan.12691.
- Mathios D., Phallen J. Circulating biomarkers in glioblastoma: ready for prime time? *J. Cancer*. 2021; 27(5): 404–9. DOI: 10.1097/PPO.0000000000000541.
- Van Der Pol Y., Mouliere F. Toward the early detection of cancer by decoding the epigenetic and environmental fingerprints of cell-free DNA. *Cancer Cell*. 2019; 36(4): 350–68. DOI: 10.1016/j.ccell.2019.09.003.
- Miller A.M., Shah R.H., Pentsova E.I., Pourmaleki M., Briggs S., Distefano N. et al. Tracking tumour evolution in glioma through liquid biopsies of cerebrospinal fluid. *Nature*. 2019; 565(7741): 654–8. DOI: 10.1038/s41586-019-0882-3.
- Quinones A., Le A. The multifaceted glioblastoma: From genomic alterations to metabolic adaptations. *Adv. Exp. Med. Biol*. 2021; 1311: 59–76. DOI: 10.1007/978-3-030-65768-0_4.
- Hickman R.A., Miller A.M., Arcila M.E. Cerebrospinal fluid: A unique source of circulating tumor DNA with broad clinical applications. *Transl. Oncol*. 2023; 33: 101688. DOI: 10.1016/j.tranon.2023.101688.
- Le Rhun E., Seoane J., Salzet M., Soffietti R., Weller M. Liquid biopsies for diagnosing and monitoring primary tumors of the central nervous system. *Cancer Lett*. 2020; 480: 24–8. DOI: 10.1016/j.canlet.2020.03.021.
- Kitano Y., Aoki K., Ohka F., Yamazaki S., Motomura K., Tanahashi K. et al. Urinary microRNA-based diagnostic model for central nervous system tumors using nanowire scaffolds. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2021; 13(15): 17316–29. DOI: 10.1021/acsami.1c01754.
- Tamai S., Ichinose T., Nakada M. Liquid biomarkers in glioma. *Brain Tumor Pathol*. 2023; 40(2): 66–77. DOI: 10.1007/s10014-023-00452-x.
- Birkó Z., Nagy B., Klekner Á., Virga J. Benefits of liquid biopsy. *Int. J. Mol. Sci*. 2020; 21(20): 7522. DOI: 10.3390/ijms21207522.
- Mathios D., Srivastava S., Kim T., Bettegowda C., Lim M. Emerging technologies for non-invasive monitoring of treatment response to immunotherapy for brain tumors. *Neuromolecular Med*. 2022; 24(2): 74–87. DOI: 10.1007/s12017-021-08677-9.
- Nevel K. Circulating Tumor Cells and Cell-free Tumor DNA in Evaluation and Management of Gliomas: Current Evidence and Potential Future Clinical Use. *Adv. Oncol*. 2022; 2(1): 129–38. DOI: 10.1016/j.yao.2022.01.006.
- Del Bene M., Osti D., Faletti S., Beznoussenko G.V., DiMeco F., Pelicci G. Extracellular vesicles: The key for precision medicine in glioblastoma. *Neuro Oncol*. 2022; 24(2): 184–96. DOI: 10.1093/neuonc/noab229.
- Hutóczki G., Virga J., Birkó Z., Klekner A. Novel concepts of glioblastoma therapy concerning its heterogeneity. *Int. J. Mol. Sci*. 2021; 22(18): 10005. DOI: 10.3390/ijms221810005.
- Klekner Á., Szivos L., Virga J., Árkosy P., Bognár L., Birkó Z. et al. Significance of liquid biopsy in glioblastoma—A review. *J. Biotechnol*. 2019; 298: 82–7. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2019.04.011.
- Morad G., Carman C.V., Hagedorn E.J., Perlin J.R., Zon L.I., Mustafaoğlu N. et al. Tumor-derived extracellular vesicles breach the intact blood–brain barrier via transcytosis. *ACS Nano*. 2019; 13(12): 13853–65. DOI: 10.1021/acsnano.9b04397.
