

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ / ORIGINAL RESEARCH

УДК 616.24-073.756.8

<http://dx.doi.org/10.22328/2079-5343-2024-15-2-25-34>РАДИОГЕНОМИКА НЕЙРОГЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ У ДЕТЕЙ:
РЕТРОСПЕКТИВНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ¹Г. В. Терещенко[✉], ¹В. А. Лопатина[✉], ¹Л. В. Земцова[✉], ¹Д. М. Коновалов[✉], ¹Н. А. Андреева[✉],
¹Т. В. Шаманская[✉], ¹Г. А. Новичкова[✉], ¹Д. Ю. Качанов[✉], ^{1,2}А. Е. Друй[✉]¹Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии
имени Дмитрия Рогачева, Москва, Россия²Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург, Россия

ВВЕДЕНИЕ: Экстракраниальные нейрогенные опухоли у детей представлены новообразованиями симпатической нервной системы и мозгового вещества надпочечников: ганглионевромами, ганглионейробластомами и нейробластомами. Основными прогностическими факторами, использующимися для стратификации пациентов на группы риска и во многом определяющими эффективность лечения, являются гистологический вариант опухоли и наличие амплификации гена *MYCN*. **ЦЕЛЬ:** Оценить возможности количественной МРТ в определении гистологического варианта нейрогенных опухолей и прогнозирования наличия амплификации гена *MYCN* у детей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ: Ретроспективно проанализированы данные 110 пациентов с первичными периферическими нейрогенными опухолями, проходивших терапию или получавших консультативное заключение в НМИЦ ДГОИ имени Дмитрия Рогачева в период с 2012 по 2022 г. с диагнозами ганглионеврома — 12, смешанная ганглионейробластома — 10, нейробластома — 88. Возраст пациентов на момент постановки диагноза в диапазоне от 15 дней до 16 лет, медиана возраста — 17 месяцев. Всем пациентам до проведения хирургического вмешательства и терапевтических интервенций выполнялась диффузионно-взвешенная МРТ, осуществлялась биопсия опухоли с определением амплификации гена *MYCN* методом FISH.

Статистика: Для определения пороговых значений измеряемого коэффициента диффузии (ИКД) нейрогенных опухолей различного гистологического строения, а также с наличием и отсутствием амплификации гена *MYCN* был применен ROC-анализ (receiver operating characteristic). Различия качественных параметров в исследуемых группах пациентов анализировались с использованием критерия χ^2 , а количественных — с помощью критериев Манна–Уитни и Крускала–Уоллиса.

РЕЗУЛЬТАТЫ: Были определены пороговые значения показателя ИКД, позволяющие достоверно дифференцировать нейрогенные опухоли, богатые шванновской стромой (ганглионевромы и ганглионейробластома, ИКД $\geq 1,25$ мм²/с) и нейробластома, а также нейробластома без амплификации гена *MYCN* (ИКД $< 1,25$ мм²/с) и с наличием амплификации (ИКД $\leq 0,78$ мм²/с). В первом случае чувствительность составила 0,95, специфичность — 0,94; во втором — 0,94 и 0,75 соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ: Полученные нами данные свидетельствуют о возможности разделения гистологических типов нейрогенных опухолей на основании количественной МРТ, значение ИКД позволяет дифференцировать ганглионевромы и ганглионейробластома от нейробластома, а также отличить нейробластома с наличием амплификации гена *MYCN* и без данного генетического события. Неинвазивная количественная МРТ позволяет оценить весь объем опухоли на этапе диагностики и экстремально низкое значение ИКД является радиогеномным признаком наличия амплификации гена *MYCN* при нейробластома.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Количественная МРТ с определением ИКД нейрогенных опухолей позволяет не только разделить гистологические варианты нейрогенных опухолей, но и спрогнозировать наличие амплификации гена *MYCN* как наиболее неблагоприятного генетического маркера нейробластома.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: радиогеномика нейрогенных опухолей, измеряемый коэффициент диффузии, МРТ у детей, количественная МРТ, нейробластома, амплификация гена *MYCN*, ганглионеврома, ганглионейробластома

* Для корреспонденции: Терещенко Галина Викторовна, e-mail: Galina.Tereshenko@fccho-moscow.ru.

Для цитирования: Терещенко Г.В., Лопатина В.А., Земцова Л.В., Коновалов Д.М., Андреева Н.А., Шаманская Т.В., Новичкова Г.А., Качанов Д.Ю., Друй А.Е. Радиогеномика нейрогенных опухолей у детей: ретроспективное исследование // *Лучевая диагностика и терапия*. 2024. Т. 15, № 2. С. 25–34, doi: <http://dx.doi.org/10.22328/2079-5343-2024-15-2-25-34>.

RADIOGENOMICS OF NEUROGENIC TUMORS IN CHILDREN: A RETROSPECTIVE STUDY

¹Galina V. Tereshchenko[✉], ¹Vera A. Lopatina[✉], ¹Ludmila V. Zemtsova[✉], ¹Dmitry M. Kononov[✉],
¹Nataliya A. Andreeva[✉], ¹Tatyana V. Shamanskaya[✉], ¹Galina A. Novichkova[✉], ¹Denis Yu. Kachanov[✉],
^{1,2}Alexander E. Druy[✉]

¹Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia

²Research Institute of Medical Cell Technologies, Yekaterinburg, Russia

INTRODUCTION: Extracranial neurogenic tumors in children are represented by neoplasms of the sympathetic nervous system and adrenal medulla: ganglioneuromas, ganglioneuroblastomas and neuroblastomas. The main prognostic factors used to stratify patients into risk groups and, in many ways, determine the effectiveness of treatment are the histological type of the tumor and the presence of *MYCN* gene amplification.

OBJECTIVE: To evaluate the capabilities of quantitative MRI to determine the histological variant of neurogenic tumors and predict the presence of *MYCN* gene amplification in children.

MATERIALS AND METHODS: We retrospectively analyzed the data of 110 patients with primary peripheral neurogenic tumors who underwent therapy or received an advisory opinion at the D. Rogachev National Medical Research Center for Pediatric Orthopedics and Pediatric Orthopedics in the period from 2012 to 2022. with diagnoses of ganglioneuroma — 12, mixed ganglioneuroblastoma — 10, neuroblastoma — 88. The age of patients at the time of diagnosis ranged from 15 days to 16 years, median age — 17 months. Before surgery and therapeutic interventions, all patients underwent diffusion-weighted MRI and a tumor biopsy to determine *MYCN* gene amplification using FISH.

Statistics: To determine the threshold values of the apparent diffusion coefficient (ADC) of neurogenic tumors of various histological structures, as well as with the presence and absence of *MYCN* gene amplification, ROC analysis (receiver operating characteristic) was used. Differences in qualitative parameters in the studied groups of patients were analyzed using the χ^2 test, and quantitative ones — using the Mann-Whitney and Kruskal-Wallis tests.

