

На правах рукописи

РЫНДА  
АРТЕМИЙ ЮРЬЕВИЧ

ФОТОДИАГНОСТИКА И ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ГЛИОМ  
ПОЛУШАРИЙ БОЛЬШОГО МОЗГА

14.01.18 – нейрохирургия

АВТОРЕФЕРАТ  
диссертации на соискание учёной степени  
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург  
2019

Работа выполнена в «Российском научно-исследовательском нейрохирургическом институте им. проф. А.Л. Поленова» – филиале ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» МЗ РФ в отделении хирургии опухолей головного и спинного мозга №1

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор  
Олюшин Виктор Емельянович

Официальные оппоненты: Кривошапкин Алексей Леонидович  
член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук,  
профессор, заведующий кафедры нейрохирургии  
ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный  
медицинский университет» МЗ РФ

Щербук Александр Юрьевич  
доктор медицинских наук, профессор  
кафедры нейрохирургии и неврологии медицинского  
факультета ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский  
государственный университет»

Ведущая организация: ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия  
непрерывного профессионального образования» МЗ  
РФ

Защита состоится «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 г. в \_\_\_ час на заседании  
диссертационного совета Д 208.054.02 при ФГБУ «Национальный медицинский  
исследовательский центр им. В.А. Алмазова» МЗ РФ (191014, Санкт-Петербург,  
ул. Маяковского, дом 12)

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Российского  
научно-исследовательского нейрохирургического института имени профессора  
А.Л. Поленова и на сайте: <http://www.almazovcentre.ru>

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор Иванова Наталия Евгеньевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность исследования

Прогноз для пациентов с глиальными новообразованиями головного мозга остается неблагоприятным, несмотря на, достижения и разработки различных методик последних десятилетий. (Улитин А.Ю., 1997; Stupp R. et al., 2005; Зозуля Ю.А., 2007; Потапов А.А. с соавт., 2012; Мартынов Б.В., 2013; Олюшин В.Е., 2013; Patel V.N. et al., 2013; Ostrom Q.T. et al., 2015).

Так, средняя продолжительность жизни больных злокачественными глиомами находится в диапазоне 18–23 мес. для Grade III глиом, 12–15 мес. для Grade IV глиом. (Улитин А.Ю., 1997; Зозуля Ю.А., 2007; Stupp R. et al., 2009; Коновалов А.Н., 2012; Patel V.N. et al., 2013; Wang X. et al., 2013; Олюшин В.Е., 2014; Ostrom Q.T. et al., 2015; Sawaya R. et al., 2016).

На данный момент остается актуальным вопрос поиска и совершенствования новейших методов качественной диагностики и лечения глиальных опухолей головного мозга. Одним из этих методов по праву может считаться проведение интраоперационной флуоресцентной диагностики (ФД) с последующим проведением интраоперационной фотодинамической терапии (ФДТ) (Олюшин В.Е., 2004; Kaneko S. et al., 2011; Johansson A. et al., 2013).

Фотодинамическая терапия является принципиально новым методом в лечении злокачественных опухолей головного мозга, основанным на способности фотосенсибилизаторов селективно накапливаться в ткани опухолей и при локальном воздействии лазерного облучения определенной длины волны генерировать образование синглетного кислорода и других активных радикалов, оказывая, цитотоксический эффект (Олюшин В.Е., 2004; Зозуля Ю.А., 2007; Stylli S.S. et al., 2011; Kaneko S., 2015; Ростовцев Д.М., 2016 и др.).

До настоящего времени остаются малоизученными вопросы применения метода фотодинамической терапии в хирургии глиом разной степени злокачественности, а также сравнительной эффективности метода у пациентов с глиальными поражениями головного мозга различных гистотипов.

### Степень разработанности темы

При использовании флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии в хирургии глиальных опухолей остается ряд нерешенных вопросов. Недостаточно освещены проблемы чувствительности и специфичности метода флуоресцентной диагностики с использованием разных флуоресцентов. Мало внимания уделено анализу ближайших и отдаленных результатов применения фотодинамической терапии. Спорным остаются вопросы интраоперационной дозы облучения, влияния проводимости ФДТ на выживаемость и величину безрецидивного периода. В отличие от работ других авторов, чьи исследования в основном базируются на препарате 5 АЛА, данное исследование основано на использовании принципиально нового препарата группы хлоринов Е6 2 поколения (Valdes P.A. et al., 2011; Zhao S.W. et al., 2013; Eljamel M.S. et al., 2015; Kaneko S. et al., 2015; Van Straten D. et al., 2017; Chernov M.F. et al., 2018; Shimizu K. et al., 2018; Osman H. et al., 2018; Tsai Y.C. et al., 2018; Chohan M.O. et al., 2019). Проанализированы результаты применения флуоресцентной диагностики с новым препаратом на видимом и гистологическом уровнях, выполнен сравнительный анализ с другими нейронавигационными методиками, определена чувствительность и специфичность метода. Выполнен и обобщён анализ результатов применения фотодинамической терапии, основываясь на данных ближайшего послеоперационного периодов и катамнеза.

### Цель исследования

Улучшить результаты лечения больных с астроцитарными опухолями больших полушарий головного мозга с помощью применения методов интраоперационной фотодиагностики и фотодинамической терапии и определения показаний использования данных методик в хирургии глиом.

### Задачи исследования

1. Определить возможности интраоперационного использования флуоресцентной диагностики с препаратом группы хлоринов Е6 в хирургии глиом головного мозга в зависимости от степени злокачественности опухоли.

2. Оценить эффективность флуоресцентной диагностики в зависимости от степени злокачественности опухоли на основе анализа морфологических результатов с использованием препарата Фотодитазин.