- Fraser K., Jo A., Giedt J., Vinegoni C., Yang K.S., Peruzzi P. et al. Characterization of single microvesicles in plasma from glioblastoma patients. *Neuro Oncol*. 2019; 21(5): 606–15. DOI: 10.1093/neuonc/noy187.
- Maire C.L., Fuh M.M., Kaulich K., Fita K.D., Stevic I., Heiland D.H.

- et al. Genome-wide methylation profiling of glioblastoma cell-derived extracellular vesicle DNA allows tumor classification. *Neuro Oncol.* 2021; 23(7): 1087–99. DOI: 10.1093/neuonc/naob012.
24. Jones J., Nguyen H., Drummond K., Morokoff, A. Circulating biomarkers for glioma: a review. *Neurosurgery.* 2021; 88(3): E221–E230. DOI: 10.1093/neuros/nyaa540.
25. Piccioni D.E., Achrol A.S., Kiedrowski L.A., Banks K.C., Boucher N., Barkhoudarian G. et al. Analysis of cell-free circulating tumor DNA in 419 patients with glioblastoma and other primary brain tumors. *CNS Oncol.* 2019; 8(2): CNS34. DOI: 10.2217/cns-2018-0015.
26. Orzan F., De Bacco F., Lazzarini E., Crisafulli G., Gasparini A., Dipasquale A. et al. Liquid biopsy of cerebrospinal fluid enables selective profiling of glioma molecular subtypes at first clinical presentation. *Clin. Cancer Res.* 2023; 29(7): 1252–66. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-22-2903.
27. Mair R., Moulriere F., Smith C.G., Chandrananda D., Gale D., Marass F. et al. Measurement of plasma cell-free mitochondrial tumor DNA improves detection of glioblastoma in patient-derived orthotopic xenograft models. *Cancer Res.* 2019; 79(1): 220–30. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-18-0074.
28. Chen Y., Zhang J., Huang X., Zhou X., Hu J., Li G. et al. High leukocyte mitochondrial DNA content contributes to poor prognosis in glioma patients through its immunosuppressive effect. *Br. J. Cancer.* 2015; 113(1): 99–106. DOI: 10.1038/bjc.2015.184.
29. Mair R., Moulriere F. Cell-free DNA technologies for the analysis of brain cancer. *Br. J. Cancer.* 2022; 126(3): 371–8. DOI: 10.1038/s41416-021-01594-5.
30. Jelski W., Mroczko B. Molecular and circulating biomarkers of brain tumors. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(13): 7039. DOI: 10.3390/ijms22137039.
31. Arcella A., Limanaqi F., Ferese R., Biagioni F., Oliva M.A., Storto M. et al. Dissecting molecular features of gliomas: Genetic loci and validated biomarkers. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(2): 685. DOI: 10.3390/ijms21020685.
32. Liu G., Bu C., Guo G., Zhang Z., Sheng Z., Deng K. et al. Molecular and clonal evolution in vivo reveal a common pathway of distant relapse gliomas. *iScience.* 2023; 26(9): 107528. DOI: 10.1016/j.isci.2023.107528.
33. Wang Q., Hu B., Hu X., Kim H., Squatrito M., Scarpace L. et al. Tumor evolution of glioma-intrinsic gene expression subtypes associates with immunological changes in the microenvironment. *Cancer Cell.* 2017; 32(1): 42–56.e6. DOI: 10.1016/j.ccell.2017.06.003.
34. Palande V., Siegal T., Detroja R., Gorohovski A., Glass R., Flueh C. et al. Detection of gene mutations and gene–gene fusions in circulating cell-free DNA of glioblastoma patients: an avenue for clinically relevant diagnostic analysis. *Mol. Oncol.* 2022; 16(10): 2098–2114. DOI: 10.1002/1878-0261.13157.
35. Okamura R., Piccioni D.E., Boichard A., Lee S., Jimenez R.E., Sicklick J.K. et al. High prevalence of clonal hematopoiesis-type genomic abnormalities in cell-free DNA in invasive gliomas after treatment. *Int. J. Cancer.* 2021; 148(11): 2839–47. DOI: 10.1002/ijc.33481.