RESULTS: Threshold values of the ADC index were determined to reliably differentiate neurogenic tumors rich in Schwann stroma (ganglioneuromas and ganglioneuroblastomas, $ADC \geq 1.25 \text{ mm}^2/\text{s}$) and neuroblastomas, as well as neuroblastomas without *MYCN* gene amplification ($0.78 < ADC < 1.25 \text{ mm}^2/\text{s}$) and with the presence of amplification ($ADC \leq 0.78 \text{ mm}^2/\text{s}$). In the first case, sensitivity was 0.95, specificity — 0.94; in the second — 0.94 and 0.75, respectively.

DISCUSSION: Our data indicate the possibility of separating histological types of neurogenic tumors on the basis of quantitative MRI; the ADC value makes it possible to differentiate ganglioneuromas and ganglioneuroblastomas from neuroblastoma, as well as to distinguish neuroblastoma with the presence of *MYCN* gene amplification and without this genetic event. Non-invasive quantitative MRI makes it possible to assess the entire tumor volume at the diagnostic stage, and an extremely low ADC value radiogenomic sing for the presence of *MYCN* gene amplification in neuroblastoma.

CONCLUSION: Quantitative MRI with determination of ADC of neurogenic tumors allows not only to separate the histological variants of neurogenic tumors, but also to predict the presence of *MYCN* gene amplification as the most unfavorable genetic marker of neuroblastomas.

KEYWORDS: radiogenomics of neurogenic tumors, apparent diffusion coefficient, MRI in children, quantitative MRI, neuroblastoma, *MYCN* gene amplification, ganglioneuroma, ganglioneuroblastoma

*For correspondence: Galina V. Tereshchenko, e-mail: Galina.Tereshchenko@fccho-moscow.ru.

For citation: Tereshchenko G.V., Lopatina V.A., Zemtsova L.V., Kononov D.M., Andreeva N.A., Shamanskaya T.V., Novichkova G.A., Kachanov D.Yu., Druy A.E. Radiogenomics of neurogenic tumors in children: a retrospective study // *Diagnostic radiology and radiotherapy*. 2024. Vol. 15, No. 2. P. 25–34, doi: <http://dx.doi.org/10.22328/2079-5343-2024-15-2-25-34>.

Введение. Экстракраниальные нейрогенные опухоли у детей представлены новообразованиями симпатической нервной системы и мозгового вещества надпочечников. На основании доли зрелой шванновской стромы в объеме опухоли, они подразделяются на богатые шванновской стромой ганглионеврому и ганглионейробластому и бедную шванновской стромой нейробластому [1].

Нейробластома, подразделяющаяся, в свою очередь, на недифференцированную, низкодифференцированную и дифференцирующуюся формы, пред-

ставляет собой наиболее распространенную экстракраниальную солидную опухоль у детей. На ее долю приходится около 8% от всех злокачественных новообразований в детском возрасте [2, 3].

Прогноз эффективности лечения периферических нейрогенных опухолей определяется, в первую очередь, степенью дифференцировки клеточных элементов и объемом содержания шванновской стромы, то есть гистологическим вариантом опухоли. При этом прогноз нейробластомы варьируется в широких пределах от опухолей, склонных к спонтанной

регрессии и созреванию, до высокоагрессивных форм, и не может быть определен только на основании гистопатологических свойств опухоли. Множество факторов характеризуют степень агрессивности нейробластомы и лежат в основе стратификации пациентов на группы риска, среди них возраст на момент постановки диагноза, распространенность опухолевого процесса и генетические признаки опухолевых клеток [3, 4]. Основными цитогенетическими aberrациями, определяющими неблагоприятное течение нейробластомы и ганглионейробластомы, являются амплификация гена *MYCN*, делеция короткого плеча хромосомы 1 и делеция длинного плеча хромосомы 11. При этом только амплификация гена *MYCN* является универсальным негативным прогностическим маркером опухоли, имеющим критическое значение для выбора терапии, согласно основным национальным и международным протоколам лечения нейробластомы [4–7].

Амплификация гена *MYCN*, встречающаяся с частотой до 25% случаев нейробластомы, приводит к конститутивной гиперэкспрессии транскрипционного фактора N-MYC, что приводит к стимуляции пролиферации, репликативной иммортализации и блокированию дифференцировки опухолевой клетки. Данный эффект достигается за счет индукции генов *TERT*, *ODC1*, *CDK4*, *MDM2*, *AURKA* и репрессии *RARA*, *RXRA*, *RORA* [8–10]. Определение амплификации гена *MYCN* является обязательным для выбора риск-адаптированной терапии. Основные методы выявления aberrации — флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH), различные варианты ПЦР и сравнительная геномная гибридизация, предполагающие анализ клеток опухоли и выделенной из них ДНК. Таким образом, получение опухолевого материала необходимо как для морфологической верификации опухолевого процесса, так и для определения прогностически значимых генетических aberrаций, включая амплификацию гена *MYCN*. При этом малый возраст ребенка или наличие жизнеугрожающих состояний препятствует выполнению хирургического вмешательства и сдвигает фокус в сторону малоинвазивных или неинвазивных диагностических технологий, не уступающих в информативности биопсии. Так, протокол немецкой группы по изучению нейробластомы NB2004 позволяет оценивать наличие неблагоприятных цитогенетических маркеров опухоли в цитологических образцах костного мозга пациентов с 4 стадией нейробластомы, при условии содержания более 60% опухолевых клеток в препарате. Исследование циркулирующей опухолевой ДНК также может служить источником информации о наличии неблагоприятных генетических маркеров, в частности, амплификации гена *MYCN* или наличия сегментарных хромосомных aberrаций. В этом случае молекулярно-генетическими методами выбора будут цифровая ПЦР, сравнительная геномная гиб-

ридизация или полногеномное секвенирование с низким покрытием [11, 12].