3. Определить безопасность и возможность интраоперационного применения ФДТ в хирургии злокачественных глиом с препаратом группы хлоринов Е6.

4. Оценить эффективность ФДТ с Фотодитазин по данным анализа ближайших и отдаленных результатов.

5. Оценить возможности использования интраоперационной флуоресцентной диагностики с последующим проведением интраоперационной фотодинамической терапии в хирургии глиальных опухолей.

#### Научная новизна

Выявлена достоверная корреляция интенсивности флуоресценции глиом головного мозга при использовании препарата хлорина Е6 2 поколения (Фотодитазин) со степенью злокачественности опухоли, интенсивностью накопления контраста на МРТ и метионина на ПЭТ.

Установлено развитие лечебного патоморфоза в клетках опухоли после проведенной ФДТ.

Получены данные, что применение интраоперационной фотодиагностики (флуоресцентной навигации) с препаратом Фотодитазин позволяет увеличить радикальность операции.

Доказано, что проведение интраоперационной фотодинамической терапии при удалении глиом головного мозга увеличивает продолжительность жизни и величину межрецидивного периода при комплексном лечении глиом головного мозга.

#### Теоретическая и практическая значимость исследования

Разработан метод комплексного лечения пациентов с глиальными новообразованиями головного мозга разной степени анаплазии, в состав которого входит: хирургическое удаление, интраоперационная флуоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия с препаратом Фотодитазин. Разработанный алгоритм и метод позволяют улучшить результаты лечения

больных с глиальными опухолями головного мозга в структуре комплексного лечения больных супратенториальными глиальными опухолями (повышение радикальности резекции, увеличение средней продолжительности жизни, медианы выживаемости и безрецидивного периода).

#### Методология и методы исследования

Методология исследования базируется на системном комплексном подходе, направленном на максимально полное изучение флуоресцентной хирургии и фотодинамической терапии глиальных опухолей разной степени злокачественности. Проводился анализ клинических проявлений, данных флуоресцентной диагностики, а также ближайших и отдаленных результатов лечения с применением методик, не входящих в стандарт терапии злокачественных глиом.

Диссертационное исследование проводилось в несколько этапов. На первом этапе анализировалась доступная отечественная и зарубежная литература, разрабатывался дизайн исследования. На втором этапе проводился отбор пациентов и включение их в исследование, обработка архивных историй болезни.

На третьем этапе проводился сбор катamnестических сведений и анализ полученных данных с применением статистических методов.

#### Положения, выносимые на защиту

1. Фотодиагностика и ФДТ являются эффективными методами лечения глиом полушарий большого мозга, позволяющими увеличить радикальность операции, увеличить безрецидивный период и медиану продолжительности жизни больных.

2. Степень накопления Фотодитазина и обусловленная им флуоресценция коррелируют со степенью злокачественности глиом и индексом накопления метионина на ПЭТ и контраста на МРТ головного мозга.

3. Методика интраоперационной флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии с препаратом Фотодитазин проста и безопасна.

### Степень достоверности и апробация результатов работы

Официальная апробация диссертации состоялась 07.11.18. на расширенном заседании проблемной комиссии «Комплексное лечение внутримозговых опухолей» РНХИ им. проф. А.Л. Поленова филиала ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова».

Основные положения диссертации были представлены и обсуждены на IV Японско-Русском нейрохирургическом симпозиуме (Хиросима, Япония, октябрь 2014), заседаниях Европейской ассоциации нейрохирургов EANS (2014, 2016, 2017, 2018), Всероссийских научно-практических конференциях «Поленовские чтения» (Санкт-Петербург, Россия, 2014, 2015, 2016, 2019), научно-практической конференции «Актуальные проблемы лазерной медицины» (ПСПБГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, май 2016), V Русско-Японском нейрохирургическом симпозиуме (Казань, Россия, июнь 2016), 655 заседании Санкт-Петербургской ассоциации нейрохирургов им. проф. И.С. Бабчина (Санкт-Петербург, Россия, июнь 2016), Сибирском нейрохирургическом конгрессе (Новосибирск, Россия, июль 2016), Всероссийских конференциях с международным участием «Фотодинамическая терапия и фотодиагностика» (2017, 2018), I Российско-Китайском конгрессе нейрохирургов (Уфа, Россия, октябрь 2017), II международном форуме Российско-Китайское биомедицинское сотрудничество в рамках инициативы «Один пояс – один путь» (Санкт-Петербург, Россия, ноябрь 2017), заседании Мировой федерации нейрохирургических обществ (World Federation of Neurosurgical Societies (WFNS) Symposia 2018) (Куала-Лумпур, Малайзия, август 2018), Конгрессе неврологических хирургов (Congress of Neurological Surgeons (CNS) Annual Meeting 2018) (Хьюстон, США, октябрь 2018), XXII Российском онкологическом конгрессе (Москва, Россия, ноябрь 2018).

### Внедрение результатов работы в практику

Результаты исследования внедрены в практику отделения хирургии опухолей головного и спинного мозга № 1 «РНХИ им. проф. А.Л. Поленова» – филиал ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, в учебный процесс

кафедры нейрохирургии имени профессора А.Л. Поленова ФГБОУ ВПО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова».

### Публикации

По материалам диссертации опубликовано 27 печатных работ, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации материалов диссертационных исследований, 1 статья – в зарубежном журнале, 22 тезисов.

### Личное участие автора в получении результатов

Научное исследование осуществлено в период с 2013 по 2016 г. Произведен анализ хирургического лечения 195 пациентов с установленным диагнозом «глиальная опухоль головного мозга». Диссертантом самостоятельно определены цели и задачи исследования и изучены данные мировой литературы, осуществлен сбор и анализ материалов, получены результаты. Весь материал научного исследования получен, проанализирован и обобщен автором. Вклад соискателя в сбор материала исследования составил 100%, в статистическую обработку полученных данных – 90%, в обобщение и анализ результатов работы – 100%. Самостоятельно написан текст научной работы и автореферата.