36. Billard P., Guerriau C., Carpentier C., Juillard F., Grandin N., Lomonte P. et al. The TeloDIAG: how telomeric parameters can help in glioma rapid diagnosis and liquid biopsy approaches. *Ann. Oncol.* 2021; 32(12): 1608–17. DOI: 10.1016/j.annonc.2021.09.004.
37. Mio C., Damante G. Challenges in promoter methylation analysis in the new era of translational oncology: a focus on liquid biopsy. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* 2022; 1868(6): 166390. DOI: 10.1016/j.bbadis.2022.166390.
38. Della Monica R., Cuomo M., Buonaiuto M., Costabile D., Franca R.A., Del Basso De Caro M. et al. MGMT and whole-genome DNA methylation impacts on diagnosis, prognosis and therapy of glioblastoma multiforme. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23(13): 7148. DOI: 10.3390/ijms23137148.
39. Sabetot T.S., Malta T.M., Snyder J., Nelson K., Wells M., DeCarvalho A.C. et al. A serum-based DNA methylation assay provides accurate detection of glioma. *Neuro Oncol.* 2021; 23(9): 1494–1508. DOI: 10.1093/neuonc/naob023.
40. Chen J., Huan W., Zuo H., Zhao L., Huang C., Liu X. et al. Alu methylation serves as a biomarker for non-invasive diagnosis of glioma. *Oncotarget.* 2016; 7(18): 26099–106. DOI: 10.18632/oncotarget.8318.
41. Tuaveva N.O., Falzone L., Porozov Y.B., Nosyrev A.E., Trukhan V.M., Kovatsi L. et al. Translational application of circulating DNA in oncology: review of the last decades achievements. *Cells.* 2019; 8(10): 1251. DOI: 10.3390/cells8101251.
42. Dai L., Liu Z., Zhu Y., Ma L. Genome-wide methylation analysis of circulating tumor DNA: A new biomarker for recurrent glioblastoma. *Heliyon.* 2023; 9(3): e14339. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e14339.
43. Swellam M., Bakr N.M., El Magdoub H.M., Hamza M.S., Ezz El Arab L.R. Emerging role of miRNAs as liquid biopsy markers for prediction of glioblastoma multiforme prognosis. *J. Mol. Neurosci.* 2021; 71(4): 836–44. DOI: 10.1007/s12031-020-01706-5.
44. Shrivastava R., Gandhi P., Gothalwal R. The road-map for establishment of a prognostic molecular marker panel in glioma using liquid biopsy: current status and future directions. *Clin. Transl. Oncol.* 2022; 24(9): 1702–14. DOI: 10.1007/s12094-022-02833-8.
45. Gareev I., Ramirez M.D.J.E., Nurmukhametov R., Ivliev D., Shumadalova A., Ilyasova T. The role and clinical relevance of long non-coding RNAs in glioma. *Noncoding RNA Res.* 2023; 8(4): 562–70. DOI: 10.1016/j.ncrna.2023.08.005.
46. Amer R.G., Ezz El Arab L.R., Abd El Ghany D., Saad A.S., Bahie-Eldin N., Swellam, M. Prognostic utility of lncRNAs (LINC00565 and LINC00641) as molecular markers in glioblastoma multiforme (GBM). *J. Neurooncol.* 2022; 158(3): 435–44. DOI: 10.1007/s11060-022-04030-7.
47. Wu X., Shi M., Lian Y., Zhang H. Exosomal circRNAs as promising liquid biopsy biomarkers for glioma. *Front. Immunol.* 2023; 14: 1039084. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1039084.
48. Tang C., He X., Jia L., Zhang X. Circular RNAs in glioma: Molecular functions and pathological implications. *Noncoding RNA Res.* 2023; 9(1): 105–15. DOI: 10.1016/j.ncrna.2023.10.007.
49. Ma C., Nguyen H.P., Luwor R.B., Styli S.S., Gogos A., Paradiso L. A comprehensive meta-analysis of circulation miRNAs in glioma as potential diagnostic biomarker. *PLoS One.* 2018; 13(2): e0189452. DOI: 10.1371/journal.pone.0189452.