Магнитно-резонансная томография (МРТ) не сопровождается лучевой нагрузкой, дает информацию о локализации солидной опухоли, ее объеме, наличии метастазов, позволяет определить факторы хирургического риска опухоли. Возможность получения информации о всем массиве новообразования с последующей количественной оценкой, позиционирует МРТ как способ неинвазивной оценки структуры и клеточности опухоли [13]. В исследованиях S. Gassenmaier и соавт. и H. Neubauer и соавт. было показано, что коэффициент диффузии, определяемый с помощью диффузионно-взвешенной магнитно-резонансной томографии (DWI МРТ), находится в обратной зависимости от содержания быстро пролиферирующих примитивных клеток, и напротив, увеличивается при возрастании содержания стромы и зрелого компонента в опухоли. Будучи гетерогенными по содержанию недифференцированного и дифференцированного компонентов, шванновской стромы, нейрогенные опухоли имеют различный коэффициент диффузии, позволяющий уверенно отличать нейробластому от ганглионейробластомы и ганглионевромы [13, 14]. Нейробластома с амплификацией гена *MYCN* характеризуется незрелым фенотипом, чаще всего являясь недифференцированной или низкодифференцированной. Ожидается, что данные опухоли будут иметь меньший коэффициент диффузии, по сравнению с опухолями, без амплификации гена *MYCN*, имеющими более зрелый фенотип. Данная гипотеза была подтверждена H. Neubauer и соавт. на ограниченной выборке пациентов, где было показано, что нейробластома с амплификацией *MYCN* характеризуется меньшим измеряемым коэффициентом диффузии (ИКД), чем опухоли без данной aberrации [14]. Установление зависимости между ИКД и наличием амплификации гена *MYCN* на значительной когорте пациентов позволило бы использовать DWI МРТ для прецизионной неинвазивной диагностики нейробластомы.

Материалы и методы. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ НМИЦ ДГОИ имени Дмитрия Рогачева, протокол № 9э/4-20, от 18.12.2020, во всех случаях получены информированные согласия родителей или законных представителей пациентов для обработки персональных данных и медицинской документации пациентов.

Ретроспективно были проанализированы данные 110 пациентов с первичными периферическими нейрогенными опухолями различной степени дифференцировки, проходивших терапию или получавших консультативное заключение по представленным клиническим данными и данным визуализации в НМИЦ ДГОИ имени Дмитрия Рогачева в период с 2012 по 2022 г. Всем пациентам выполнена биопсия или резекция опухоли с последующим патоморфологическим и цитогенетическим исследованием материала

в НМИЦ ДГОИ имени Дмитрия Рогачева, а также DWI МРТ до выполнения хирургической операции и начала химиотерапии.

Определение амплификации гена *MYCN* методом FISH было выполнено на фиксированной и залитой в парафиновый блок ткани опухоли с использованием зондов N-MYC, 2p24.3, Red/LAF4, 2q11.2, Green (OGT, UK). Интерпретация результатов исследования осуществлялась, согласно протоколу NB2004. В случае четырехкратного преобладания количества сигналов от региона 2p24.3 над количеством сигналов от региона 2q11.2 делался вывод о наличии амплификации, при соотношении 1,5–4 — об увеличении числа копий *MYCN*, не достигающего порога амплификации, при равном количестве сигналов от указанных регионов — о нормальном числе копий гена *MYCN*.

Исследуемая когорта включала 12 пациентов с ганглионевромами, 10 — со смешанными ганглионейробластомами, 88 — с нейробластомами. Возраст пациентов на момент постановки диагноза находился в диапазоне от 15 дней до 16 лет, медиана возраста составила 17 месяцев.

Все пациенты с ганглионевромами и ганглионейробластомами имели локализованную опухоль и относились к группе наблюдения, согласно критериям протокола NB2004. Распределение пациентов с нейробластомой по стадиям было следующим: стадия 1 — 9 пациентов, стадия 2 — 20 пациентов, стадия 3 — 12 пациентов, стадия 4 — 30 пациентов, стадия 4S — 17 пациентов. 53 пациента относились к группе наблюдения, 9 — к группе промежуточного риска, 26 — к группе высокого риска. Амплификация гена *MYCN* была выявлена у 16 пациентов с нейробластомой (18,2%), из них у двух пациентов была 2 стадия опухоли, у двух — стадия 4S, у 12 — стадия 4. Также двух пациентов (2,3%) было выявлено увеличение числа копий гена *MYCN*, не достигающее порога амплификации. Среди пациентов с ганглионевромами и ганглионейробластомами аберрации гена *MYCN* не были выявлены ни в одном случае.

Всем пациентам до проведения диагностических и терапевтических вмешательств было проведено МРТ исследование с выполнением диффузионно-взвешенных изображений (DWI) и построением карт для определения измеряемого коэффициента диффузии (ИКД). 78 пациентов, проходивших лечение в НМИЦ ДГОИ имени Дмитрия Рогачева, были обследованы на томографах Philips Achieva с индукцией магнитного поля 3 Тл и GE Signa, с индукцией магнитного поля 1,5 Тл с использованием поверхностных 8-канальных катушек для сканирования тела. Данные визуализации 32 пациентов, присланные в НМИЦ ДГОИ имени Дмитрия Рогачева на официальный референс, были выполнены на аппаратах марок Philips, GE и Siemens с индукцией магнитного поля 1,5 Тл. Все исследования состояли из стандартных МРТ последовательностей

области шеи, органов грудной клетки, брюшной полости, малого таза в зависимости от зоны интереса. DWI входили в стандартный пакет исследования и включали в себя получение карт диффузии (DWI 3b) по 3 b-факторам (50; 600; 800). Далее с использованием рабочей станции Philips (ISP 9.0, Philips, Netherlands) проводилось картирование DWI, полученных на томографе Philips и сбор данных измеряемого коэффициента диффузии (ИКД) ($\text{мм}^2/\text{с}$). Картирование DWI, полученных на томографах GE Signa и Siemens, проводилось в программе OsiriX (Швейцария). Выбор трех зон интереса ИКД выполнялся тремя независимыми рентгенологами в объеме опухоли на трех разных срезах в солидном компоненте опухоли с одинаковой площадью 10 мм^2 . Учитывалось среднее значение ИКД, полученное при исследовании трех зон интереса.

Статистический анализ был выполнен в программе XLSTAT 2021 (Addinsoft, Франция). Для определения пороговых значений ИКД, позволяющих разделять опухоли богатые (ганглионеврома и ганглионейробластома) и бедные (нейробластома) шванновской стромой, а также опухоли с наличием и отсутствием амплификации гена *MYCN*, был применен ROC-анализ (receiver operating characteristic). Различия качественных параметров в исследуемых группах пациентов анализировались с использованием критерия χ^2 , а количественных — с помощью критериев Манна–Уитни и Крускала–Уоллиса.

Результаты. Величина ИКД анализируемых опухолей находилась в диапазоне $0,48\text{--}2,07 \text{ мм}^2/\text{с}$. Медиана ИКД ганглионевромы составила $1,59 \text{ SD } 0,21 \text{ мм}^2/\text{с}$, ганглионейробластомы — $1,37 \text{ SD } 0,25 \text{ мм}^2/\text{с}$, нейробластомы — $0,86 \text{ SD } 0,23 \text{ мм}^2/\text{с}$. При этом опухоли с амплификацией гена *MYCN* характеризовались меньшим значением медианы ИКД $0,67 \text{ SD } 0,10 \text{ мм}^2/\text{с}$, по сравнению с нейробластомами, имеющими нормальное количество копий гена *MYCN* — $0,92 \text{ SD } 0,23 \text{ мм}^2/\text{с}$. Два пациента с увеличением числа копий гена *MYCN* в клетках опухоли имели ИКД, равные $0,67$ и $0,48 \text{ мм}^2/\text{с}$. Учитывая тот факт, что протокол NB2004 не подразумевает изменения группы риска пациента при выявлении увеличения числа копий гена *MYCN*, в дальнейшем данные пациенты рассматривались в группе больных, имеющих нормальное число копий гена *MYCN*.