### Структура и объем диссертации

Диссертация представлена на 225 страницах машинописного текста, состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы и приложения. Работа содержит 34 таблицы, иллюстрирована 72 рисунками. Список литературы включает 385 работ, из них 41 – отечественных и 344 – зарубежных авторов.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

В качестве объекта выбраны пациенты с глиальными опухолями головного мозга супратенториальной локализации (степень злокачественности по классификации ВОЗ II–IV), граждане РФ, которые находились на стационарном лечении в 2002 по 2014 годы в IV отделении РНХИ им. проф. А.Л. Поленова филиала ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова».



Набор больных в группы осуществлялся с частичной рандомизацией (часть больных представлена историческим контролем). Часть историй болезни отбиралась из архива РНХИ им. проф. А.Л. Поленова. Всего проведен анализ лечения 195 оперированных пациентов с глиальными опухолями головного мозга супратенториальной локализации, разной степени злокачественности проходивших обследование и лечение в РНХИ им. проф. А.Л. Поленова (195 историй).

Всем больным проведено комплексное клиничко-неврологическое исследование до и после операции (осмотр нейроофтальмологом, ЛОР специалистом, неврологом, терапевтом), ЭЭГ, магнитно-резонансная томография (КТ) с контрастным усилением до операции и через 24–72 часа после операции, ПЭТ+КТ по возможности, оценка размеров опухоли.

97 больных (группа исследования) удаление опухоли с интраоперационной фотодинамической терапией и флуоресцентной диагностикой (у 28 пациентов – 28,9%) с препаратом группы хлоринов Е6 2 поколения Фотодитазин.

98 пациентов (контрольная группа), удаление опухоли без интраоперационной флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии.

В зависимости от степени злокачественности опухоли, для оценки результатов лечения, больные, как исследуемой, так и контрольной групп были подразделены на 3 подгруппы – Grade II, III, IV (по шкале Grade ВОЗ 2007г):

- 1 подгруппа – больные со степенью злокачественности опухоли по Grade – II;
- 2 подгруппа – больные со степенью злокачественности опухоли по Grade – III;
- 3 подгруппа – больные со степенью злокачественности опухоли по Grade – IV.

В дальнейшем, в зависимости от гистологической структуры опухоли, больные исследуемой и контрольной групп получали адьювантную терапию.

Всем больным выполнен морфологический анализ множественных биоптатов глиом полушарий большого мозга в лаборатории нейроморфологии РНХИ им. проф. А.Л. Поленова.

На основании полученных данных проведен комплексный клинический и статистический анализ.

Статистический анализ сопоставимости группы исследования и контрольной группы (в том числе и в каждой подгруппе) по полу, возрасту, гистологии опухоли по Grade, индексу Карновского до операции, размеру опухоли, радикальности резекции опухоли, подтверждает репрезентативность групп и подгрупп ( $p > 0,05$ ).

Распределение больных по гистологической классификации ВОЗ представлено в таблице 1.

Таблица 1. – Распределение больных в исследуемой и контрольной группах по гистологической классификации ВОЗ

Grade	ВОЗ	п- исследуемая гр.	п- контрольная гр.
Grade IV	Глиобластома	48 (48,5%)	49 (50%)
	Глиосаркома	1 (1,03%)	0 (0%)
Grade III	Анапластическая астроцитома	23 (23,7%)	27 (27,6%)
	Анапластическая олигоастроцитома	4 (4,12%)	2 (2,04%)
	Анапластическая олигодендроглиома	3 (3,1%)	3 (3,06%)
Grade II	Фибриллярно-протоплазматическая астроцитома	10 (10,31%)	12 (12,25%)
	Олигоастроцитома	5 (5,16%)	4 (4,08%)
	Олигодендроглиома	3 (3,09%)	1 (1,02%)
ИТО-ГО	-	97 (100%)	98 (100%)

Исходный индекс Карновского был сравним в обеих группах, и у большинства пациентов находился в интервале от 70 до 90 баллов в обеих группах (73% пациентов).

Все пациенты обеих групп были оперированы. Произведена костно-пластическая трепанация черепа и максимальное возможное удаление опухолевой ткани в пределах физиологической и функциональной дозволенности, а также с учетом возраста, состояния больного, топографо-анатомической локализации опухоли, характера роста, исходных размеров, выраженности перитуморозного отека, дислокации срединных структур.

Степень тотальности удаления опухоли в обеих группах оценивалась по данным МРТ (КТ) головного мозга в первые 72 часа после оперативного вмешательства. У подавляющего большинства пациентов в обеих группах удалось

достичь тотального или субтотального удаления опухоли. У пациентов, где вследствие инфильтративного роста опухоли, клинически значимая порция опухоли не подлежала резекции, она составила основу для дальнейшего прогрессирования заболевания в катамнезе.

Чаще всего в исследуемой группе опухоль была расположена в лобных (у 34 больных) и височных долях (у 25 пациентов), в контрольной группе чаще имела теменную (27 наблюдений) или височную локализации (24 наблюдения). В обеих группах опухолях реже располагалась в затылочных долях. У 29 (29,9%) пациентов исследуемой группы и 16 (16,3%) пациентов контрольной группы опухоль распространялась более чем на 1 долю.

Методика хирургического лечения с интраоперационной флуоресцентной диагностикой и фотодинамической терапией с препаратом Фотодитазин.