50. Pushkin A.A., Gvaldin D.Ju., Timoshkina N.N., Rostorguev E.E., Vladimirova L.Ju., Dzhenkova, E.A. Analysis of Gene Expression Omnibus high-throughput sequencing data for the determination of microribonucleic acids in the blood plasma of patients with glioblastomas. *Res. Pract. Med. J.* 2022; 9(1): 54–64. DOI: 10.17709/2410-1893-2022-9-1-5. (in Russian)
51. Zhou Q., Liu J., Quan J., Liu W., Tan H., Li W. MicroRNAs as potential biomarkers for the diagnosis of glioma: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Sci.* 2018; 109(9): 2651–9. DOI: 10.1111/cas.13714.
52. Alliluev I.A., Pushkin A.A., Kuznetsova N.S., Kavitskiy S.Je., Rostorguev Ye.E. Estimation of the diagnostic significance of circulating microRNAs in blood plasma of patients with high grade gliomas. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya.* 2020; 6: 135. DOI: 10.17513/spno.30309. (in Russian)
53. Davidson C.L., Vengoji R., Jain M., Batra S.K., Shonka N. Biological, diagnostic and therapeutic implications of exosomes in glioma. *Cancer Lett.* 2024; 582: 216592. DOI: 10.1016/j.canlet.2023.216592.
54. Stella M., Falzone L., Caponnetto A., Gattuso G., Barbagallo C., Battaglia R. et al. Serum extracellular vesicle-derived circHIPK3 and circSMARCA5 are two novel diagnostic biomarkers for glioblastoma multiforme. *Pharmaceuticals (Basel).* 2021; 14(7): 618. DOI: 10.3390/ph14070618.
55. Li P., Xu Z., Liu T., Liu Q., Zhou H., Meng S. et al. Circular RNA sequencing reveals serum exosome circular RNA panel for high-grade astrocytoma diagnosis. *Clin. Chem.* 2022; 68(2): 332–43. DOI: 10.1093/clinchem/hvab254.
56. Sun J., Li B., Shu C., Ma Q., Wang, J. Functions and clinical significance of circular RNAs in glioma. *Mol. Cancer.* 2020; 19(1): 1–18. DOI: 10.1186/s12943-019-1121-0.
57. Zhao M., Xu J., Zhong S., Liu Y., Xiao H., Geng L. et al. Expression profiles and potential functions of circular RNAs in extracellular vesicles isolated from radioresistant glioma cells. *Oncol. Rep.* 2019; 41(3): 1893–1900. DOI: 10.3892/or.2019.6972.
58. Xia D., Gu X. Plasmatic exosome-derived circRNAs panel act as fingerprint for glioblastoma. *Aging (Albany NY).* 2021; 13(15): 19575–86. DOI: 10.18632/aging.203368.
59. Saenz-Antoñanzas A., Auzmendi-Iriarte J., Carrasco-Garcia E., Moreno-Cugnon L., Ruiz I., Villanua J. et al. Liquid biopsy in glioblastoma: opportunities, applications and challenges. *Cancers (Ba-*

- sel*). 2019; 11(7): 950. DOI: 10.3390/cancers11070950.
60. Wang Y., Zhao D., Wang H., Wang S., Zhang H., Liu H. et al. Long non-coding RNA-LINC00941 promotes the proliferation and invasiveness of glioma cells. *Neurosci. Lett.* 2023; 795: 136964. DOI: 10.1016/j.neulet.2022.136964.
61. Zhang Z., Yin J., Lu C., Wei Y., Zeng A., You Y. Exosomal transfer of long non-coding RNA SBF2-AS1 enhances chemoresistance to temozolomide in glioblastoma. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2019; 38(1): 1–16. DOI: 10.1186/s13046-019-1139-6.
62. Pienkowski T., Kowalczyk T., Kretowski A., Ciborowski M. A review of gliomas-related proteins. Characteristics of potential biomarkers. *Am. J. Cancer Res.* 2021; 11(7): 3425–44. eCollection 2021.