Получены достоверные различия в уровне ИКД между ганглионевромами и нейробластомами, ганглионейробластомами и нейробластомами, а также между нейробластомами с наличием и отсутствием амплификации гена *MYCN*, уровень значимости с поправкой Бонферрони — $0,008$. При этом различий в уровне ИКД среди опухолей, богатых шванновской стромой (ганглионевромы и ганглионейробластомы), отмечено не было (рис. 1).

Среди пациентов с нейробластомой наименьшие показатели ИКД опухоли были отмечены у больных, имеющих клинические неблагоприятные прогности-

ческие факторы. Пациенты с 4 стадией нейробластомы имели ИКД первичного очага $0,68 \pm 0,18 \text{ мм}^2/\text{с}$, что было значительно ниже ИКД опухолей 1, 2, 3 и 4S стадий, которые между собой достоверно не различались (медиана $1,09 \pm 0,29 \text{ мм}^2/\text{с}$; $0,95 \pm 0,21 \text{ мм}^2/\text{с}$; $0,92 \pm 0,19 \text{ мм}^2/\text{с}$ и $0,94 \pm 0,23 \text{ мм}^2/\text{с}$ соответственно), уровень значимости с поправкой Бонферрони — $0,005$ (рис. 2).

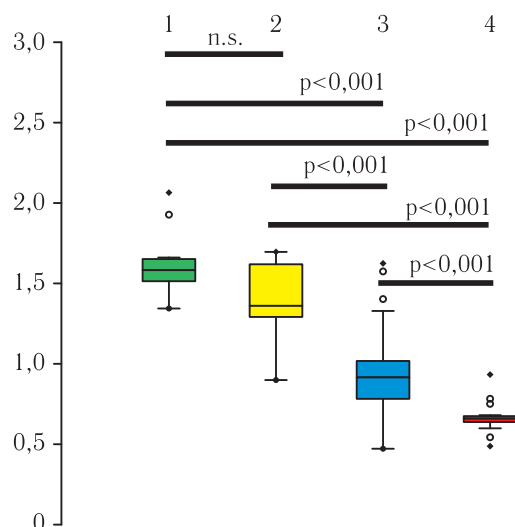


Рис. 1. Измеряемый коэффициент диффузии ганглионевром (1), ганглионейробластом (2), нейробластом с отсутствием (3) и наличием (4) амплификации гена *MYCN*

Fig. 1. Measured diffusion coefficient of ganglioneuroma (1), ganglioneuroblastoma (2), neuroblastoma with absence (3) and presence (4) of *MYCN* gene amplification

ИКД опухолей (ганглионейробластом и нейробластом) у пациентов, относящихся к группе наблюдения, напротив, был значительно выше ($0,96 \pm 0,23 \text{ мм}^2/\text{с}$), чем у пациентов групп промежуточного и высокого риска ($0,86 \pm 0,14 \text{ мм}^2/\text{с}$ и $0,67 \pm 0,17 \text{ мм}^2/\text{с}$), уровень значимости с поправкой Бонферрони — $0,017$. Аналогично больные нейробластомой в возрасте до 18 месяцев ($n=61$) характеризовались значительно большим ИКД опухоли ($0,93 \pm 0,24 \text{ мм}^2/\text{с}$), по сравнению с больными старше 18 месяцев ($n=27$, $0,76 \pm 0,18 \text{ мм}^2/\text{с}$), $p=0,001$.

Учитывая наличие достоверных различий в уровне ИКД опухолей богатых и бедных шванновской стромой ($p=1,53 \times 10^{-10}$) и нейробластомы с наличием и отсутствием амплификации гена *MYCN* ($p=9,17 \times 10^{-6}$), был использован ROC-анализ для определения пороговых значений ИКД, позволяющих различать данные типы опухолей, таким образом, осуществляя неинвазивную диагностику морфологического варианта опухоли и статуса гена *MYCN*, как основного генетического прогностического фактора.

ROC-анализ показал, что введение порогового значения ИКД, равного $1,25 \text{ мм}^2/\text{с}$, позволяет достоверно дифференцировать опухоли богатые (ганглионеврома и ганглионейробластома) и бедные (нейробластома) шванновской стромой, $p<0,001$, площадь под ROC-кривой — $0,96$, чувстви-

тельность — $0,95$, специфичность — $0,94$ (рис. 3, а). Аналогично уровень ИКД опухоли, соответствующий $0,78 \text{ мм}^2/\text{с}$, позволяет уверенно различать нейробластому с наличием и отсутствием амплификации гена *MYCN* ($p<0,001$), площадь под ROC-кривой — $0,84$, чувствительность — $0,94$, специфичность — $0,75$ (рис. 3, б).

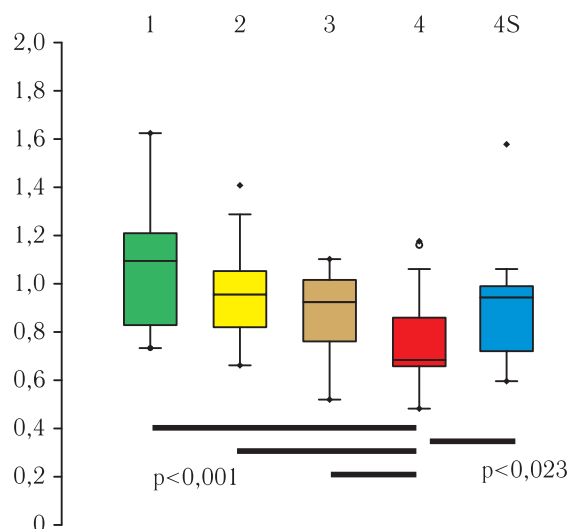


Рис. 2. Измеряемый коэффициент диффузии нейробластом в зависимости от стадии заболевания, INSS (для стадий 4 и 4S приведены показатели ИКД первичного очага)

Fig. 2. Measured diffusion coefficient of neuroblastomas depending on the stage of the disease, INSS (for stages 4 and 4S, the ICD of the primary lesion is given)

На рис. 4 суммированы величины ИКД всех проанализированных случаев с обозначением пороговых значений, позволяющих дифференцировать ганглионевромы и ганглионейробластомы (ИКД $\geq 1,25 \text{ мм}^2/\text{с}$) от нейробластомы без амплификации гена *MYCN* ($0,78 < \text{ИКД} < 1,25 \text{ мм}^2/\text{с}$) и с наличием амплификации (ИКД $\leq 0,78 \text{ мм}^2/\text{с}$) на основании количественной МРТ.