Во время нахождения больного на операционном столе, после вводного наркоза, за 1,5 – 2 часа до предполагаемого удаления опухолевой ткани, больному внутривенно вводили препарат Фотодитазин с действующим веществом – хлорин Е6, разведенный на 200 мл физиологического раствора из расчета 1 мг препарата на 1 кг массы тела больного.

Для проведения исследования в свете флуоресценции к операционному микроскопу (LEICA OHS–1) подключали флуоресцентную приставку собственного изготовления, а также телевизионно-компьютерную систему, включающую высокочувствительную цифровую ТВ камеру (разрешение 752×582, максимальная частота кадров 25 Гц) и специальное программное обеспечение, с помощью которого осуществлялось управление камерой, производилась оценка интенсивности флуоресценции в выбранном месте объекта и высококачественная фото и видео регистрация. Изображения в свете флуоресценции можно было наблюдать в режиме реального времени, как на экране компьютерного монитора, так и через окуляры микроскопа с устанавливаемыми в них желтыми светофильтрами. Флуоресцентная картина позволяет с высоким цветовым контрастом определить опухолевую ткань, накопившую Фотодитазин, относительно ткани, в которую препарат не проник. При этом неизменное

мозговое вещество также визуализируется. Светящуюся красным цветом ткань поэтапно удаляют с учетом физиологической дозованности.

После удаления опухолевой ткани по перифокальной зоне производили тщательный гемостаз. Затем в ложе удаленной опухоли помещали дистальный конец волоконного инструмента подключенному к лазерному источнику излучения длиной волны 662 нм с максимальной мощностью 2,5 Вт, и проводили фотодинамическое облучение.

Длительность облучения обычно не превышала 15–20 мин. Для исключения возможности температурного повреждения во время облучения производилось постоянное орошение ложа физиологическим раствором. Доза света составила от 65 до 416 Дж/см<sup>2</sup> (в среднем 180 Дж/см<sup>2</sup>). В течение суток после операции больной находится в темных очках для предотвращения попадания прямых солнечных лучей глаза, чтобы избежать ухудшения зрения из-за наличия остатков Фотодитазина на сетчатке.

## ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Оценка ближайших результатов послеоперационного периода

В ближайшем послеоперационном периоде осложнений связанных с применением Фотодитазина не отмечено.

Всем пациентам, в первые 72 часа после операции проведено МРТ (КТ) головного мозга, с целью выявления ранних послеоперационных осложнений и оценки степени радикальности оперативного вмешательства. Оценка ближайших послеоперационных результатов также проводилась по шкале Карновского. У пациентов медиана индекса Карновского в раннем послеоперационном периоде в обеих группах (исследования и контрольной) в зависимости от степени злокачественности опухоли составила в группе Grade II – 90 баллов, группе Grade III – 80 баллов, группе Grade IV – 75 баллов.

Нарастание неврологической симптоматики в раннем послеоперационном периоде в группе исследования было у 22 (22,7%) пациентов, в контрольной группе у 19 (19,4%) пациентов. В послеоперационном и катamnестическом

периодах между группами не было выявлено различий в степени проявления неврологического дефицита ( $p > 0,05$ ). Улучшение объективного состояния и регресса неврологического дефицита в разной степени отмечено в исследуемой группе у 15 пациентов (15,5%), в контрольной группе 14 (14,3%). У остальных пациентов неврологический статус был на дооперационном уровне.

#### Результаты флуоресцентной диагностики

28 пациентам проведена флуоресцентная диагностика с фотодитазином в процессе оперативного вмешательства.

Распределение пациентов, которым проводилась ФД, в зависимости от степени злокачественности опухоли по классификации Grade (ВОЗ 2007г):

Grade II (5 пациентов): 2 – фибриллярно-протоплазматические астроцитомы, 2 – олигоастроцитомы, 1 – олигодендроглиома.

Grade III (9 пациентов): 6 – анапластических астроцитом, 1 – анапластическая олигодендроглиома, 2 – анапластические олигоастроцитомы.

Grade IV (14 пациентов): 13 – глиобластом, 1 – глиосаркома.

Эффективность ФД оценивалась по результатам сопоставления данных визуальной оценки флуоресценции и морфологического исследования флуоресцирующей и не флуоресцирующей тканей.

У 25 из 28 больных отмечена флуоресценция опухоли и у всех 28 больных отсутствие флуоресценции визуально не измененных тканей головного мозга.

Следующим этапом всем больным выполнялся осмотр стенок полости удаленной опухоли во флуоресцентном режиме. У всех 28 больных, у которых определялась флуоресценция, зарегистрированы очаги флуоресценции на стенках полости удаленной опухоли. Взяты биоптаты не флуоресцирующих участков со стенок полости удаленной опухоли.

Для визуальной оценки интенсивности флуоресценции использована 4-х балльная шкала: 0 (–) – отсутствие видимой флуоресценции, 1(+) – слабо-красное свечение, 2(++), 3(+++) – красное свечение, 4(++++) – ярко-красное свечение (таблица 2).

При исследовании связи между степенью злокачественности опухоли по Grade и интенсивностью видимой флуоресценции выявлена достоверная

корреляция между данными параметрами ( $p < 0,05$ ). Видимая флуоресценция значительно чаще наблюдалась в группе опухолей Grade III – IV по сравнению с глиомами Grade I – II.

Таблица 2. – Распределение интенсивности видимой флуоресценции в хирургии глиом разной степени злокачественности

Grade опухоли	Интенсивность флуоресценции				Всего
	0 баллов	1 балл	2 балла	3 балла	
Grade II	1 (20%)	1 (20%)	2 (40%)	1 (20%)	5 (100%)
Grade III	1 (11,1%)	1 (11,1%)	1 (11,1%)	6 (66,7%)	9 (100%)
Grade IV	1 (7,15%)	-	1 (7,15%)	12 (85,7%)	14 (100%)
Всего	3 (10,7%)	2 (7,1%)	4 (14,3%)	19 (67,9%)	31 (100%)

В сравнительном анализе видимой флуоресценции с данными предоперационной МРТ с контрастом, получена прямая корреляционная связь от степени злокачественности глиомы ( $p > 0,05$ ). Чем выше злокачественность, тем больше степень контрастирования по данным МРТ (T1-режим), тем ярче видимая флуоресценция во время операции.