Обращают на себя внимание два случая с нетипичными для соответствующих групп значениями ИКД. В одном из них у ребенка 21 мес опухоль надпочечника состояла из полей зрелой шванновской стромы с разбросанными ганглиозными клетками различной степени зрелости и участков низкодифференцированных и дифференцирующихся нейробластов в окружении сети нейропиля, что соответствует диагнозу смешанная ганглионейробластома. Согласно данным цитогенетического исследования, клетки опухоли не имели прогностически значимых aberrаций (амплификации гена *MYCN*, делеций 1p и 11q), но были триплоидны по анализируемым и референсным локусам хромосом 1, 2 и 11. При этом ИКД опухоли составил $0,90 \text{ мм}^2/\text{с}$, что не характерно для опухолей, богатых шванновской стромой. Пациентка была стратифицирована в группу наблюдения и находится в продолжающейся ремиссии в течение 42 мес.

Во втором случае у ребенка 14 мес опухоль средостения на светооптическом уровне имела гнездное

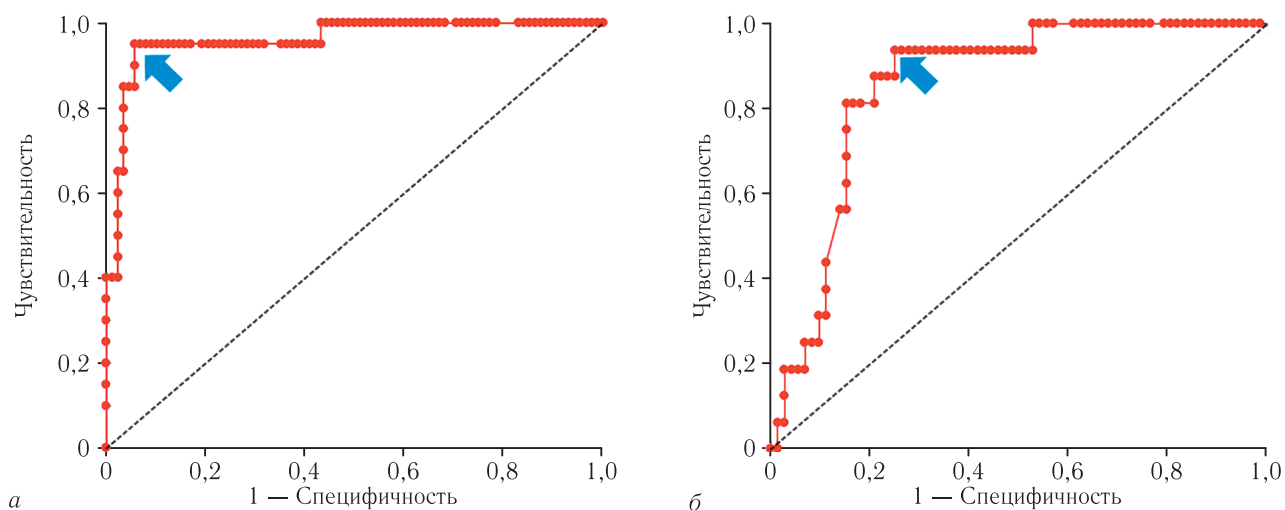


Рис. 3. ROC-кривые, соответствующие разделению нейрогенных опухолей богатых и бедных шванновской стромой (а) и нейробластомы с отсутствием и наличием амплификации гена *MYCN* (б) на основании измеряемого коэффициента диффузии опухоли. Пороговые значения обозначены стрелкой

Fig. 3. ROC curves corresponding to the separation of neurogenic tumors rich and poor in Schwann stroma (а) and neuroblastoma with the absence and presence of *MYCN* gene amplification (б) based on the measured tumor diffusion coefficient. Threshold values are indicated by an arrow

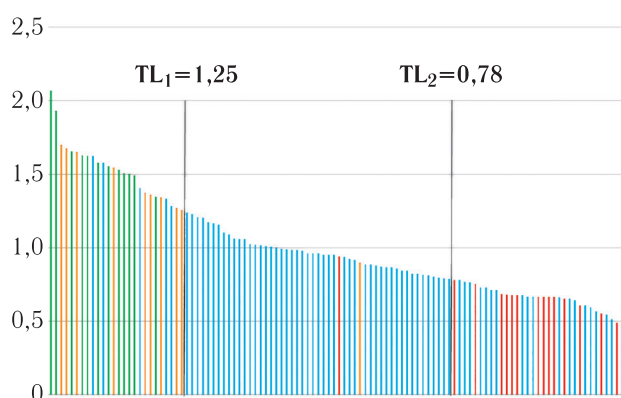


Рис. 4. Величины измеряемого коэффициента диффузии проанализированных нейрогенных опухолей (ганглионевромы обозначены зеленым цветом, ганглионейробластомы — желтым, нейробластомы без амплификации *MYCN* — синим, нейробластомы с амплификацией *MYCN* — красным) с указанием пороговых значений, позволяющих разделять опухоли, богатые и бедные шванновской стромой (TL_1), и нейробластомы с отсутствием и наличием амплификации гена *MYCN* (TL_2)

Fig. 4. The values of the measured diffusion coefficient of the analyzed neurogenic tumors (ganglioneuromas are indicated in green, ganglioneuroblastomas are indicated in yellow, neuroblastomas without *MYCN* amplification are indicated in blue, neuroblastomas with *MYCN* amplification are indicated in red), indicating the threshold values that allow the separation of tumors rich and poor in Schwann stroma (TL_1) and neuroblastomas with absence and presence of *MYCN* (TL_2) gene amplification

строение и была сформированная мелкими клеточными элементами с высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением. Ядра опухолевых клеток округлые с мелкоглыбчатым хроматином. Между клетками определялось тонкосетчатое слабозозинофильное

вещество (нейропиль). Между гнездами опухоли были отмечены тонкие тяжи волокнистой стромы. Таким образом, был верифицирован диагноз низкодифференцированной нейробластомы, бедный стромой вариант, с низким индексом митоз-кариорексис. При исследовании методом FISH была обнаружена амплификация гена *MYCN*. ИКД опухоли составлял $0,94 \text{ мм}^2/\text{с}$, что значительно превосходит значения, полученные для нейробластомы с амплификацией гена *MYCN*. Для установления типа и истинных геномных границ aberrации, геномная ДНК, выделенная из фиксированной ткани опухоли, была исследована методом сравнительной геномной гибридизации с использованием чипов CytoSure Cancer + SNP Arrays $4 \times 180\text{K}$ (OGT, Великобритания). На коротком плече хромосомы 2 была выявлена aberrация $\text{arr[hg19]} \quad 2\text{p}24.3\text{p}24.2(13757965-18367872) \times 4$, включающая ген *MYCN* и соответствующая увеличению числа копий, не достигающего порога амплификации на фоне трисомии 2 (рис. 5). Также были обнаружены моносомия 9 и увеличение числа копий $17\text{q}22\text{q}25.3$. На основании обнаружения амплификации гена *MYCN* методом FISH, больная была стратифицирована в группу высокого риска и получила соответствующую терапию. В настоящее время пациентка находится в ремиссии с периодом наблюдения 65 мес.