Исследования различных участков глиобластомы в зависимости от степени флуоресценции в сравнительном анализе с гистологическими результатами показало, что зоне некроза опухоли соответствовало отсутствие флуоресценции (97%), либо очень слабая флуоресценция (3%). Очень яркая флуоресценция выявлена в зоне инфильтрации опухоли (94%). В солидной части опухоли видимая флуоресценция определялась у (85%) (рисунок 1).

	Флуоресценция фотодитазина	Интенсивность флуоресценции	Гистология	Ki-67	%	p53	Иммуно-позитивность
Нормальный мозг		-			0		-
Зона клеточной инфильтрации		++			14		++
Компактная часть опухоли		+++			31		+++
Некроз		-			1		+

Рисунок 1. – Анализ флуоресцентных зон опухоли

У 2 пациентов (Grade III – 1, Grade IV – 1) проведен сравнительный анализ интенсивности флуоресценции Фотодитазина в разных участках глиобластомы в сравнении с МРТ (T1-режим) с контрастом, ПЭТ+КТ, интраоперационного УЗИ, гистологическими биоптатами.

Сравнительный анализ различных методик у этих двух пациентов показал, прямую корреляционную зависимость от степени злокачественности опухоли и интенсивности флуоресценции, индекса накопления радиофармпрепарата по данным ПЭТ+КТ, и накопления контраста на МРТ (T1-режим). Чем выше злокачественность участка опухолевой ткани, тем большая интенсивность свечения Фотодитазина и больше индекс накопления радиофармпрепарата на ПЭТ+КТ и контраста на МРТ. При этом границы опухоли при использовании различных методик колебались до 7 мм. При сравнительном анализе с интраоперационным УЗ исследованием граница опухоли была более размыта, из-за наложения зоны перифокального отека (при этом УЗ перфузионный метаболизм в тканях не оценивался).

Сравнительный анализ зон флуоресценции опухоли с результатами морфологических исследований, показал прямую корреляционную зависимость от степени злокачественности участка опухоли и маркером ядерной экспрессии

Ki67, транскрипционного фактора клеточного цикла – белка p53 в тканях ( $p > 0,05$ ). Чем выше интенсивность флуоресценции Фотодитазина, тем выше уровень Ki67 и белка p53. При этом зона некроза опухоли характеризуется низким уровнем интенсивности флуоресценции и низкими значениями Ki67 и белка p53.

Анализ результатов ИГХ (иммуногистохимического исследования) срезов флуоресцентно негативных и флуоресцентно позитивных глиальных опухолей разной степени злокачественности (Grade II – Grade IV) показал прямую корреляционную зависимость различия в количественном содержании белковых маркеров Ki-67 (MIB-1) и P53 (TP53). Для флуоресцентно позитивных глиом, характерна более высокая скорость пролиферации и меньшая степень дифференцировки, более высокая злокачественность.

У 5 больных (Grade III – 2, Grade IV – 3) исследована перифокальная зона опухоли, взяты участки ткани соответствующие разным зонам интенсивности флуоресценции.

Интенсивной флуоресценции перифокальной зоны соответствует более высокая степень анаплазии, более высокий уровень индекса TP53 и Ki-67, а также более высокий уровень вазоэндотелиального ростового фактора.

При сравнительном анализе ПЭТ с метионином и Фотодитазин обусловленной флуоресцентной навигации у 3 пациентов с глиобластомой и 2 пациентов с анапластической астроцитомой и 1 пациента с фибриллярно-протоплазматической астроцитомой, была получена прямая корреляционная связь между индексом накопления, интенсивностью флуоресценции и степенью анаплазии опухоли ( $p < 0,05$ ). Более высокий индекс накопления (1,7–3,9) и более яркая флуоресценция (+++) отмечена у глиобластомы (Grade IV). Низкий индекс накопления (0,9) и очень слабая флуоресценция (+) отмечалась при Grade II опухолях.

Оценка чувствительности и специфичности метода видимой флуоресценции в сопоставлении с множественными биопсиями глиальных опухолей разной степени злокачественности выявило прямую корреляцию между степенью злокачественности опухоли и интенсивностью флуоресценции. Так,



чувствительность видимой флуоресценции для глиом Grade II составила 72,7%, для глиом Grade III – 83,3%, для Grade IV – 87,5%. Специфичность для глиом Grade II составила 60%, для глиом Grade III – 66,7%, для Grade IV – 85,7%.

Оценка степени радикальности резекции GTR (gross total resection) (удаления не менее 90%, контрастирующейся части опухоли по данным МРТ выполненным в течение первых 24 часов после операции) при использовании интраоперационной флуоресцентной навигации с Фотодитазином для глиом Grade II в исследуемой группе составила 81,1%, в контрольной группе 75,1%, для глиом Grade III – 93,3% и 84,1%, для глиом Grade IV 98,6% и 87,5% соответственно.

#### Отдаленные результаты лечения

Катамнестически завершённый случай у 157 (80,5%) пациентов, 38 (19,5%) на момент сбора данных продолжают наблюдаться (таблицы и диаграмма см. ниже). В исследуемой группе сроки катамнеза варьируют для группы Grade II от 19 до 198 месяцев, Grade III от 12 до 85 месяцев, Grade IV от 3 до 70 месяцев. В контрольной группе катамнез составил для группы Grade II от 20 до 178 месяцев, Grade III от 3 до 60 месяцев, Grade IV от 2 до 58 месяцев. При анализе ранговым методом Спирмена выявлено:

- прямая слабая положительная корреляционная связь от наличия проводимой химиотерапии  $r=0,24$  ( $p>0,05$ ) и количества курсов;
- прямая слабая положительная корреляционная связь от наличия проводимой лучевой терапии  $r=0,14$  ( $p>0,05$ ) и количества курсов;
- прямая слабая положительная связь с дозой светового облучения ( $r=0,20$ ) ( $p>0,05$ ). Чем выше доза, тем больше длительность безрецидивного периода.

Медиана выживаемости для больных Grade III глиомами с использованием ФДТ составила  $40,4 \pm 7,4$  месяца; в группе контроля (без ФДТ) –  $23,4 \pm 3,9$  месяца ( $p=0,0003$ ) (рисунок 2).

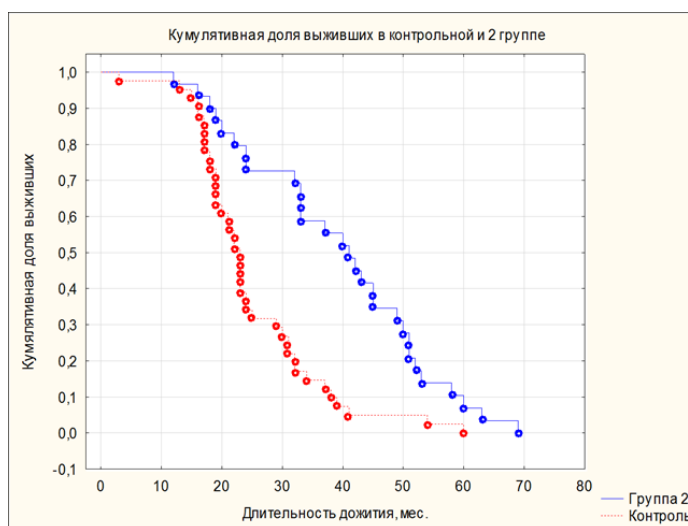


Рисунок 2. – Медиана выживаемости для больных Grade III глиомами

Медиана выживаемости для больных Grade IV глиомами с использованием ФДТ составила  $21,3 \pm 5,1$  месяца; в группе контроля (без ФДТ) –  $13,7 \pm 3,7$  месяца ( $p=0,0002$ ) (рисунок 3).

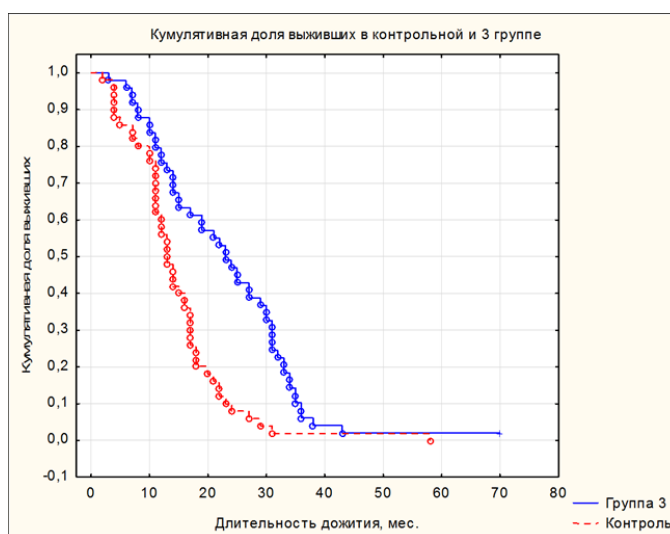


Рисунок 3. – Медиана выживаемости для больных Grade IV глиомами  
Безрецидивный период

Оценка безрецидивного периода проводилась по анализу интервала времени между двумя проведенными операциями.

Продолженный рост за время наблюдения диагностирован у 149 (76,4%) больных (97 – Grade IV, 52 – Grade III): в группе исследования – у 45 (91,8%) пациентов с Grade IV и 22 (73,3%) пациентов с Grade III, в контрольной группе – у 48 (98%) и 29 (90,6%) пациентов, соответственно.

Установлено, что медиана длительности безрецидивного периода для больных в подгруппе Grade III составила: в исследуемой группе –  $22,5 \pm 3,79$  месяца; в контрольной группе –  $16,1 \pm 3,22$  месяца ( $p=0,0002$ ). Медиана длительности безрецидивного периода для больных в подгруппе Grade IV составила в исследуемой группе –  $11,4 \pm 2,49$  месяца; в контрольной группе –  $8,2 \pm 2,13$  месяца ( $p=0,0001$ ).

## ВЫВОДЫ

1. Использование флуоресцентной диагностики с применением препарата группы хлоринов Е6 в хирургии глиальных опухолей разной степени злокачественности позволяет интраоперационно уточнить локализацию и распространенность опухоли, и возможные границы допустимой резекции с учетом функционально значимых зон головного мозга.

2. Интраоперационная интенсивность флуоресценции Фотодитазина имеет прямую корреляционную связь со степенью анаплазии глиомы, индексом накопления радиофармпрепарата на ПЭТ-КТ и накоплением контраста на МРТ. Так, чувствительность метода для глиом Grade II составила 72,7%, для глиом Grade III – 83,3%, для Grade IV – 87,5%. Специфичность составила для глиом Grade II 60%, для глиом Grade III – 66,7%, для Grade IV – 85,7%.

3. Фотодинамическая терапия относится к перспективной и безопасной методике, дающей возможность интраоперационно воздействовать на диссеминированные опухолевые клетки, залегающие в перифокальной зоне, вызывая в них структурные изменения (лечебный патоморфоз), что обуславливает лучшие отдаленные результаты лечения больных злокачественными глиомами.