Обсуждение. Современная диагностика периферических нейрогенных опухолей предполагает не только исследование патоморфологии новообразования, но и обязательное определение цитогенетических aberrаций, имеющих прогностическое значение. Морфологический вариант опухоли, как и наличие aberrаций, является основанием для выбора терапевтической стратегии: ганглионевромы рассматриваются как доброкачественные опухоли, не требующие проведения специфического систем-

ного лечения, тогда как амплификация гена *MYCN* служит универсальным предиктором агрессивной формы нейробластомы и ганглионейробластомы. Для нейrogenных опухолей отмечен высокий уровень внутриопухолевой гетерогенности, проявляющийся в виде скопления недифференцированных нейробластов среди массива дифференцированной опухоли, наличия гетерогенной амплификации *MYCN* или субклональных генетических aberrаций (мутаций или аномалий числа копий хромосомных регионов). Морфологическое, цитогенетическое или молекулярное исследование всего массива опухоли позволяет достоверно выявлять признаки внутриопухолевой гетерогенности, однако одномоментное удаление всего новообразования зачастую невозможно, особенно в случае наличия хирургических факторов риска, определяемых при визуализации.

Полученные нами данные свидетельствуют о возможности уверенного разделения гистологических типов нейrogenных опухолей (ганглионевром, ганглионейробластом от нейробластом) на основании единственного суррогатного МР-маркера — ИКД. Величина ИКД, равная $1,25 \text{ мм}^2/\text{с}$ позволяет с вероятностью 96% дифференцировать опухоли богатые и бедные шванновской стромой. Более важным результатом исследования оказалась возможность прогнозировать наличие амплификации гена *MYCN* на основании величины ИКД опухоли. Опухоли с ИКД менее $0,78 \text{ мм}^2/\text{с}$ с вероятностью 84% имеют амплификацию *MYCN*. При этом на сегодняшний день очевидно, что не только активация *MYCN* определяет агрессивное течение нейробластомы — в формирование фенотипа опухоли высокого и ультравысокого риска вносят вклад



Рис. 5. Увеличение числа копий региона 2p24.3p24.2, не достигающее порога амплификации (обозначено стрелкой)
Fig. 5. Increase in the number of copies of the 2p24.3p24.2 region, not reaching the amplification threshold (indicated by an arrow)

Методы медицинской визуализации позволяют оценить распространенность опухоли и неинвазивно исследовать весь объем новообразования, в том числе в частях, недоступных для биопсии. Данные количественной МРТ позволяют косвенно судить о клеточности выбранного объема ткани, пролиферативной активности клеток, содержании стромы. Одним из интегральных показателей, характеризующих клеточный состав региона интереса, является ИКД, находящийся в обратной зависимости от доли стромы и зрелого компонента опухоли.

Математические модели, основанные на данных количественной МРТ и текстурного анализа опухоли, позволяют уверенно разделять гистологические варианты нейrogenных опухолей (богатые и бедные шванновской стромой) [15], однако их эффективность в прогнозировании наличия амплификации гена *MYCN* не превышает 78% [16].

мутации в генах, кодирующих компоненты сигнальных путей RAS и p53 и активация канонического или альтернативного механизма удлинения теломер [8]. Таким образом, выделение подгруппы нейробластомы с экстремально ограниченной диффузией может стать не только признаком опухолей с амплификацией гена *MYCN*, но универсальным радиогеномным маркером всех агрессивных вариантов нейробластомы вне зависимости от драйверного молекулярно-генетического события. Практическая ценность полученных результатов заключается в возможности неинвазивного определения биологических характеристик остаточных после резекции компонентов опухоли, которые, в силу внутриопухолевой гетерогенности, могут отличаться от удаленного фрагмента опухоли, исследованного в лабораторных условиях. При этом возможности количественной МРТ в прогнозировании наличия амплификации гена *MYCN*

могут быть ограничены феноменом гетерогенной амплификации, при котором абберация выявляется в части опухолевых клеток и ограничение диффузии опухолевого очага может быть недостаточно выраженным. Кроме того, в исследование не были включены случаи ганглионейробластомы с наличием амплификации гена *MYCN*, которые, несмотря на редкость встречаемости, могут быть некорректно интерпретированы на основании данных количественной МРТ.

Заключение. МРТ с количественной оценкой всего объема опухоли, открывает возможности неинвазивного исследования клеточного состава и биологических характеристик периферических нейрогенных опухолей. Предоперационное проведение МРТ

позволяет определить, как хирургические факторы риска, так и регионы опухоли с наибольшим ограничением диффузии, лабораторное исследование которых позволит снизить гиподиагностику неблагоприятных прогностических маркеров, возникающую по причине внутриопухолевой гетерогенности. МР-исследование резидуальных компонентов опухоли позволит оценивать их потенциал злокачественности на основании ИКД. Количественная МРТ представляется перспективной с точки зрения прогнозирования наличия неблагоприятных молекулярно-генетических аббераций в клетках опухоли, однако полученные данные нуждаются в валидации в рамках проспективных исследований с оценкой вклада различных факторов риска в исход заболевания.

Сведения об авторах:

Терещенко Галина Викторовна — кандидат медицинских наук, врач-рентгенолог, заведующая отделением рентгенологии, руководитель научного отдела лучевой диагностики федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 117997, Москва, Саморы Машела, д. 1; e-mail: Galina.Tereshchenko@fccho-moscow.ru; ORCID 0000-0001-7317-7104;

Лопатина Вера Алексеевна — врач-рентгенолог, сотрудник научного отдела федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 117997, Москва, Саморы Машела, д. 1; e-mail: Vera.Lopatina@fccho-moscow.ru; ORCID 0000-0003-3093-8086;

Земцова Людмила Васильевна — биолог лаборатории молекулярной онкологии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 117997, Москва, Саморы Машела, д. 1; e-mail: Ludmila.Zemcova@fccho-moscow.ru; ORCID 0000-0002-0993-9183;

Коновалов Дмитрий Михайлович — кандидат медицинских наук, врач-патологоанатом, заведующий патологоанатомическим отделением федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 117997, Москва, Саморы Машела, д. 1; e-mail: Dmitry.Konovalov@fccho-moscow.ru; ORCID 0000-0001-7732-8184;

Андреева Наталья Александровна — детский онколог федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 117997, Москва, Саморы Машела, д. 1; e-mail: Nataliya.Andreeva@fccho-moscow.ru; ORCID 0000-0001-5626-218X;

Шаманская Татьяна Викторовна — доктор медицинских наук, врач — детский онколог, заведующая отделом изучения эмбриональных опухолей федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 117997, Москва, Саморы Машела, д. 1; e-mail: Tatyana.Shamanskaya@fccho-moscow.ru; ORCID 0000-0002-3767-4477;

Новичкова Галина Анатольевна — доктор медицинских наук, профессор, врач — детский гематолог, генеральный директор федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 117997, Москва, Саморы Машела, д. 1; e-mail: Galina.Novichkova@fccho-moscow.ru; ORCID 0000-0002-2322-5734;

Качанов Денис Юрьевич — доктор медицинских наук, врач — детский онколог, заведующий отделением клинической онкологии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 117997, Москва, Саморы Машела, д. 1; e-mail: Denis.Kachanov@fccho-moscow.ru; ORCID 0000-0002-0993-9183;

Друй Александр Евгеньевич — кандидат медицинских наук, врач-генетик, заведующий лабораторией молекулярной онкологии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 117997, Москва, Саморы Машела, д. 1; научный сотрудник Института медицинских клеточных технологий Российской Федерации, 20026, Екатеринбург, ул. Карла Маркса, д. 22а; e-mail: Alexander.Druy@fccho-moscow.ru; ORCID 0000-0003-1308-8622.

Information about the authors:

Galina V. Tereshchenko — Cand. of Sci. (Med.), radiologist, head of the radiology department, head of the scientific department of radiology diagnostics «Dmitry Rogachev National Medical Research Center Of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology» Russian Federation; 117997, Moscow, Samory Machela, 1; e-mail: Galina.Tereshchenko@fccho-moscow.ru; ORCID 0000-0001-7317-7104;

Vera A. Lopatina — radiologist, employee of the scientific department «Dmitry Rogachev National Medical Research Center Of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology» Russian Federation; 117997, Moscow, Samory Machela, 1; e-mail: Vera.Lopatina@fccho-moscow.ru; ORCID 0000-0003-3093-8086;

Lyudmila V. Zemtsova — biologist of the laboratory of molecular oncology Dmitry Rogachev National Medical Research Center Of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology» Russian Federation; 117997, Moscow, Samory Machela, 1; e-mail: Ludmila.Zemcova@fccho-moscow.ru; ORCID 0000-0002-0993-9183;

Dmitry M. Konovalov — Cand. of Sci. (Med.), pathologist, head of the pathological department «Dmitry Rogachev National Medical Research Center Of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology» Russian Federation; 117997, Moscow, Samory Machela, 1; e-mail: Dmitry.Konovalov@fccho-moscow.ru; ORCID 0000-0001-7732-8184;

Natalya A. Andreeva — pediatric oncologist «Dmitry Rogachev National Medical Research Center Of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology» Russian Federation; 117997, Moscow, Samory Machela, 1; e-mail: Nataliya.Andreeva@fccho-moscow.ru; ORCID 0000-0001-5626-218X;

Tatyana V. Shamanskaya — Dr. of Sci. (Med.), pediatric oncologist, head of the department for the study of embryonic tumors Dmitry Rogachev National Medical Research Center Of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology» Russian Federation; 117997, Moscow, Samory Machela, 1; e-mail: Tatyana.Shamanskaya@fccho-moscow.ru; ORCID 0000-0002-3767-4477;

Galina A. Novichkova — Dr. of Sci. (Med.), Professor, pediatric hematologist, General «Director Dmitry Rogachev National Medical Research Center Of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology» Russian Federation; 117997, Moscow, Samory Machela, 1; e-mail: Galina.Novichkova@fccho-moscow.ru; ORCID 0000-0002-2322-5734;

Denis Yu. Kachanov — Dr. of Sci. (Med.), pediatric oncologist, head of the department of clinical oncology «Dmitry Rogachev National Medical Research Center Of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology» Russian Federation; 117997, Moscow, Samory Machela, 1; e-mail: Denis.Kachanov@fccho-moscow.ru; ORCID 0000-0002-0993-9183;

Alexander E. Druy — Cand. of Sci. (Med.), geneticist, head of the laboratory of molecular oncology «Dmitry Rogachev National Medical Research Center Of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology» Russian Federation; 117997, Moscow, Samory Machela, 1; Researcher at the Institute of Medical Cell Technologies of the Russian Federation, 22 Karl Marx St., Yekaterinburg, 20026; e-mail: Alexander.Druy@fccho-moscow.ru; ORCID 0000-0003-1308-8622.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Наибольший вклад распределен следующим образом: концепция и план исследования — Г.В. Терещенко, А.Е. Друй, Т.В. Шаманская, Д.Ю. Качанов, Г.А. Новичкова; сбор и математический анализ данных — Г.В. Терещенко, А.Е. Друй, В.А. Лопатина, Л.В. Земцова, Д.М. Коновалов, Н.А. Андреева; подготовка рукописи — Г.В. Терещенко, А.Е. Друй.

Authors' contributions. All authors met the ICMJE authorship criteria. Special contribution aided in the concept and plan of the study — TGV, DAE, ShTV, KDYu, NGA; provided collection and mathematical analysis of data — TGV, DAE, LVA, ZLV, KDM, ANA; preparation of the manuscript — TGV, DAE.

Потенциальный конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare that they have no competing interests.

Соответствие принципам этики: Исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ НМИЦ ДГОИ имени Дмитрия Рогачева, протокол № 9э/4-20, от 18.12.2020. Информированное согласие получено от каждого законного представителя пациента.

Adherence to ethical standards: The study was approved by the Ethics Committee of Dmitry Rogachev National Medical Research Center Of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, № 9э/4-20, from 18.12.2020 Informed consent is obtained from all patients.