4. Использование фотодинамической терапии в составе комплексной терапии глиальных опухолей головного мозга позволяет увеличить медиану выживаемости больных с Grade III глиомами до  $40,4 \pm 7,4$  месяцев (контрольная группа –  $23,4 \pm 3,9$  месяца), для больных Grade IV глиомами до  $21,3 \pm 5,1$  месяца (контрольная группа –  $13,7 \pm 3,7$  месяцев) ( $p=0,0003$ ); и величину безрецидивного периода для больных с Grade III глиомами до –  $22,5 \pm 3,79$  месяцев (контрольная

группа –  $16,1 \pm 3,22$  месяца) ( $p=0,0002$ ); для больных с Grade IV глиомами до –  $11,4 \pm 2,49$  месяцев (контрольная группа –  $8,2 \pm 2,13$  месяцев) ( $p=0,0001$ ).

5. Методика фотодиагностики и ФДТ с препаратом Фотодитазин в комплексном лечении глиальных опухолей разной степени злокачественности проста и не требует значительного оснащения, специальной подготовки и больших финансовых затрат. Флуоресцентную диагностику с дальнейшим проведением фотодинамической терапии с Фотодитазином необходимо применять в хирургии глиальных опухолей головного мозга супратенториальной локализации разной степени злокачественности.

### ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Флуоресцентную диагностику и фотодинамическую терапию целесообразно использовать в отделениях нейрохирургии, оснащенных микроскопами с флуоресцентным модулем, а также оборудованием для проведения фотодинамической терапии.

2. Увеличение объема резекции и дозы лазерного излучения при ФДТ необходимо осуществлять в пределах физиологической возможности.

3. Флуоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия расширяет возможности интраоперационной диагностики и комбинированного лечения глиальных опухолей и должны использоваться в хирургии глиом головного мозга.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ результатов применения методик флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии в хирургии злокачественных глиом, основанный на интраоперационных данных и данных ближайших и отдаленных результатов исследования, говорит о необходимости использования этих методик в клинической практике. Методики показали свою эффективность, надежность и простоту применения. Таким образом, в результате выполненной работы достигнута поставленная цель и решены задачи исследования.

### ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Необходимо проводить дальнейшее изучение ближайших и отдаленных результатов применения флуоресцентной хирургии с последующей

фотодинамической терапией в лечении глиальных опухолей головного мозга разной степени анаплазии. Также целесообразно изучать дальнейшие возможности доставки флуоресцента в ткани опухоли, основываясь на молекулярном нацеливании флуоресцентного агента, на основании которого возможен наиболее суперселективный фотодиагностический и фотодинамический эффект проводимой терапии.

#### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Рында, А.Ю. Опыт применения фотодиагностики и фотодинамической терапии в лечении глиальных опухолей головного мозга супратенториальной локализации / А.Ю. Рында, Д.М. Ростовцев, В.Е. Олюшин // Евразийский онкологический журнал; VIII съезда онкологов и радиологов СНГ и Евразии. – 2014. – № 3 (03). – С. 228–229.

2. Рында, А.Ю. Фотодинамическая терапия глиальных опухолей головного мозга супратенториальной локализации / А.Ю. Рында, Д.М. Ростовцев, В.Е. Олюшин // Поленовские чтения: Материалы XIII науч.- практ. конф.; Российский нейрохирургический журн. им. проф. А.Л. Поленова. – 2014. – Т. VI, спец. вып. – С. 168.

3. Рында, А.Ю. Интраоперационная фотодинамическая терапия в лечении больных глиомами головного мозга. Отдаленные результаты / А.Ю. Рында, Д.М. Ростовцев, В.Е. Олюшин и соавт. // Поленовские чтения: Материалы XIV Всерос. науч.-практ. конф. – СПб., 2015. – С. 149.

4. Рында, А.Ю. Отдаленные результаты лечения больных глиомами головного мозга при использовании интраоперационной фотодинамической терапии / Д.М. Ростовцев, А.Ю. Рында, В.Е. Олюшин и соавт. // 7 Всероссийский съезд нейрохирургов. – Казань, 2015. – С. 143.

5. Рында, А.Ю. Интраоперационная фотодинамическая терапия злокачественных глиом. Отдаленные результаты / В.Е. Олюшин, Д.М. Ростовцев, Рында А.Ю. и соавт. // Белые Ночи – 2016: II Петербургский онкологический форум. – СПб., 2016. – С. 67.

6. Рында, А.Ю. Интраоперационное применение фотодиагностики и фотодинамической терапии в лечение больных злокачественными глиомами головного мозга / А.Ю. Рында, Д.М. Ростовцев, В.Е. Олюшин // 4 стихии: Рос. нейрохир. фестиваль. – Екатеринбург, 2016. – С.116.

7. Рында, А.Ю. Отдаленные результаты в лечении больных глиомами головного мозга с использованием фотодинамической терапии / А.Ю. Рында, Д.М. Ростовцев, В.Е. Олюшин // Актуальные проблемы лазерной медицины: Сб. науч. тр. / Под ред. Н.Н. Петрищева. – СПб., 2016. – С.192–193.

8. Рында, А.Ю. Результаты лечения больных со злокачественными глиомами головного мозга с использованием фотодинамической терапии / А.Ю. Рында, В.Е. Олюшин, Д.М. Ростовцев // Сибирский нейрохирургический конгресс. – Новосибирск, 2016. – С.113.

9. Рында, А.Ю. Фотодинамическая терапия в лечении больных глиомами головного мозга. Отдаленные результаты / А.Ю. Рында, Д.М. Ростовцев, В.Е. Олюшин // Поленовские чтения: Материалы XV юбилейной Всерос. научн.-практ. конф. – СПб., 2016. – С. 157.