Поступила/Received: 19.10.2023

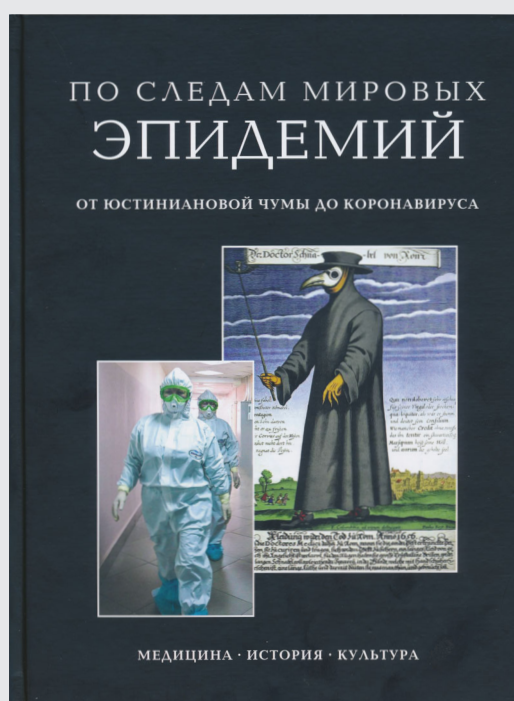
Принята к печати/Accepted: 29.05.2024

Опубликована/Published: 29.06.2024

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Nakazawa A., Haga C., Ohira M., Okita H., Kamijo T., Nakagawara A. Correlation between the International Neuroblastoma Pathology Classification and genomic signature in neuroblastoma // *Cancer Sci.* 2015. Vol. 106, No. 6. P. 766–771. doi: 10.1111/cas.12665.
2. Monclair T., Brodeur G.M., Ambros P.F. et al. The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) staging system: an INRG Task Force report // *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology.* 2009. Vol. 2, No. 27. P. 298–303, doi: 10.1200/JCO.2008.16.6876.
3. London W.B., Castleberry R.P., Matthay K.K. et al. Evidence for an age cutoff greater than 365 days for neuroblastoma risk group stratification in the Children's Oncology Group // *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology.* 2005. Vol. 27, No. 23. P. 6459–6465, doi: 10.1200/JCO.2005.05.571.
4. Cohn S.L., Pearson A.D., London W.B. et al. The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) classification system: an INRG Task Force report // *J. Clin. Oncol.* 2009. Vol. 27, No. 2. P. 289–297. doi: 10.1200/JCO.2008.16.6785.
5. Attiyeh E.F., London W.B., Mossé Y.P. et al. Chromosome 1p and 11q deletions and outcome in neuroblastoma // *N. Engl. J. Med.* 2005. Vol. 353, No. 21. P. 2243–2253. doi: 10.1056/NEJMoa052399.
6. Berthold F., Spix C., Kaatsch P., Lampert F. Incidence, Survival, and Treatment of Localized and Metastatic Neuroblastoma in Germany 1979-2015 // *Paediatr Drugs.* 2017. Vol. 19, No. 6. P. 577–593. doi: 10.1007/s40272-017-0251-3.
7. Liang W.H., Federico S.M., London W.B., Naranjo A., Irwin M.S., Volchenboum S.L., Cohn S.L. Tailoring Therapy for Children With Neuroblastoma on the Basis of Risk Group Classification: Past, Present, and Future // *JCO Clin Cancer Inform.* 2020. Vol. 4. P. 895–905. doi: 10.1200/CCI.20.00074.
8. Ackermann S., Cartolano M., Hero B. et al. A mechanistic classification of clinical phenotypes in neuroblastoma // *Science.* 2018. Vol. 362, No. 6419. P. 1165–1170. doi: 10.1126/science.aat6768.
9. Kumps C., Fieuw A., Mestdagh P., et al. Focal DNA copy number changes in neuroblastoma target MYCN regulated genes // *PLoS One.* 2013. Vol. 8, No. 1. e52321. doi: 10.1371/journal.pone.0052321.
10. Zhang Q., Zhang Q., Jiang X., et al. Collaborative ISL1/GATA3 interaction in controlling neuroblastoma oncogenic pathways overlapping with but distinct from MYCN // *Theranostics.* 2019. Vol. 9, No. 4. P. 986–1000. doi: 10.7150/thno.30199.
11. Chicard M., Boyault S., Colmet Daage L. et al. Genomic Copy Number Profiling Using Circulating Free Tumor DNA Highlights Heterogeneity in Neuroblastoma // *Clin. Cancer Res.* 2016. Vol. 22, No. 22. P. 5564–5573. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0500.
12. Van Roy N., Van Der Linden M., Menten B. et al. Shallow Whole Genome Sequencing on Circulating Cell-Free DNA Allows Reliable Noninvasive Copy-Number Profiling in Neuroblastoma Patients // *Clin. Cancer Res.* 2017. Vol. 23, No. 20. P. 6305–6314. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0675.

13. Gassenmaier S., Tsiflikas I., Fuchs J. et. al. Feasibility and possible value of quantitative semi-automated diffusion weighted imaging volumetry of neuroblastic tumors // *Cancer Imaging*. 2020. Vol. 20 (1). P. 89. doi: 10.1186/s40644-020-00366-3.
14. Neubauer H., Li M., Müller V.R., Pabst T., Beer M. Diagnostic Value of Diffusion-Weighted MRI for Tumor Characterization, Differentiation and Monitoring in Pediatric Patients with Neuroblastic Tumors // *RoFo Fortschritte auf dem Gebiet der Röntgenstrahlen und der Bildgebenden Verfahren*. 2017. Vol. 7, No. 189. P. 640–650. doi: 10.1055/s-0043-108993.
15. Wang H., Chen X., Yu W. et al. Whole-tumor radiomics analysis of T2-weighted imaging in differentiating neuroblastoma from ganglioneuroblastoma/ganglioneuro-
ma in children: an exploratory study // *Abdom. Radiol. (NY)*. 2023. Vol. 48, No. 4. P. 1372–1382. doi: 10.1007/s00261-023-03862-9.
16. Ghosh A., Yekeler E., Teixeira S.R. Role of MRI radiomics for the prediction of MYCN amplification in neuroblastomas // *Eur. Radiol.* 2023. Vol. 33, No. 10. P. 6726–6735. doi: 10.1007/s00330-023-09628-7. Epub 2023 May 13.



Авторы:

Н. А. Беляков, Т. Н. Трофимова, Е. Н. Кулагина, Д. В. Митюрин,
А. К. Тучапский, В. В. Фирсов, Ю. Б. Шелаев, Е. П. Шелаева

В издании собраны и изложены в исторической последовательности материалы, относящиеся к эпидемиям и пандемиям наиболее опасных для человечества заболеваний. Показано, какое влияние оказывали они на общий ход истории и различные стороны человеческого бытия, на развитие науки, прежде всего медицины, техники, производства, как отразились в искусстве и литературе. Представлена целая галерея ученых, внесших весомый вклад в борьбу со смертоносными инфекциями. В книгу вошло около 430 иллюстраций. Издание рассчитано на медицинских работников и широкий круг читателей.

**ПРИБРЕСТИ КНИГУ ВЫ МОЖЕТЕ НА САЙТЕ
БАЛТИЙСКОГО МЕДИЦИНСКОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО ЦЕНТРА
<https://bmoc-spb.ru/izdat/>, тел.: (812) 956-92-55**