10. Рында, А.Ю. Интраоперационная микроскопия стимулированного комбинированного рассеяния (SRS) в хирургии глиом головного мозга. Обзор литературы / А.Ю. Рында, В.Е. Олюшин, Ю.М. Забродская // **Российский нейрохирургический журнал им. проф. А.Л. Поленова.** – 2017. – Т. IX, № 3. – С. 64–73.

11. Рында, А.Ю. Флуоресцентно-контролируемая резекция глиальных опухолей с «Фотодитазином» / А.Ю. Рында, Д.М. Ростовцев, В.Е. Олюшин, Ю.М. Забродская // **Вестник хирургии им. И.И. Грекова.** – 2017. – Т. 176, № 5. – С.10–15.

12. Рында, А.Ю. Фотодинамическая терапия в хирургии глиом головного мозга супратенториальной локализации / А.Ю. Рында, Д.М. Ростовцев, В.Е. Олюшин // Сборник I Российско-Китайского конгресса нейрохирургов. – Уфа, 2017. – №1.– С.127.

13. Рында, А.Ю. Фотодинамическая терапия глиом головного мозга – отдаленные результаты / А.Ю. Рында, В.Е. Олюшин, Д.М. Ростовцев // **Вестник Российской военно-медицинской академии.** – 2017. – № 2 (58). – С. 68–72.

14. Рында, А.Ю. Отдаленные результаты лечения астроцитарных опухолей с использованием фотодинамической терапии / А.Ю. Рында, Д.М. Ростовцев, В.Е. Олюшин // **Российский нейрохирургический журнал им. проф. А.Л. Поленова.** – 2018. – Т. X, спец. вып. – С. 211.

15. Рында, А.Ю. Результаты флуоресцентно-контролируемой резекции глиальных опухолей с «Фотодитазином» / А.Ю. Рында, Д.М. Ростовцев, В.Е. Олюшин, Ю.М. Забродская // **Материалы VIII Всероссийского съезда нейрохирургов.** – Санкт-Петербург, 2018. – С.214.

16. Рында, А.Ю. Флуоресцентно-контролируемая резекция астроцитарных опухолей головного мозга – обзор литературы. / А.Ю. Рында, Д.М. Ростовцев, В.Е. Олюшин // **Российский нейрохирургический журнал им. проф. А.Л. Поленова.** – 2018. – Т. X, № 1. – С.91–101.

17. Рында, А.Ю. Флуоресцентно-контролируемая резекция глиальных опухолей – результаты исследования / А.Ю. Рында, Д.М. Ростовцев, В.Е. Олюшин и соавт. // **Российский нейрохирургический журнал им. проф. А.Л. Поленова.** – 2018. – Т. X, спец. вып. – С. 211.

18. Рында, А.Ю. Фотодинамическая терапия астроцитарных опухолей – отдаленные результаты / А.Ю. Рында, Д.М. Ростовцев, В.Е. Олюшин // **Материалы VIII Всероссийского съезда нейрохирургов.** – Санкт-Петербург, 2018. – С. 213.

19. Rynda, A. Photodiagnosics and photodynamic therapy of supratentorial glial tumors: current result and follow-up / D.M. Rostovtsev, A.Y. Rynda, V. E. Olyushin et al. // **EANS 2014 – Prague, Czech Republic, 2014.** – P.107.

20. Rynda, A. Photodynamyc Therapy: Experience in Management of Malignant Astrocytic Tumors / V.E. Olyushin, D.M. Rostovtsev, A.Yu. Rynda et al. // **Material 4th Japan Russia Neurosurgical Symposium – Japan, Tokio, 2014.** – P.1–7.

21. Rynda, A. The long-term result of brain glioma surgery with intraoperative photodynamic therapy / D.M. Rostovtsev, V.E. Olyushin, A.Yu. Rynda et al. // Material 5th Russian-Japanese Neurosurgical Symposium – Russia, Kazan, 2016. – P.22.
22. Rynda, A. The long-term result of brain high-grade glioma surgery with intraoperative photodynamic therapy / D. Rostovtsev, V. Olyushin, A. Rynda et al. // EANS 2016. – Athens, Greece – September, 2016. – P.23.
23. Rynda, A. Fluorescence-guided resection of glioma with chlorine E6 – Photoditazin / A. Rynda, D. Rostovtsev, V. Olyushin // EANS 2017. – Venice, Italy, 2017. – E273. – P.120.
24. Rynda, A. Complex treatment glioma surgery with PDT / A. Rynda, D. Rostovtsev, V. Olyushin // EANS 2018. – Brussel, Belgium, 2018. – P.108.
25. Rynda, A. Fluorescence-Guided Resection of glial brain tumors with Fotoditazin / A. Rynda, D. Rostovtsev, V. Olyushin et al. // **Journal of Surgery. – 2018. – Vol. 6, Iss. 5. – P. 116–122.**
26. Rynda, A. Fluorescence-guided resection of glioma / A Yu. Rynda, D.M. Rostovtsev, V.E. Olyushin // WFNS Symposia 2018. – Kuala Lumpur, Malaysia, 2018. – P. 400.
27. Rynda, A. Fluorescence-guided resection of glioma / A. Rynda, D. Rostovtsev, V. Olyushin // CNS 2018 Annual Meeting. – Houston, Texas, USA, 2018. – P. 1057.

#### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ФДТ	фотодинамическая терапия
ФД	фотодиагностика
КТ	компьютерная томография
МРТ	магнитно-резонансная томография
ПЭТ	позитронно-эмиссионная томография
ЭЭГ	электроэнцефалография
ИГХ	иммуногистохимическое исследование